

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



EFFECTO OSTEOGÉNICO DEL NeoMTA Plus SOBRE CÉLULAS MADRE DE LA PAPILA
APICAL IN VITRO

Por

CYNTHIA KARLA ALTAMIRANO GARZA

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

Noviembre, 2020

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia

**EFFECTO OSTEOGÉNICO DEL NeoMTA Plus SOBRE CÉLULAS MADRE DE LA PAPILA
APICAL IN VITRO**

CYNTHIA KARLA ALTAMIRANO GARZA

Comité de Tesis

Presidente

SERGIO EDUARDO NAKAGOSHI CEPEDA

Secretario

CASIANO DEL ÁNGEL MOSQUEDA

Vocal

MYRIAM ANGÉLICA DE LA GARZA RAMOS

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia

**EFFECTO OSTEOGÉNICO DEL NeoMTA Plus SOBRE CÉLULAS MADRE DE LA PAPILA
APICAL IN VITRO**

TESISTA
CYNTHIA KARLA ALTAMIRANO GARZA

Comité de Tesis

DIRECTOR DE TESIS
CASIANO DEL ÁNGEL MOSQUEDA

CODIRECTOR DE TESIS
JORGE JAIME FLORES TREVIÑO

ASESOR METODOLÓGICO
EYRA ELVIRA RANGEL PADILLA

ASESOR METODOLÓGICO
MARCELA ALEJANDRA GLORIA GARZA

ASESOR METODOLÓGICO

ASESOR METODOLÓGICO

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a Dios, quien Él escribió y planeó todas las cosas desde antes de mi concepción y quien cuidadosamente orquesta cada detalle en el tiempo perfecto, Él es quien da los dones y talentos a cada uno de nosotros, y Él así lo hizo conmigo, encaminándome poco a poco a esta hermosa especialidad mediante muchos medios e instrumentos que Él usó en su debido tiempo. Sin Él no sería nada, es por su pura gracia que pude concluir esta hermosa meta de ser Endodoncista, en ningún momento me faltó nada, todo lo proveyó y lo orquestó a su perfección. SOLI DEO GLORIA!

Agradezco a mis Padres, Carlos Manuel Altamirano Ramos y Gloria Nancy Garza Hinojosa, quienes me han apoyado incondicionalmente en todo momento, me enseñaron a ser perseverante, segura de mí misma y responsable. Me ayudaron siempre aconsejándome a tomar las mejores decisiones para ser una mejor persona y profesionista, sin ellos no lo hubiera logrado, los quiero mucho!.

A mis hermanos gemelos, Mauricio y Emmanuel, quienes madrugaban conmigo para llevarme todos los días al Posgrado. A mis hermanos mayores, Carlos y Nancy, que siempre han estado ahí con mucho cariño para apoyarme en todas mis metas y proyectos.

A todos mis amigos y hermanos en Cristo por su incondicional apoyo en oración en todo momento. También por su comprensión y cariño, ya que no pude estar presencialmente en muchas reuniones y cumpleaños por motivo de mis estudios, pero presente siempre en el corazón.

Al Coordinador del Posgrado, Dr. Jorge Jaime Flores Treviño quien me abrió las puertas del querido e inigualable Posgrado de Endodoncia de la UANL, por su apoyo incondicional, por su amabilidad y por haberme transmitido los conocimientos tan valiosos de esta hermosa especialidad.

A la Sub-Coordinadora del Posgrado, Dra. Elizabeth Madla Cruz, por haber estado al pendiente de nosotras en todo momento, por su apoyo incondicional y por habernos transmitido sus

conocimientos. A mis demás maestros del Posgrado de Endodoncia, quienes me transmitieron los conocimientos y habilidades finas y precisas necesarias para lograr ser una buena Endodoncista.

A la Dra. Myriam Angélica De La Garza Ramos, por haber sembrado en mi esa curiosidad de saber mas e investigar desde el segundo semestre de la carrera y quien tiempo después me adentró en el mundo de la Biología Celular al animarme a hacer una investigación en mi decimo semestre.

Al Dr. Casiano Del Angel Mosqueda, por haberme adentrado al hermoso mundo de la Regeneración desde mi primera investigación en decimo semestre y por haberme apoyado de nuevo en esta investigación estando ahora a nivel posgrado, mil gracias por todo!.

A los super héroes del Posgrado, las asistentes Nelly, Kary y Adry por haberme apoyado siempre con la gestión de los Pacientes y la Clínica de Endodoncia y por supuesto a Don Gus, no solo por su apoyo en Clínica, sino también por siempre haber estado ahí para apoyarnos y escucharnos como buen amigo y darle muy buena vibra al Posgrado.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	4
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. HIPÓTESIS	12
3.OBJETIVOS.....	13
3.1 Objetivo general.....	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. ANTECEDENTES	14
4.1 Endodencia Regenerativa	14
4.2 Células Madre	15
4.2.1 Células Madre Mesenquimales en Tejidos Dentarios	16
4.2.2 Células Madre de la Papila Apical (SCAPs)	17
4.3 Biomateriales	17
4.3.1 MTA	18
4.3.2 ProRoot MTA	18
4.3.3 NeoMTA Plus	20
6. MÉTODOS.....	21
5.1 Aislamiento de Células Madre de la Papila Apical.....	21
5.2 Tinción con Rojo Alizarina	22
5.3 Análisis cuantitativo	22
7. RESULTADOS	23
8. DISCUSIÓN.....	25
9. CONCLUSIONES	27
10. LITERATURA CITADA	28
RESUMEN BIOGRÁFICO	34

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I. Concentrado de los datos de campo obtenidos de los individuos del tratamiento	26
II. Datos de campo del tratamiento dos obtenidos en forma individual	27

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. SCAP's sembradas	20
2. SCAP's adheridas en la superficie	20
3. SCAP'S 7 días	20
4. Cultivo de SCAP's después de 14 días. Control Negativo	23
5. Diferenciación de las SCAP's después de 14 días. Control	23
6. Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus 14 días. 1ug	23
7. Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus 14 días. 5ug	23
8. Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus 14 días. 10ug	23
9. Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus 14 días. 25ug	23

TESISTA: CYNTHIA KARLA ALTAMIRANO GARZA
DIRECTOR DE TESIS: CASIANO DEL ÁNGEL MOSQUEDA
CODIRECTOR DE TESIS: JORGE JAIME FLORES TREVIÑO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EFFECTO OSTEOGÉNICO DEL NeoMTA Plus SOBRE CÉLULAS MADRE DE LA PAPILA
APICAL IN VITRO

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Los procedimientos regenerativos en endodoncia han emergido como una alternativa de tratamiento para los dientes inmaduros permanentes con necrosis pulpar, promoviendo la regeneración de las funciones fisiológicas normales de la pulpa. En este procedimiento es importante entender la interacción entre el cemento biocerámico y las células en el conducto radicular. **OBJETIVO:** Evaluar el efecto Osteogénico del NeoMTA Plus sobre Células Madre de la Papila Apical (SCAP's). **METODOLOGÍA:** Se aislaron SCAP's de terceros molares inmaduros. Se evaluó el efecto osteogénico mediante la tinción de rojo alizarina (ARS). **RESULTADOS:** Después de 14 días de exposición de las SCAP's al NeoMTA Plus se observó una gran proliferación celular y la formación de nódulos mineralizados de calcio con la tinción rojo alizarina. **CONCLUSIONES:** El NeoMTA Plus es un excelente cemento biocerámico por su buena manipulación y aplicación en los tratamientos de endodoncia regenerativa, demostrando tener una buena biocompatibilidad y actividad osteogénica.

