

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



**POTENCIAL OSTEOGÉNICO DEL FLUORURO DE SODIO SOBRE CELULAS
MADRE DE PULPA DENTAL CD146 + IN VITRO**

Por

YERED HONORIO MUÑOZ SALZAR

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Maestría en Odontología Avanzada.

23 DE NOVIEMBRE DEL 2022

Maestría en Odontología Avanzada.

**POTENCIAL OSTEOGÉNICO DEL FLUORURO DE SODIO SOBRE CELULAS
MADRE DE PULPA DENTAL CD146 + IN VITRO**

YERED HONORIO MUÑOZ SALZAR

Comité de Tesis

DRA. PAULA ISABEL PALOMARES GORHAM
Presidente

DR. CASIANO DEL ÁNGEL MOSQUEDA
Secretario

DRA. NORMA CRUZ FIERRO
Vocal

Maestría en Odontología Avanzada.

**POTENCIAL OSTEOGÉNICO DEL FLUORURO DE SODIO SOBRE CELULAS
MADRE DE PULPA DENTAL CD146 + IN VITRO**

TESISTA
YERED HONORIO MUÑOZ SALAZAR

Comité de Tesis

DIRECTOR DE TESIS
DR. CASIANO DEL ANGEL MOSQUEDA

CODIRECTOR DE TESIS
DRA. EYRA RANGEL PADILLA

ASESOR METODOLÓGICO
MARCELA ALEJANDRA GLORIA GARZA

ASESOR METODOLÓGICO
GUSTAVO ISRAEL MARTINEZ GONZALEZ

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi mas sincero agradecimiento a mi director de tesis al Dr. Cassiano Del Angel Mosqueda por haberme instruido en el area de laboratorio para llevar a cabo las investigaciones necesarias para este proyecto. Sin su ayuda este trabajo no hubiese sido posible. Gracias por sus orientaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento aprobado para el proyecto de Investigación Básica SEP-CONACYT A1-S-31196.

Al Laboratorio de Biología Celular de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

A mis padres Honorio Muñoz Eguía y Daila Salazar Salazar que me han apoyado incondicionalmente en todo momento, sin la ayuda de ellos no hubiera sido posible; siempre aconsejándome a tomar las mejores decisiones para ser una mejor persona y profesionista.

Al Posgrado de Maestría en Odontología Avanzada de la UANL por abrirme las puertas y haberme dado la oportunidad de formar parte del mismo. Agradecer a todo el personal docente que labora en el posgrado por su apoyo incondicional, por su amabilidad y por haberme transmitido con dedicación y entusiasmo los conocimientos de esta hermosa especialidad.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	i
NOMENCLATURA.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	IV
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- HIPÓTESIS.....	3
3.-OBJETIVOS.....	4
3.1 Objetivo General	4
3.2.- Objetivo específico	4
4. ANTECEDENTES	5
4.1 Células Madre Mesenquimales	5
4.2 Célula Madre de la pulpa dental	6
4.3 Tipos De Fluoruro Utilizados En Odontología.....	8
4.4 Fluoruro de Sodio	9
4.5 Diferenciación osteogénica.....	12
4.6 Regeneración ósea	13
5. MÉTODOS.....	15
5.1 Análisis de la muestra.....	15
5.2. Aislamiento y Cultivo de DPSC	15
5.3 Expresión del marcador CD146 en DPSC.....	17
5.4 Tinción de Rojo Alizerina.....	18
5.5 Diferenciación Osteogénica.....	18
5.6 Análisis estadístico	19

6. RESULTADOS	20
7. DISCUSIÓN.....	28
8. CONCLUSIONES.....	29
9. LITERATURA CITADA.....	30
10.RESUMEN BIOGRAFICO.....	34

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Plano de localización general	4
2. Plano de provincias isiográficas.....	7
3. Registros de las estaciones meteorológicas de la zona.....11	
4. Plano de regiones hidrológicas13	
5. Mapa de geología estructural15	

NOMENCLATURA

MSC	Células Madre Mesenquimales
Naf	Fluoruro de Sodio
OMSC	Células Madre Mesenquimales Orales
DPSC	Células Madre de Pulpa Dental
SCAP	Células Madre de la Papila Apical
PDLSC	Células Madre de Ligamentos Periodontales

RESUMEN

Introducción: Las células madre mesenquimales son células que son caracterizadas por sus propiedades de autorrenovación y diferenciación. Las células madre pulparas presentan una capacidad regenerativa. Los fluoruros han sido investigados a lo largo del tiempo para observar la eficacia para la prevención de la caries o la disminución de dicha enfermedad.

Objetivo: Evaluar la citotoxicidad del fluoruro de sodio sobre células madre de pulpa dental CD146 + in vitro. **Metodología:** Se seleccionaron pacientes y piezas dentales, Pacientes sanos entre 15 y 20 años, Dientes sin caries y sin fracturas, para lograr valuar el efecto del factor de crecimiento epidérmico sobre la diferenciación dentinogénica de células madre de pulpa dental CD146 + in vitro por medio de aislamiento y cultivo de células madre de pulpa dental y aplicando Tinción de alizarina roja e inmunofluorescencia. **Resultados:** Altas concentraciones de fluoruro de sodio (mayores a 50ppm) inducen muerte celular, cambios morfológicos, por lo tanto menor confluencia celular in vitro, sin embargo, concentraciones menores a 50ppm no ejercen citotoxicidad sobre una subpoblación de células madre de pulpa dental CD146+ in vitro. **Conclusión:** Una combinación adecuada de factores de crecimiento, mejora la capacidad de diferenciación de las células madre de la pulpa dental y proporciona nuevos enfoques para la investigación y la terapéutica de las células madre de la pulpa dental in vitro.

Palabras Clave: Mesenchymal stem cells, Dental stem cells, Dental pulp stem cells, Dentinogenic differentiation, Growth factors.

ABSTRACT

Introduction: Mesenchymal stem cells are cells that are characterized by their self-renewal and differentiation properties. Pulpal stem cells have a regenerative capacity. Fluorides have been investigated over time for effectiveness in preventing or reducing caries. **Objective:** To evaluate the cytotoxicity of sodium fluoride on CD146 + dental pulp stem cells in vitro.

Methodology: Patients and dental pieces, healthy patients between 15 and 20 years old, teeth without caries and without fractures, were selected to assess the effect of epidermal growth factor on the dentinogenic differentiation of CD146 + dental pulp stem cells in vitro by means of isolation and culture of stem cells from dental pulp and applying Alizarin red staining and immunofluorescence. **Results:** High concentrations of sodium fluoride (greater than 50ppm) induce cell death, morphological changes, therefore less cell confluence in vitro, however, concentrations less than 50ppm do not exert cytotoxicity on a subpopulation of CD146+ dental pulp stem cells in vitro. **Conclusion:** An appropriate combination of growth factors improves the differentiation capacity of dental pulp stem cells and provides new approaches for in vitro dental pulp stem cell research and therapeutics.

Key Words: Mesenchymal stem cells, Dental stem cells, Dental pulp stem cells, Dentinogenic differentiation, Growth factors, Epidermal growth factor.

1.- INTRODUCCIÓN

Las células madre mesenquimales son células que son caracterizadas por sus propiedades de autorrenovación y diferenciación. Estas células desempeñan un papel muy importante en la medicina regenerativa y pueden llegar a tener capacidades de reparativas (Gugliandolo A et al 2021).

Las células madre mesenquimales orales se aislaron principalmente de la pulpa dental pero también se pueden encontrar en la papila apica, ligamento periodontal, folículo dental, germe dental, hueso alveolar entre otros (Gugliandolo A et al 2021). Las células pulparas se han encontrado con buena capacidad para regeneración ósea con buen potencial de diferenciación osteogénica y propiedades paracrinas e inmunomoduladores (Lee YC et al 2019).

Las células madre de la pulpa dental se aíslan principalmente de los terceros molares extraídos y se estima obtener una fuente de estudios para lograr aplicaciones de medicina regenerativa e ingeniería de tejidos para la regeneración de la pulpa y diferentes estructuras dentales (Xu S, et al 2021).

Durante los últimos años se ha encontrado que los productos dentales que contienen fluoruro de sodio, estado investigando sobre la citotoxicidad del fluoruro de sodio son eficaces para la prevención de la caries en pacientes jóvenes y han logrado una disminución de dicha enfermedad dental (Wierichs RJ., et al 2022).

El Fluoruro de sodio se puede encontrar en diferentes presentaciones en productos dentales, uno de los más comunes son la pasta dental y los barnices con base resinosa o sintética diseñados para promover y prolongar sus efectos anticaries y remineralizantes. Uno de los productos con más uso en la consulta privada dental, según la Asociación Estadounidense de Odontología Pediátrica (AAPD), es el barniz de fluor tópico el cual contiene fluoruro de sodio al 5%. (Wierichs RJ., et al 2022).

En la actualidad es un reto muy importante hacia el área de la endodoncia, donde día a día se vive con la problemática que aun no se encuentra con claridad el tema sobre alguna solución que sea capaz de proporcionar una regeneración del tejido pulpar.

En este estudio se estimó que el fluoruro de sodio en bajas concentraciones no llega a inducir una citotoxicidad sobre la subpoblación de las células madre que se encuentran en el tejido pulpar CD146+ in vitro..

Se busco evaluar la citotoxicidad del fluoruro de sodio sobre las células madres de la pulpa dental CD146 + in vitro; aislar una subpoblación de células madre de la pulpa dental CD146 utilizando disociación; Evaluar la expresión del marcador de superficie CD146 en células madre de la pulpa dental mediante microscopia de fluorescencia; Evaluar la citotoxicidad del fluoruro de sodio sobre células madre de la pulpa dental CD146 utilizando el ensayo de FMCA; Analizar los cambios morfológicos de las células madre de la pulpa dental CD146 expuestas al fluoruro de sodio utilizando microscopia de fluorescencia.

