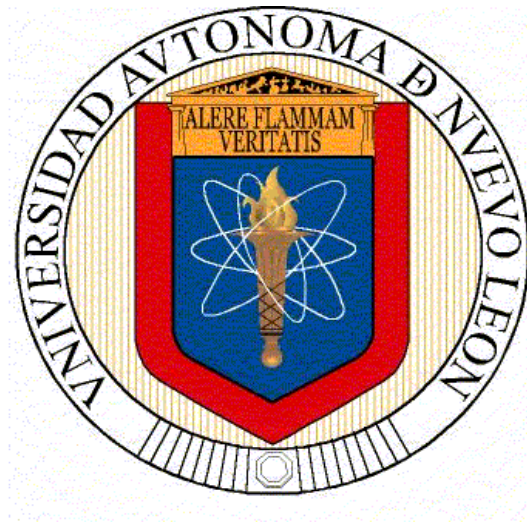


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



TESIS

**CITOTOXICIDAD DEL ALOE VERA Y EL FORMOCRESOL EN
CÉLULAS MESENQUIMALES DE PULPA DENTAL**

POR

ROSALBA QUEZADA LOZANO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE
ODONTOPEDIATRÍA**

JULIO 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE
ODODONTOPEDIATRÍA

**CITOTOXICIDAD DEL ALOE VERA Y EL FORMOCRESOL EN CÉLULAS
MESENQUIMALES DE PULPA DENTAL**

Los miembros del jurado aceptamos la investigación y aprobamos el documento que avala la misma, como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría

HONORABLES MIEMBROS DEL JURADO

Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
Directora de Tesis

Secretario

Vocal

**CITOTOXICIDAD DEL ALOE VERA Y EL FORMOCRESOL EN CÉLULAS
MESENQUIMALES DE PULPA DENTAL**

Asesor de la Tesis

Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda
Directora

Dra. Rosa Isela Sánchez Nájera
Co-Directora

Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos
Asesor Temático de Tesis

Dra. Hilda Hortencia Hermelinda Torre Martínez
Asesor Metodológico

M.S.P. Gustavo Israel Martínez González
Asesor Estadístico

Dra. Martha Elena García Martínez
Coordinadora del Posgrado de Odontopediatría

Dr. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda
Sub-Director de Estudios de Posgrado

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por bendecirme con salud y permitirme convertir en realidad este hermoso sueño, por nunca soltarme de su mano e iluminar mi camino paso a paso.

A mis padres, porque gracias a ellos soy quien soy hoy en día, por nunca dudar de mi capacidad y darme su apoyo y amor incondicional, este logro también es de ustedes. Omi, muchas gracias por tu amor eterno y tu confianza en mí, por nunca dejarme caer, a pesar de verme cansada y con sueño; por nunca dejar de decirme que si me esforzaba y me dedicaba con amor y paciencia vería una gran recompensa. Papitolindo, mil gracias por tu apoyo emocional y económico, porque sé lo mucho que has trabajado para ayudarme a cumplir mi sueño, gracias por tu sonrisa, por esa mirada que me llega al alma y me impulsa a querer ser mejor y también por tu abrazo lleno de amor. Los amo con todo mi corazón.

A mis hermanos Mayito, Brianda y Karla por su apoyo incondicional y porque nunca han dejado de creer en mí, los amo.

A mi directora de tesis, Dra. Akemi Nakagoshi Cepeda le agradezco mucho por la confianza que siempre demostró en mí y porque aunque muchas veces tuve dudas, usted siempre me hizo enamorarme más de mi proyecto de investigación y a lo largo de estos dos años nunca me dejó sola.

A mi co directora de tesis, Dra. Rosa Isela Sánchez Nájera, así como a mis asesores Dra. Myriam Angélica de la Garza Ramos, Dra. Hilda Torre Martínez y Lic. Gustavo Martínez González, muchas gracias por su apoyo en todo momento, por su asesoría y la dedicación que demostraron durante la preparación de mi tesis.

A mi Coordinadora y Sub Coordinadora de Posgrado Dra. Martha Elena García Martínez y Dra. Ana María Salinas Santos, gracias por la paciencia y cariño que me han demostrado desde que las conozco y por depositar su confianza en mí, las quiero mucho.

A mis maestros por ser una guía constante en mi educación profesional, gracias por compartir sus conocimientos y ser en muchas ocasiones más que maestros, amigos. Gracias al Dr. Sergio Moreno Treviño por confiar en mí y apoyarme con el tema de mi tesis.

A mis padrinos de generación Dra. Eyra Rangel Padilla y Dr. Alejandro Ramírez Peña, muchas gracias por compartir su experiencia, por su dedicación y compromiso de enseñanza que tienen hacia los que hemos sido sus alumnos y por ser unos excelentes maestros.

A la Dra. Ada Pricila López Lozano y Dr. Casiano del Ángel Mosqueda, muchas gracias por ser unos magníficos compañeros, por su colaboración durante todo este camino, por guiarme y ayudarme para hacer de mi tesis, un gran proyecto de investigación.

A mis compañeras, la mágica Generación 30 (Delis, Gaby, Kary, Cristy y Gise), gracias por ser compañeras, amigas, cómplices y hermanas en esta aventura que juntas emprendimos hace dos años, las adoro con el alma.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), gracias por su apoyo financiero durante un año para solventar los recursos económicos durante la realización de mi tesis.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	5
LISTA DE TABLAS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN	15
Planteamiento del problema.....	16
Hipótesis	17
Objetivos.....	17
Objetivo general.....	17
Objetivos particulares.....	17
2. ANTECEDENTES	18
2.1 Pulpa Dental	19
2.2 Caries Dental/ Pulpotomía	20
2.3 Células Mesenquimales de Pulpa Dental.....	21
2.4 Aloe Vera	21
2.4.1 Composición química del Aloe Vera	22
2.4.2 Efectos antiinflamatorios	23
2.4.3 Cicatrización de heridas	23
2.4.4 Efectos anticancerígenos	23
2.4.5 Efectos antimicrobianos	23
3. MARCO DE REFERENCIA.....	25
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
4.1 Universo de estudio.....	30
4.2 Tamaño de muestra.....	30
4.3 Criterios de selección	
4.3.1 Criterios de inclusión.....	30
4.3.2 Criterios de exclusión.....	30
4.3.3 Criterios de eliminación.....	30
4.4 Variables.....	30
4.4.1 Variables dependientes.....	30
4.4.2 Variables independientes.....	30

4.5 Descripción de procedimientos.....	30
4.5 Estrategia Metodológica.....	31
5. RESULTADOS	33
6. DISCUSIÓN.....	37
7. CONCLUSIONES	40
8. GRÁFICAS.....	42
9. LITERATURA CITADA	44
10. ANEXOS.....	48

LISTA DE TABLAS

I. Comparativo de la Citotoxicidad del formocresol y el Aloe Vera según la concentración.....	48
---	----

RESUMEN

RESUMEN

Rosalba Quezada Lozano

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Odontología

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría

Título del estudio: Citotoxicidad del Aloe Vera y el formocresol en células mesenquimales de pulpa dental.