Palabras Clave: Actividad osteogénica, NeoMTA Plus, SCAP's, Endodoncia Regenerativa

TESISTA: CYNTHIA KARLA ALTAMIRANO GARZA
DIRECTOR DE TESIS: CASIANO DEL ÁNGEL MOSQUEDA
CODIRECTOR DE TESIS: JORGE JAIME FLORES TREVIÑO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EFFECTO OSTEOGÉNICO DEL NeoMTA Plus SOBRE CÉLULAS MADRE DE LA PAPILA
APICAL IN VITRO

ABSTRACT

MEDICAL IMPORTANCE. Regenerative Procedures in Endodontics have emerged as a treatment alternative for permanent immature teeth with pulp necrosis, promoting the regeneration of normal physiological functions of pulp. In this important procedure it is understood the interaction between bioceramic cement and cells in the root canal. **OBJECTIVE.** Evaluate the Osteogenic effect of NeoMTA Plus on Apical Papilla Stem Cells (SCAPs). **METHODOLOGY.** SCAP's were isolated from third immature molars. Se evaluated the osteogenic effect by Ito alizarin red staining (ARS). **RESULTS:** After 14 days of exposure of SCAP's to NeoMTA Plus a large cell proliferation and the formation of mineralized calcium nodules with alizarin red staining were observed. **CONCLUSIONS:** NeoMTA Plus is an excellent biocephalic cement for its good handling and application in regenerative endodontic treatments, proving to have good biocompatibility and osteogenic activity.

Keywords: Osteogenic Activity, NeoMTA Plus, SCAP's, Regenerative Endodontics

1.- INTRODUCCIÓN

En el año 2001 se introdujo una nueva opción de tratamiento para tratar dientes permanentes inmaduros necróticos al cual le nombraron “Revascularización”, después se propuso nombrarlo “Revitalización” en vez de “Revascularización” debido a que se observó la ausencia de vasos sanguíneos entre los tejidos regenerados dentro del conducto radicular. El término “Endodoncia Regenerativa” fue adoptado por la Asociación Americana de Endodoncia en el 2007, este término se basa en el concepto biológico de la tríada de la Ingeniería de Tejidos. En la literatura endodóntica, revascularización, revitalización y endodoncia regenerativa son usados como sinónimos. Los tres objetivos de la Endodoncia Regenerativa es la resolución de los signos y síntomas clínicos, promover el desarrollo y maduración de la raíz y el retorno de la neurogénesis. El MTA es un material bioactivo, así como el hidróxido de calcio y los iones de calcio asociados que permiten la unión y proliferación celular. Los iones de calcio desempeñan un papel en la regulación de las actividades celulares, es importante para la supervivencia de las células madre. La migración de las MSC, BMSCs y células tumorales está influenciada por los iones de calcio. Las células productoras de tejido duro se diferencian y migran hacia la superficie del MTA, formando un sello biológico. ¿Tendrá efecto Osteogénico el cemento NeoMTA Plus? Los Procedimientos Regenerativos en Endodoncia han emergido como una alternativa de tratamiento para los dientes inmaduros permanentes con necrosis pulpar, que en adición a la reparación de la periodontitis apical, promueven la regeneración de las funciones fisiológicas normales de la pulpa. Esto incluye la continuación del desarrollo radicular y alivio de los síntomas. En este tratamiento se coloca un cemento biocerámico sobre el coagulo de sangre, es importante entender la interacción entre el cemento biocerámico y las células en el conducto radicular. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto Osteogénico del NeoMTA Plus sobre Células Madre de Papila Apical. Se aislaron SCAP's de terceros molares inmaduros. El efecto osteogénico se evaluó mediante la detección de los depósitos de calcio con tinción de rojo alizarina (ARS). Después de 14 días de exposición de las SCAP's al NeoMTA Plus se observó una gran proliferación celular y la formación de nódulos mineralizados de calcio con la tinción rojo alizarina.

2.- HIPÓTESIS

El Cemento Biocerámico NeoMTA Plus tiene efecto Osteogénico.

3.- OBJETIVOS

3.1.- Objetivo General

- Evaluar el efecto Osteogénico del NeoMTA Plus sobre Células Madre de la Papila Apical.

3.2.- Objetivos Específicos

- Cultivar una población de SCAPs utilizando disociación enzimática.
- Analizar la expresión del marcador de superficie CD146 en las SCAP's.
- Analizar el efecto osteogénico del NeoMTA Plus mediante la tinción rojo alizarina.

4. ANTECEDENTES

La **Regeneración** se define como la restauración de la arquitectura tisular y la función biológica de los tejidos dañados mediante un tejido similar al tejido original. La **Reparación** es la sustitución de tejido dañado por tejido diferente del tejido original y la pérdida de la función biológica (Majno y Joris 2004; Kumar et al., 2015).

4.1 Endodoncia Regenerativa

En el año 2001 se introdujo una nueva opción de tratamiento para tratar dientes permanentes inmaduros necróticos al cual le nombraron “Revascularización” (Iwaya et al. 2001). Después se propuso nombrarle “Revitalización” en vez de “Revascularización” debido a que se observó la ausencia de vasos sanguíneos entre los tejidos regenerados dentro del conducto radicular (Huang & Lin 2008). El término “Endodoncia Regenerativa” fue adoptado por la Asociación Americana de Endodoncia en el 2007 (Murray et al. 2007). Este término se basa en el concepto biológico de la tríada de la Ingeniería de Tejidos, el cual consiste en células madre, andamios biomiméticos y factores de crecimiento bioactivos en el canal radicular para regenerar el tejido pulpar dañado (Nakashima & Akamine 2005). En la literatura endodóntica, revascularización, revitalización y endodoncia regenerativa son usados como sinónimos. La Endodoncia Regenerativa es definida como “Procedimientos biológicos diseñados para reemplazar los tejidos dentales dañados, incluyendo dentina, estructuras radiculares y células del complejo dentino-pulpar” (Murray et al. 2007). Los tres objetivos de la Endodoncia Regenerativa es la resolución de los signos y síntomas clínicos, promover el desarrollo y maduración de la raíz y el retorno de la neurogénesis (Kim et al. 2018).

En estudios de la Endodoncia Regenerativa en humanos y animales, las células madre inducidas en el espacio del canal parecían ser del ligamento periodontal y la médula ósea en lugar de la papila apical porque los tejidos formados en el espacio del canal son tejidos similares al cemento, hueso y tejido periodontal. (Kim et al. 2018) Por lo tanto, la Endodoncia Regenerativa se considera histológicamente como un proceso reparativo y no regenerativo (Lin & Rosenberg 2011, Simon et al. 2014).