En este estudio se realizó una obtención de piezas dentales sin caries y fracturas en pacientes santos entre los 15 y 20 años. Después se realizó la obtención de la pulpa dental mediante la odontosección para ser incubado por 2 semanas y poder evaluar el efecto del factor de crecimiento epidérmico sobre la diferenciación dentinogénica de células madre de la pulpa dental CD146+ in vitro mediante el aislamiento y cultivo de las células madre de la pulpa dental utilizando la tinción de alizarina roja e inmunofluorescencia

2.- HIPÓTESIS

El floruro de sodio en bajas concentraciones incrementa la diferenciacion osteogenica un una subpoblacion de celulas madre de pulpa dental CD146 + in vitro.

3.- Objetivo

3.1.- Objetivo General

Evaluar el potencial ontogénico del fluoruro de sodio sobre células madre de pulpa dental CD146 + in vitro.

3.2.- Objetivos específicos

3.1.1 Aislar una subpoblación de células madre de pulpa dental CD146 utilizando disociación enzimática.

3.1.2 Evaluar la expresión del marcador de superficie CD146 en células madre de pulpa dental mediante microscopia de fluorescencia.

3.1.3 Evaluar la citotoxicidad del fluoruro de sodio sobre células madre de pulpa dental CD146 utilizando el ensayo de FMCA.

3.1.4 Analizar los cambios morfológicos de las células madre de la pulpa dental CD146 expuestas a fluoruro de sodio utilizando microscopia de fluorescencia.

3.1.5 Analizar el efecto ontogénico del fluoruro de sodio mediante la tinción de alizarina roja.

4. ANTECEDENTES

4.1 Células Madre Mesenquimales

Las células madre mesenquimales (CMM) son células multipotentes, donde su morfología es de tipo fibroblastoide y presenta plasticidad hacia linajes como condrocitos, osteocitos y adipocitos. Presentan una forma como de huso, presentando un núcleo alargado con 2 o 3 nucleolos.

Existen 3 tipos de subpoblaciones clasificadas como RS-1, donde son células pequeñas fusiformes y agranulares; RS-2 donde son células pequeñas y agranulares; y las células mesenquimales maduras (CMMm) la cual son células grandes y granulares (Socarras et al 2013). Estas pueden ser aisladas desde la célula madre, el cordón umbilical, tejido adiposo, páncreas, hígado, músculo esquelético, membrana sinovial, dermis y la pulpa dental; siendo las primeras tres las más empleadas (Socarras et al 2013; Mazuda K et al 2021).

Las CMM tienen una capacidad de reparar tejidos, donde acceden a los órganos blancos para así efectuar en proceso terapéutico, en donde fueron dañados por diversas enfermedades degenerativas (Fu X, et al 2019; Rodríguez A et al 2015). Estas células se administran y se localizan en los tejidos por mecanismos dependientes de P-selectina y VCAM1. Después tienden a migrar con las quimiocinas para ser unidos a los receptores y así activar las metaloproteinasas que degradaran posteriormente a la membrana basal permitiendo la extravasación (Rodríguez A et al 2015).

Estas células presentan un alto potencial para poder emplear una terapia celular debido a sus cualidades inmunomoduladores y a su baja immunogenicidad, utilizándose para la regeneración de los tejidos o para poder lograr una homeostasis en sitios con inflamación crónica patogénica. Gracias a esto se ha utilizado en sistemas para el depósito de drogas para la progresión del cáncer (Uchibori R et al 2009).

El aislamiento de dichas células se debe a su alta capacidad de adherirse al plástico. Para ser consideradas como células mesenquimales deben de adherirse al plástico mientras son cultivadas y deben presentar una forma de huso, también deben tener un inmunofenotipo como CD105, CD73 y CD90 y la no expresión de CD45, CD35, CD17 y CD79 (Bustos S et

al 2018; Mushahary D et al 2018). Se ha encontrado que en la extracción de la medula ósea presenta hoy en día un crecimiento limitado, por lo que han surgido estudios en otros tejidos como el tejido adiposo, cordón umbilical, entre otros (Bustos S et al 2018).

Presentan una alta capacidad de autorrenovación, propiedades inmunomoduladores y una diferenciación multilinaje. El cultivo de explante es una de las primeras técnicas de aislamiento y cultivo celulares in vitro (Mushahary D et al 2018). También presentan una alta capacidad de localización, por lo que tienden a migrar a los sitios lesionados y poseer la capacidad de diferenciarse en los componentes locales de los sitios que se encuentran lesionados para posteriormente activar su capacidad de secretar quimiocinas, citocinas y factores de crecimiento que darán como resultado el proceso de regeneración de los tejidos. Las CMM derivadas de la medula ósea son células no hematopoyéticas que presentan un potencial de diferenciación multipotencial (Fu X et al 2019).

4.2 Célula Madre de la pulpa dental

Los dientes presentan dos capas de minerales conocidos como esmalte y dentina, que van a encerrar o cubrir al tejido pulpar de fibroblastos internos blandos. Estudios han demostrado que presentan multiples poblaciones de células madre en los dientes y su estructura de soporte, por lo que se denominan como CMM dentales. Estas células presentan un papel muy importante en la hemostasia y en la reparación del tejido dental (Sharpe 2016; C. Morszeck et al 2018; Sui B et al 2020).

La pulpa dental genera odontoblastos que su función principal es reparar la dentina dañada. El uso de estas células para regenerar tejido pulpar sano representa un tratamiento biológico simple y muy efectivo. Estas se pueden expandir fácilmente in vitro y se ha demostrado que reconstituyen un tejido similar al de la pulpa (Sharpe 2016). Las células madre de la pulpa dental se han aislado de varias fuentes, incluidos premolares, terceros molares, dientes supernumerarios, permanentes y temporales (Mazuda K et al 2021)

Las células derivadas tanto de la pulpa como de la medula ósea son capaces de convertirse en ameloblastos, odontoblastos, ligamento periodontal, cemento, hueso alveolar, hueso craneofacial y cóndilos articulares. Las células madre embrionarias son una fuente alternativa

para la regeneración de tejido dental. También se encuentran otras células progenitoras en las glándulas salivales, musculo de la lengua, papilas gustativas y la mucosa oral. Se han demostrado la utilidad de estas células en la prueba de citotoxicidad, pruebas de biocompatibilidad e investigación del desarrollo (Liu H 2010).

Ademas, se ha encontrado que producían nódulos esporádicos, pero densamente calcificados, y no formaban adipocitos, mientras que las BMSC se calcificaban rutinariamente en toda la capa de células adherentes con grupos de adipocitos cargados de lípidos. Se encontró que las colonias de las células en la pulpa produjeron una frecuencia mayor en comparación las BMSC, la pulpa se compone de una gran parte de tejido fibroso. También se presentó una mayor tasa de proliferación en comparación con las BMSC in vitro (Gronthos S et al 2000).

A principios de la década de 2000 se encontraron por primera vez en la pulpa dental, aisladas de dientes permanentes o temporales y se caracterizaron por ser altamente clonogénicas presentando una multidiferenciación y propiedades neurovasculares. Las células pDPSCs fueron las primeras células madre de tipo orofacial en ser aisladas e identificadas presentando una adherencia plástica y propiedades clonogénicas in vitro. En cuanto a sus propiedades neurovasculares se debe a su derivación de los componentes neurales que son regulados por series de sinergias endógenas y exógenas (Sui B et al 2020).

Ademas presentan una alta capacidad proliferativa in vitro, presentando un potencial adipogenico, miogénico, osteogénico, condrogenico y neurogénico. Otra zona que se ha encontrado en gran cantidad las células madre es en la papila dental las cuales suelen ayudar a la resistencia del daño celular. El potencial neurogénico es derivado de la cresta neural, presentando propiedades únicas que difieren de las células madre derivadas de la medula ósea (Masuda K et al 2021).

Los medios de cultivo más utilizados incluyen medio esencial mínimo alfa (α -MEM), medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), medio nutritivo DMEM/Ham's F12 (F12) (DMEM/F12), DMEM bajo en glucosa (DMEM-LG) y medios DMEM Knock Out (DMEM-KO) (Masuda K et al 2021).

4.3 Tipos De Fluoruro Utilizados En Odontología

Se ha registrado que la erosión dental suele ser un problema dental que se produce debido a ciertos factores de ácidos exógenos o endógenos. El control de los factores que crean dicho problema y las medidas preventivas como antiácidos y fluoruros suelen ser el tratamiento a elección de dichos pacientes. El uso tópico de fluoruros ha dado lugar a la formación de una capa globular similar al fluoruro de calcio; la disolución de dicha capa en situaciones acidas tiende a proteger el tejido dental contra la disolución (Farhadi E et al 2021).

Se ha encontrado en estudios que el 38% de solución de fluoruro de damino de plata, el 5% de barniz de fluoruro de sodio y 1.2% de fluoruro de dosfato acidulado redujeron el aumento de la caries radicular después de los dos años. El enjuague bucal y las pastas con flúor redujeron el incremento después de 1 año. Se estima que la aplicación diaria de un enjuague con fluoruro de sodio al .2% sea el más efectivo, seguido de pasta de dientes de 1100 ppm a 1500 ppm (Zhang J et al 2020).

El fluoruro de damina de plata es eficaz para la prevención de nuevas lesiones de caries en dientes primarios. Los compuestos de flúor como el sodio o el fluoruro de amina presentan una limitada eficacia contra la erosión debido al pH bajo en comparación de los ácidos. El compuesto de flúor desempeña un papel muy importante en la combinación con iones de titanio para la erosión (Lussi A et al 2019).

Para prevenir la incidencia de la caries dental y para poder proteger al diente de los microorganismos de la biopelícula existen protocolos que dentro de ellos se encuentra el uso de fluoruros. Los fluoruros tópicos como el barniz NaF se utilizan como reactivos preventivos debido a su remineralización y capacidad antimicrobiana. El SDF se utiliza principalmente para la sensibilidad dental pero también para la prevención de la caries dental acompañada con yoduro de potasio. SDF (38% Ag (NH₃)₂F) es un líquido incoloro compuesto por 24-29 % de plata y 5-6 % de fluoruro; la plata se ha utilizado como antimicrobiano médico en odontología. la capacidad del 38 % de SDF para inhibir la desmineralización y promover la preservación del colágeno de la dentina desmineralizada mediante la formación de una capa protectora sobre y dentro de los túbulos dentinarios in vitro se ha utilizado con un porcentaje al 385 de SDF (Trieu A et al 2019).

