

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



**CITOTOXICIDAD DE DIFERENTES CEMENTOS DE IONÓMERO DE VIDRIO
PARA CEMENTACIÓN DE BANDAS EN ORTODONCIA SOBRE CÉLULAS
MADRE DE LIGAMENTO PERIODONTAL**

Por

JORGE YITZHAK HAZHEMY GARZA SILVA

Como requisito parcial para obtener el Grado de

Maestría en Ortodoncia

Julio, 2018

Maestría en Ortodoncia

**CITOTOXICIDAD DE DIFERENTES CEMENTOS DE IONÓMERO DE VIDRIO
PARA CEMENTACIÓN DE BANDAS EN ORTODONCIA SOBRE CÉLULAS
MADRE DE LIGAMENTO PERIODONTAL**

Comité de Tesis

DR. JUAN MANUEL SOLÍS SOTO

Director de Tesis

DR. CASIANO DEL ANGEL MOSQUEDA

Co-Director

DR. EYRA ELVYRA RANGEL PADILLA

Asesor Metodológico

DR. GUSTAVO ISRAEL MARTÍNEZ GONZÁLEZ

Asesor Estadístico

Maestría en Ortodoncia

**CITOTOXICIDAD DE DIFERENTES CEMENTOS DE IONÓMERO DE VIDRIO
PARA CEMENTACIÓN DE BANDAS EN ORTODONCIA SOBRE CÉLULAS
MADRE DE LIGAMENTO PERIODONTAL**

Comité académico

DR. JUAN MANUEL SOLÍS SOTO

Presidente

DR. MIGUEL ÁNGEL QUIROGA GARCÍA

Secretario

DR. CASIANO DEL ANGEL MOSQUEDA

Vocal

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al **Dr. Juan Manuel Solís Soto** y al **Dr. Casiano Del Angel Mosqueda** Director y Co-Director de mi tesis respectivamente. También agradezco al Dr. Gustavo Israel Martínez González por sus valiosas sugerencias é interés en la revisión del presente trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico para la realización de mis estudios de Posgrado.

De manera especial quiero hacer un reconocimiento a la **Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda**, Directora de la Facultad de Odontología UANL, así como al **Dr. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda** y a la **Dra. Rosa Isela Sánchez Nájera** por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi formación académica en dicha dependencia.

A mi familia por el apoyo moral que siempre me ha brindado y a todas las personas que contribuyeron de una forma u otra en la realización de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS.....	iv
LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
NOMENCLATURA.....	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS.....	2
3. OBJETIVOS.....	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivos específicos.....	3
4. ANTECEDENTES.....	4
4.1 Cementos dentales.....	4
4.1.1 Fosfato de zinc.....	4
4.1.2 Policarboxilato.....	5
4.1.3 Ionomeros de vidrio (GICs).....	5
4.2 GICs modificados con resina.....	7
4.3 Bandas de Ortodoncia.....	8
4.4 Regeneración y enfermedad periodontal.....	10

4.5 Ortodoncia y PDLSCs.	11
5. MÉTODOS	14
6. RESULTADOS.....	19
7. DISCUSIÓN.....	23
8. CONCLUSIONES.....	25
9. LITERATURA CITADA	26
10. RESUMEN BIOGRÁFICO	36

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Comparación entre grupo control y grupos experimentales sobre la viabilidad de células madre de ligamento periodontal (PDLSCs)	19

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Morfología celular y citotoxicidad posterior a 24 horas de exposición a un medio condicionado de Fuji Ortho.	20
2. Morfología celular y citotoxicidad posterior a 24 horas de exposición a un medio condicionado de Glasion.	21
3. Morfología celular y citotoxicidad posterior a 24 horas de exposición a un medio condicionado de Ketac Cem.	21
4. Morfología celular y citotoxicidad comparativa posterior a 24 horas de exposición a los medios condicionados Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem.	22

NOMENCLATURA

DMEM-F12	Dulbecco's modified Eagle's medium-Ham's F12
CHX	Clorhexidina
PDLSCs	Células madre de ligamento periodontal
BMMSCs	Células madre mesenquimales de medula ósea
GICs	Cementos de ionómero de vidrio
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSCs	Células madre dentales
FBS	Suero fetal bovino
PBS	Buffer de fosfatos
FDA	Diacetato de fluoresceína
FMCA	Ensayo de citotoxicidad por fluorometría

RESUMEN

Introducción: Los cementos de ionómero de vidrio (GICs) han sido ampliamente utilizados en Odontología para cementado de bandas en Ortodoncia debido a su capacidad de adherirse químicamente al esmalte y dentina, así como también a diversos metales. Previos estudios han reportado que los GICs inducen toxicidad sobre células humanas, sin embargo, la citotoxicidad de Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem aún no ha sido determinada. **Objetivo:** El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto citotóxico de Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem sobre células madre de ligamento periodontal (PDLSCs) *in vitro*. **Metodología:** Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem fotocurados fueron incubados en Dulbecco's modified Eagle's medium-Ham's F12 (DMEM-F12) durante 24 horas a 37 °C. La toxicidad de los medios condicionados fue analizada en diluciones de 1:2, 1:4, 1:8 y 1:20 sobre PDLSCs mediante microscopía de campo claro y el ensayo de citotoxicidad FMCA. **Resultados:** La exposición de PDLSCs al Ketac Cem fotocurado indujo muerte celular, así como alteraciones morfológicas de las extensiones citoplasmáticas respecto al control negativo ($p < 0.0032$). Los tratamientos Fuji Ortho y Glasion fotocurado, no disminuyeron de forma significativa la viabilidad celular, observándose células con forma de huso ($p < 0.1271$). **Conclusiones:** Estos datos sugieren que los GICs Fuji Ortho y Glasion son biomateriales seguros para su aplicación en Ortodoncia debido a su baja toxicidad sobre PDLSCs.

Palabras clave: Células madre de ligamento periodontal, Citotoxicidad, Cementos de ionómero de vidrio, Bandas de Ortodoncia, Biomateriales

ABSTRACT

Background: Glass ionomer cements (GICs) have been used for Orthodontic band cementation due to their chemically potential for binding to enamel, dentin and metals. Previous studies have reported that GICs induce toxicity on human cells, however, the cytotoxicity of Fuji Ortho, Glasion and Ketac Cem has not been determined. **Objective:** The purpose of this study was to evaluate the cytotoxic effect of Fuji Ortho, Glasion and Ketac Cem on periodontal ligament stem cells (PDLSCs) *in vitro*. **Methods:** Fuji Ortho, Glasion and Ketac Cem light-cured were incubated in Dulbecco's modified Eagle's medium-Ham's F12 (DMEM-F12) for 24 hours at 37 °C. The toxicity of conditioned media was analyzed in dilutions of 1:2, 1:4, 1:8 and 1:20 on PDLSCs by light-field microscopy and the FMCA cytotoxicity assay. **Results:** The exposure of PDLSCs to Ketac Cem light-cured induced cell death, as well as morphological alterations of the cytoplasmic extensions with respect to the negative control ($p<0.0032$). Fuji Ortho and Glasion light-cured treatments, did not significantly decrease the cell viability, showing spindle-shaped cells ($p<0.1271$). **Conclusions:** These data suggest that the GICs Fuji Ortho and Glasion are safe biomaterials for orthodontic applications due to their low toxicity on PDLSCs.

Keywords: Periodontal ligament stem cells, Cytotoxicity, Glass ionomer cements, Orthodontic Bands, Biomaterials

1. INTRODUCCIÓN

Varios sistemas de cementación han sido aplicados rutinariamente en Odontología para el cementado de bandas y aparatos de Ortodoncia. Los cementos de ionomero de vidrio (GICs) son ampliamente utilizados para dichos propósitos debido a su capacidad de adherirse químicamente a los tejidos mineralizados del diente (esmalte y dentina) así como también a diversos metales.

Debido a variaciones en su composición química, existe una modificación de los GICs convencionales las cuales han sido sintetizados con resina y son estos los que han sido aplicados con propósitos de cementación de bandas en Ortodoncia. De acuerdo a los protocolos para el tratamiento de Ortodoncia los diversos materiales usados durante este procedimiento deben contactar e interactuar durante periodos prolongados con los tejidos periodontales incluyendo el ligamento periodontal. Los brackets de ortodoncia, alambres y GICs tienen compuestos capaces de desencadenar reacciones alérgicas así como citotoxicidad y genotoxicidad sobre células humanas.

Por otra parte, se sabe que los GICs liberan cantidades significativas de fluoruro, un elemento que en altas concentraciones resulta tóxico para el organismo. Por lo anterior se requiere el desarrollo de investigaciones que tengan el propósito de evaluar el grado de toxicidad de estos cementos y determinar su seguridad durante su aplicación en pacientes bajo tratamiento de Ortodoncia, esto con el objetivo de evitar complicaciones post-operatorias relacionadas con los tejidos de soporte dentario.