Páginas:

Introducción: La caries dental es la enfermedad bucal más común en todo el mundo, afecta a ambas denticiones, sin embargo, la dentición primaria es la que presenta complicaciones más severas si la enfermedad no es tratada de manera oportuna. Un tratamiento que se realiza con frecuencia en pacientes pediátricos es la pulpotomía, este procedimiento consiste en eliminar la pulpa cameral, manteniendo la salud de la pulpa radicular. El objetivo principal de este tratamiento es eliminar la infección pulpar y preservar la salud e integridad del diente hasta su exfoliación. La sustancia que más se utiliza en la actualidad es el formocresol, que ha demostrado ser muy tóxico cuando se emplea en altas concentraciones o por tiempos prolongados. Dentro de la Odontología cada vez es más común encontrar nuevas alternativas a los distintos tratamientos que se realizan cada día. Asimismo, no es raro encontrar en la literatura científica la implementación de sustancias alternativas a los tratamientos odontológicos. Una opción que poco a poco ha ido tomando fuerza, gracias a sus propiedades medicinales es el Aloe Vera. Esta planta es ampliamente conocida y ha sido utilizada por siglos para la salud, belleza y como medicamento. Se ha utilizado como un agente hidratante y para el tratamiento de abrasiones de la piel, quemaduras leves e irritaciones. En los últimos tiempos, ha habido un incremento de interés en el uso de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades. En esta investigación se realizó un experimento en células mesenquimales de la pulpa de dientes primarios. La pulpa dental se considera una fuente rica de células pluripotenciales que son adecuadas para ingeniería de tejidos, tienen el potencial de diferenciarse en varios tipos de células incluyendo odontoblastos, progenitores neuronales,

osteoblastos, condrocitos y adipocitos. Científicos de todo el mundo se muestran entusiasmados con la posibilidad de usar las células madre de pulpa dental, en la regeneración del órgano dentario, de hueso y tejido blando de la cavidad oral como el periodonto, regenerar el labio y paladar hendido.

Objetivo: Analizar el efecto de Aloe Vera en células mesenquimales extraídas de tejido pulpar de dientes primarios y comparar los resultados con el tratamiento de formocresol sobre el mismo linaje celular.

Materiales y Métodos: Para este estudio se utilizaron células mesenquimales extraídas de tejido pulpar de dientes primarios las cuales fueron previamente aisladas, caracterizadas y criopreservadas en el área de Odontología Integral y Especialidades en el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Los cultivos celulares fueron realizados en placas para cultivo celular BD Falcon de 24 pozos y fueron divididos en tres grupos: al primer grupo (control positivo) se le colocó formocresol al .1%; al segundo grupo (tratamiento) le fue colocado Aloe Vera en las concentraciones de 1mg/ml, 500µg/ml, 100µg/ml, 50µg/ml y 25µg/ml y el tercer grupo (control negativo) se mantuvo en el medio de crecimiento sin adicionar ningún tratamiento. Los tratamientos en cada grupo fueron realizados por triplicado.

Resultados: Los tratamientos en base a las distintas concentraciones de Aloe Vera mostraron porcentajes de viabilidad del 98.03% al 94.11%, mientras que el tratamiento con formocresol presentó únicamente el 33.72% comparados al control negativo.

En las pruebas realizadas por microscopía de fluorescencia se observó que las células que recibieron el Aloe Vera en una concentración de 100µg/ml, 50µg/ml y 25µg/ml fueron las que mostraron morfología y organización similar al control negativo.

Conclusiones: El Aloe Vera no evidenció tener niveles significativos de citotoxicidad sobre las células mesenquimales de pulpa dental; a diferencia del formocresol, el cual presentó una viabilidad significativamente reducida con respecto al control.

Director de Tesis: Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda _____

Área de estudio: Odontopediatría

Palabras Clave: Citotoxicidad, Aloe Vera, Formocresol, Células Mesenquimales, Células Madre

ABSTRACT

ABSTRACT

Rosalba Quezada Lozano

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Odontología

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría

Study Title: Cytotoxicity of Aloe Vera and formocresol in mesenchymal cells of dental pulp.

Introduction: Dental caries is the most common oral disease worldwide, affecting both dentitions, however, the primary dentition is the one with more severe complications if not treated promptly. A treatment that is performed frequently in pediatric patients is pulpotomy, this procedure involves removing the pulp cameral maintaining the health of the radicular pulp. The main goal of this treatment is to eliminate the infection pulp and preserve the health and integrity of the tooth until exfoliation. The substance most commonly used today is Formocresol, which has proved highly toxic when used in high concentrations or for prolonged times. Within dentistry is becoming more common to find new alternatives to the different treatments that are performed every day. It is also not uncommon to find in the literature the implementation of alternatives to dental treatment substances. One option that has slowly been gaining strength, thanks to its medicinal properties is Aloe Vera. This plant is widely known and has been used for centuries for health, beauty and as a medicine. Was used as a hydrating agent for treating and skin abrasions, mild burns and irritation. In recent times, there has been increased interest in the use of plants for the treatment of various diseases. In this research, an experiment was conducted in mesenchymal cells of the pulp of primary teeth. The dental pulp is considered a rich source of which are suitable for tissue engineering stem cells, have the potential to differentiate into various cell types including odontoblasts, neural progenitors, osteoblasts, chondrocytes and adipocytes. Scientists around the world are enthusiastic about the possibility of using dental pulp stem cells in dental organ regeneration of bone and soft tissue of the oral cavity such as the periodontal regeneration lip and cleft palate.

Objective: To analyze the effect of Aloe Vera in mesenchymal cells taken from primary tooth pulp tissue and compare the results with treating Formocresol on the same cell lineage.