Se ha utilizado para un efecto remineralizante de la aplicación complementaria de una solución de fluoruro de amonio de plata al 28% y el barniz de fluoruro de sodio al 5% en lesiones de caries del esmalte (Yu OY et al 2018).

El fluoruro de sodio (NaF) no se ha entendido completamente el efecto regulador en la diferenciación comprometida de las células madre de la pulpa. Se encontró una significante diferenciación osteogénica de las células madre pulpares a nivel micro molares. La ingesta de flúor en bajas concentraciones tiene un papel esencial en los trastornos relacionados con el anabolismo óseo, tal es el caso de la osteoporosis. Se ha demostrado que en concentraciones inferiores a 100 μM puede mejorar la dentinogénesis de las células madre a través de la alteración en el proceso de autofagia junto con la mejora de la osteogénesis y la odontogénesis. El nivel elevado de este puede dar lugar a fluorosis dental y esquelética, pero se puede utilizar una disminución del nivel para tratamientos de trastornos óseos (Xu S et al 2021).

4.4 Fluoruro de Sodio

Hoy en día, la principal causa de las enfermedades periodontales como la gingivitis y la periodontitis son causadas por la placa dental. Existen diversos productos que han tenido éxito en el mercado que contienen agentes antiplacos y antimicrobianos, tales como, pastas dentales, enjuagatorios bucales, estos son utilizados para prevenir y/o tratar la gingivitis, periodontitis y controlar la biopelícula. El Fluoruro de sodio es generalmente utilizado para reducir la prevalencia de la caries y mejorar la remineralización del esmalte, ya que sus efectos antibacterianos y cariostáticos han demostrado ser aceptados por la gente y el uso de generalizado de fluoruros ha contribuido a la disminución de caries dental en los últimos años. La manera de actuar de los fluoruros es por medio de la formación de cristales de fluorohidroxiapatita y estos contienen una resistencia a los ácidos orgánicos que los cristales de hidroxiapatita que se encuentran en el esmalte dental. Otra de las cosas que el Fluoruro ha demostrado, es reducir la producción de ácido orgánico en bacterias cariogénicas como *Streptococcus mutans*. Existen diversas presentaciones de fluoruros para aplicaciones tópicas, tales como, pastas de dientes, geles, espumas, barnices y enjuagues bucales (Rajendiran M., et al 2021).

Dentro de los diversos componentes que una pasta dental contiene, el fluoruo se considera el ingrediente activo mas importante y uno de los método más utilizado para mantener un nivel constantemente bajo de fluoruros en la cavidad oral, son las pastas dentales. La ingesta cronica de fluoruros en concentraciones mayores a 1 mg/l o 0,1 mg/kg, puede llegar a conducir a una fluorosis dental que se caracteriza por la formación de esmalte hipomineralizado. La fluorosis dental puede llegar a presentarse como un moteado blanco o marrón opaco suave sobre el esmalte y en ciertos casos puede llegar a presentar fosas y fracturas de esmalte, en dientes temporales y permanentes. La concentración ideal de fluoruro que generalmente esta aceptada en las pastas dentales es de 1000-1500 ppm. Entre mas alto sea la concentración de fluoruros (1000 ppm o más) puede llegar a asociarse con un mayor riesgo de fluorosis dental en niños menores de 5 a 6 años. Se recomienda en niños una capa de “difamación” de pastas dentales que contengan bajas concentraciones de fluoruro (500 ppm). Los enjuagues bucales de flúor, por lo general contienen de 100 a 500 ppm y estos son recomendados a pacientes que presenten alto riesgo de caries, como pacientes con hiposalivación o pacientes con tratamiento de ortodoncia. Por lo general, esta contraindicado el uso de enjuagues bucales con flúor para niños menores de 6 o 7 años (Rajendiran M., et al 2021).

Se ha demostrado que el uso de pastas dentales NaF en comparación con las pastas dentales AmF, pueden llegar a reducir el número de bacterias en todas las biopelículas, incluidas las biopelículas de la lengua, la mucosa palatina y bucal (en la cual se encontró mayor número de bacterias), y la biopelícula del piso bucal. Se ha demostrado por medio de un estudio, una concentración de NaF para estimular la proliferación y la mineralización en las células del ligamento periodontal (PDLC) in vitro, la cual mostró un efecto dependiente de la dosis en la proliferación celular al aplicarse en diferentes concentraciones a los PDLC cultivados en un medio osteogénico. Las células que fueron tratadas con 10 y 500 $\mu\text{mol/L}$ lograron mostrar un aumento en la actividad de la fosfatasa alcalina (ALP), por lo tanto, esto nos indica que hay un mayor potencial de formación ósea. Estos resultados proporcionan un nuevo enfoque terapéutico para la regeneración periodontal, siempre y cuando sea utilizada una correcta concentración de NaF en medicamentos para tratamientos periodontales (Rajendiran M., et al 2021).

El fluoruro ha sido utilizado como un agente preventivo para la caries dental, sin embargo, los efectos del fluoruro en las biopelículas en sus diferentes etapas no han sido estudiados ampliamente. Si el tratamiento con fluor es utilizado desde una etapa temprana, puede llegar a combatir la formación de biopelículas cariogénicas y puede llegar a ser un enfoque eficaz para controlar el desarrollo de biopelículas cariogénicas y con esto mismo prevenir la caries dental (Han Y., et al 2021).

Se ha demostrado que el protector dental que contiene fluoruro de sodio en combinación con un sellador de fosetas y fisuras, tiene un mejor efecto anticaria que el uso de sellador de fosas y fisuras solo. Esto siendo aplicado en niños menores de 5 años (Zhang AH., et al 2019).

A lo largo del tiempo, los materiales tópicos que contienen fluoruro han demostrado ser eficaces para detener la progresión de la caries en la primera infancia. El barniz de fluoruro de sodio (NaF) tiene un efecto el cual inhibe la caries en las lesiones cariosas bucales y lingualess no ncavitadas (Chen KJ., et al 2021).

Se debe hacer mas enfasis a la concentración de flúor y con que frecuencia se utilizan los productos dentales al ser recomendados para prevenir la caries radicular de los pacientes con recesión gingival. Los efectos del fluoruro en los cementoblastos no han sido estudiados de la manera que deberian. La sobredosis de la ingesta de flúor, es uno de los principales causantes de la fluorosis endémica, la cual genera una serie de problemas de salud. La ingesta de fluoruro puede ser mediante alimentos, agua potable y polvo y humo contaminados de las industrias etc. Una ingesta excesiva de flúor puede llegar a causar fluorosis esquelética, fluorosis dental y toxicidad en los tejidos blandos. La apoptosis celular es considerada una de las causas principales de lesión tisular y daño celular en la fluorosis endémica.

La acumulación de fluoruro tiene una relación directa con la concentración en la ingesta de agua. Los cementoblastos están expuestos al flúor de todas las fuentes utilizadas por los pacientes, tales como, el agua potable, enjuague oral y pasta dental. Sin embargo, hay poco estudios que comprueben sobre los efectos de citotoxicidad de la alta concentración de fluoruro sobre los cementoblastos, los cuales son responsables de la formación de cemento y las reparaciones de la resorción de raíces (Ni J., et al 2018).

4.5 Diferenciación osteogénica

La diferenciación osteogenia de las células madre en la pulpa dental es considerada como una estrategia prometedora en la implantación de dientes maxilares. Se demostró que LINC00968 puede mostrar un papel muy importante en la diferenciación osteogénica inducida por BMP2 y en la formación ósea (Liao C et al 2020).

Otros estudios han expresado que la miR-143 se reguló negativamente en la diferenciación osteoblástica y TNF- α se reguló positivamente durante la diferenciación osteogénica de DPSC. La expresión de TNF- α regulada postranscripcionalmente en DPSC al unirse a su 3'UTR de las células madre pulpares (Zhang P et al 2018).

Se ha encontrado que la MCM3AP-AS1 regula la reparación de cartílago en la osteoartritis. En el caso de las células madre pulpares aumentó junto con la diferenciación osteogénica, cuya expresión se correlacionó positivamente con la de OCN, fosfatasa alcalina (ALP) y RUNX2. En el caso de miR-143-3P disminuyó junto con la diferenciación osteogénica y se relacionó negativamente con la de OCN, ALP y RUNX2 (Yang C et al 2022).

Durante la etapa temprana de la diferenciación osteogénica de las células madre pulpares inducidas por BMP9, la expresión de miR-155 presentó una tendencia temprana aumentada y luego disminuida, lo que indica que existe alguna relación entre miR-155 y BMP9; miR-155 no puede inhibir la diferenciación osteogénica por lo que puede desempeñar funciones reguladoras negativas en la diferenciación osteogénica inducida por BMP9 a través de la expresión reprimida de Runx2 y BMPR2 (Liu H et al 2018).

Se encontró que la crisina aumentó la expresión de las proteínas osteogénicas e indujeron la diferenciación osteogénica de las células madre de la pulpa. Se encontró que la proteómica mostró una regulación positiva de Smad 3 que se encontró relacionada con la diferenciación osteogénica (Huo JF et al 2021).

La expresión de LncRNA LEF1-AS1 se relacionó con la diferenciación osteogénica de DPSC y la sobreexpresión de LEF1-AS1 promovió la diferenciación osteogénica. Además, LEF1-AS1 y miR-24-3p se sinergizaron para regular la diferenciación osteogénica de las DPSC (Wu Y et al 2020).

4.6 Regeneración ósea

La reabsorción del hueso alveolar es un efecto negativo para los resultados en cuanto a la estructura, función y tratamientos estéticos en relación a los implantes. Existen estrategias para poder aumentar estas reabsorciones óseas como la regeneración ósea guiada, el injerto de oposición e incrustación, la osteogénesis por distracción, la división de las crestas, los autoinjertos, la elevación del seno. Estas estrategias que buscan la regeneración permiten que las células oseteoprogenitoras se dirigen al sitio del defecto óseo impidiendo la entrada de los tejidos no osteogénicos. La adición del factor de crecimiento-BB derivada de plaquetas humanas recombinantes con injerto óseo bajo una membrana reabsorbible obtuvo resultados buenos en la curación de los tejidos blandos y una mejor preservación ósea (Elgali I et al 2017).