En el presente estudio se determinó el grado de toxicidad de diferentes GICs utilizados durante la cementación de bandas en un tratamiento ortodontico, utilizando un cultivo primario de células madre de ligamento periodontal (PDLSCs). Los resultados obtenidos sugieren que los GICs Fuji Ortho y Glasion inducen baja toxicidad sobre dichas células, esto debido a las bajas cantidades de fluoruro que contienen.

2. HIPÓTESIS

Los GICs Fuji Ortho y Glasion utilizados para el cementado de bandas en Ortodoncia, no inducen una alta toxicidad sobre PDLSCs.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar la citotoxicidad de los GICs Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem para cementación de bandas en Ortodoncia sobre PDLSCs.

3.2 Objetivos específicos

- Obtener ligamento periodontal de premolares humanos utilizando una hoja de bisturí.
- Aislar y cultivar una población de PDLSCs utilizando disociación enzimática.
- Obtener un medio condicionado a partir de los GICs Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem utilizando incubación.
- Determinar el porcentaje de viabilidad celular de las PDLSCs expuestas a los medios condicionados utilizando el ensayo FMCA.
- Analizar los cambios morfológicos de las PDLSCs expuestas a los medios condicionados mediante microscopía óptica.

4. ANTECEDENTES

4.1 Cementos dentales

Los cementos dentales están compuestos de un ácido y un elemento alcalino que al mezclarse ambos resulta en su endurecimiento o fraguado. Estos cementos se estabilizan mediante una reacción de neutralización (Anusavice, 1996).

Por lo general, el cemento endurecido a nivel microestructural muestra partículas de vidrio las cuales parcialmente reaccionadas se encuentran suspendidas en una matriz formada cuando el componente ácido reacciona con el cristal alcalino. Los cementos son frágiles, tienen una resistencia a la compresión relativamente alta, sin embargo, presentan baja resistencia a la tracción y fractura (Prosser *et al.*, 1984).

4.1.1 Fosfato de zinc

El cemento de fosfato de zinc es el producto de reacción de óxido de zinc y una solución de ácido fosfórico. Cuando se establece, el cemento de zinc y fosfato es dimensionalmente estable con propiedades físicas relativamente buenas, incluida la baja solubilidad en fluidos orales. Los componentes del cemento deben ser mezclados adecuadamente para asegurar que la reacción ácido-base puede proceder de manera óptima, lo que resulta en buenas características físicas y efectos mínimos en los tejidos orales.

Los cementos en polvo/líquido son sensibles a la técnica. Idealmente, el cemento de fosfato de zinc debe mantenerse fresco durante la mezcla, logrando un mayor control de la configuración por la lenta incorporación gradual del componente alcalino durante la mezcla.

El mayor inconveniente del cemento de fosfato de zinc es que no se une a esmalte y metales y por lo tanto no puede ser utilizado para adherir bandas de ortodoncia a los dientes.

Sin embargo, se ha usado como cemento dental por más de un siglo (Kocadereli and Ciger, 1995).

4.1.2 Policarboxilato

Por otra parte, el cemento de policarboxilato es el producto de la reacción del óxido de zinc y una solución de ácido policarboxílico. Los grupos carboxilo esparcidos a lo largo de la cadena de ácido policarboxílico posee el poder de quelar al calcio presente en el esmalte y dentina, lo que resulta en un enlace químico entre el cemento y el diente. La quelación de grupos carboxilo divalente y cationes trivalentes produce un enlace químico en las superficies de los dientes y óxidos superficiales metálicos.

El cemento de policarboxilato fue el primer cemento en adherirse químicamente al diente. Al igual que con el cemento de fosfato de zinc, la técnica de la mezcla requiere dominarse porque es viscoso y de difícil manipulación. La reacción de neutralización resultante entre el óxido de zinc y el ácido policarboxílico tiene poco efecto negativo en los tejidos orales; por lo tanto, se considera un cemento biocompatible.

A pesar de la unión química del cemento de policarboxilato al diente ó dispositivos ortodónticos, su solubilidad relativamente alta así como una baja resistencia a la fractura limita su uso clínico (Prosser *et al.*, 1984).

4.1.3 Ionómero de vidrio

Los GICs aprovechan el grupo carboxilo para la quelación del esmalte, dentina y la mayoría de los metales empleando varias mezclas de carboxilo que contienen ácidos (ácidos polialquenoicos) los cuales reaccionan con el aluminosilicato.

El vidrio del aluminosilicato fusionado en presencia de flujos de flúor resulta en una composición alcalina que libera iones fluoruro cuando reacciona con los ácidos. La liberación

se mide posterior a la configuración de los GICs. Una cantidad de fluoruro adicional es liberado cuando los GICs están expuestos a ácidos.

La inhibición de caries se ha asociado con un bajo nivel sostenido de liberación de fluoruro por parte de los GICs. Además, los GICs contienen fases de hidrogel, que soportan el movimiento del calcio, estroncio y otros iones asociados con la remineralización del esmalte y la dentina. Se cree que las fases de hidrogel son responsables de la adopción y relanzamiento de fluoruro ambiental agregado en geles tópicos, enjuagues y dentífricos. Comparado con los cementos de poliacarboxilato, los GICs muestran mayor resistencia y unión a esmalte, dentina así como metales (Saito *et al.*, 1999; McComb, 1999).

La mezcla de los GICs, es sensible a la técnica y los hidrogeles se desecan y se agrietan en ambientes secos. La baja resistencia a la fractura limita su uso en Ortodoncia principalmente para cementar bandas; sin embargo, su uso clínico para cementación de brackets ha sido reportado (White, 1986; Voss *et al.*, 1993).

El desarrollo de los GICs encapsulados eliminó la mayoría de las mezclas variables. La inhibición de la desmineralización en esmalte adyacente por parte de los GICs así como su retención mejorada para bandas son las principales razones de que sigue siendo útil para los ortodontistas para cementar bandas en pacientes propensos a caries (Fricker, 1989; Mizrahi, 1988; Stirrup, 1991; O'Reilly and Featherstone, 1987).

Los GICs se han usado para uniones de bandas de Ortodoncia, pero la retención de brackets fue pobre en comparación con los controles de resina. Existe un acuerdo entre ortodontistas que los GICs convencionales carecen de las propiedades físicas necesarias para retener los brackets durante el tratamiento (Millett DT and Mc Cabe, 1996). A pesar de las bajas tasas de retención de soporte de los GICs, su adherencia química y la tolerancia a la humedad eliminan la necesidad de grabado ácido y secado.

4.2 GICs modificados con resina

El uso en Ortodoncia de los GICs aumentó dramáticamente con el desarrollo de los GICs modificados con resina. La adición de 10 % a 20 % de monómeros de resina a los GICs dio como resultado un cemento que inicialmente se endurece con el uso de cualquiera de luz ó activadores químicos para polimerizar los monómeros.

Los GICs modificados con resina son cementos adhesivos con propiedades físicas mejoradas e hidrogeles más estables comparado con los GICs convencionales. La encapsulación del polvo y componentes líquidos simplificaron los procedimientos de mezcla con un triturador.

La polimerización de los monómeros de resina acelera el endurecimiento inicial de los GICs modificados sin interferir significativamente con la reacción de fijación ácido-base, la liberación de fluoruro o la quelación de grupos carboxilo al metal y superficies dentales (McComb, 1999, Nicholson, 1998).

Además de la unión química de los GICs modificados, los monómeros de resina penetran a las irregularidades de la superficie para producir un enclavamiento micromecánico (enlace) después de la polimerización. Además de la ventaja del operador para controlar el ajuste, el producto de la polimerización se activa por luz significativamente más rápido que la reacción ácido-base (formación de cemento), lo que resulta en una mejoría física temprana de sus propiedades, especialmente la resistencia a la fractura.

La maduración, endurecimiento, liberación sostenida de fluoruro y la inhibición de la caries es similar a la los GICs convencionales. También son similares las habilidades de ambos GICs para adherirse químicamente en presencia de humedad (Ewoldsen y Herwig 1998; Diaz-Arnold *et al.*, 1999).

4.3 Bandas de ortodoncia

Las bandas de ortodoncia son aditamentos metálicos que envuelven al diente dando fijación a aparatos fijos, siendo un accesorio confiable durante las fuerzas mecánicas y de masticación ejercidas en un tratamiento ortodóntico.