Materials and Methods: For this study mesenchymal cells extracted from pulp tissue of primary teeth which were previously isolated, caracteizadas and cryopreserved in the area of Integral Dental Specialties Center for Research and Development in Health Sciences (CIDICS) to be used the Autonomous University of Nuevo León.

Cell cultures were performed in plates for cell culture BD Falcon 24 wells were divided into three groups: the first group (positive control) was placed Formocresol to 0.1%, the second group (treatment) it was placed Aloe Vera concentrations of 1 mg / ml, 500µg / ml, 100ug / ml, 50 ug / ml and 25µg / ml and the third group (negative control) were maintained in growth medium without adding any treatment. In each treatment group were performed in triplicate.

Results: The treatments based on different concentrations of AloeVera showed viability percentages of 98.03% to 94.11%, while treatment with formocresol presented only 33.72% compared to the negative control.

In tests conducted by fluorescence microscopy it was observed that cells that received the Aloe Vera in a concentration of 100ug / ml, 50 ug / ml and 25µg / ml were those that showed similar morphology and organization negative control.

Conclusions: Aloe Vera did not report significant levels of cytotoxicity on dental pulp mesenchymal cells; Formocresol unlike, which had a significantly reduced viability compared to control.

Director of Thesis: PhD, María Cepeda Algeria Akemi Nakagoshi _____

Area of Study: Pediatric Dentistry

Keywords: Cytotoxicity, Aloe Vera, Formocresol, Mesenchymal Cells, Stem Cells.

1. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la caries dental es la enfermedad bucal más común en todo el mundo, esta enfermedad afecta a ambas denticiones, sin embargo, la dentición primaria es la que presenta complicaciones más severas ante esta situación, debido a la composición de la estructura dentaria. Esta enfermedad puede dañar a los tejidos dentarios (esmalte, dentina, pulpa). La pulpa dental es un tejido conectivo laxo, especializado, vascularizado e innervado, es el único tejido blando del órgano dentario, es de origen mesodérmico, forma parte del complejo dentino-pulpar. Este tejido blando especializado se encuentra compuesto por distintos tipos de células, entre ellas: fibroblastos, odontoblastos y células madre mesenquimales. Las células madre mesenquimales presentan la capacidad de autorenovación y diferenciación a diversos linajes celulares. Su práctica obtención ha sido de gran ayuda en la realización de pruebas de citotoxicidad para diversos tratamientos enfocados a la terapia pulpar. Un tratamiento que se realiza con frecuencia en pacientes pediátricos es la pulpotomía, este procedimiento consiste en eliminar la pulpa cameral y preservar la vitalidad y salud de la pulpa radicular. El objetivo principal de este tratamiento es eliminar la infección pulpar y preservar la salud e integridad del diente hasta su exfoliación. Sin embargo, la sustancia que más se utiliza en la actualidad para dicho procedimiento es el Formocresol, Bucley utilizó esta sustancia por primera vez en 1904, a pesar de las propiedades antisépticas y antimicrobianas que posee, ha demostrado ser muy tóxico cuando se emplea en altas concentraciones o por tiempos prolongados. Por ello es común encontrar nuevas alternativas que reemplacen la inclusión del formocresol en la terapia pulpar.

Gracias a sus propiedades medicinales, una opción que ha tomado fuerza no solo en el área de Medicina, sino también en Odontología es el Aloe Vera. Esta planta es ampliamente conocida y ha sido utilizada por siglos para la salud, belleza y como medicamento. Se utiliza como un agente hidratante y para el tratamiento de abrasiones de la piel, quemaduras leves e irritaciones. Considerando las características que ambas sustancias pudieran tener sobre las células presentes en la pulpa dental, surge la interrogante si el Aloe Vera pudiera presentar un grado de viabilidad celular mayor en comparación con el formocresol.

Para este estudio se planteó la siguiente hipótesis:

El Aloe Vera presenta un alto grado de viabilidad celular en comparación con el formocresol.

Objetivo general: Identificar la respuesta celular al uso de Aloe Vera y formocresol.

Objetivos específicos

- Determinar los efectos terapéuticos del Aloe Vera y el formocresol en células mesenquimales de pulpa dental.
- Determinar la citotoxicidad del Aloe Vera y el formocresol en células mesenquimales de pulpa dental.

El estudio se clasificó como:

Comparativo, Abierto, Experimental, Transversal

2. ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

2.1 Pulpa Dental

La pulpa dental es un tejido conectivo situado únicamente dentro de una rígida capa de dentina mineralizada. Aunque la pulpa dental comparte muchas propiedades con otros tejidos conectivos del cuerpo, la peculiar ubicación de la pulpa dental impone severas y especiales características en él.¹

Es sensible a los estímulos térmicos y conserva su capacidad para formar dentina a lo largo de toda la vida. Alberga elementos tisulares como: nervios, tejido vascular, fibras del tejido conectivo, líquido intersticial, sustancia fundamental, odontoblastos, fibroblastos, células inmunocompetentes, entre otras.

La pulpa es realmente un sistema microcirculatorio y sus mayores componentes celulares son las arteriolas y vénulas. Carece de un verdadero sistema colateral y depende de las pocas arteriolas que entran a través de los orificios radiculares, el sistema vascular disminuye con la edad.

Las zonas morfológicas de la pulpa son:

La capa odontoblástica, es el estrato celular más externo de la pulpa, se localiza bajo la predentina, se compone de los cuerpos celulares de los odontoblastos (capilares, fibras nerviosas, dendríticas). La forma de los odontoblastos en la porción coronal de la pulpa joven es de forma cilíndrica alta, en la porción media de la pupa radicular son células cúbicas, cerca del orificio apical están las células planas.

La zona pobre en células se encuentra bajo la capa odontoblástica es una zona estrecha; esta zona está libre de células, puede no ser aparente en pulpas jóvenes en donde la dentina se genera con rapidez o en las pulpas viejas en donde se genera dentina reparadora. Está formada por: capilares sanguíneos, fibras nerviosas amielínicas, finas prolongaciones citoplasmáticas de los fibroblastos.

La zona rica en células está localizada en la zona subodontoblástica, tiene una proporción elevada de fibroblastos, es más prominente en la pulpa coronal que radicular y contiene: fibroblastos, macrófagos, células dentríticas y linfocitos.