Los defectos óseos podrían ser causados por traumas, malformaciones congénitas, cirugías o infecciones y algunos suelen ser grandes para regenerarse. Se han utilizado una serie de materiales implantables bioactivos, tipos de células y vías de señalización molecular intracelular y extracelular para su regeneración. Las vías de señalización molecular involucradas son cruciales para el desarrollo de implantes óseos, materiales sustitutos óseos y andamios basados en células para la regeneración ósea (Majidinia M et al 2018). Entre varias células inmunitarias, los macrófagos desempeñan el papel más importante en la defensa inmunitaria lo que suele ser clave para la cicatrización. La curación de las fracturas se inicia con una inflamación aguda que más tarde se puede transformar en una degeneración (Lee J et al 2019).

La diferenciación adecuada de las células madre mesenquimales suele ser esencial para la regeneración ósea postnatal, una respuesta inflamatoria aguda es muy importante al inicio de la reparación ósea, mientras que la respuesta inmune adaptativa se relaciona con la remodelación sea tardía. Estas células han demostrado funciones altamente inmunosupresoras, tales como la inhibición de la diferenciación de monocitos hematopoyéticos y suprimir la secreción de citocinas proinflamatorias (Liu H et al 2018; Gugliandolo A et al 2021).

Los andamios promueven la reconstrucción de la arquitectura de los tejidos están hechos para mejorar el proceso de curación y promover la unión celular. Deben presentar características que permiten el transporte de oxígeno y nutrientes, el mantenimiento de la supervivencia celular y promoción de la diferenciación y el guiado celular para permitir el crecimiento de las células madre mesenquimales (Gugliandolo A et al 2021).

La supervivencia de las células madre mesenquimales en la fractura ósea es cuestionable, ya que el oxígeno y los nutrientes no siempre están disponibles en los lugares de inyección, por lo que, para aumentar el grado de injerto celular, el Sistema de administración debe colocar células en las células madre mesenquimales o que permitan migrar al sitio del defecto óseo (Safarova Y et al 2020).

5. MÉTODOS

Se realizo la aprobación de protocolo por parte del comité de ética de la facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León con folio 00264

Universo de estudio

Humanos jóvenes de 18-24 años de edad sanos sin distinción de género

Criterio de inclusión

Terceros molares

Criterios de exclusión

Terceros molares con caries

5.1 Análisis de la muestra

Las muestras de DPSC se obtuvieron de terceros molares mandibulares inmaduros humanos extraídos con fines ortodónticos de un paciente sano de 18-24 años sin antecedentes médicos de importancia. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) y se realizó de acuerdo con los estándares éticos establecidos en la Declaración de Helsinki de 1964. Se obtuvo el consentimiento informado del representante legal (padre) del paciente.

5.2. Aislamiento y Cultivo de DPSC

Selección de pacientes y piezas dentales, Pacientes sanos entre 18 y 24 años, Dientes sin caries, Dientes sin fracturas, n= 4 terceros molares humanos. Aislamiento de células madre de pulpa dental, Obtención de pulpa dental mediante odontosección, Suspensión en Colagenasa tipo I y dispasa, Incubación 1 hora a 37° C y 5% de CO₂, Lavados con PBS.

Cultivo de células madre de pulpa dental, 89% DMEM F12, 10% Suero fetal bovino, 1% Penicilina-Estreptomicina, Incubación por 2 semanas.

Análisis morfológico mediante microscopía de campo claro, Cuantificación de las células en una cámara de Neubauer, Ensayo alizarina roja, Microscopía de fluorescencia para expresión de DSPP y DMP1.

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, donde se realizó a los candidatos a donador una historia clínica y examen radiográfico para la selección de terceros molares a extraer, de esta manera se descartó la presencia de caries dental como factor bacteriano, así como patología a nivel de la zona periapical o fractura coronaria.

Se indicaron a los donadores colutorios bucales de clorhexidina al .12% previo a la cita durante 1 semana, con el objetivo de disminuir la carga bacteriana

Se realizaron las extracciones de los terceros molares aplicando benzocaína al 20% en el sitio de la punción e infiltración con anestesia scandonest 2 % especial solución inyectable 36/018 mg.

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

Una vez extraídas las piezas dentales se lavaron con buffer de fosfatos 1X (PBS) e inmediatamente fueron inmersas en tubos estériles de 50 ml, que contenían una solución de transporte compuesta por buffer de fosfatos 1X, penicilina 100 U/ml, estreptomicina 100 µm /ml y anfotericina B0.25 µm /ml

Una vez en el laboratorio, la pulpa dental de los terceros molares fue retirada vía apical utilizando pinzas de curación. A continuación, las muestras obtenidas fueron colocadas en tubos Eppendorf de 1.5 ml con 1ml de solución de transporte, posteriormente se etiquetaron las muestras y se conservaron en refrigeración a 4° C. Las muestras de pulpa dental se obtuvieron de 20 terceros molares humanos extraídos por razones de Ortodoncia 26 de pacientes sanos. Finalmente fue incluido dentro del estudio solamente el tejido del paciente más joven (18 años).

La porción de tejido obtenido se colocó en una solución de 3 mg/ml de collagenas tipo 1 y 4 mg/ml de dispasa durante 30 minutos a 37°C en baño 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 .

La suspensión de células de pulpa dental fue centrifugada a 1200 rpm durante 10 minutos realizando 2 lavados con PBS 1X; las células fueron re-suspendidas en medio completo de crecimiento compuesto de Dulbecco's modified Eagles medium- Ham's F12 (DMEM-F12) suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) 2 mM de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de estreptomicina y 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de anfotericina B. Las células fueron cultivadas a 37° C en una atmósfera con 95% de humedad y 5% de CO₂ durante 3 semanas en frascos de 25 cm². El medio fue renovado cada 3 días.

Finalmente, el análisis morfológico de las células se realizó enfocando un campo al azar y en él se realizó una identificación de las formas más típicas mediante microscopía de contraste de fases.

5.3 Expresión del marcador cd146 en DPSCs

El análisis de inmunofluorescencia confirmó que las células cultivadas en DMEM- 12 durante tres semanas fueron positivas para la proteína de superficie CD146, en contraste el grupo control (control negativo) el cual no mostró señal de fluorescencia a una longitud de onda de 488 nm.

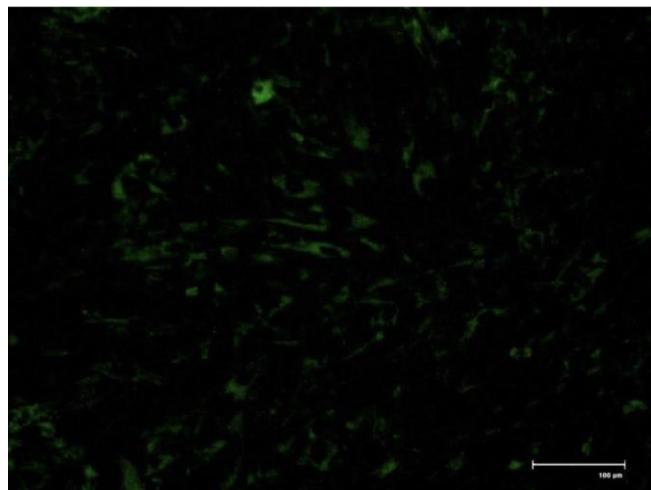


Figura 7 Grupo CD146, donde se observa una expresión positiva de la proteína por inmunofluorescencia.

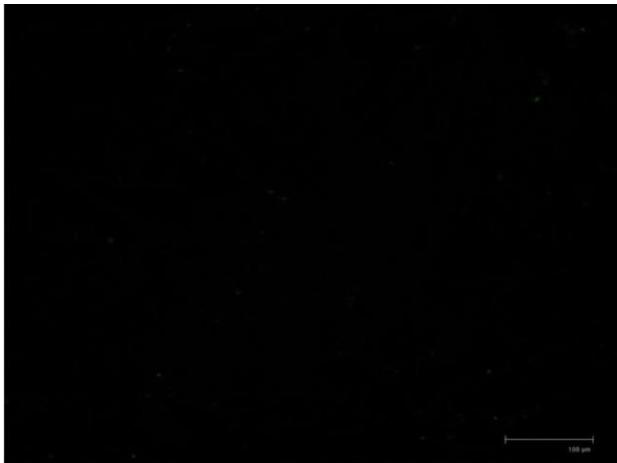


Figura 8 Grupo control sin señal de fluorescencia.

5.4 Tinción de Rojo Alizerina

Después de 18 días de inducción osteogénica, las células se fijaron con formalina tamponada neutra al 10% durante 30min. Las células fijas se lavaron y luego se incubaron con 2% de rojo alizarina S (ARS) (pH 4,2) (Sigma-Aldrich) a temperatura ambiente durante 30min en la oscuridad con agitación suave. Después de la tinción, se lavaron 4 veces con PBS. Las células se analizaron mediante microscopía de fluorescencia y luego se incubaron con cloruro de cetilpiridinio (CPC) 100mM a 37°C durante 1hr para solubilizar los depósitos de calcio extracelular unidos a ARS. Se transfirieron 200 microlitros de cada muestra a placas negras de 96 pocillos (Corning-Costar). La concentración de ARS se determinó por absorbancia a 495nm en un lector de microplacas de absorbancia iMarkTM (Bio-Rad, Hercules, CA, EE. UU.).

5.5 Diferenciación osteogénica

Las DPSC se colocaron en placas de 24 pocillos (Corning-Costar) a una densidad de 6 x 103 células por pocillo y se cultivaron en DMEM/F12 durante 24hrs.