Las bandas adheridas al diente se usan rutinariamente como parte de la terapia con dispositivos fijos, sin embargo, las bandas en lugar de los tubos unidos siguen siendo populares para los molares (Banks and Macfarlane, 2007; Pandis *et al.*, 2005). Las bandas de ortodoncia están sometidas a una gran cantidad de fuerzas en la boca, lo que resulta en una distribución compleja del estrés dentro del adhesivo y sus uniones con el esmalte e interior de la banda (Durning *et al.*, 1994; Millett and Gordon, 1992).

Óptimamente, la resistencia adhesiva debe ser suficiente para mantener la banda en el diente para la duración del tratamiento pero no de tal magnitud que la superficie del diente sea dañada cuando la banda este en contacto. Además, el adhesivo debería ser idealmente fácil de usar, protector contra la caries dental y de costo razonable.

La retención de la banda se ve afectada mecánicamente por su adaptación al diente asistida por el cemento (Williams *et al.*, 1965). Fosfato de zinc, silicofosfato de zinc y policarboxilato de zinc se usaron como los principales cementos de banda hasta principios de la década de 1990 (Gottlieb *et al.*, 1996). Los cementos de fosfato de zinc deben tener solubilidad intraoralmente y depender completamente de la adhesión mecánica por su efecto retentivo (Brown, 1989; Norris *et al.*, 1986).

En contraste, los cementos de policarboxilato reaccionan químicamente con el esmalte y acero inoxidable (Brown, 1989) aunque presentan alta viscosidad, ajuste a corto tiempo y su alta solubilidad intraoral conduce a su disminución en la popularidad como agente de cementación de banda (Norris *et al.*, 1986).

Algunos cementos a base de fosfato de zinc todavía se usan por una pequeña proporción de ortodontistas, ahora se utiliza los GICs (Keim *et al.*, 2002).

Los GICs se han convertido en los más utilizados comúnmente para la cementación de bandas debido a sus propiedades favorables como liberación de fluoruro, (Creanor *et al.*, 1994) inhibición microbiana, (DeSchepper *et al.*, 1989) y adhesión a tanto esmalte como metal (Gottlieb *et al.*, 1996; Hotz *et al.*, 1977). Estos cementos, sin embargo, requieren hasta 24 horas para alcanzar la fuerza máxima y son susceptibles a la contaminación por humedad durante la reacción de fraguado (Wilson *et al.*, 1979).

La adición de resina a la formulación de cemento ha permitido la fotopolimerización, un mejor ajuste y fuerza (Mount, 1994) Estos cementos más nuevos se pueden clasificar de la siguiente manera (McCabe, 1998):

1. Resina compuesta modificada con poliácido (compómero)
2. Cementos de ionómero de vidrio modificado con resina.

Estudios *in vitro* de compuestos modificados (Aggarwal *et al.*, 2000; Mennemeyer *et al.*, 1999; Millett *et al.*, 1998) y GICs modificados con resina (Aggarwal *et al.*, 2000; Mennemeyer *et al.*, 1999) han demostrado significativamente mayor fuerza de unión en comparación con el fosfato de zinc (Aggarwal *et al.*, 2000) o los GICs (Mennemeyer *et al.*, 1999; Millett *et al.*, 1998) Polifosfonato de vidrio también se ha utilizado como un cemento para bandas de ortodoncia, pero no pertenece a los grupos de fosfato de zinc o GICs (Clark *et al.*, 2003).

Debido a la cantidad de adhesivos disponibles para aplicar bandas a los dientes, es importante comprender cuales son más confiables y cuales reducen ó previenen la caries dental durante el período de tratamiento.

4.4 Regeneración y enfermedad periodontal

La enfermedad periodontal es una enfermedad oral infecciosa e inflamatoria que conduce a la destrucción del tejido periodontal y es la razón principal de la pérdida de dientes (Reich and Hiller, 1993). Los odontólogos han logrado controlar la inflamación periodontal a través de terapias convencionales, pero no han logrado restaurar el periodonto dañado.

El objetivo del tratamiento regenerativo periodontal es restablecer la función fisiológica de los dientes mediante la reconstrucción de los tejidos de soporte periodontales, incluidos el hueso alveolar, encía, ligamento periodontal (PDL) y cemento. Con la regeneración tisular, los tejidos periodontales dañados pueden repararse mediante la acción de células madre, factores de crecimiento y un andamio de matriz extracelular (Hynes *et al.*, 2000).

Las MSCs se descubrieron inicialmente en la médula ósea, y se descubrió que las células madre mesenquimales de la médula ósea (BMMSCs) promueven la regeneración periodontal cuando se trasplantan a defectos óseos periodontales (Yamada *et al.*, 2006). Teniendo en cuenta la inconveniencia de obtener BMMSCs, como el dolor y trauma de la aspiración invasiva de médula ósea y un bajo número de células obtenidas (Huang *et al.*, 2009), los intentos posteriores para cultivar MSCs han sido de tejidos derivados de los dientes, como el ligamento periodontal [Seo *et al.*, 2004], gingiva (Zhang *et al.*, 2009), folículos dentales (Morsczeck *et al.*, 2005), pulpa dental (Gronthos *et al.*, 2000), papila apical (Sonoyama *et al.*, 2008) y dientes deciduos exfoliados humanos (Hynes *et al.*, 2000; Miura *et al.*, 2003).

En 2004 Seo *et al.* (Seo *et al.*, 2004) aislaron exitosamente las PDLSCs de terceros molares impactados humanos y estas células tuvieron la capacidad de diferenciarse en ligamento periodontal, hueso alveolar, cemento, nervios periféricos y vasos sanguíneos (Park *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2009).

Actualmente, la capacidad regenerativa de las PDLSCs es de interés para los investigadores, y estudios recientes revelan hallazgos sobre las PDLSCs explicando las

dificultades y preocupaciones sobre las PDLSCs en términos de cultivo celular, identificación y seguridad biológica.

Las PDLSCs que residen en el espacio perivascular del periodonto, poseen características de MSCs y son una herramienta prometedora para la regeneración periodontal. Algunas investigaciones están intentando maximizar la proliferación y el potencial de diferenciación de las PDLSCs modificando las condiciones de cultivo y factores de crecimiento. Estas células se encuentran agrupadas en el ligamento periodontal y tienen características perivasculares, ellas pueden diferenciarse en fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos y osteoclastos.

El periodonto es un órgano complejo compuesto por epitelio y tejido conectivo mineralizado. En un estudio que tuvo como objeto evaluar el efecto osteogénico de la dexametasona sobre las PDLSCs se observó que esta puede estimular la proliferación de osteoblastos y fibroblastos. Las PDLSCs demostraron la capacidad de generar cemento y contribuir a la reparación de los tejidos periodontales. Por lo tanto, la aplicación de las PDLSCs puede ser una herramienta prometedora con enfoque terapéutico para la reconstrucción de tejidos destruidos por enfermedades periodontales (Zhu and Liang 2015; Roozegar *et al.*, 2015).

4.5 Ortodoncia y PDLSCs

Durante el movimiento dental ortodóntico, una fuerza adecuada puede activar respuestas biológicas en los tejidos periodontales (Wise and King, 2008), incluidas la formación ósea en el lado de la tensión, resorción ósea en el lado de la compresión y la reinserción del PDL (Masella and Meister, 2006).

En este complejo proceso biológico, el PDL desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis del tejido periodontal evitando afecciones patológicas no deseadas (Narayanan and Page, 1983). Sin embargo, actualmente, los tratamientos de Ortodoncia ya no se limitan a los adolescentes, la mayoría de los cuales tienen un periodonto saludable.

En contraste, un número creciente de adultos asisten a consultorios de Ortodoncia para obtener una sonrisa adecuada y salud estomatognática, donde la mayoría de estos adultos presentan enfermedad periodontal leve ó grave (Gondivkar *et al.*, 2013). La periodontitis con destrucción del tejido periodontal y hueso alveolar da como resultado una mayor producción de varias citoquinas osteoclastogénicas, como IL-6, IL-8, IL-1 β y TNF- α (Kobayashi *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2010). Estas citocinas contribuyen a un mayor daño periodontal.

En ausencia de control inflamatorio, los tratamientos de Ortodoncia podrían conducir fácilmente a la pérdida rápida de la inserción periodontal y la resorción ósea alveolar (Yamamoto *et al.* 2011). Incluso después de la finalización del tratamiento periodontal básico, las capacidades de regeneración y remodelación de los tejidos periodontales parecen estar disminuidas en pacientes con periodontitis (Huang *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2011).

A nivel celular, la fuerza ortodóntica conduce a cambios funcionales en las células del periodonto. Por ejemplo, la membrana celular, el citoesqueleto, matriz de proteínas nucleares y el genoma exhiben cambios funcionales (Krishnan and Davidovitch, 2006).