La pulpa propiamente dicha, es la masa central de la pulpa, contiene los vasos sanguíneos y nervios mayores, las células de tejido conectivo constan de fibroblastos o células pulpares.^{2,25}

2.2 Caries Dental/Pulpotomía

En la Odontología, el problema más grande sin duda alguna es la caries dental ya que puede ocasionar la destrucción total de los dientes, así como de sus tejidos adyacentes.

Se sabe que la caries es considerada como un problema de salud pública debido al gran número de personas que afecta. En los pacientes pediátricos los dientes temporales cuentan con menor grado de mineralización y espesor de los tejidos que lo componen, por lo que la caries puede avanzar de forma más acelerada, requiriendo de tratamientos pulpares.³

Con frecuencia, el tratamiento conservador se ve dificultado por las afecciones pulpares. Se han empleado diversos procedimientos para conservar los dientes temporales afectados por caries. Así, el propósito de la pulpotomía es eliminar la infección bacteriana de la pulpa coronal y dejar un diente sano, asintomático, hasta su exfoliación. El material que más se ha utilizado sobre la pulpa radicular remanente ha sido el formocresol, ya que ofrece buenos resultados. Sin embargo, se le han atribuido efectos adversos; por esta razón, se han desarrollado numerosos estudios buscando una alternativa. La pérdida prematura de dientes temporales tiene un efecto perjudicial sobre el desarrollo de la dentición definitiva y del aparato masticatorio en su totalidad.^{4,5}

Desde la introducción del Formocresol por Buckley en 1904, un número de investigadores han estudiado los efectos de esta droga en el tejido conectivo. Mientras que el Formocresol es usado como un agente químico en pulpotomías existen opiniones encontradas con respecto a su tasa de éxito, por lo tanto se tiende a juzgar parámetros clínicos y radiográficos.⁵

Actualmente siguen surgiendo alternativas al formocresol que han demostrado distintas tasas de éxito en sus resultados.

2.3 Células Mesenquimales de la Pulpa Dental

La investigación en Odontología se enfoca al estudio de las células de la pulpa dental como una nueva fuente de células para neurogénesis, ya que comparten similitudes con las células madre de la cresta neural y pueden diferenciarse en células neuronales y de la glía in vitro, además de formar cartílago y hueso.^{18, 19}

Científicos de todo el mundo se muestran entusiasmados con la posibilidad de usar las células madre de pulpa dental, en la regeneración del órgano dentario, de hueso y tejido blando de la cavidad oral como el periodonto, regenerar el labio y paladar hendido, así como también curar enfermedades neurodegenerativas como el mal de Parkinson, Alzheimer, cáncer, parálisis corporal, diabetes, ésta última diferenciándose de las células de la pulpa dental, en células pancreáticas beta productoras de insulina.^{20, 21, 22}

La pulpa dental se considera una fuente rica de células pluripotenciales que son adecuadas para ingeniería de tejidos, tienen el potencial de diferenciarse en varios tipos de células incluyendo odontoblastos, progenitores neuronales, osteoblastos, condrocitos y adipocitos. Las células pluripotenciales dentales “autólogas” tienen las ventajas de no tener riesgo de ser rechazadas por el cuerpo, mayor capacidad proliferativa que otras células, lo que le permite cultivarse más rápidamente, por períodos más largos y mayor capacidad regenerativa; generar hueso, médula ósea, cemento, dentina, ligamento periodontal y pulpa dental.^{23, 24}

2.4 Aloe Vera

El Aloe Vera pertenece al Reino Plantae; División: Magnoliophyta; Clase: Liliopsida; Orden: Liliales; Familia: Liliaceae; Género: Aloe; Especie: Aloe barbadensis (Miller); nombre común: Aloe vera.

Dentro de ésta familia también se encuentran el ajo, la cebolla y los espárragos, todos son conocidos por presentar ciertas propiedades medicinales.⁶

La planta del Aloe Vera es conocida y ha sido utilizada por siglos para la salud, belleza, medicina y propiedades curativas en piel.

Su nombre deriva de la palabra árabe “alloeh” que significa “sustancia amarga brillante”, mientras que vera en latín significa “verdadero”.

Desde hace 2000 años, científicos griegos han considerado al Aloe vera como una planacea universal. Los egipcios la llamaron “la planta de la inmortalidad”.⁷

El Aloe Vera se ha utilizado como un agente hidratante y para el tratamiento de abrasiones de la piel, quemaduras leves e irritaciones. En los últimos tiempos, ha habido una explosión de interés en el uso de plantas para el tratamiento de diversas enfermedades. La investigación sobre el valor medicinal y terapéutico de estos productos naturales también ha aumentado. La gente es consciente de los efectos negativos asociados con el aumento de la prescripción de antibióticos. También hay preocupación por el aumento de la resistencia desarrollada por los microorganismos frente a los antimicrobianos.⁸ Además, esta planta medicinal tiene propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antidiabético y de estimulación inmunológica.⁹ El Aloe Vera tiene un crecimiento de 60 a 100 cm de altura y se extiende por compensaciones tiene un tallo muy corto. Las hojas son gruesas y carnosas de color verde a gris-verde, con algunas variedades que muestran manchas blancas en las superficies de vástago superior e inferior. Los márgenes de las hojas son dentadas y tiene pequeños dientes blancos. Las flores se producen en verano en la punta, cada flor es pendular, con una corola tubular de color amarillo.¹⁰

2.4.1 Composición química del Aloe Vera

1. Antraquinones, aloína, barbaloin, isobarbaloin, éster de cinámico, ácido Aloe-emodina, emodina, anthanol, ácido aloetico, antracénitos, ácido crisofánico, aceite etheral, resistannol
2. Sacáridos: celulosa, glucosa, manosa, L-ramnosa, aldopentosa, acemanano.
3. Enzimas: oxidasa, amilasa, catalasa, lipasa, fosfatasa alcalina.
4. Vitaminas: B1, B2, B6, colina, ácido fólico C, alfa tocoferol, caroteno β .
5. Parte Inorgánica: Ca, Na, Cl, Mn, Mg, Zn, Cu, Cr, sorbato de potasio.
6. Aminoácidos esenciales: lisina, treonina, valina, metionina, leucina, isoleucina, fenilalanina.
7. Aminoácidos no esenciales: histidina, arginina, hidroxiprolina, ácido aspártico, ácido glutámico, prolina, glicerina, alanina, tirosina.
8. Miscelánea: colesterol, triglicéridos, esteroides, β -sitosterol, ligninas, esteroides, ácido úrico, giberelina, lectina, ácido salicílico, manosa-6-fosfato.