5.6 Análisis estadístico

Los niveles de tinción se analizaron utilizando análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para comparaciones múltiples entre grupos y valores de $p<0.0001$ se consideraron estadísticamente significativo en todos los grupos. El análisis de los datos se realizó con el software SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Los datos eran capturados en una base de datos en el programa de IBM Estadistic con el que se realizaran tablas de frecuencia de diferentes variables dentro de las cuales sera considerada la variable dependiente (dientes extraídos) confrontada con la variable independiente (subtemas) y de mas criterios establecidos en el instrrtumento de observación. Para algunos procedimientos estadísticos de clasificación y manejo de base de datos sera empleado el programa Microsoft Excel 2012.

El presente proyecto contará con un modelo estadístico de presentación de datos que consistira en la elaboración y descripción de tablas de frecuencia y porcentajes para las variables cualitativas y de intervalo, así como un modelo descriptivo de medidas tendencias central y dispersión para las variables cuantitativas, además del uso de gráficos para las tablas mayormente relacionadas con el análisis de datos posterior a este diseño se realizará una descrpción detallada de los resultados.

6. RESULTADOS

Cultivo y análisis morfológico de DPSCs

Las células obtenidas del tejido pulpar mostraron tener características adherentes al frasco de cultivo creciendo de manera constante durante tres semanas bajo las condiciones óptimas de cultivo.

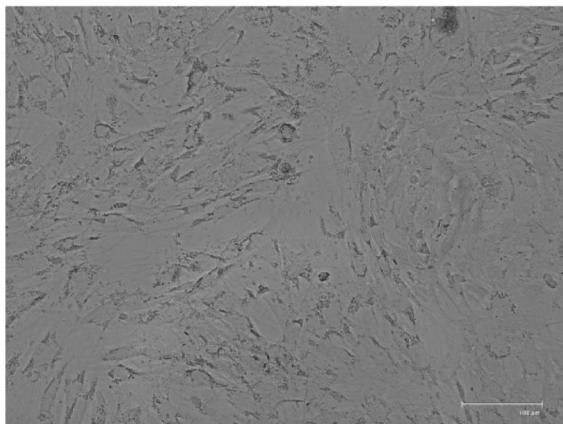


Figura 5 Crecimiento de agrupaciones y morfología celular posterior a 48 horas de cultivo.

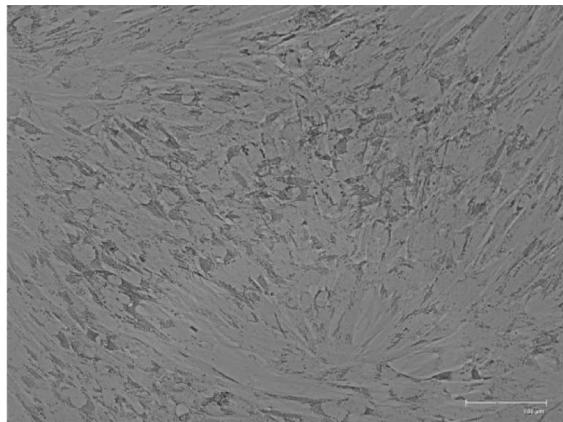
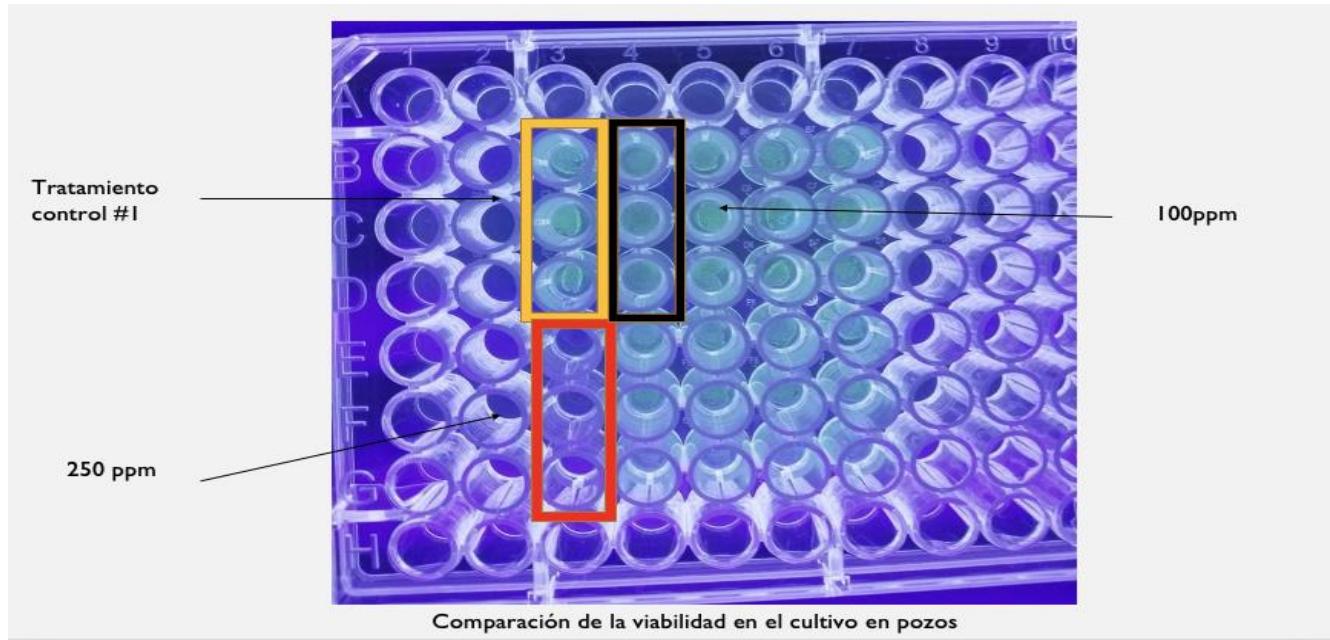
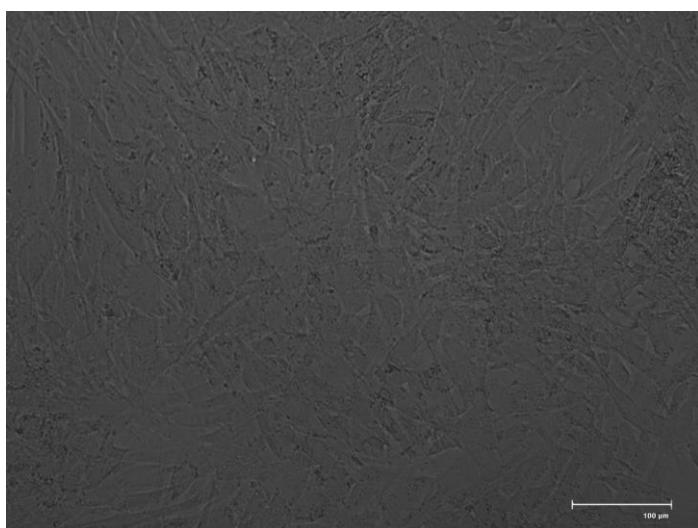


Figura 6 Crecimiento de agrupaciones y morfología celular posterior a 96 horas de cultivo.

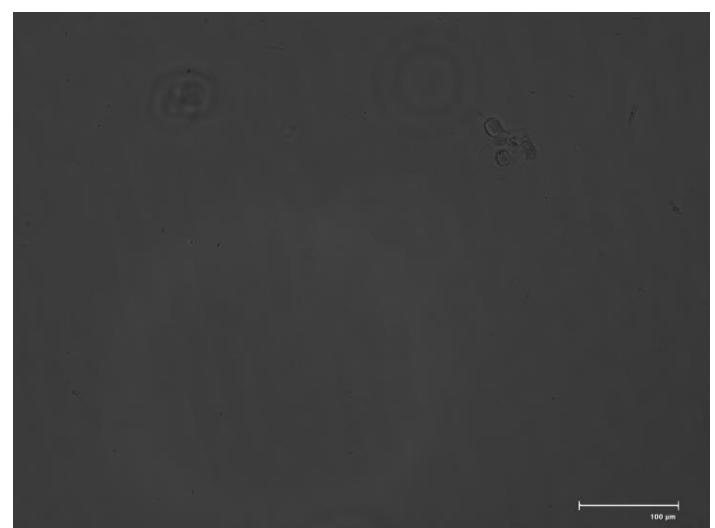
Las células madre de pulpa dental DPSCs tuvieron una morfología homogénea caracterizada por formas espigadas alargadas y con núcleo redondo además fueron observadas a las primeras horas de cultivo múltiples colonias o agrupaciones, características especiales de MSCs.