Una cantidad considerable de evidencia científica ha confirmado la presencia de MSCs en los tejidos periodontales las cuales son responsables de mantener la homeostasis tisular y la capacidad regenerativa (Huang *et al.*, 2009). Las PDLSCs son uno de los tipos predominantes de MSCs implicadas en la regeneración del tejido periodontal porque no solo regeneran cemento y PDL *in vivo* (Seo *et al.*, 2004) sino que también muestran una mejor homología de la organización en términos de morfología, estructura y otras características organizacionales ((Rios *et al.*, 201; Chen *et al.*, 2012).

Como las PDLSCs son sensibles a la carga, los estudios han demostrado que la estimulación mecánica con la fuerza y frecuencia adecuadas promueve la proliferación y la diferenciación osteogénica de las PDLSCs (Zhang *et al.*, 2012). Además, cuando el PDL está expuesta a fuerzas mecánicas relacionadas con la Ortodoncia, los tejidos se reconstruyen para equilibrar la osteogénesis y la osteoclastogénesis.

Durante este proceso, las PDLSCs desempeñan un papel clave en la formación de hueso, mientras que RANKL proporciona una señal crucial para la formación de osteoclastos (Kim *et al.*, 2007).

La resorción ósea alveolar y la pérdida de inserción periodontal ocurren si el equilibrio entre la osteogénesis y la osteoclastogénesis se ve alterado por fuerzas mecánicas inadecuadas.

Un grupo de investigación confirmó previamente que las características biológicas de las PDLSCs se ven afectadas por el microambiente extracelular, como la inflamación (Liu *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2014). y el envejecimiento (Zheng *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012).

En el microambiente de periodontitis, la capacidad de proliferación de PDLSCs obtenidos de pacientes diagnosticados con periodontitis aumenta, pero el potencial osteogénico disminuye, lo que induce una regeneración periodontal desfavorable. Dado que un microambiente inflamatorio puede afectar las propiedades de estas células, es razonable suponer que las PDLSCs responden de manera diferente a las fuerzas mecánicas en comparación con otras fuentes, conduciendo a una actividad osteoclástica elevada y resorción ósea alveolar en casos de periodontitis.

5. MÉTODOS

Universo de estudio

Humanos adultos jóvenes (18-24 años de edad) sin distinción de sexo

Criterios de inclusión

Premolares superiores e inferiores erupcionados

Criterios de exclusión

- Premolares seccionados o fracturados
- Premolares con caries

Determinación del tamaño de muestra

Por las condiciones de la variable a evaluar del tipo cualitativa (Citotoxicidad de las PDLSCs derivadas de premolares humanos) donde además, se trata de una población infinita y se pretende que la muestra sea del tipo probabilístico, se estimó el tamaño de la muestra con la aplicación de la siguiente fórmula general:

$$n = \frac{z^2 p(1-p)}{e^2}$$

Para una confianza del 95% se tiene el valor $Z= 1.96$, con un grado de error del 19% $e= 0.19$ y considerando una proporción p del 75% $p= 0.75$.

Para obtener el tamaño de la muestra se sustituyeron los valores y se obtuvo que:

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.25)(0.75)}{(0.19)^2} \quad n = 19.95 \approx 20$$

El número total de casos del proyecto será de 20 premolares humanos a los cuales se les aplicará el procedimiento de raspado radicular para extraer el ligamento periodontal para su estudio.

5.1 Selección de pacientes

El reclutamiento de pacientes voluntarios se llevó a cabo en el Posgrado de Ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), donde se realizó a los candidatos a donador una historia clínica y examen radiográfico para la selección de dientes premolares a extraer, de esta manera se descartó la presencia de caries dental como factor bacteriano, así como patología a nivel de la zona periapical ó fractura dentaria.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la UANL y se llevó a cabo de acuerdo con las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki, 1964 y sus modificaciones posteriores. Se explicó a los pacientes sobre las especificaciones e implicaciones del proyecto de investigación. El consentimiento informado se obtuvo de todos los donantes.

5.2 Extracción de piezas dentales

Para la extracción de las piezas dentales se utilizó un protocolo modificado para garantizar la vitalidad y óptimas condiciones del tejido pulpar. Primeramente se indicaron a los donadores colutorios bucales con clorhexidina (CHX) al 0.12% (Consepsis, Ultradent USA) previo a la cita durante 1 semana, esto con el objetivo de disminuir la carga bacteriana evitando contaminación de los tejidos periapicales posterior a la extracción dental.

Una vez transcurrido el tiempo de profilaxis, se realizaron las extracciones de los premolares aplicando benzocaína al 20% (Oralson, USA) en el sitio de la punción e infiltrando mepivacaína al 3% (Septodont, USA) como anestésico local.

El procedimiento quirúrgico se realizó de manera atraumática en el menor tiempo posible para garantizar la integridad dental y pulpar, utilizando un instrumento quirúrgico tipo Hollenback (Hu-Friedy, USA) para la debridación del tejido blando y posteriormente las piezas dentales fueron luxadas utilizando elevadores rectos de hoja estrecha y ancha (Hu-Friedy).

Una vez extraídas las piezas dentales, se lavaron con buffer de fosfatos 1X (PBS) (Gibco-Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) para retirar restos de sangre e inmediatamente fueron inmersas en tubos estériles de 50 ml (Corning, NY, USA) que contenían una solución de transporte compuesta por PBS 1X, penicilina 100 U/ml, estreptomicina 100 µg/ml y anfotericina B 0.25 µg/ml (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

5.3 Obtención de ligamento periodontal

Una vez en el laboratorio, el ligamento periodontal de los premolares fue retirado cuidadosamente utilizando una hoja de bisturí número 15. A continuación, las muestras obtenidas fueron colocadas en tubos Eppendorf (Eppendorf, Inc., Enfield, USA) de 1.5 ml con 1 ml de solución de transporte, posteriormente se etiquetaron las muestras y se conservaron en refrigeración a 4° C. Las muestras de ligamento periodontal se obtuvieron de 20 premolares humanos extraídos por razones de Ortodoncia de pacientes sanos. Finalmente fue incluido dentro del estudio solamente el tejido del paciente más joven (18 años de edad).

5.4 Disgregación del ligamento periodontal

La porción de tejido obtenida se colocó en una solución de 3 mg/ml de colagenasa tipo I y 4 mg/ml de dispasa (Sigma-Aldrich) durante 30 minutos a 37° C en baño de María. Pasado el tiempo de digestión enzimática se lavó la muestra 3 veces con PBS 1X utilizando

centrifugación a 1200 rpm durante 10 minutos para finalmente re-suspender el botón celular y filtrar con una malla de nylon de 70 µm (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

6.5 Cultivo celular

La suspensión de células de ligamento periodontal fue centrifugada a 1200 rpm durante 10 minutos realizando 2 lavados con PBS 1X; las células fueron resuspendidas en medio completo de crecimiento compuesto de Dulbecco's modified Eagle's medium-Ham's F12 (DMEM-F12) suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (Gibco-Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), 2 mM de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina y 0.25 µg/ml de anfotericina B (Sigma-Aldrich). Las células fueron cultivadas a 37° C en una atmosfera con 95% de humedad y 5% de CO₂ durante 3 semanas en frascos de 25 cm² (Corning). El medio fue renovado cada 3 días (Corning) (Figura 1).

Obtención de medios condicionados

Para obtener los medios condicionados, los GICs Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem se prepararon de acuerdo con las especificaciones del fabricante (1 cucharada y 1 gota de polvo y líquido, respectivamente, por porción) y luego se incubaron en 400 µl de medio de crecimiento durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂. Se utilizó medio de cultivo como control negativo. Después de la incubación, las muestras fueron centrifugadas a 10,000 rpm durante 5 minutos para obtener los sobrenadantes.

Ensayo de citotoxicidad

Las PDLSCs se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 2 x 10⁴ células por pozo, manteniendo estas en medio de crecimiento por 24 horas (Corning Inc., Corning, NY, USA). Los medios condicionados fueron añadidos a diluciones de 1:2, 1:4, 1:8 y 1:20 respectivamente. El medio de crecimiento fue utilizado como control negativo. Después de 24 horas de incubación, se eliminó el medio y las células se lavaron 3 veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS). El ensayo de citotoxicidad se realizó de acuerdo al

protocolo de Larsson y Nygren (Larsson and Nygren, 1989; Laredo-Naranjo *et al.*, 2016). Brevemente, el diacetato de fluoresceína (FDA; Sigma-Aldrich) se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich) y se mantuvo congelado a -20 °C como solución madre (10 mg/ml). El FDA se diluyó en PBS a 10 µg/ml y se añadieron 200 µl a cada pocillo. Las placas fueron incubadas durante 30 minutos a 37 °C en oscuridad y posteriormente escaneadas en un lector GloMax® Multi + Microplate Multimode (Promega, Madison, WI, USA) a 495 nm. Los datos fueron analizados para determinar la viabilidad celular (%).