La reparación no es una curación ideal de heridas porque el tejido dañado ha perdido su función fisiológica. Ningún estudio ha demostrado que la regeneración natural (in vivo e in situ) de tejido u órgano humano sea posible si está completamente dañado; por lo tanto es necesario el trasplante de tejidos u órganos. La regeneración del complejo pulpa-dentina en el espacio del canal de los dientes inmaduros permanentes con pulpa necrótica después de la Endodoncia Regenerativa requiere que las células madre mesenquimales se introduzcan en el canal para diferenciarse en odontoblastos (Kim et al. 2018).

Las consideraciones para el protocolo de la Endodoncia Regenerativa consisten en desinfectar el sistema de conductos radiculares, proveer un andamio para formar un coágulo de sangre después de lacerar el tejido periapical para inducir el sangrado y la migración de células madre mesenquimales en el canal radicular y sellar adecuadamente la porción coronal para prevenir la filtración e infecciones (Bezgin & Sönmez 2015; Galler 2016).

4.2 Células Madre

La Célula Madre es una célula indiferenciada que puede producir células hijas las cuales pueden seguir siendo una célula madre en un proceso llamado de auto renovación o comprometerse a un tipo celular específico a través de la iniciación de una vía de diferenciación que conduce a la producción de células de la progeñie maduros. Estas se clasifican en dos grupos dependiendo si derivan de un feto o de un individuo postnatal, que estas pueden ser Células Madre Embrionarias y Células Madre Adultas o. La segunda clasificación más funcional de las células madre es basada acorde a su desarrollo potencial como totipotente, pluripotente, multipotente y unipotente. En este caso, las Células Madre Adultas se han clasificado como multipotentes y unipotentes, dependiendo del lugar de origen (Can, 2008).

La Célula Madre Mesenquimal fue caracterizada por primera vez en 1976 por Friedenstein y colaboradores y se define como una célula multipotencial indiferenciada, no hematopoyética, capaz de proliferar y diferenciarse en distintos tipos celulares para luego constituir un tejido u órgano (Friedenstein et al, 1976; Lympéri et al, 2013; Machado et al, 2013).

En el año 2006, la Sociedad Internacional de Terapia Celular (ISCT), propuso tres criterios para definir las Células Madre Mesenquimales (Dominici et al., 2006): 1- Deben ser adherentes en

cultivo, 2- expresar los antígenos CD73, CD90 y CD105 en ausencia de antígenos hematopoyéticos como CD34, CD45, marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos B, 3- deben ser capaces de diferenciarse in vitro en osteoblastos, adipocitos y condrocitos bajo condiciones estándar de cultivo.

En general, las células madre se definen por tener dos propiedades principales: en primer lugar, son capaces de autorenovarse y en segundo lugar, son capaces de diferenciarse en células especializadas (Tuan et al., 2002; Baksh et al., 2004).

Las Células Madre Mesenquimales se pueden diferenciar en osteoblastos, neuroblastos, cartílago, célula endotelial, muscular y adiposa (Lymperi et al, 2013). En modelos experimentales se ha demostrado que son capaces de regenerar tejidos deteriorados o lesionados como hueso, cartílago, tejido hepático o miocárdico y modular reacciones inmunes en colagenopatías, esclerosis múltiple y trasplantes de médula ósea (Romero et al, 2007; Mazhari y Hare, 2007). Las Células Madre Mesenquimales han sido aisladas principalmente de la médula ósea, cordón umbilical y tejido adiposo. También se han aislado del páncreas, hígado, músculo esquelético, dermis, membrana sinovial, hueso trabecular, tejido pulmonar, líquido articular, líquido amniótico y de la pulpa dental (Lymperi et al, 2013; Huang et al, 2009; Romero et al, 2007).

4.2.1 Células Madre Mesenquimales en Tejidos Dentarios

Existen varios tipos de células madre mesenquimales en el diente: 1- Célula Madre de la Pulpa Dental (DPSC), ésta fue el primer tipo de célula madre aislada de un órgano dentario (Gronthos et al., 2000). 2- Célula Madre de Dientes Deciduos Exfoliados (SHED) (Miura et al., 2003), 3- Células Madre del Ligamento Periodontal (PDLSC) (Seo et al., 2004), 4- Células Madre de la Papila Apical (SCAP) (Sonoyama et al., 2006; 2008), 5- Células Precursoras del Folículo Dental (DFCs), las cuales se aislaron del folículo dental del tercer molar humano, y se reportaron como las células progenitoras o células precursoras de los cementoblastos, células del ligamento periodontal y osteoblastos (Morsczeck et al., 2005; Yao et al., 2008; d'Aquino et al., 2011). 6- Células Madre Epiteliales Dentales (DESC) se aislaron de los restos epiteliales de Malassez (Harada et al., 1999; Nam et al., 2011). 6- Incluso también se han aislado Células Madre de un diente supernumerario (mesiodens) (Huang et al., 2008).

Las Células Madre Mesenquimales de la Pulpa Dental (DPSC) tienen morfología fibroblastoide, pero a diferencia de los fibroblastos tiene las características de ser una célula que puede proliferar y diferenciarse en odontoblastos, condrocitos, miocitos, adipocitos y neurocitos *in vitro* e *in vivo* y se ha observado que muestran un estado más primitivo que las Células Madre Mesenquimales de la médula ósea (Grontos et al., 2000; Gronthos et al., 2002; Tuan et al., 2002; Romero et al., 2007; Lymperi et al., 2013; Machado et al., 2013; Nuti et al., 2016).

Una de las características que más ha llamado la atención para la ingeniería de tejidos dentales es su potencial de diferenciación odontogénica. Estudios anteriores han demostrado que las células madre dentales, incluidos los DPSC, SHED, SCAP son capaces de diferenciarse en células odontoblásticas *in vitro* (Gronthos et al., 2000; Batouli et al., 2003; Miura et al., 2003; Huang et al., 2006; Sonoyama et al. 2008; Morsczech et al., 2009; Alongi et al. 2010) y formar tejido pulpo-dentinario ectópico al trasplantarlo subcutáneamente en ratones inmunocomprometidos *in vivo* (Sonoyama et al., 2006; Huang et al., 2008).

4.2.2 Células Madre de Papila Apical (SCAPs)

En el 2008 se aislaron por primera vez las Células Madre Mesenquimales de la Papila Apical (SCAP). Son capaces de diferenciarse en células de tipo odontoblasto, producen dentina *in vivo* y es probable que sean la fuente celular primaria de los odontoblastos para la formación de la dentina radicular (Sonoyama et al., 2008).

La papila apical está unida al ápice de la raíz en desarrollo, la cual se encuentra hacia apical del diafragma epitelial y hay una zona apical rica en células que se encuentra entre la pulpa y la papila apical. Debido a la ubicación apical de la papila apical, este tejido es beneficiado por su circulación colateral, lo que le permite sobrevivir durante el proceso de necrosis de pulpa (Huang et al., 2008).