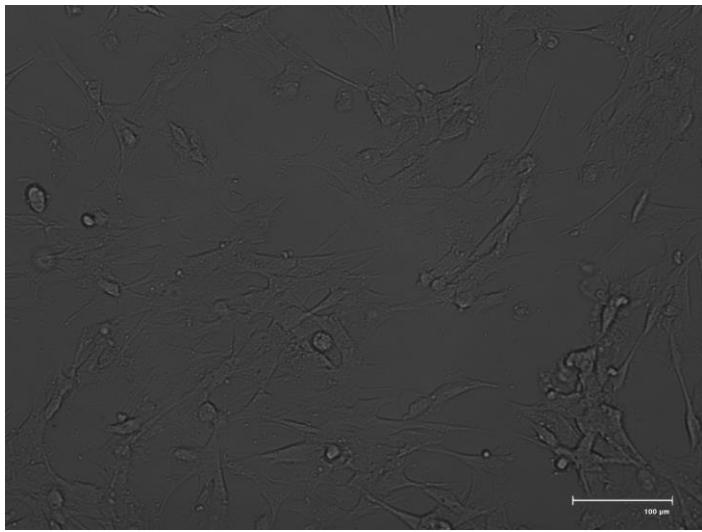
ANALISIS MORFOLOGICO POR CONTRASTE DE FASES



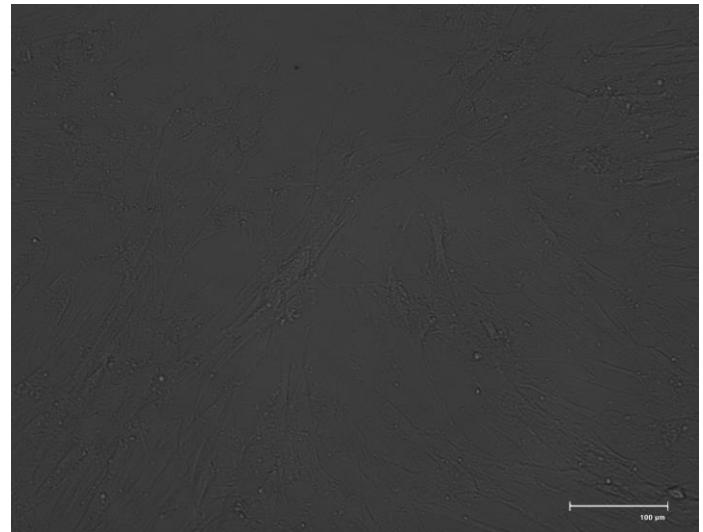
Control negativo #1



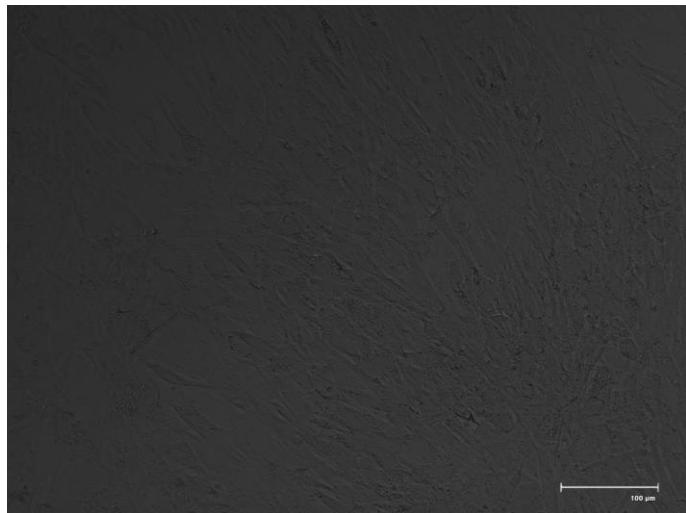
250 ppm



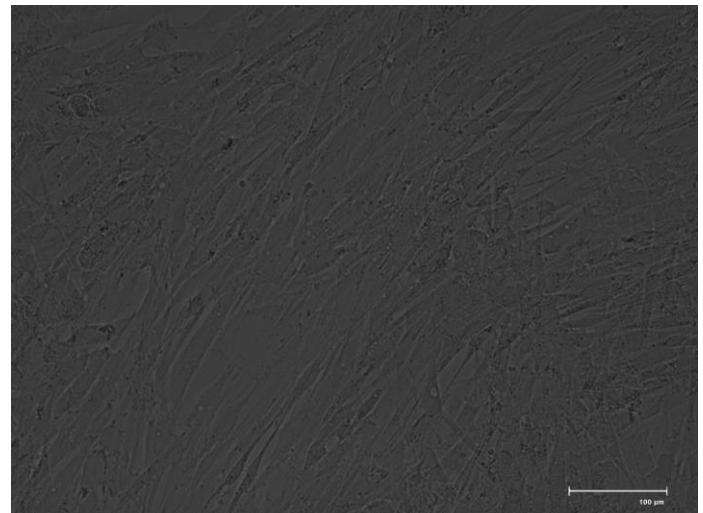
100 ppm



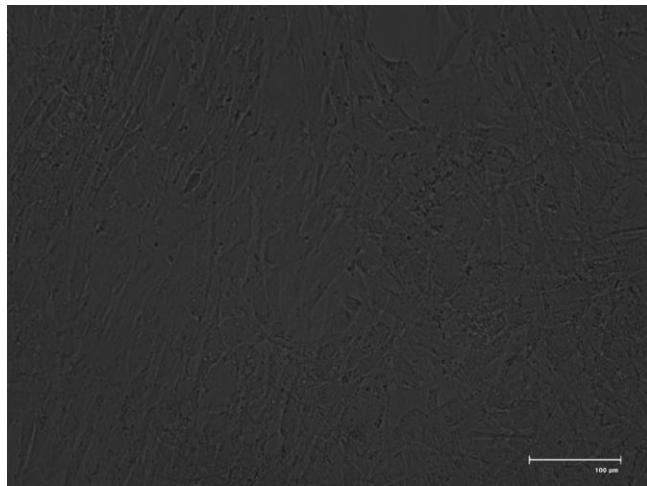
50 ppm



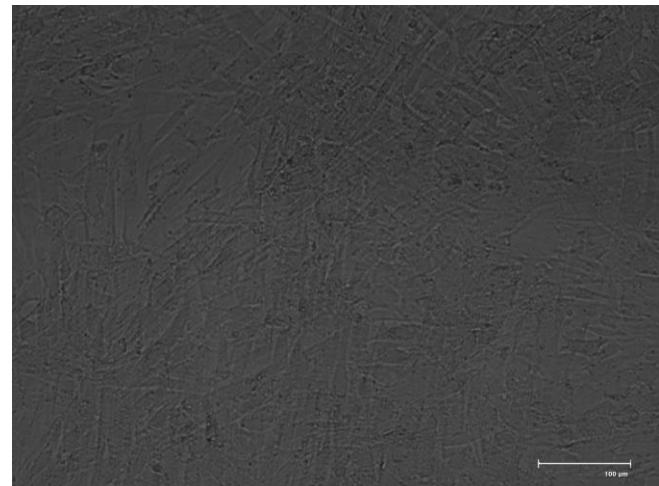
25 ppm



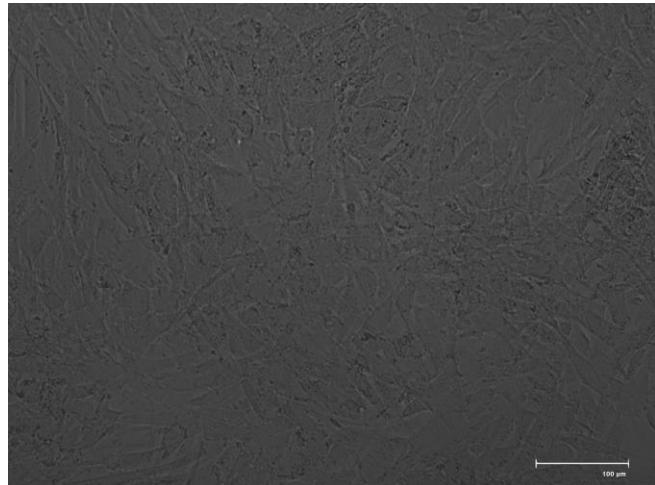
10 ppm



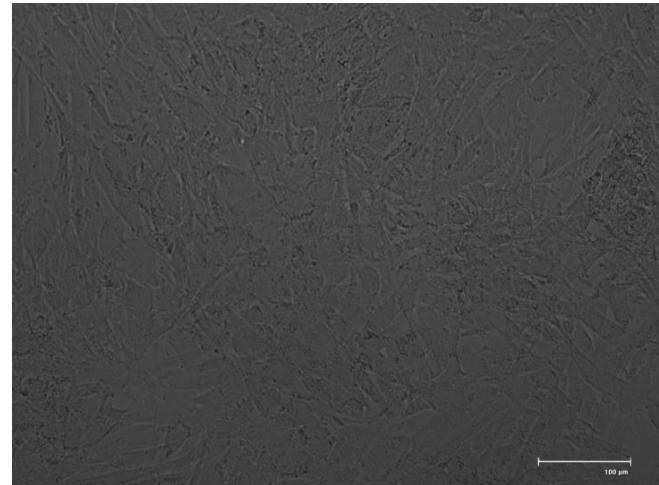
5 ppm



2.5 ppm

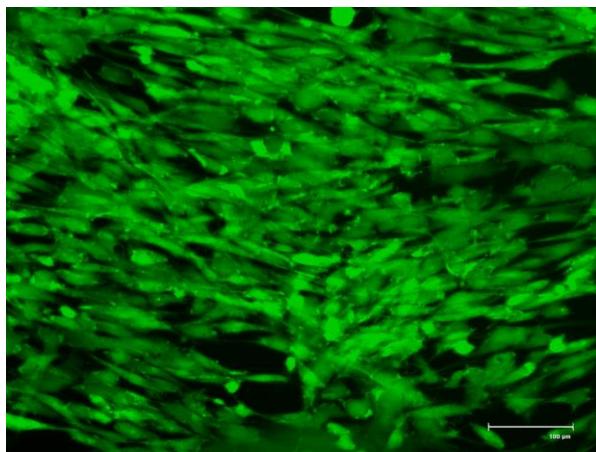


1 ppm



Control negativo #2

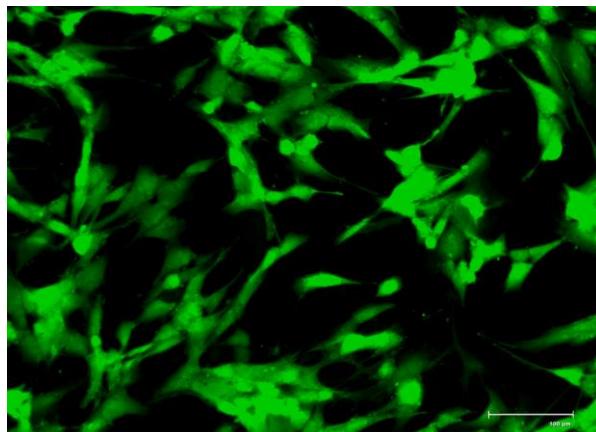
VIABILIDAD CELULAR POR MICROSCOPIA DE FLUORECENCIA



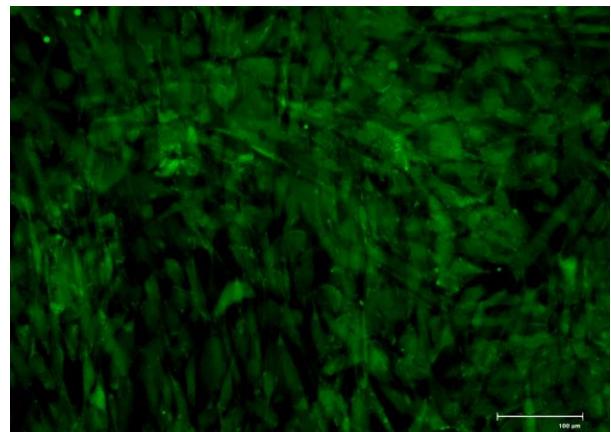
Control negativo #1



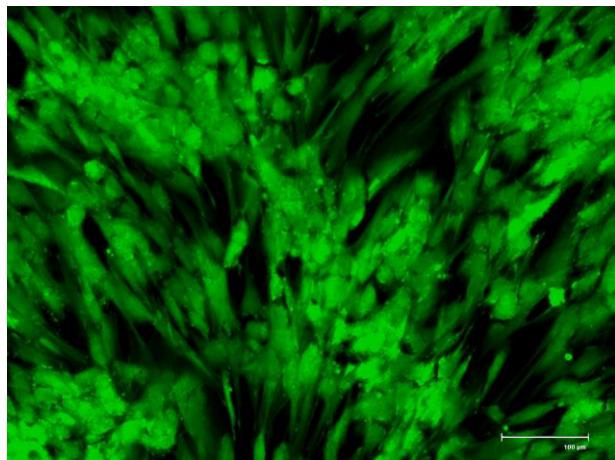
250 ppm



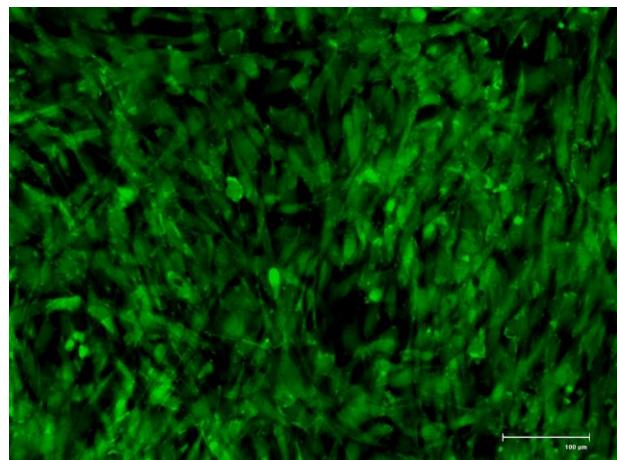
100 ppm



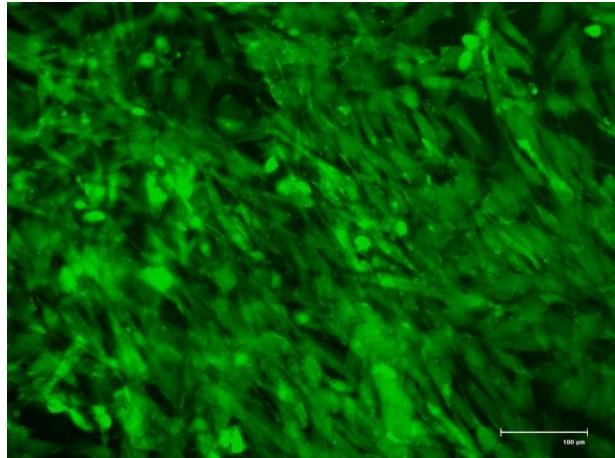
50 ppm



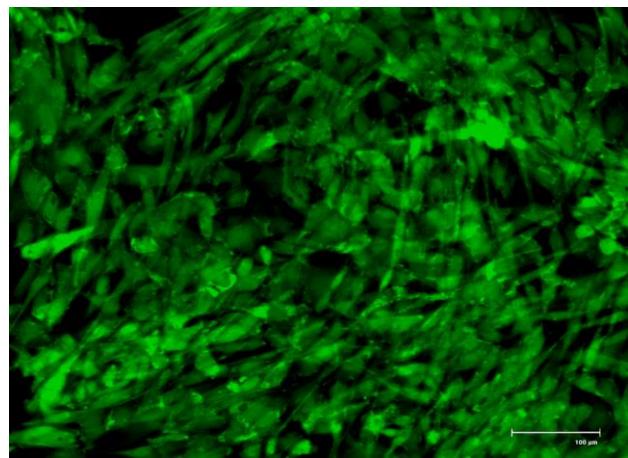
25 ppm



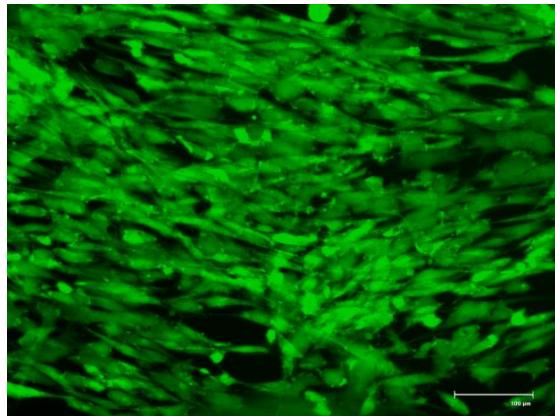
10 ppm



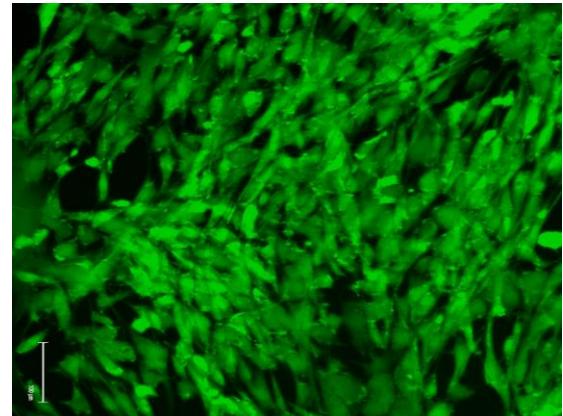
5 ppm



2.5 ppm



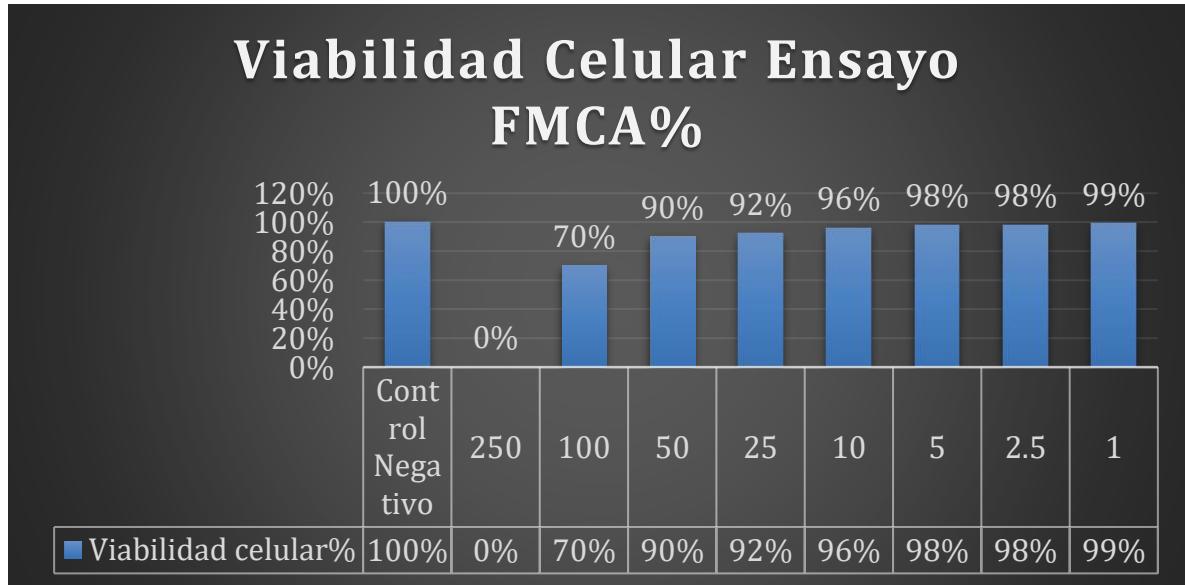
1 ppm



Control negativo #2

Viabilidad celular ensayo fmca

	Viabilidad celular%
Control Negativo	100%
250	0%
100	70%
50	90%
25	92%
10	96%
5	98%
2.5	98%
1	99%



7. DISCUSIÓN