Tinción de cristal violeta

Las PDLSCs tratadas se lavaron y luego se fijaron con formalina neutra amortiguada al 10% (BDH Chemicals, Ltd, Londres, Reino Unido) por 30 minutos a temperatura ambiente. Las células fijadas fueron teñidas con una solución de cristal violeta al 1% (Sigma-Aldrich) durante 1 minuto y luego lavadas 2 veces usando PBS. Las células se analizaron en un microscopio invertido Zeiss Axiovert 200M (Carl Zeiss, Göttingen, Alemania).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante una prueba *t* de diferencia de proporciones. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos en todos los tratamientos. El análisis se realizó con el programa SPSS para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

6. RESULTADOS

La citotoxicidad de las PDLSCs expuestas a los medios condicionados en diferentes diluciones (1: 2, 1: 4, 1: 8 y 1:20) fue evaluada usando un ensayo fluorométrico. En general, las células tratadas con los medios condicionados de Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem sufrieron daño y muerte celular dependiente de la dosis (Tabla 1). Después de la exposición al Fuji Ortho un alto porcentaje de viabilidad celular se mantuvo (73, 95, 95 y 99%) así como para Glasion (75, 97, 97, 99%) ($p < 0.1271$). El Ketac Cem fue altamente tóxico para las células en las diluciones 1:2, 1:4 y 1:8 (34, 58 y 64%) ($p < 0.0032$); sin embargo, solamente la mayor dilución 1:20 mostró una alta viabilidad celular el (97%).

		Media	DE	Mediana	Min	Max	Viabilidad celular (%)	z	Valor p
	Control	545,000	7071	545,000	540,000	550,000	100		
Fuji Ortho	1:2	400,000	14142	400,000	390,000	410,000	73.39	1.20	0.1151
	1:4	520,000	14142	520,000	510,000	530,000	95.41	0.44	0.3336
	1:8	520,000	14142	520,000	510,000	530,000	95.41	0.44	0.3336
	1:20	540,000	14142	540,000	530,000	550,000	99.08	0.19	0.4247
Glasion	1:2	410,000	7071	410,000	405,000	415,000	75.23	1.15	0.1271
	1:4	530,000	7071	530,000	525,000	535,000	97.25	0.34	0.3707
	1:8	530,000	14142	530,000	520,000	540,000	97.25	0.34	0.3707
	1:20	540,000	7071	540,000	535,000	545,000	99.08	0.19	0.4247
Ketac Cem	1:2	190,000	0	190,000	190,000	190,000	34.86	2.73	0.0032
	1:4	320,000	14142	320,000	310,000	330,000	58.72	1.68	0.0475
	1:8	350,000	7071	350,000	345,000	355,000	64.22	1.20	0.1151
	1:20	530,000	14142	530,000	520,000	540,000	97.25	1.20	0.1151

Tabla 1. Comparación entre grupo control y grupos experimentales sobre la viabilidad de células madre de ligamento periodontal (PDLSCs).

Por otra parte, los cambios morfológicos en las PDLSCs después de la exposición a los medios condicionados se analizaron utilizando una tinción de violeta cristal. Las células del control negativo mostrarán una forma típica de huso con núcleos esféricos, extensiones citoplásmicas y un clara adherencia estricta a la superficie del pozo. La exposición de PDLSCs al Ketac Cem fotocurado en las diluciones 1:2, 1:4 y 1:8 indujo muerte celular, así como alteraciones morfológicas de las extensiones citoplásmicas respecto al control negativo (Figura. Por el contrario, los medios condicionados Fuji Ortho y Glasion, no mostraron cambios significativos tanto en número como morfología celular excepto en la dilución 1:2 donde fue observada una morfología alterada respecto al control negativo (Figura 1, 2, 3 y 4).

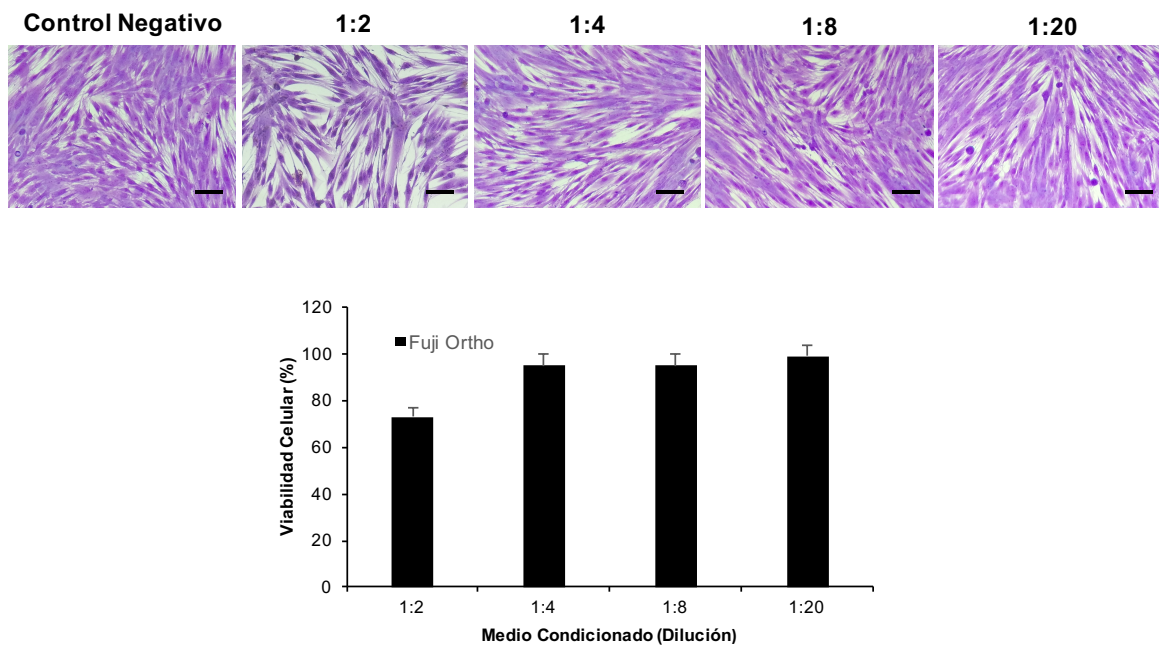


Figura 1. Morfología celular y citotoxicidad posterior a 24 horas de exposición a un medio condicionado de Fuji Ortho. Las células madre de ligamento periodontal (PDLSCs) fueron teñidas con cristal violeta y analizadas por microscopía de campo claro. Las imágenes representativas de Fuji Ortho muestran una alta confluencia celular sin aparentes cambios citoplasmáticos en relación con el control negativo excepto en la dilución 1:2. Magnificación original 10x, barra de escala=100 μ m. Barras de error indican \pm SD (n= 3).

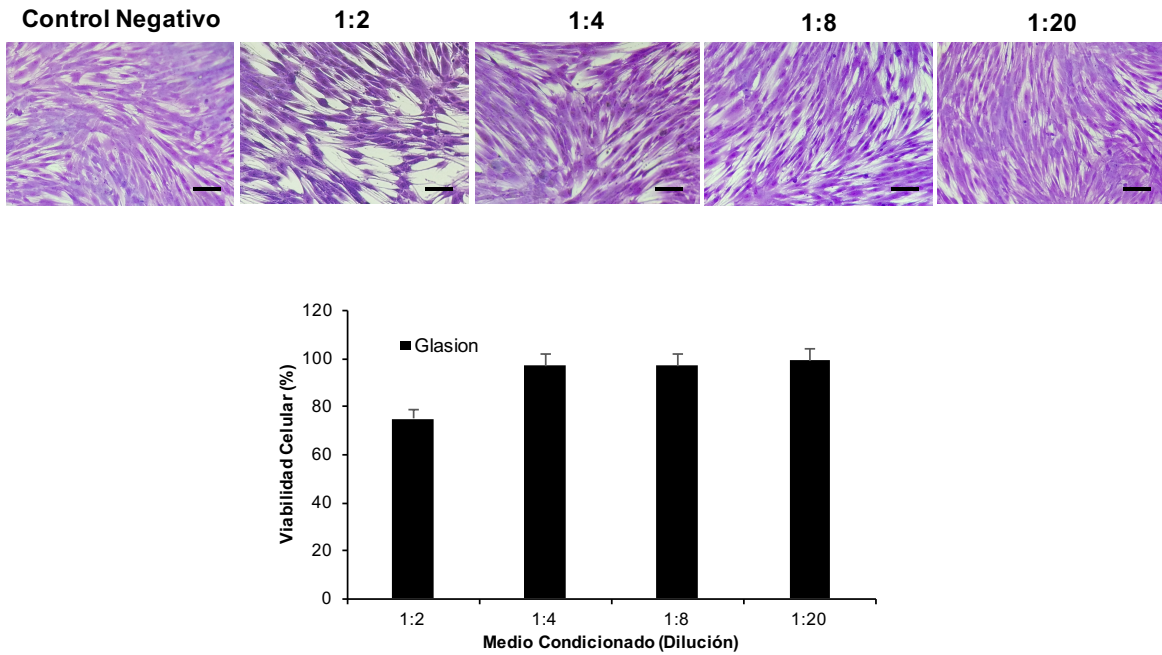


Figura 2. Morfología celular y citotoxicidad posterior a 24 horas de exposición a un medio condicionado de Glasion. Las células madre de ligamento periodontal (PDLSCs) fueron teñidas con cristal violeta y analizadas por microscopía de campo claro. Las imágenes representativas de Glasion así como el grafico muestran una alta confluencia celular sin aparentes cambios citoplasmáticos en relación con el control negativo excepto en la dilución 1:2. Magnificación original 10x, barra de escala=100 μ m. Barras de error indican \pm SD (n= 3).