Se ha demostrado que es una fuente de células prometedora por tener la capacidad de regenerar raíces para futuras aplicaciones clínicas (Sonoyama et al. 2006). Tienen una tasa de proliferación tres veces mayor que las Células Madre de la Pulpa Dental (Sonoyama et al., 2008; Bakopoulou et al., 2011; Galler et al. 2015; Wongwatanasanti et al., 2018). Tienen la capacidad de expresar los genes del marcador CD24 (pluripotencia), STRO-1 y DSPP (sialoproteína de dentina) (Galler et al.

2016; Diogenes et al. 2013). Además se ha demostrado que los SCAP's tienen una tasa de mineralización significativamente mayor en comparación con las DPSC's, demostrando su gran capacidad osteogénica (Bakopoulou et al., 2011; Wongwatanasanti et al., 2018).

4.3 Biomateriales

Los materiales biocompatibles son esenciales para los tratamientos regenerativos y preservan la capacidad y el potencial de las células madre para la proliferación, supervivencia y reparación (Nosrat et al. 2011). Los biomateriales deben ser capaces de estimular las Células Madre Mesenquimales (MSC's) para formar tejido duro e inducir su diferenciación a células de tipo odontoblasto. Estos biomateriales están en contacto directo con las células y, por lo tanto, su biocompatibilidad es un requisito (Gomes-Filho et al. 2009).

La evaluación del comportamiento de las células y el efecto de los biomateriales en ellas es extremadamente importante. Se utilizan varios métodos para las pruebas de citotoxicidad, entre los cuales el ensayo MTT es la prueba más comúnmente utilizada para evaluar la citotoxicidad de los materiales contra diferentes líneas celulares, incluidos los fibroblastos gingivales, DPSCs, SCAP y los fibroblastos del ligamento periodontal (Huang 2008; Kontakiotis et al. 2015; Torabinejad et al. 2017; Trevino et al. 2011). Este ensayo es un método estándar aprobado por la ISO para la evaluación de la citotoxicidad (Huang 2008). El ensayo MTT, también conocido como ensayo de toxicidad de tetrazolio de Mossman, es un ensayo colorimétrico para evaluar la viabilidad celular (Kahler et al. 2017).

Los iones de calcio desempeñan un papel importante en la regulación de las actividades celulares. La liberación de iones de calcio es un factor influyente en la biocompatibilidad (Saberri et al. 2016). La liberación de este ion desde los cementos de silicato es importante para la supervivencia de las MSC (Camilleri 2007). La migración de las MSC, BMSCs y células tumorales también está influenciada por los iones de calcio (Aguirre et al. 2010; Wondergem et al. 2008).

4.3.1 MTA

El agregado de trióxido mineral (MTA) se encuentra entre los biomateriales más utilizados en el tratamiento de endodoncia regenerativa. Tiene una excelente biocompatibilidad (Paranjpe et al.

2010). Debido a sus propiedades óptimas, como la hidrofiliidad, la radiopacidad adecuada, el pH alto, la expansión del fraguado, la baja solubilidad y la biocompatibilidad, el MTA se utiliza como un biomaterial estándar para diversos procedimientos endodónticos, como la terapia de pulpa vital, la regeneración, la reparación de perforaciones radiculares, la apexificación y la obturación retrógrada (Torabinejad et al. 1997; Paranjpe et al. 2010; Madfa 2014). No se comprende completamente cómo el MTA estimula la diferenciación odontoblástica en células madre de pulpa dental (DPSC); los iones de calcio, sin embargo, parecen tener un papel importante en este fenómeno (Zhou et al. 2013).

En la Endodoncia Regenerativa, la pasta de MTA se coloca sobre el coágulo de sangre o sobre un andamio y actúa como una barrera coronal para prevenir la filtración y la entrada de microorganismos (Kahler et al. 2017). Se informó que el 85% de los estudios de REP utilizaron MTA para este propósito (Kontakiotis et al. 2015). El MTA tiene un pH de 10.2 después de mezclar con agua, que aumenta a 12.5 después de 3hrs (Torabinejad et al. 1995). Además, se ha demostrado que el MTA es un buen material de sellado (Torabinejad et al. 1995a; Adamo et al. 1999) y es menos citotóxico que otros materiales utilizados en odontología (Torabinejad et al. 1995b).

Los componentes principales del polvo de MTA son: silicato tricálcico, silicato dicálcico, óxido de bismuto, sulfato de calcio deshidratado o yeso y aluminato tricálcico. Para aplicaciones clínicas, la MTA se mezcla con solución salina o agua destilada (Rajasekharan et al. 2014). Esta mezcla acuosa da como resultado la liberación de hidróxido de calcio y la subsiguiente formación de hidrato de silicato de calcio, que se traduce en un gel sólido poroso con una cristalización pobre (Camilleri 2007). El calcio precipitado produce hidróxido de calcio que confiere propiedades alcalinas al MTA después de la hidratación (Camilleri 2008). El MTA es un material bioactivo, así como el hidróxido de calcio y los iones de calcio asociados que permiten la unión y proliferación celular (Bortoluzzi et al. 2006; Ozdemir et al. 2008). El alto pH confiere propiedades antibacterianas (Eldeniz et al. 2006; Tanomaru-Filho et al. 2007). Las células productoras de tejido duro se diferencian y migran hacia la superficie del MTA, formando un sello biológico (Kuratate et al. 2008; Reyes-Carmona et al. 2009; Parirokh & Torabinejad 2010).

4.3.2 ProRoot MTA

Los componentes del ProRoot MTA (Dentsply, Tulsa, Oklahoma, USA) son: Silicato tricálcico 53% (C3S) y silicato dicálcico 19% (C2S), óxido de bismuto como radio-opacificador (Bi₂O₃), aluminato tricálcico 10% (C3A), tetracalcioaluminoferrito 7% (C4AF) y sulfato de calcio (CaSO₄), óxido de magnesio 2.8% (MgO), trióxido de azufre 2.9% (SO₃), 1.0% Ignition loss y óxido de calcio libre 1.0% (CaO) (Salehimehr et al., 2017). Se mezcla con una solución acuosa viscosa de un polímero soluble en agua (Jafari y Jafari, 2017).

El ProRoot MTA gris contiene una cantidad significativa de hierro en comparación con ProRoot MTA blanco, fue modificado para reducir la decoloración a la estructura dental, se eliminó el tetracalcioaluminoferrito (C4AF) como elemento principal inducido por la decoloración del hierro (Fe) (Salehimehr et al., 2017). La composición química del cemento Portland, ProRoot MTA gris y ProRoot MTA blanco son muy similares (Song et al., 2006).