El Fluoruro de sodio se puede encontrar en diferentes presentaciones en productos dentales, uno de los mas comunes son la pasta dental y los barnices con base resinosa o sintética diseñados para promover y prolongar sus efectos anticaries y remineralizantes. Uno de los productos con mas uso en la consulta privada dental, según la Asociación Estadounidense de Odontología Pediátrica (AAPD), es el barniz de fluor tópico el cual contiene fluoruro de sodio al 5%. (Wierichs RJ., et al 2022).

En la actualidad es un reto muy importante hacia el área de la endodoncia, donde día a día se vive con la problemática que aun no se encuentra con claridad el tema sobre alguna solución que sea capaz de proporcionar una regeneración del tejido pulpar. En este estudio se estimó que el fluoruro de sodio en bajas concentraciones no llega a inducir una citotoxicidad sobre la subpoblación de las células madre que se encuentran en el tejido pulpar CD146+ in vitro. Durante los ultimos años se ha encontrado que los productos dentales que contienen fluoruro de sodio, tienen alta efectividad sobre manchas blancas o desmineralizaciones dentales previniendo la caries en pacientes jóvenes, logrando una disminución de dicha enfermedad (Wierichs RJ., et al 2022), sin embargo, poco se sabe acerca de la toxicidad inducida por este compuesto en celulas de origen dentario.