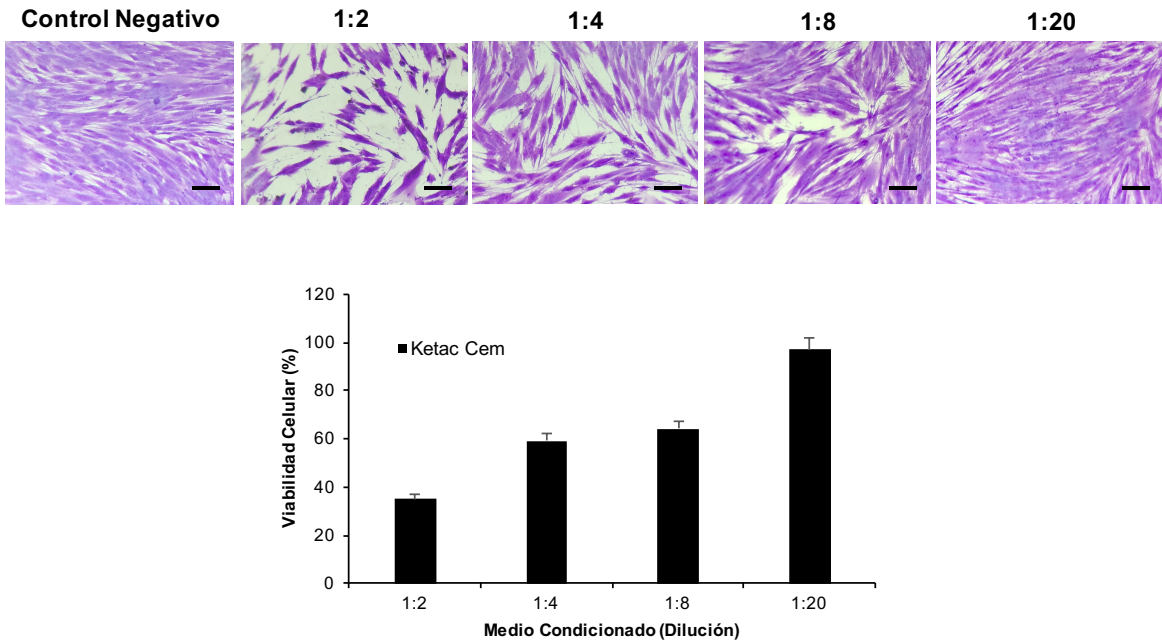


Figura 3. Morfología celular y citotoxicidad posterior a 24 horas de exposición a un medio condicionado de Ketac Cem. Las células madre de ligamento periodontal (PDLSCs) fueron teñidas con cristal violeta y analizadas por microscopía de campo claro. Las imágenes representativas y el grafico muestran una disminución en la confluencia celular con cambios citoplasmáticos en relación con el control negativo excepto en la dilución 1:20. Magnificación original 10x, barra de escala=100 μ m. Barras de error indican \pm SD (n= 3).

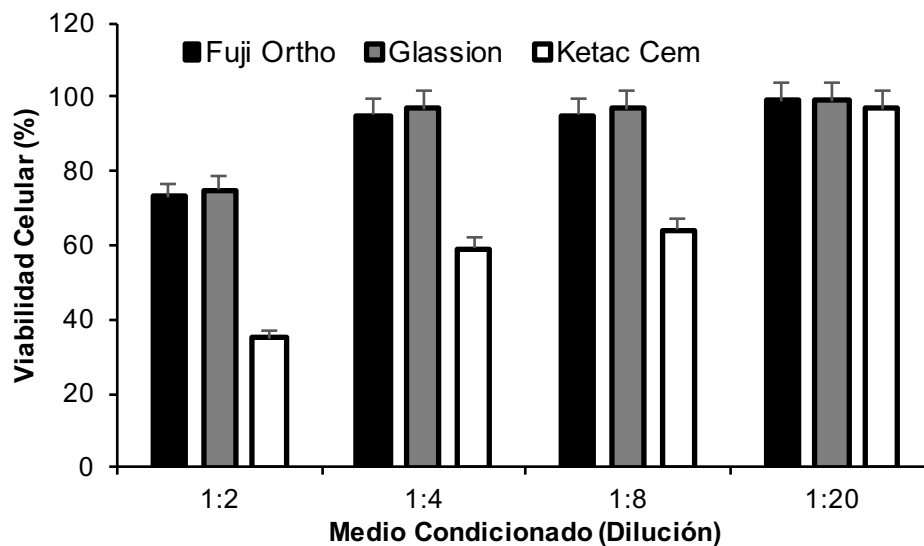
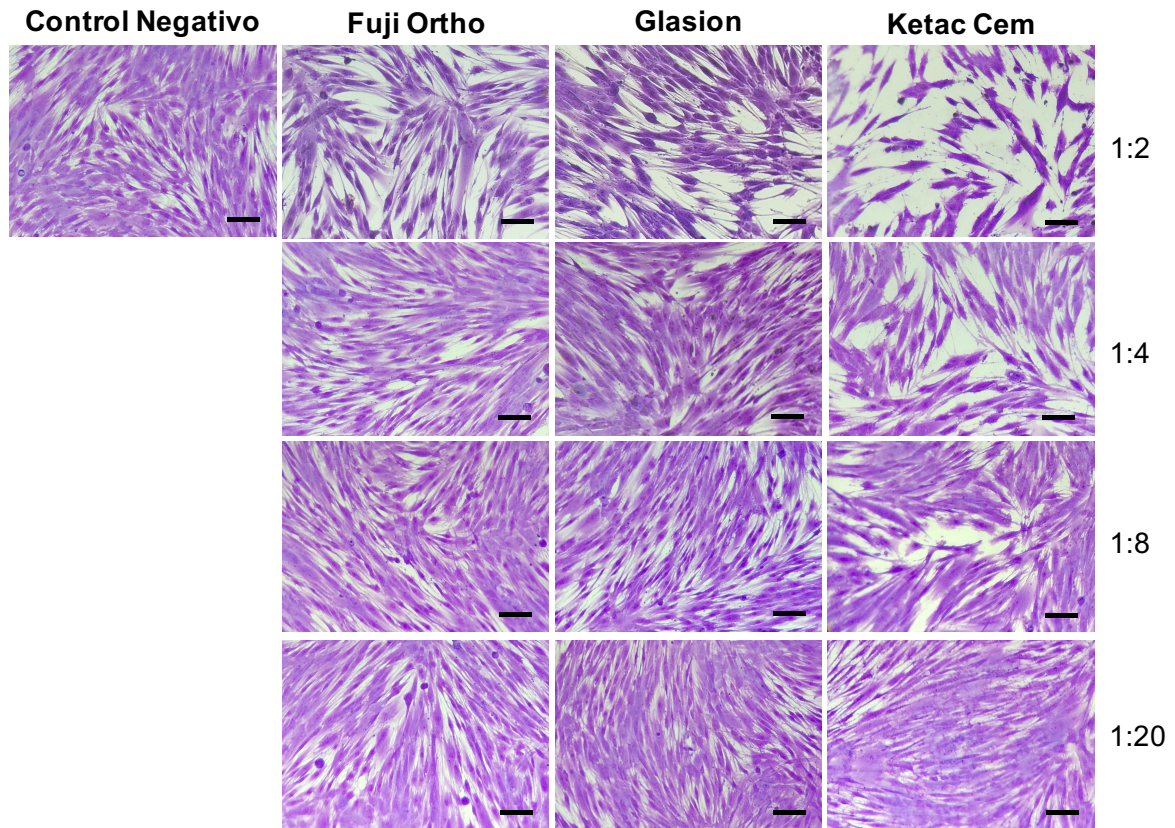


Figura 4. Morfología celular y citotoxicidad comparativa posterior a 24 horas de exposición a los medios condicionados Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem. Las células madre de ligamento periodontal (PDLSCs) fueron teñidas con cristal violeta y analizadas por microscopía de campo claro. Las imágenes representativas y el gráfico muestra una clara diferencia en la confluencia celular con aparentes cambios citoplasmáticos entre Ketac Cem en relación con Fuji Ortho, Glasion y el control negativo excepto en la dilución 1:20. Magnificación original 10x, barra de escala=100 μ m. Barras de error indican media \pm SD (n= 3).