4.3.3 NeoMTA Plus

NeoMTA Plus es un nuevo material de silicato tricálcico en polvo más fino y tiene óxido de tantalio (Ta₂O₅) como agente radiopacificante que se mezcla con un gel a base de agua que imparte buenas propiedades de manipulación. La relación de mezcla de polvo a gel puede variar y una consistencia delgada se puede utilizar como sellador ortogrado o una mezcla gruesa para la obturación retrógrada. El fabricante afirma que las indicaciones incluyen la aplicación de este material para terapias vitales de pulpa (recubrimiento pulpar, pulpotomía o revestimiento/base de cavidad), apexificación de raíces, reparación de raíces (resorción o perforación), llenado en el extremo de la raíz y sellado de conductos radiculares. Tiene una radiopacidad adecuada y un tiempo de ajuste prolongado para la obturación de los conductos. La liberación de iones de calcio e hidroxilo es mayor y más prolongada en comparación con MTA Plus, manteniendo la capacidad de formar una capa de fosfato cálcico. Esta capacidad de formación de CaP podría ser útil para aumentar la estabilidad en el conducto radicular (Siboni et al., 2017).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Aislamiento de Células Madre Mesenquimales de Papila Apical

Las células madre de la papila apical se aislaron de dos terceros molares mandibulares inmaduros de un paciente sano de 16 años sin antecedentes médicos de importancia. Los dientes se enjuagaron y se almacenaron en solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS) (Gibco BRI, Grand Island, NY, EE. UU.) inmediatamente después de la extracción. Un tejido blando de superficie lisa se observó en el ápice de los dientes inmaduros extraídos, y con un par de alicates, este tejido (la papila apical) se desprendió fácilmente del ápice que exponía el tejido de la pulpa en el espacio del canal.

Las células madre fueron aisladas de la papila apical del diente mediante digestión enzimática con colagenasa tipo I (2 mg / ml) (Worthington Biomedical, Lakewood, NJ, EE. UU.) y sumergida en la suspensión mediana de Eagle modificada por Dulbecco (DMEM, Gibco, Grand Island, NY, EE. UU.). Para obtener un mayor número de células, se cultivaron nuevamente en un medio de cultivo que contenía un 15% de suero bovino fetal (FBS) (Gibco BRI, Grand Island, NY, EE. UU.). Esta línea celular se cultivó en medio de cultivo estéril que contenía suero bovino al 10% (DMEM) en matraces de cultivo celular estériles (SPL Life Science, Gyeonggi-do, Corea del Sur). El medio de cultivo se renovó cada 2-3 días durante el proceso de cultivo celular y las células se pasaron después de una semana (Ring et al., 2008; Pang et al., 2014).

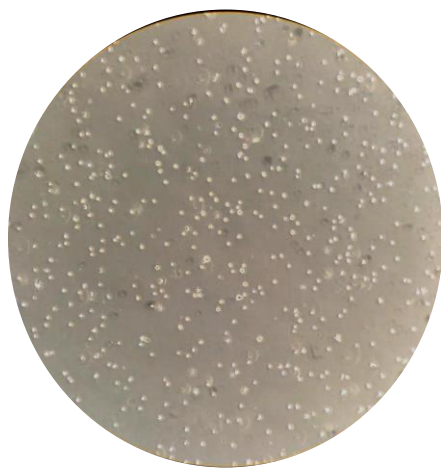


Fig 1. SCAP's recién sembradas

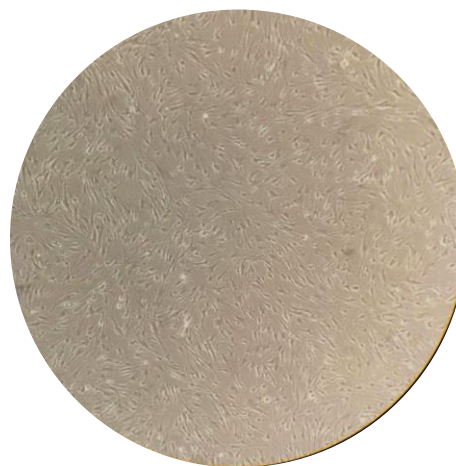


Fig 2. SCAP's adheridas en la superficie

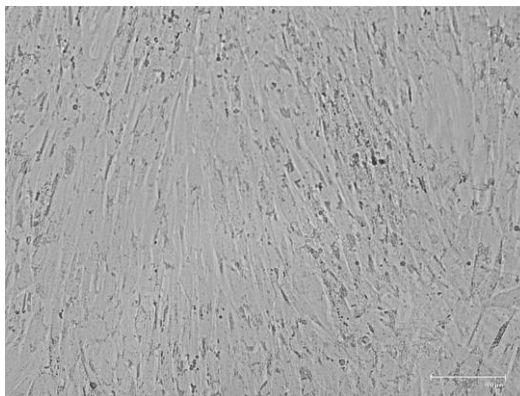


Fig 3. SCAP'S 7 días

Se realizó el análisis para CD146, el cual es un marcador expresado por células madre mesenquimales perivasculares (Baksh et al., 2007).

Se preparó el NeoMTA Plus de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se sembraron las células en 5 distintos grupos: 1ug, 5ug, 10ug, 25ug y grupo control.

5.2 Tinción con Rojo Alizarina

Para evaluar la cantidad de calcio depositado por los materiales, las SCAP's fueron sembradas (1×10^4 células mL^{-1}) en una placa de 12 pocillos. Para este experimento, se utilizó el medio DMEM complementado con $50\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich) y 10 mM de glicerofosfato β (Sigma-Aldrich). Durante 21 días, el medio DMEM con y sin los extractos de cemento (1:8 dilución) se renovó cada dos días. Después de este período, las células fueron lavadas con PBS, fijadas con 10% de paraformaldehído (Sigma-Aldrich) y luego teñidas con rojo alizarina al 2% (pH 4.1). Las imágenes digitales se obtuvieron del pozo y se analizaron como porcentaje de área mineralizada utilizando el programa UTHSCSA Image Tool para Windows versión 3.0 (San Antonio, TX, EE.UU.). Sólo la tinción de depósitos de calcio dentro de las células y los nódulos mineralizados se evaluó como área mineralizada (Tanomaru-Filho et al., 2017).

5.5 Análisis Cuantitativo.

6. RESULTADOS

Las SCAP's expresaron el marcador CD146.

En todos los grupos se observó una buena actividad proliferativa de las SCAP's. Se observó la formación de nódulos mineralizados de calcio en los grupos de 5ug, 10ug y 25ug. La mayor formación de nódulos mineralizados de calcio se observó a la exposición de 25ug de NeoMTA Plus después de 14 días.