Una amplia investigación desde 1930 ha demostrado que el gel transparente tiene la capacidad dramática para curar heridas, úlceras y quemaduras al colocar un revestimiento protector sobre las áreas afectadas y la velocidad de la curación aumenta.¹¹

2.4.2 Efectos antiinflamatorios

Reduce la inflamación por la promoción de la síntesis de prostaglandinas, así como el incremento de leucocitos, pero es menos efectivo contra la inflamación inducida por agentes que causan reacciones alérgicas, posee también efectos antioxidantes.

2.4.3 Cicatrización de heridas

Se han propuesto varios mecanismos para los efectos de curación de heridas de aloe, en los cuales se incluye mantener hidratada la herida, incremento en la migración de células epiteliales, maduración más rápida del colágeno y reducción de la inflamación.⁷

2.4.4 Efectos anticancerígenos

Esto es debido a las glucoproteínas y polisacáridos presentes en esta planta. Diversos estudios han indicado actividad antitumoral, en los términos de:

1. Reducción de la carga tumoral
2. Reducción del tumor
3. Necrosis tumoral
4. Las tasas de supervivencia prolongada
5. Efectos quimiopreventivos y antígenotóxico de benzo [a] pireno-adiuctos de ADN.
6. Estimulación de la respuesta inmune

2.4.5 Efectos antimicrobianos

El Aloe vera es eficaz contra Streptococcus pyogenes, Streptococcus faecalis, Pseudomona aeruginosa, Candida albicans, infección de Herpes simple, proliferación de citomegalovirus, virus de la varicela-zoster, virus de la influenza y el virus de la pseudorrabia.⁷

3. MARCO DE REFERENCIA

MARCO DE REFERENCIA

El mantenimiento de la integridad de la dentición primaria hasta su exfoliación normal es importante para el correcto desarrollo y maduración del niño, el crecimiento adecuado del complejo facioesquelético en todo su potencial y una buena oclusión con sus cualidades estéticas. Por lo tanto, los dientes primarios con problemas pulpares y periapicales deben ser tratados por la terapia de endodoncia, que depende de la reducción o eliminación de las bacterias de los conductos radiculares. Muchos materiales se han probado como agente de terapia pulpar en dientes temporales considerando en cada uno de ellos con sus propias ventajas y desventajas.¹¹

Usos del Aloe vera en Odontología

El Aloe vera, ha sido probado en la Odontología, está disponible en varias presentaciones, tales como: geles dentífricos, enjuagues bucales y agentes de irrigación. Las diversas aplicaciones de esta planta en Odontología incluyen su uso para el tratamiento de: úlceras aftosas y osteoítis alveolar; incluso, en el mercado existen adhesivos para dentaduras que lo incluyen como uno de sus componentes.⁷

También se ha utilizado para el tratamiento de liquen plano. Hayes fue el primero en utilizarlo en un paciente que experimentó mejora de sus lesiones orales después de 4 semanas de tratamiento. Más recientemente, en 2008, Choonhakarn y cols. realizaron un estudio doble ciego de gel de Aloe vera en el tratamiento del liquen plano. Está demostrado que los pacientes muestran una mejoría después de la aplicación tópica de Aloe vera, tres veces al día, no solo mejoran las lesiones orales sino también la calidad de vida de los pacientes con liquen plano.¹²

Aloe Vera en Periodoncia

Ha mostrado que mejora los mecanismos de defensa y su variedad de componentes ayudan a combatir la enfermedad periodontal, ya sea gingivitis o periodontitis, así como otras condiciones orales.¹³

La pasta dental que contiene Aloe vera y su formulación a base de hierbas puede ser útil para los agentes de control químico de la placa dentobacteriana y la mejora en el estado gingival.¹⁴ Proporciona beneficios calmantes y protectoras de las encías, la boca y la piel interna.¹⁵

El periodonto es una estructura compleja compuesta de los tejidos blandos y duros, por lo tanto un agente que se utiliza para regenerar el periodonto debe ser capaz de estimular el ligamento periodontal, cemento y regeneración del hueso alveolar. Estudios recientes demostraron que el acemanano, un polisacárido extraído de gel de Aloe vera, estimula la curación de tejidos blandos y duros. Chantarawatit, Sangvanich y cols. Investigaron el efecto del acemannan como una molécula bioactiva que estimula la regeneración del tejido periodontal, ellos trabajaron con células primarias del ligamento periodontal de humanos tratadas con acemanano in vitro. Encontraron nueva síntesis de ADN, expresión de crecimiento / diferenciación del factor 5 y el factor de transcripción relacionado con el factor 2, expresión del factor de crecimiento endotelial vascular, proteína morfogenética ósea 2, colágeno de tipo I, actividad de la fosfatasa alcalina y la formación de nódulos mineralizados se determinaron utilizando [3H incorporación]-timidina, la reacción de transcripción cadena-inversa de la polimerasa, el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas, ensayo bioquímico y tinción con rojo de alizarina, respectivamente. Se estudiaron in vivo, premolares con defectos clase II en la furca, el experimento se realizó en cuatro perros mestizos. Se aplicaron esponjas de acemanano en los defectos. Los defectos no tratados fueron utilizados como un grupo de control negativo. La cantidad de hueso nuevo, cemento y formación de ligamento periodontal se evaluaron 30 y 60 días después de la operación.

Los resultados arrojaron que el acemanano aumentó significativamente la proliferación de células del ligamento periodontal, la regulación positiva de crecimiento / diferenciación del factor 5, transcripción del factor 2, factor de crecimiento endotelial vascular, proteína morfogenética ósea 2, colágeno de tipo I y la actividad de la fosfatasa alcalina, y la deposición de minerales en comparación con el grupo control sin tratar. Por otra parte, el acemanano aceleró significativamente la formación de nuevo hueso alveolar, cemento y ligamento periodontal en los defectos clase II de furca. Por lo tanto en este estudio se sugiere que el acemanano puede ser una biomolécula candidata para la regeneración del tejido periodontal.¹⁶