Algunos autores han reportado que concentraciones significativas de fluoruro de sodio ejercen efectos negativos en ciertas líneas celulares, incluyendo fibroblastos gingivales y células cancerigenas, en este estudio se focalizó elucidar los efectos citotóxicos sobre celulas madre de pulpa dental CD146+. Es conocido que la proteína CD146 es un marcador altamente colectivo de celulas madre de origen mesenquimal, nuestros resultados estan basados en una subpoblacion de celulas que expreseen positivamente el marcador CD146, lo que indica su linaje troncal (Bustos-Araya, S., et al 2018). A pesar de que algunas investigaciones mencionan el potencial altamente tóxico sobre celulas de origen humano, en este estudio se encontraron concentraciones bajas que no son capaces de inducir muerte celular ni cambios morfológicos significativos. Por lo tanto, dichas concentraciones son interesantes como prospectiva en estudios de mineralización dental.

8. CONCLUSIONES

- Es posible aislar y cultivar células madre de papila apical SCAPs derivadas de terceros molares inmaduros.
- Una baja concentración de Fluoruro de sodio es capaz de inducir un efecto osteogénico significativo mediante la formación de nódulos mineralizados.
- El Fluoruro de sodio de acuerdo a sus propiedades osteogénicas podría ser una alternativa interesante para procedimientos regenerativos en Periodoncia.

9. LITERATURA CITADA

1. Socarrás-Ferrer Bertha Beatriz, del Valle-Pérez Lázaro Orlando, de la Cuétara-Bernal Karellys, Marsán-Súarez Vianed, Sánchez Segura Miriam, Macías-Abraham Consuelo. Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2013 Mar; 29(1): 16-23.
2. Rodriguez A, Galvan J, De Leon J. Propiedades inmunomoduladoras de las células madre mesenquimales. Revista Cubana de Hematol, Inmunol y Hemoter. 2015;31(1):20-31
3. Uchibori R, Okada T, Ito T, Urabe M, Mizukami H, Kume A, et al. Retroviral vector-producing mesenchymal stem cells for targeted suicide cancer gene therapy. J Gene Med. 2009;11(5):373-81.
4. Bustos-Araya, S; Montenegro-Matamoros, Y; SwirgsdeBaltodano, C; Trigueros-Hernández, D; Vargas-González, R; Mora-Román, JJ. Obtención de células madre mesenquimales y participación de estas en la modulación de la respuesta inmune. Tecnología en Marcha. Vol. 31-3. Julio-Setiembre 2018. Pág 29-40
5. Mushahary D, Spittler A, Kasper C, Weber V, Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. Cytometry A. 2018 Jan;93(1):19-31.
6. Fu X, Liu G, Halim A, Ju Y, Luo Q, Song AG. Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. Cells. 2019 Jul 28;8(8):784.
7. Sharpe PT. Dental mesenchymal stem cells. Development. 2016 Jul 1;143(13):2273-80.
8. Liu H, Cao T. Dental application potential of mesenchymal stromal cells and embryonic stem cells. Chin J Dent Res. 2010;13(2):95-103
9. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Dec 5;97(25):13625-30.
10. Sui B, Wu D, Xiang L, Fu Y, Kou X, Shi S. Dental Pulp Stem Cells: From Discovery to Clinical Application. J Endod. 2020 Sep;46(9S):S46-S55.

11. Masuda K, Han X, Kato H, Sato H, Zhang Y, Sun X, Hirofushi Y, Yamaza H, Yamada A, Fukumoto S. Dental Pulp-Derived Mesenchymal Stem Cells for Modeling Genetic Disorders. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 25;22(5):2269.
12. C. Morsczeck, T.E. Reichert. Dental stem cells in tooth regeneration and repair in the future. *Expet Opin. Biol. Ther.*, 18 (2018), pp. 187-196
13. Liao C, Zhou Y, Li M, Xia Y, Peng W. LINC00968 promotes osteogenic differentiation in vitro and bone formation in vivo via regulation of miR-3658/RUNX2. *Differentiation.* 2020 Nov-Dec;116:1-8.
14. Zhang P, Yang W, Wang G, Li Y. miR-143 suppresses the osteogenic differentiation of dental pulp stem cells by inactivation of NF-κB signaling pathway via targeting TNF-α. *Arch Oral Biol.* 2018 Mar;87:172-179.
15. Yang C, Xu X, Lin P, Luo B, Luo S, Huang H, Zhu J, Huang M, Peng S, Wu Q, Yin L. Overexpression of long noncoding RNA MCM3AP-AS1 promotes osteogenic differentiation of dental pulp stem cells via miR-143-3p/IGFBP5 axis. *Hum Cell.* 2022 Jan;35(1):150-162.
16. Liu H, Zhong L, Yuan T, Chen S, Zhou Y, An L, Guo Y, Fan M, Li Y, Sun Y, Li W, Shi Q, Weng Y. MicroRNA-155 inhibits the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells induced by BMP9 via downregulation of BMP signaling pathway. *Int J Mol Med.* 2018 Jun;41(6):3379-3393.
17. Huo JF, Zhang ML, Wang XX, Zou DH. Chrysin induces osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells. *Exp Cell Res.* 2021 Mar 15;400(2):112466.
18. Wu Y, Lian K, Sun C. LncRNA LEF1-AS1 promotes osteogenic differentiation of dental pulp stem cells via sponging miR-24-3p. *Mol Cell Biochem.* 2020 Dec;475(1-2):161-169.
19. Farhadi E, Kermanshah H, Rafizadeh S, Saeedi R, Ranjbar Omrani L. In Vitro Effect of Acidic Solutions and Sodium Fluoride on Surface Roughness of Two Types of CAD-CAM Dental Ceramics. *Int J Dent.* 2021 Jul 23;2021:9977993.
20. Zhang J, Sardana D, Li KY, Leung KCM, Lo ECM. Topical Fluoride to Prevent Root Caries: Systematic Review with Network Meta-analysis. *J Dent Res.* 2020 May;99(5):506-513.

21. Lussi A, Buzalaf MAR, Duangthip D, Anttonen V, Ganss C, João-Souza SH, Baumann T, Carvalho TS. The use of fluoride for the prevention of dental erosion and erosive tooth wear in children and adolescents. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2019 Dec;20(6):517-527.
22. Trieu A, Mohamed A, Lynch E. Silver diamine fluoride versus sodium fluoride for arresting dentine caries in children: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2019 Feb 14;9(1):2115.
23. Yu OY, Mei ML, Zhao IS, Li QL, Lo EC, Chu CH. Remineralisation of enamel with silver diamine fluoride and sodium fluoride. *Dent Mater.* 2018 Dec;34(12):e344-e352.
24. Xu S, Xie X, Li C, Liu Z, Zuo D. Micromolar sodium fluoride promotes osteo/odontogenic differentiation in dental pulp stem cells by inhibiting PI3K/AKT pathway. *Arch Oral Biol.* 2021 Nov;131:105265.
25. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Regeneración ósea guiada: materiales y mecanismos biológicos revisados. *Eur J Oral Sci.* 2017 Oct;125(5):315-337.
26. Majidinia M, Sadeghpour A, Yousefi B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration. *J Cell Physiol.* 2018 Apr;233(4):2937-2948.
27. Lee J, Byun H, Madhurakkat Perikamana SK, Lee S, Shin H. Current Advances in Immunomodulatory Biomaterials for Bone Regeneration. *Adv Healthc Mater.* 2019 Feb;8(4):e1801106.
28. Liu H, Li D, Zhang Y, Li M. Inflammation, mesenchymal stem cells and bone regeneration. *Histochem Cell Biol.* 2018 Apr;149(4):393-404.
29. Gugliandolo A, Fonticoli L, Trubiani O, Rajan TS, Marconi GD, Bramanti P, Mazzon E, Pizzicannella J, Diomede F. Oral Bone Tissue Regeneration: Mesenchymal Stem Cells, Secretome, and Biomaterials. *Int J Mol Sci.* 2021 May 15;22(10):5236.
30. Safarova Y, Umbayev B, Hortelano G, Askarova S. Mesenchymal stem cells modifications for enhanced bone targeting and bone regeneration. *Regen Med.* 2020 Apr;15(4):1579-1594.

31. Rajendiran M, Trivedi HM, Chen D, Gajendrareddy P, Chen L. Recent Development of Active Ingredients in Mouthwashes and Toothpastes for Periodontal Diseases. *Molecules*. 2021 Apr 1;26(7):2001.
32. Han Y. Effects of brief sodium fluoride treatments on the growth of early and mature cariogenic biofilms. *Sci Rep*. 2021 Sep 14;11(1):18290.
33. Zhang AH, Li J. [Evaluation of the efficacy of sodium fluoride dental protective agent combined with pit and fissure sealant in prevention of dental caries in preschool children]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2019 Oct;28(5):553-556. Chinese. PMID: 32274492.
34. Chen KJ, Gao SS, Duangthip D, Lo ECM, Chu CH. Randomized Clinical Trial on Sodium Fluoride with Tricalcium Phosphate. *J Dent Res*. 2021 Jan;100(1):66-73.
35. Ni J, Li Y, Zhang W, Shu R, Zhong Z. Sodium fluoride causes oxidative stress and apoptosis in cementoblasts. *Chem Biol Interact*. 2018 Oct 1;294:34-39.
36. Wierichs RJ, Mester J, Wolf TG, Meyer-Lueckel H, Esteves-Oliveira M. Effects of the association of high fluoride- and calcium-containing caries-preventive agents with regular or high fluoride toothpaste on enamel: an in vitro study. *Clin Oral Investig*. 2022 Mar;26(3):3167-3178.
37. Lee YC, Chan YH, Hsieh SC, Lew WZ, Feng SW. Comparing the Osteogenic Potentials and Bone Regeneration Capacities of Bone Marrow and Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Calvarial Bone Defect Model. *Int J Mol Sci*. 2019 Oct 10;20(20):5015.

10. REFERENCIA BIOGRÁFICA

Yéred Honorio Muñoz Salazar

Candidato para el grado de:

Maestría en Odontología Avanzada

Tesis: **POTENCIAL OSTEOGÉNICO DEL FLUORURO DE SODIO SOBRE CELULAS MADRE DE PULPA DENTAL CD146 + IN VITRO**

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 6 de Mayo de 1996, hijo de Honorio Muñoz Eguía y Daila Salazar Salazar.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Cirujano Dentista en el 2019.

Experiencia Profesional: Práctica profesional como Cirujano Dentista 2013 al 2020