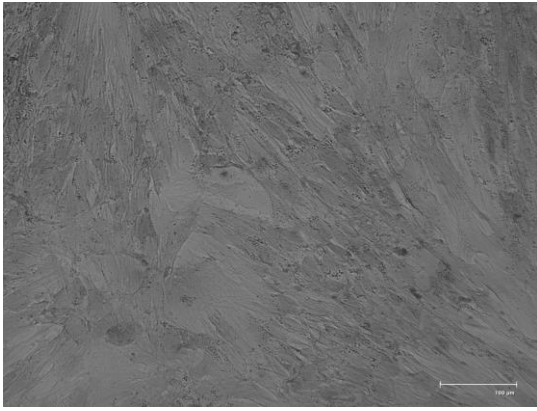


Fig. 4 Cultivo de SCAP's después de 14 días. Control Negativo

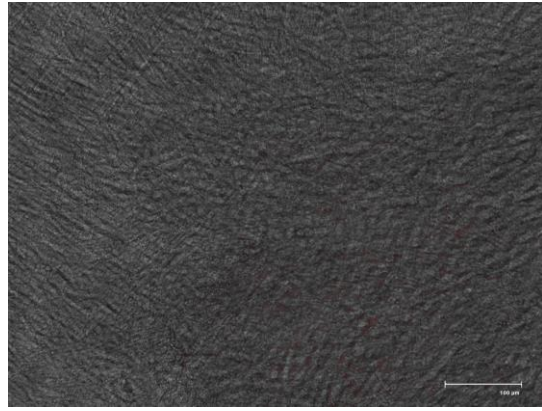


Fig. 5 Diferenciación de las SCAP's después de 14 días. Control

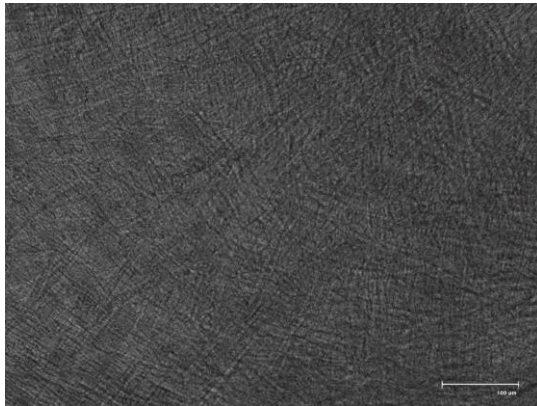


Fig. 6 Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus después de 14 días. 1ug

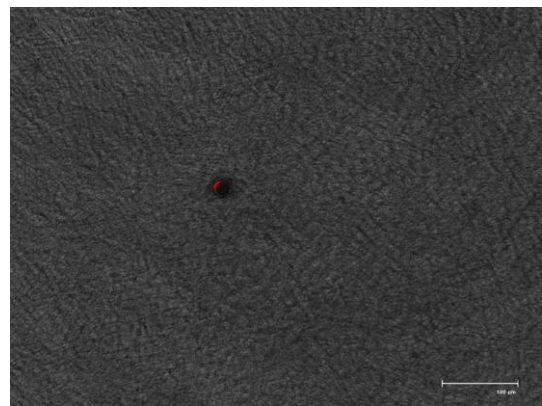


Fig. 7 Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus después de 14 días. 5ug

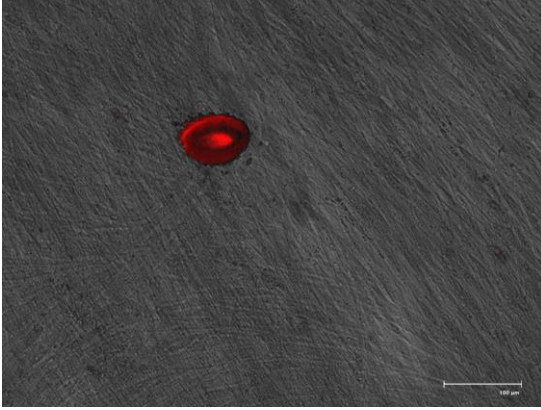


Fig. 8 Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus después de 14 días. 10ug

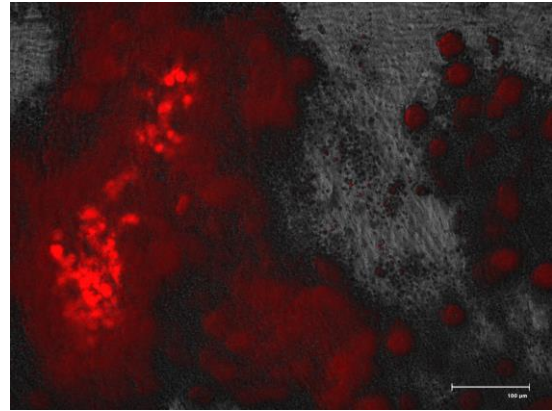


Fig. 9 Diferenciación de las SCAP's ante el NeoMTA Plus después de 14 días. 25ug

7. DISCUSIÓN

La expresión del marcador de superficie CD146 puede sugerir la actividad neovascular de las SCAP's, dado que no solo son las responsables de seguir desarrollando las paredes de la raíz, sino también el desarrollo de la pulpa dental (Sonoyama et al., 2008). Debido a la ubicación apical de la papila apical, este tejido es beneficiado por su circulación colateral, lo que le permite sobrevivir durante el proceso de necrosis de pulpa (Huang et al., 2008).

En el presente estudio se evaluó la actividad osteogénica sobre las células madre de la papila apical humana por su gran potencial regenerativo, proliferativo y osteogénico (Sonoyama et al., 2008; Bakopoulou et al., 2011; Galler et al. 2015; Wongwatanasanti et al., 2018) y debido al íntimo contacto de estas células con los cementos biocerámicos en los tratamientos regenerativos, a diferencia de otros estudios donde evaluaron la viabilidad y el efecto osteogénico con células similares a osteoblastos humanos (Gomes-Cornélio et al. 2017; Tanomaru-Filho et al., 2017).

El NeoMTA Plus demostró ser biocompatible con las SCAP's por promover la proliferación celular, lo cual es importante para su uso en los tratamientos regenerativos así como se ha demostrado también en otro estudio dando como resultado la baja citotoxicidad (Tanomaru-Filho et al., 2017).

El NeoMTA Plus estimuló a las SCAP's a la formación de nódulos calcificados de calcio mediante la tinción rojo alizarina demostrando su capacidad osteogénica al igual que en otro estudio donde se reveló que el NeoMTA Plus tiene la mayor capacidad osteogénica comparado con el MTA de Angelus y un Cemento de Silicato Tricálcico con Óxido de Tantalio (Tanomaru-Filho et al., 2017). En otro estudio un cemento de calcio de silicato con 30% de óxido de zirconia demostró tener una mayor capacidad osteogénica comparado con el NeoMTA Plus (Gomes-Cornélio et al. 2017).

Cabe recalcar que esta formación de nódulos calcificados fue muy rápida (en 14 días) en el grupo de 25ug al igual que la proliferación celular, dando como resultado el desprendimiento de la monocapa de células. En comparación con otros estudios donde se observa la Máxima actividad cálcica y proliferativa a los 21 días (Tanomaru-Filho et al., 2017). Esto puede deberse a dos distintos aspectos: la gran capacidad potencial proliferativa y regenerativa de las SCAP's

(Sonoyama et al., 2008; Bakopoulou et al., 2011; Galler et al. 2015; Wongwatanasanti et al., 2018)
o a las excelentes propiedades osteoinductoras del NeoMTA Plus sobre las SCAP's.

8. CONCLUSIONES

- Las SCAP's tienen un gran potencial proliferativo y por su importancia anatómica y biológica en los tratamientos de Endodoncia Regenerativa deberían hacerse mas investigaciones usando esta línea celular.
- Las SCAP's pueden ser una gran herramienta para mas investigaciones sobre la regeneracion del complejo pulpo-dentinario por expresar el marcador CD146.
- El NeoMTA Plus es un excelente cemento biocerámico demostrando tener una buena biocompatibilidad y actividad osteogénica, siendo de gran utilidad en la preservación de la papila apical para el posterior desarrollo del ápice inmaduro.