7. DISCUSIÓN

Los GICs son reconocidos por su amplia gama de aplicaciones en Odontología en función de sus excelentes propiedades (Wilson and Kent, 1972; Berg and Croll 2015; Young, 2006). A pesar de estas características, la biocompatibilidad de ciertos GICs no siempre es satisfactoria, lo que ha sido determinado en previos informes que describen su alta citotoxicidad (Chen *et al.*, 2016; Monhd *et al.*, 2015; Stanislawski *et al.*, 1999; de Souza Costa *et al.*, 2003).

En este proyecto de investigación se proporciona evidencia de que el GIC Ketac Cem es capaz de disminuir la viabilidad de las PDLSCs *in vitro*. Una posible explicación para esta toxicidad es la cantidad de fluoruro liberada por Ketac Cem en comparación con Fuji Ortho y Glasion, todos ellos cementos ampliamente utilizados para el cementado de bandas de Ortodoncia ((Fricker, 1989; Mizrahi, 1988; Stirrup, 1991; O'Reilly and Featherstone, 1987).

Se sabe que los GICs producen daño celular debido a que estos biomateriales son capaces de liberar fluoruro, un elemento asociado a toxicidad sistémica. Un estudio anterior sugirió que Ketac Cem induce alta citotoxicidad en células humanas porque libera una mayor cantidad de fluoruro en comparación con otros GICs (Kanjevac *et al.*, 2012).

Otro factor responsable es la alta acidez causada por Ketac Cem lo que también puede contribuir a una disminución significativa de la viabilidad de las PDLSCs, las cuales son muy sensibles a cambios bruscos de pH, esto en todas las diluciones analizadas excepto en 1:20.

Las pruebas *in vitro* para la evaluación o comparación de citotoxicidad tienen características atractivas (Hume, 1984); sin embargo, la ausencia de microorganismos y de interacciones moleculares propias de un ensayo *in vivo* puede jugar un papel fundamental en la interpretación de los resultados. Por lo tanto, una extrapolación directa de estos ensayos a situaciones clínicas es relativa (Gilbert Triplett and Budinskaya, 2017).

Se ha afirmado que los GICs tienen baja toxicidad de pulpa dental en uso clínico (McLean, 1984), aunque su efecto sobre el ligamento periodontal no había sido explorado.

Lo anterior es importante debido a que dichos GICs durante el cementado de bandas en Ortodoncia frecuentemente están próximos al ligamento periodontal y por consecuencia son capaces de provocar respuestas celulares como toxicidad. Debido a esto es necesario evaluar el grado de citotoxicidad de estos biomateriales, evitando así efectos adversos en el periodonto, los cuales no permitan la regeneración fisiológica del tejido.

Este es el primer informe que evalúa el efecto citotóxico de 3 diferentes GICs utilizados para cementación de bandas de Ortodoncia sobre PDLSCs. Aunque hemos encontrado resultados prometedores, para evaluar la influencia de otros factores como la interacción de las bacterias, participación del sistema inmunológico y moléculas orgánicas se requieren más estudios.

8. CONCLUSIONES

- Es posible aislar y cultivar una población de PDLSCs derivada de premolares humanos, aunque la cantidad de ligamento periodontal sea menor en comparación con otros tejidos.
- Los medios condicionados Fuji Ortho, Glasion y Ketac Cem contienen moléculas que interactúan con las PDLSCs.
- Ketac Cem induce la mayor citotoxicidad en comparación con Fuji Ortho y Glasion, excepto en la dilución 1:20 donde la viabilidad celular es similar al control negativo.
- Ketac Cem es capaz de inducir cambios morfológicos en las PDLSCs, así como una disminución de la confluencia celular en todas las diluciones excepto en 1:20.
- Fuji Ortho y Glasion no presentan diferencias significativas respecto al control negativo, por lo tanto, su aplicación para cementado de bandas en Ortodoncia es recomendable debido a que tienen una alta biocompatibilidad sobre PDLSCs.

9. LITERATURA CITADA

1. Anusavice KJ. Dental cements for restoration and pulp protection. In: Phillips science of dental materials. 10th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 526.
2. Prosser HJ, Powis DR, Brant P, Wilson AD. Characterization of glass-ionomer cements. The physical properties of current materials. *J Dent* 1984;12:231-40.
3. Kocadereli I, Ciger S. Retention of orthodontic bands with three different cements. *J Clin Pediatr Dent* 1995;19:127-30.
4. Saito S, Tosaki S, Hirota K. Characteristics of glass ionomer cements. In: Davidson CL, Mjör Ivar A, editors. *Advances in glass ionomer cements*. Chicago: Quintessence Publishing Co; 1999.
5. McComb D. Luting in orthodontic practice. In: Davidson CL, Mjör Ivar A, editors. *Advances in glass ionomer cements*. Chicago: Quintessence Publishing Co; 1999.
6. White LW. Glass ionomer cement. *J Clin Orthod* 1986;20: 387-91.
7. Voss A, Hickel R, Molkner S. In vivo bonding of orthodontic brackets with glass-ionomer cement. *Angle Orthod* 1993;63:149-53.
8. Fricker JP. A 12-month clinical study comparing four glassionomer cements for the cementation of orthodontic molar bands. *Aust Orthod J* 1989;11:10-13.
9. Mizrahi E. Glass ionomer cements in orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988;93:505-7.

10. Stirrup DR. A comparative clinical trial of a glass-ionomer and a zinc-phosphate cement for securing orthodontic bands. *Br J Orthod* 1991;18:15-20.
11. O'Reilly MM, Featherstone JDB. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;92:33-40.
12. Millett DT, McCabe J. Orthodontic bonding with glass-ionomer cement: a review. *Eur J Orthod* 1996;18:385-99.
13. Nicholson JW. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. *Biomaterials* 1998;19:485-94.
14. Ewoldsen N, Herwig L. Decay-inhibiting restorative materials: past and present. *Compend Contin Educ Dent* 1998;19:981-4, 986, 988.
15. Diaz-Arnold AM, Vargas MA, Haselton DR. Current status of luting agents for fixed prosthodontics. *J Prosthet Dent* 1999;81: 135-41.
16. Banks P, Macfarlane T. Bonded versus banded first molar attachments: a randomized controlled clinical trial. *J Orthod*. 2007; 34:128–136.
17. Pandis N, Christensen L, Eliades T. Long-term clinical failure rate of molar tubes bonded with a self-etching primer. *Angle Orthod*. 2005; 75:1000–1002.
18. Durning P, McCabe JF, Gordon PH. A laboratory investigation into cements used to retain orthodontic bands. *Br J Orthod*. 1994; 21:27–32.
19. Millett DT, Gordon PH. The performance of first molar orthodontic bands cemented with glass ionomer cement—a retrospective analysis. *Br J Orthod*. 1992; 19:215–220.

20. WilliamsJD, Swartz ML, Phillips RW. Retention of orthodontic bands as influenced by the cementing media. *Angle Orthod.* 1965; 35:278–285.
21. Gottlieb EL, Nelson AH, Vogels DS. JCO study of orthodontic diagnosis and treatment procedures. Part 1. Results and trends. *J Clin Orthod.* 1996; 30:615–629.
22. Brown D. Orthodontic band cements. *Br J Orthod.* 1989; 16:127–131.
23. Norris DS, McInnes-Ledoux P, Schwaninger B, Weinberg R. Retention of orthodontic bands with new fluoride-releasing cements. *Am J Orthod.* 1986; 89:206–211.
24. Keim RG, Gottlieb EL, Nelson AH, Vogels DS. JCO study of orthodontic diagnosis and treatment procedures. Part 1. Results and trends. *J Clin Orthod.* 2002; 36:553–568.
25. Creanor SL, Carruthers LM, Saunders WP, Strang R, Foye RH. Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. *Caries Res* 1994; 28:322–328.
26. DeSchepper EJ, White RR, Von der Lehr W. Antibacterial effects of glass ionomers. *Am J Dent.* 1989; 2:51–56.
27. Hotz P, McLean JW, Sced I, Wilson AD. The bonding of glass ionomer cements to metal and tooth substrates. *Br Dent J.* 1977; 142:41–47.
28. Wilson AD, Paddon JM, Crisp S. The hydration of dental cements. *J Dent Res.* 1979; 58:1065–1071.
29. Mount GJ. Buonocore Memorial Lecture. Glass-ionomer cements: past, present and future. *Oper Dent.* 1994; 19:82–90.