Aloe Vera en Odontopediatría

Khairwa A, Bhat M y cols. en su artículo menciona la importancia de encontrar nuevos materiales de obturación posterior a la terapia pulpar, ya que se debe preservar la dentición primaria hasta el momento de su exfoliación. Ellos evaluaron clínica y radiográficamente una mezcla de Óxido de Zinc y Eugenol con Aloe Vera como un material de obturación en pulpectomías de dientes primarios. Se seleccionaron 15 niños a los cuales se les realizó tratamiento de pulpectomía en molares primarios. Se realizó la evaluación clínica y radiográfica después de 7 días, 1, 3, 6 y 9 meses. Todos los pacientes presentaron dolor antes del tratamiento y solo dos después de tratamiento. Solo un paciente presentó sensibilidad posterior al tratamiento. Los resultados mostraron un buen éxito clínico y radiográfico.²⁶

Aloe Vera en Cirugía Bucal

Barrantes M, Barrantes J y Rodríguez en 2009 utilizaron un gel a base de Aloe Vera, Llantén y Mentol y lo utilizaron en pacientes para variar los síntomas y signos de la inflamación aguda, tiempo de recuperación y evolución en pacientes sometidos a cirugía de terceros molares retenidos y exodoncias no complicadas. Se seleccionaron pacientes adultos entre 17 y 35 años, dividiéndose en cuatro grupos, el primer y segundo grupos utilizó la mezcla de Aloe Vera, Llantén y Mentol, el tercer y cuarto grupos utilizó un producto placebo con las mismas indicaciones. El grado de satisfacción de los pacientes, en términos generales, fue muy bueno. El grupo que utilizó el placebo presentó dolor 24hrs después del tratamiento. No se presentaron reacciones secundarias con la utilización del producto, en ningún caso ocurrió abandono del tratamiento por reacciones indeseables o por inconvenientes con su aplicación.²⁶

Otros usos en Odontología

Existen ahora en el mercado guantes de nitrilo con aloe vera. Estos, guantes libres de látex ambidiestros son perfectos para el profesional dental. Son altamente eficaces y ayudan a proteger las manos agrietadas o reseca.¹⁷

4. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Universo de estudio

El estudio se realizó en cultivos de células mesenquimales de pulpa dental de dientes primarios de pacientes de entre 5-10 años.

4.2 Tamaño de Muestra

Las células mesenquimales de pulpa dental fueron sembradas a una densidad de 5×10^4 en placas BD Falcon de 24 pozos. Cada grupo fue evaluado por triplicado.

4.3 Criterios de selección

4.3.1 Criterios de inclusión:

- Pacientes de 5-10 años de edad.
- Pacientes que no presenten datos clínicos patológicos.
- Dientes primarios completamente sanos.
- Células mesenquimales de pulpa dental extraídas de dientes primarios humanos.

4.3.2 Criterios de exclusión:

- Pacientes adultos o mayores de 10 años.
- Pacientes que presenten datos clínicos patológicos.
- Dientes permanentes.
- Células mesenquimales extraídas de dientes permanentes humanos.

4.3.3 Criterios de eliminación:

- Células en cultivo que no muestren una buena tasa de proliferación.
- Células en cultivo que presenten contaminación.

4.4 Variables

4.4.1 Variables dependientes:

- Cultivos celulares: cuantitativa
- Respuesta celular: cualitativa; se evaluó histológicamente

4.4.2 Variables independientes

- Aloe Vera: cuantitativa
- Formocresol: cuantitativa

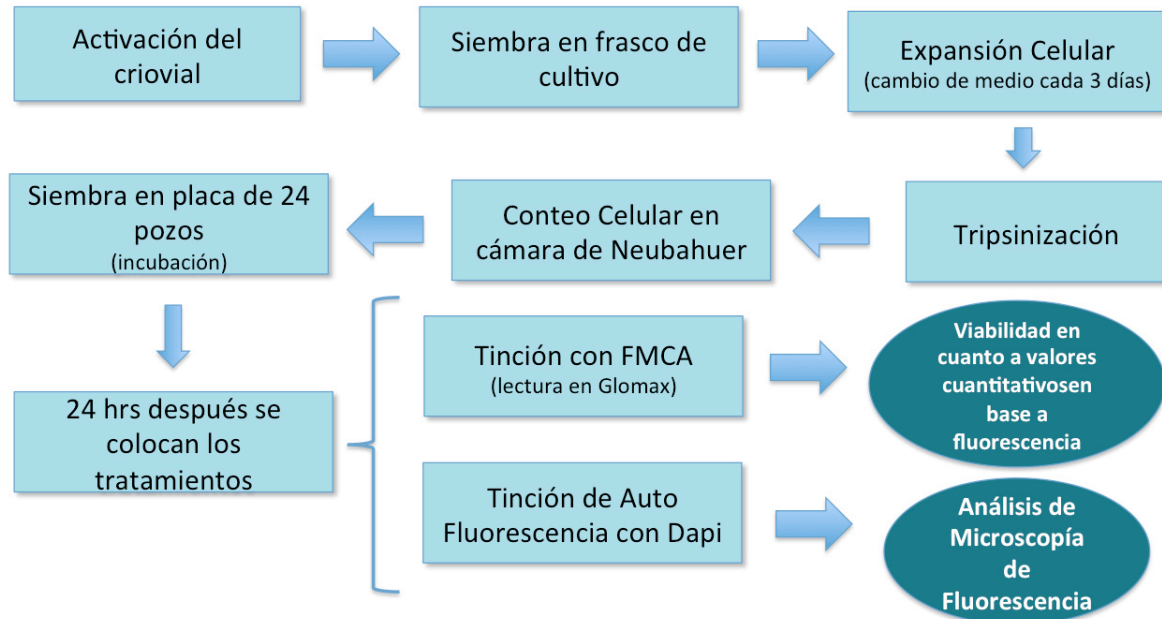
4.5 Descripción de Procedimientos

Para este estudio se utilizaron células mesenquimales extraídas de tejido pulpar de dientes primarios las cuales fueron previamente aisladas, caracterizadas y criopreservadas en el área de Odontología Integral y Especialidades en el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Los cultivos celulares fueron realizados en placas para cultivo celular BD Falcon de 24 pozos y fueron divididos en tres grupos:

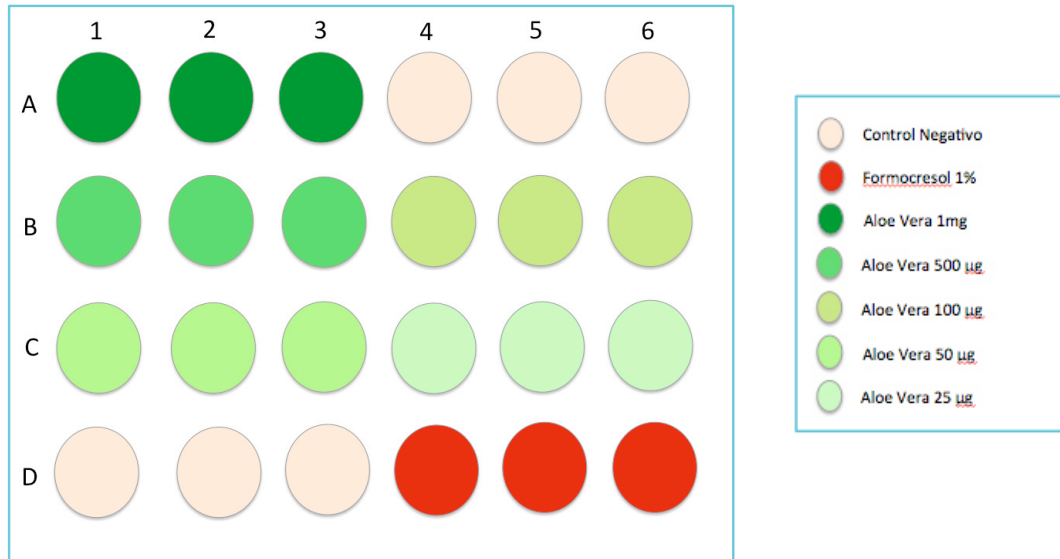
- Primer grupo (control positivo) se le colocó formocresol al .1%.
- Segundo grupo (tratamiento) le fue colocado Aloe Vera en las concentraciones de 1mg/ml, 500µg/ml, 100µg/ml, 50µg/ml y 25µg/ml.
- Tercer grupo (control negativo) se mantuvo en el medio de crecimiento sin adicionar ningún tratamiento. Los tratamientos en cada grupo fueron realizados por triplicado.

4.6 Estrategia Metodológica



1. **Activación del criovial**
2. **Siembra en frasco de cultivo**
3. **Expansión Celular:** se realiza el cambio de medio cada 3 días.
4. **Tripsinización:** se coloca tripsina (enzima que ayuda a la degradación).
5. **Conteo Celular en cámara de Neubauer**
6. **Siembra celular en placa BD Falcon de 24 pozos:** después de la siembra de células la placa se llevó a ser incubada por 24 horas
7. **Colocación de los tratamientos:**
8. **Tinción con FMCA:** Tinción que se utiliza para medir citotoxicidad en lector de fluorescencia GLOMAX.
9. **Tinción con DAPI:** Es un marcador fluorescente utilizado ampliamente en microscopía, se puede utilizar para el marcaje de celular vivas, tiene la particularidad de adherirse al DNA.

Esquema demostrativo del cultivo celular (caja BD Falcon de 24 pozos), la localización de cada tratamiento y el control negativo.



5. RESULTADOS

RESULTADOS

Veinticuatro horas después de la colocación de los reactivos en las células mesenquimales de pulpa dental que se sembraron fue evaluada la respuesta celular cualitativa y cuantitativa en el lector de fluorescencia GLOMAX y en el Microscopio de Fluorescencia.

Los tratamientos en base a las distintas concentraciones de Aloe Vera mostraron los siguientes porcentajes de viabilidad:

1mg/ml – 94.11%

500µg/ml – 94.11%

100µg/ml – 98.03%

50µg/ml – 98.03%

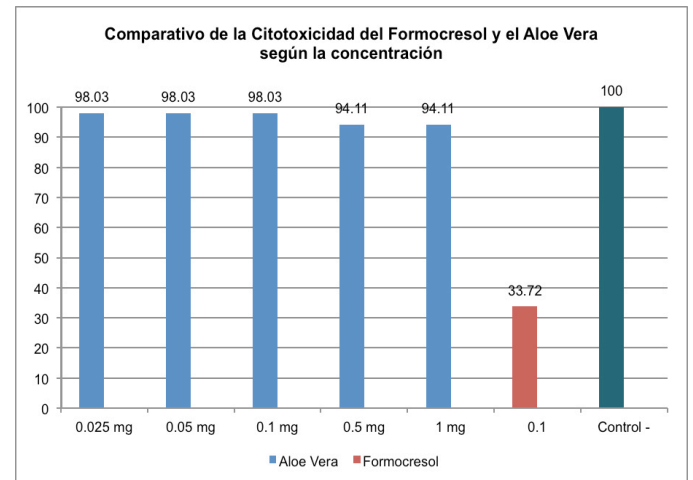
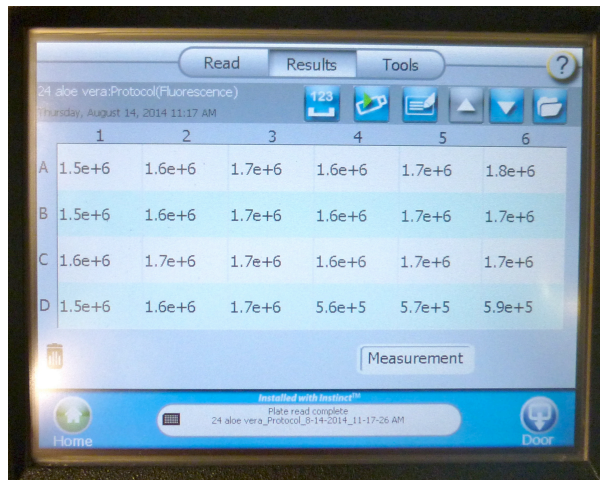
25µg/ml – 98.03%

Los cultivos celulares que recibieron como tratamiento formocresol al .1% mostraron una viabilidad celular del 33.72%.

En las pruebas realizadas por microscopía de fluorescencia se observó que las células que recibieron el Aloe Vera en una concentración de 100µg/ml, 50µg/ml y 25µg/ml fueron las que mostraron morfología y organización similar al control negativo.

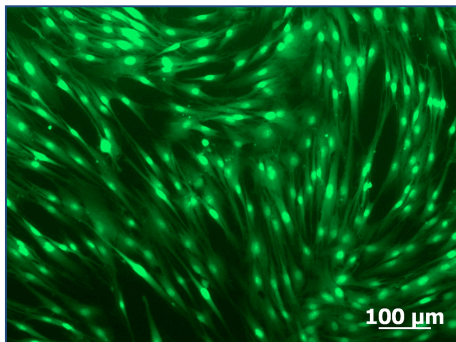
Prueba de viabilidad celular DPSCs en lector GLOMAX Detection System

A continuación se presenta una fotografía que muestra la lectura de viabilidad celular en lector de fluorescencia. A la derecha, se observa una gráfica que muestra los mismos resultados, convertidos en porcentajes de viabilidad celular según el lector GLOMAX.