9. LITERATURA CITADA

1. Adamo HL, Buruiana R, Schertzer L, Boylan RJ. A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. *Int. Endod. J.* 1999, 32, 197–203.
2. Aguirre A, Gonzalez A, Planell J, Engel E. Extracellular calcium modulates in vitro bone marrow-derived Flk-1+ CD34+ progenitor cell chemotaxis and differentiation through a calciumsensing receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;393(1):156-61.
3. Ali SA-H, Al-Jundi S, Ditto D. In vitro toxicity of grey MTA in comparison to white MTA on human periodontal ligament fibroblasts. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2014;15(6):429-33.
4. Alongi DJ, Yamaza T, Song Y et al. Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain regenerative potential. *Regen Med* 2010; (5):617–31.
5. Bakopoulou, A., Leyhausen, G., Volk, J., Tsiftoglou, A., Garefis, P., Koidis, P., & Geurtsen, W. Comparative analysis of in vitro osteo/odontogenic differentiation potential of human dental pulp stem cells (DPSCs) and stem cells from the apical papilla (SCAP). *Archives of oral biology* 2011, 56(7), 709-721.
6. Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells* 2007;25:1384–92.
7. Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med* 2004;8:301–16.
8. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, et al. Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. *J Dent Res* 2003;82(12):976–81.
9. Bezgin T, Sönmez H. Review of current concepts of revascularization/revitalization. *Dent. Traumatol.* 2015, 31, 267–273.
10. Bortoluzzi, EA, Broon NJ, Duarte MAH, de Oliveira Demarchi ACC, Bramante CM. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of mineral trioxide aggregate and white Portland cement. *J Endod* 2006;32(12):1194-1197.
11. Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K. A retrospective evaluation of radiographic outcomes in immature teeth with necrotic root canal systems treated with regenerative endodontic procedures. *J Endod* 2009;35:1343–9.
12. Camilleri, J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int. Endod. J.* 2007, 40, 462–470.
13. Can A. A concise review on the classification and nomenclature of stem cells. *Turk J Hematol.* 2008;25(2):57-9.

14. d'Aquino R, Tirino V, Desiderio V, Studer M, De Angelis GC, Laino L & Sampaolesi M. Human neural crest-derived postnatal cells exhibit remarkable embryonic attributes either in vitro or in vivo. *European cells & materials*. 2011;21:304-316.
15. Diogenes AR, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endod Top* 2013;28:2–23.
16. Diogenes AR, Ruparel NB, Teixeira FB, Hargreaves KM. Translational science in disinfection for regenerative endodontics. *J Endod* 2014;40:S52-S57.
17. Dominici MLBK, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS & Horwitz EM. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-317.
18. Eldeniz, AU, Hadimli HH, Ataoglu H, Orstavik D. Antibacterial effect of selected root-end filling materials. *J. Endod.* 2006, 32, 345–349.
19. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, & Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Experimental hematology*. 1976;4(5):267-274.
20. Galler KM, Buchalla W, Hiller KA, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, Schmalz G. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J. Endod.* 2015, 41, 363–368.
21. Galler KM. Clinical procedures for revitalization: Current knowledge and considerations. *Int. Endod. J.* 2016, 49, 926–936.
22. Galler KM, Widbiller M, Buchalla W, Eidt A, Hiller KA, Hoffer PC, Schmalz G. EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells. *Int. Endod. J.* 2016, 49, 581–590.
23. Gandhi A, Gandhi T, Madan N. Dental pulp stem cells in endodontic research: a promising tool for tooth tissue engineering. *RSBO (Online)*. 2011;8(3):335-40.
24. Gomes-Cornélio, A. L., Rodrigues, E. M., Salles, L. P., Mestieri, L. B., Faria, G., Guerreiro, Tanomaru, J. M., & Tanomaru-Filho, M. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and an experimental calcium silicate-based cement on human osteoblast-like cells. *International endodontic journal*, 2017;50(1), 39-47.
25. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabe PFE, de Moraes Costa MT. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endod.* 2009;35(2):256-60.
26. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey P G, & Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000;97(25):13625-13630.
27. Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher L W, Cherman N, Boyde A & Shi S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of dental research*. 2002;81(8):531-535.

28. Harada H, Kettunen P, Jung H S, Mustonen T, Wang Y A & Thesleff I. Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling. *The Journal of cell biology*. 1999;147(1):105-120.
29. Holden DT, Schwartz SA, Kirkpatrick TC, Schindler WG. Clinical Outcomes of Artificial Root-end Barriers with Mineral Trioxide Aggregate in Teeth with Immature Apices. *J Endod* 2008;34:812-817
30. Huang AHC, Chen YK, Lin LM, Shieh TY, & Chan AWS. Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2008;37(9):571-574.
31. Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, Shi S. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. *J Endod* 2008;34:645–51.
32. Huang GT. A paradigm shift in endodontic management of immature teeth: conservation of stem cells for regeneration. *J Dent*. 2008;36(6):379-386.
33. Huang GJ, 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(9):792-806.
34. Huang GT, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res* 2006;324(2):225–36.
35. Jafari F, Jafari S. Composition and physicochemical properties of calcium silicate based sealers: A review article. *J Clin Exp Dent*. 2017; 9:e1249-e1255.
36. Jaberiansari Z, Naderi S, Tabatabaei FS. Cytotoxic Effects of Various Mineral Trioxide Aggregate Formulations, Calcium-Enriched Mixture and a New Cement on Human Pulp Stem Cells. *Iran Endod J*. 2014;9(4):271.
37. Kahler B, Chugal N, Lin LM. Alkaline Materials and Regenerative Endodontics: A Review. *Materials (Basel)*. 2017;10(12):1389
38. Kim SG, Malek M, Sigurdsson A, Lin LM, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *Int Endod J*. 2018;51(12):1367-1388
39. Kontakiotis EG, Filippatos CG, Tzanetakis GN, Agrafioti A. Regenerative endodontic therapy: A data analysis of clinical protocols. *J. Endod*. 2015, 41, 146–154.
40. Kumar V, Abbas AK, Fausto N et al. (2015) *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 8th edn. Philadelphia, PA: Saunders.