30. McCabe JF. Resin-modified glass-ionomers. *Biomaterials*. 1998; 19:521–527.
31. Aggarwal M, Foley TF, Rix D. A comparison of shear-peel band strengths of 5 orthodontic cements. *Angle Orthod*. 2000; 70:308–316.
32. Mennemeyer VA, Neuman P, Powers JM. Bonding of hybrid ionomers and resin cements to modified orthodontic band materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1999; 115:143–147.
33. Millett DT, Kamahli K, McColl J. Comparative laboratory investigation of dual-cured vs. conventional glass ionomer cements for band cementation. *Angle Orthod*. 1998; 68:345–350.
34. Clark JR, Ireland AJ, Sherriff M. An in vivo and ex vivo study to evaluate the use of a glass polyphosphonate cement in orthodontic banding. *Eur J Orthod*. 2003; 25:319–323.
35. Reich E and Hiller KA. Reasons for tooth extraction in the western states of Germany. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. 1993; 21: 379–383.
36. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontology 2000*. 2012; 59: 203–227.
37. Yamada Y, Ueda M, Hibi H, Baba S. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: a clinical case report. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 2006; 26: 363–369.

38. Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *Journal of Dental Research*. 2009; 88: 792–806.
39. Seo BM, Miura M, Gronthos S et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet*. 2004; 364:149–155.
40. Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Le AD. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *The Journal of Immunology*. 2009; 183: 7787–7798.
41. Morszeck C, Götz W, Schierholz J et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biology*. 2005; 24: 155–165.
42. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000; 97: 13625–13630.
43. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of Endodontics*. 2008; 34: 166–171.
44. Miura M, Gronthos S, Zhao M et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003; 100: 5807–5812.
45. Park JY, Jeon SH, Choung PH. Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis. *Cell Transplantation*. 2011; 20: 271–285.

46. Liu Y, Zheng Y, Ding G et al. Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells*. 2008; 26: 1065–1073.
47. Huang CY, Pelaez D, Dominguez-Bendala J, Garcia-Godoy F, Cheung HS. Plasticity of stem cells derived from adult periodontal ligament. *Regenerative Medicine*. 2009; 4: 809–821.
48. Zhu W and Liang M. Periodontal Ligament Stem Cells: Current Status, Concerns, and Future Prospects. *Stem Cells International*. 2015; 2015: 11.
49. Roozegar MA, Mohammadi TM, Havasian MR et al. In vitro Osteogenic impulse effect of Dexamethasone on periodontal ligament stem cells. *Bioinformation*. 2015; 11:96-100.
50. Wise GE, King GJ. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. *Journal of Dental Research*. 2008; 87:414–434.
51. Masella RS, Meister M. Current concepts in the biology of orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2006; 129: 458–468.
52. Narayanan AS, Page RC. Connective tissues of the periodontium: a summary of current work. *Collagen and Related Research*. 1983; 3: 33–64.
53. Gondivkar SM, Gondivkar RS, Gadbail AR et al. Chronic periodontitis and the risk of head and neck squamous cell carcinoma: facts and figures. *Experimental Oncology*. 2013; 35: 163–167.

54. Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E et al. Tumor necrosis factor α stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction. *The Journal of Experimental Medicine*. 2000; 191: 275–286.
55. Kim YS, Lee YM, Park JS et al. SIRT1 modulates high-mobility group box 1-induced osteoclastogenic cytokines in human periodontal ligament cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2010; 111: 1310–1320.
56. Yamamoto T, Kita M, Yamamoto K et al. Mechanical stress enhances production of cytokines in human periodontal ligament cells induced by *Porphyromonas gingivalis*. *Archives of Oral Biology*. 2011; 56: 251–257.
57. Liu N, Shi S, Deng M, et al. High levels of β -catenin signaling reduce osteogenic differentiation of stem cells in inflammatory microenvironments through inhibition of the noncanonical Wnt pathway. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2011; 26: 2082–2095.
58. Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2006; 129: 469.
59. Rios HF, Lin Z, Oh B et al. Cell- and gene-based therapeutic strategies for periodontal regenerative medicine. *Journal of Periodontology*. 2011; 82: 1223–1237.
60. Chen FM, Sun HH, Lu H et al. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. *Biomaterials*. 2012; 33: 6320–6344.

61. Zhang C., Li J., Zhang L et al. Effects of mechanical vibration on proliferation and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells. *Archives of Oral Biology*. 2012; 57: 1395–1407.
62. Kim T, Handa A, Iida J et al. RANKL expression in rat periodontal ligament subjected to a continuous orthodontic force. *Archives of Oral Biology*. 2007; 52: 244–250.
63. Liu J, Wang L, Liu W et al. Dental follicle cells rescue the regenerative capacity of periodontal ligament stem cells in an inflammatory microenvironment. *PLoS One*. 2014; 9: p. e108752.
64. Zheng W, Wang S, Ma D et al. Loss of proliferation and differentiation capacity of aged human periodontal ligament stem cells and rejuvenation by exposure to the young extrinsic environment. *Tissue engineering. Part A*. 2009; 15: 2363–2371.
65. Zhang J, An Y, Gao L et al. The effect of aging on the pluripotential capacity and regenerative potential of human periodontal ligament stem cells. *Biomaterials*. 2012; 33: 6974–6986.
66. Larsson R, Nygren P. A rapid fluorometric method for semiautomated determination of cytotoxicity and cellular proliferation of human tumor cell lines in microculture. *Anticancer Res*. 1989; 9: 1111-9.
67. Laredo-Naranjo MA, Carrillo-Gonzalez R, De La Garza-Ramos MA, et al. Antimicrobial properties and dental pulp stem cell cytotoxicity using carboxymethyl cellulose-silver nanoparticles deposited on titanium plates. *Acta Biomater Odontol Scand*. 2016; 2: 60-7.

68. Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry: the glass-ionomer cement. *Br Dent J.* 1972; 132: 133–5.
69. Berg JH, Croll TP. Glass ionomer restorative cement systems: an update. *Pediatr Dent.* 2015; 37: 116-24.
70. Young DA. The use of glass ionomers as a chemical treatment for caries. *Pract Proced Aesthet Dent.* 2006; 18: 248-50.
71. Chen S, Mestres G, Lan W, Xia W, Engqvist H. Cytotoxicity of modified glass ionomer cement on odontoblast cells. *J Mater Sci Mater Med.* 2016; 27: 116.
72. Mohd Zainal Abidin R, Luddin N, Shamsuria Omar N, Mohamed Aly Ahmed H. Cytotoxicity of fast-set conventional and resin-modified glass ionomer cement polymerized at different times on SHED. *J Clin Pediatr Dent.* 2015; 39: 235- 40.
73. Stanislawski L, Daniau X, Lauti A, Goldberg M. Factors responsible for pulp cell cytotoxicity induced by resin-modified glass ionomer cements. *J Biomed Mater Res.* 1999; 48: 277-88.
74. de Souza Costa CA, Hebling J, Garcia-Godoy F, Hanks CT. In vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements. *Biomaterials.* 2003; 24: 3853-8.
75. Kanjevac T, Milovanovic M, Volarevic V, et al. Cytotoxic effects of glass ionomer cements on human dental pulp stem cells correlate with fluoride release. *Med Chem.* 2012; 8: 40-5.
76. Hume WR. Effect of eugenol on respiration and division in human pulp, mouse fibroblasts, and liver cells in vitro. *J Dent Res.* 1984; 63: 1262-5.

77. Gilbert Triplett R, Budinskaya O. New frontiers in biomaterials. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2017; 29: 105-15.

78. McLean JW. Alternatives to amalgam alloys: 1. *Br Dent J.* 1984; 157: 432- 433.

RESUMEN BIOGRÁFICO

JORGE YITZHAK HAZHEMY GARZA SILVA

Candidato para el Grado de
Maestro en Ortodoncia

Tesis: CITOTOXICIDAD DE DIFERENTES CEMENTOS DE IONÓMERO DE VIDRIO PARA CEMENTACIÓN DE BANDAS EN ORTODONCIA SOBRE CÉLULAS MADRE DE LIGAMENTO PERIODONTAL

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacido en General Terán, Nuevo León, hijo de Jorge E. Garza Meza y Romana Silva Reyna.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Cirujano Dentista en el 2012.

Experiencia Profesional: Profesor de la Facultad de Odontología de Universidad Autónoma de Nuevo León desde el 2015.