41. Kuratate M, Yoshiba K, Shigetani Y, Yoshiba N, Ohshima H, Okiji T. Immunohistochemical analysis of nestin, osteopontin, and proliferating cells in the reparative process of exposed dental pulp capped with mineral trioxide aggregate. *J. Endod.* 2008, 34, 970–974.
42. Lee BN, Lee KN, Koh JT, Min KS, Chang HS, Hwang IN, Hwang YC, Oh WM. Effects of 3 Endodontic Bioactive Cements on Osteogenic Differentiation in Mesenchymal Stem Cells. *J Endod.* 2014.
43. Lin LM, Rosenberg PA. Repair and regeneration in endodontics. *Int Endod J.* 2011;44(10):889-906
44. Lymperi S, Ligoudistianou C, Taraslia V, Kontakiotis E, Anastasiadou E. Dental Stem Cells and their Applications in Dental Tissue Engineering. *Open Dent J.* 2013;7:76-81
45. Machado CdeV, Telles PD, Nascimento IL. Immunological characteristics of mesenchymal stem cells. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2013;35(1):62-67
46. Madfa AA. Endodontic Repair Filling Materials: A Review Article. *British J Med Research.* 2014;4(16):3059-79.
47. Majno G, Joris I (2004) *Cells, Tissues, and Disease*, 2nd edn. Oxford, London, UK: Oxford University Press.
48. Mazhari R, Hare JM. Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cardiac repair: potential influences on the cardiac stem cell niche. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2007;4 Suppl 1:S21-S26
49. Miller AA, Takimoto K, Wealleans J, Diogenes A. Effect of 3 Bioceramic Materials on Stem Cells of the Apical Papilla Proliferation and Differentiation Using a Dentin Disk Model. *J Endod.* 2018;44(4), 599-603.
50. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5807–12.
51. Mori GG, Teixeira LM, de Oliveira DL, Jacomini LM, da Silva SR. Biocompatibility evaluation of biodentine in subcutaneous tissue of rats. *J Endod.* 2014;40(9):1485-8.
52. Morszeck C, Götz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kühn U, Möhl C & Hoffmann KH. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biology.* 2005;24(2), 155-165.
53. Morszeck C, Petersen J, Voßllner F, Driemel O, Reichert T, Beck HC. Proteomic analysis of osteogenic differentiation of dental follicle precursor cells. *Electrophoresis* 2009;30(7):1175–84.
54. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J Endod.* 2007;33(4):377-90.

55. Nam H, Kim J, Park J, Park JC, Kim JW, Seo BM & Lee G. Expression profile of the stem cell markers in human Hertwig's epithelial root sheath/Epithelial rests of Malassez cells. *Molecules and cells*. 2011;31(4), 355-360.
56. Nosrat A, Asgary S, Eghbal MJ, Ghoddusi J, Bayat-Movahed S. Calcium-enriched mixture cement as artificial apical barrier: A case series. *J. Conserv. Dent*. 2011, 14, 427–431.
57. Nuti N, Corallo C, Chan BMF, Ferrari M & Gerami-Naini B. Multipotent differentiation of human dental pulp stem cells: a literature review. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2016; 12(5), 511-523.
58. Pang NS, Lee SJ, Kim E, Shin DM, Cho SW, Park W, Jung IY. Effect of EDTA on attachment and differentiation of dental pulp stem cells. *J Endod*. 2014;40(6),811-817.
59. Paranjpe A, Zhang H, Johnson JD. Effects of mineral trioxide aggregate on human dental pulp cells after pulp-capping procedures. *J Endod*. 2010;36(6):1042-7.
60. Parirokh, M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: A comprehensive literature review— Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J. Endod*. 2010, 36, 400–413.
61. Rajasekharan S, Martens LC, Cauwels RG, Verbeeck RM. Biodentine™ material characteristics and clinical applications: A review of the literature. *Eur. Arch. Paediatr. Dent*. 2014, 15, 147–1458.
62. Rajasekharan S, Martens LC, Cauwels RGEC, Anthonappa RP, Verbeeck RMH. Biodentine™ material characteristics and clinical applications: a 3 year literature review and update. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2018;19(1):1-22
63. Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. *J. Endod*. 2009, 35, 731–736.
64. Ring KC, Murray PE, Namerow KN, Kuttler S, Garcia-Godoy F. The comparison of the effect of endodontic irrigation on cell adherence to root canal dentin. *J Endod*. 2008;34(12),1474-1479.
65. Romero JAA, Pardo VM & Guerrero DMP. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *Nova*. 2007; 5(8), 177-184.
66. Roy AV. Rapid method for determining alkaline phosphatase activity in serum with thymolphthalein monophosphate. *Clin Chem*. 1970;16(5):431-436.
67. Salehimehr G, Baladi F, Allahbakhshi H. Physical and Chemical Properties of New Endodontic Restorative Material in Comparison with Pro Root MTA. *Biomed Pharmacol J* 2017;10(3).
68. Selden HS. Apexification: an interesting case. *J Endod* 2002;28:44-45

69. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J & Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet*. 2004; 364(9429), 149-155.
70. Siboni F, Taddei P, Prati C, Gandolfi MG. Properties of NeoMTA Plus and MTA Plus cements for endodontics. *Int Endod J*. 2017;50 Suppl 2:e83-e94
71. Simon SRJ, Tomson PL, Berdal A. Regenerative endodontics: regeneration or repair? *J. Endod* 2014; 40, 570–5.
72. Song JS, Mante FK, Romanow WJ, Kim S. Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;102(6):809-815.
73. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, Wang S. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PloS one*. 2006;1(1):e79.
74. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S & Huang GTJ. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J. Endod* 2008; 34(2), 166-171.
75. Tanomaru-Filho M, Tanomaru JM, Barros DB, Watanabe E, Ito IY. In Vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. *J. Oral. Sci.* 2007, 49, 41–45.
76. Tanomaru-Filho M, Andrade AS, Rodrigues EM, Viola KS, Faria G, Camilleri J, Guerreiro-Tanomaru JM. Biocompatibility and mineralized nodule formation of Neo MTA Plus and an experimental tricalcium silicate cement containing tantalum oxide. *Int Endod J*. 2017;50 Suppl 2:e31-e39
77. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J. Endod*. 1995, 21, 349–353.
78. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J. Endod*. 1995, 21, 109–112.
79. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. *J. Endod*. 1995, 21, 489–492.
80. Torabinejad M, Ford TRP, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. *J Endod*. 1997;23(4):225-8.
81. Torabinejad M, Parioikh M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview - part II: other clinical applications and complications. *Int Endod J*. 2018;51(3):284-317

82. Trevino EG, Patwardhan AN, Henry MA, Perry G, Dybdal-Hargreaves N, Hargreaves KM, Diogenes A. Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *J Endod.* 2011;37(8):1109-15.
83. Tuan RS, Boland G, Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis Res Ther.* 2002; 5(1), 32.
84. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clin Chem.* 1981;27(3):493-501.
85. Wondergem R, Ecury TW, Mahieu F, Owsianik G, Nilius B. HGF/SF and menthol increase human glioblastoma cell calcium and migration. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;372(1):210-5.
86. Wongwatanasanti, N., Jantararat, J., Sritanaudomchai, H., & Hargreaves, K. M. (2018). Effect of bioceramic materials on proliferation and odontoblast differentiation of human stem cells from the apical papilla. *Journal of Endodontics*, 44(8), 1270-1275.
87. Yao S, Pan F, Prpic V & Wise GE. Differentiation of stem cells in the dental follicle. *Journal of dental research.* 2008; 87(8), 767-771.
88. Zhou H-m, Shen Y, Wang Z-j, Li L, Zheng Y-f, Hakkinen L, Haapasalo M. In vitro cytotoxicity evaluation of a novel root repair material. *J Endod.* 2013;39(4):478-83.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Cynthia Karla Altamirano Garza

Candidato para el grado de:

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia

Tesis: EFECTO OSTEOGÉNICO DEL NeoMTA Plus SOBRE CÉLULAS MADRE DE LA PAPILA APICAL IN VITRO

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 5 de Junio de 1990, hija de Carlos Manuel Altamirano Ramos y Gloria Nancy Garza Hinojosa.

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

Experiencia Profesional: Práctica profesional como Cirujano Dentista 2013 al 2020