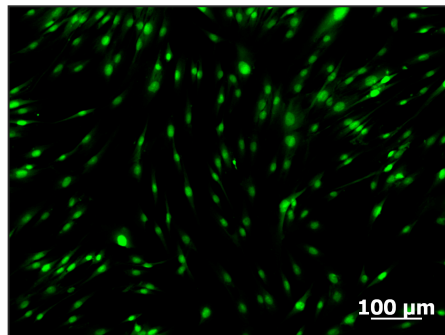


Comparación de viabilidad y morfología celular

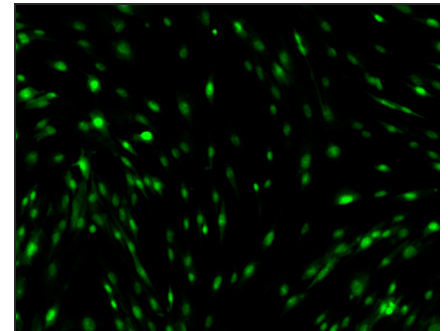
Control Negativo



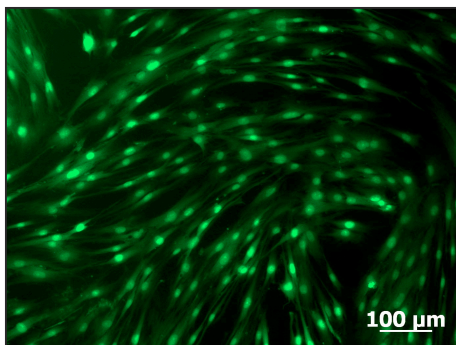
Aloe Vera 1mg/ml



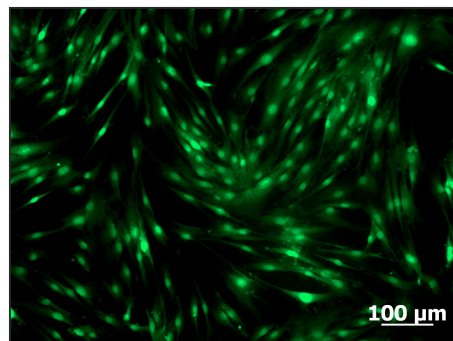
Aloe Vera 500 $\mu\text{g/ml}$



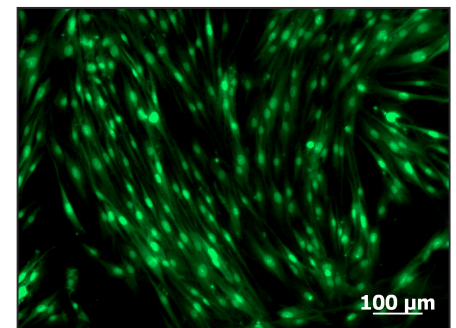
Aloe Vera 100 $\mu\text{g/ml}$



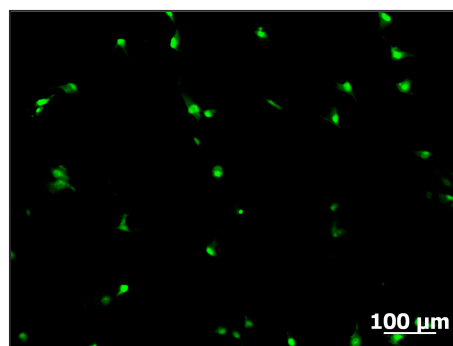
Aloe Vera 50 $\mu\text{g/ml}$



Aloe Vera 25 $\mu\text{g/ml}$



Control Positivo
(formocresol)



6. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Loos, Straffon y Han en 1973 encontraron evidencia de que el formocresol en concentración pura, así como es eficiente en el desarrollo de citostasis, puede producir un daño irreparable a algunos tejidos conectivos y ciertamente retrasar la recuperación de las actividades biológicas normales de las células afectadas del tejido conectivo.⁵

Barrantes M, Barrantes J y Rodríguez en 2009 utilizaron un gel a base de Aloe Vera, Llantén y Mentol y lo utilizaron en pacientes para variar los síntomas y signos de la inflamación aguda, tiempo de recuperación y evolución en pacientes sometidos a cirugía de terceros molares retenidos y exodoncias no complicadas. El grado de satisfacción de los pacientes, en términos generales, fue muy bueno. No se presentaron reacciones secundarias con la utilización del producto, en ningún caso ocurrió abandono del tratamiento por reacciones indeseables o por inconvenientes con su aplicación.²⁷

Klein y Penneys en 1988 encontraron que el uso de Aloe Vera en el tratamiento de úlceras de radiación y úlceras por estasis en el hombre y se quemaduras y las lesiones por congelación en los animales. La evidencia de un efecto beneficioso potencial asociado con el uso de Aloe Vera es suficiente para justificar el diseño y ejecución de ensayos clínicos bien controlados.

Gala-García A, Teixeira R y cols. En 2008 utilizaron un polvo liofilizado de Aloe Vera y evaluaron los efectos de este polvo y la respuesta celular en tejido pulpar de ratas, que había sido mecánicamente expuesto mecánicamente. Hubo dos grupos; uno recibió el tratamiento con Aloe Vera y el otro con Hidróxido de Calcio. La evaluación fue a 1 a 30 días después del procedimiento mediante el examen histopatológico. Un infiltrado inflamatorio agudo moderado predominante se observó en el grupo de Aloe Vera 1 a 7 días después del tratamiento. En 14 a 30 días, el tejido pulpar tomó un patrón normal cuando se comparó el tratamiento de Aloe Vera con el $\text{Ca}(\text{OH})_2$; se encontró que ambos grupos de tratamiento estimularon la formación de dentina reparadora y por lo tanto, la formación de puente completo. Se detectó necrosis superficial exclusivamente en el grupo con el $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Parece evidente que la aplicación de

Aloe Vera en contacto directo con la pulpa expuesta tiene biocompatibilidad aceptable y puede conducir a la formación de puentes terciario.²⁸

7. CONCLUSIONES

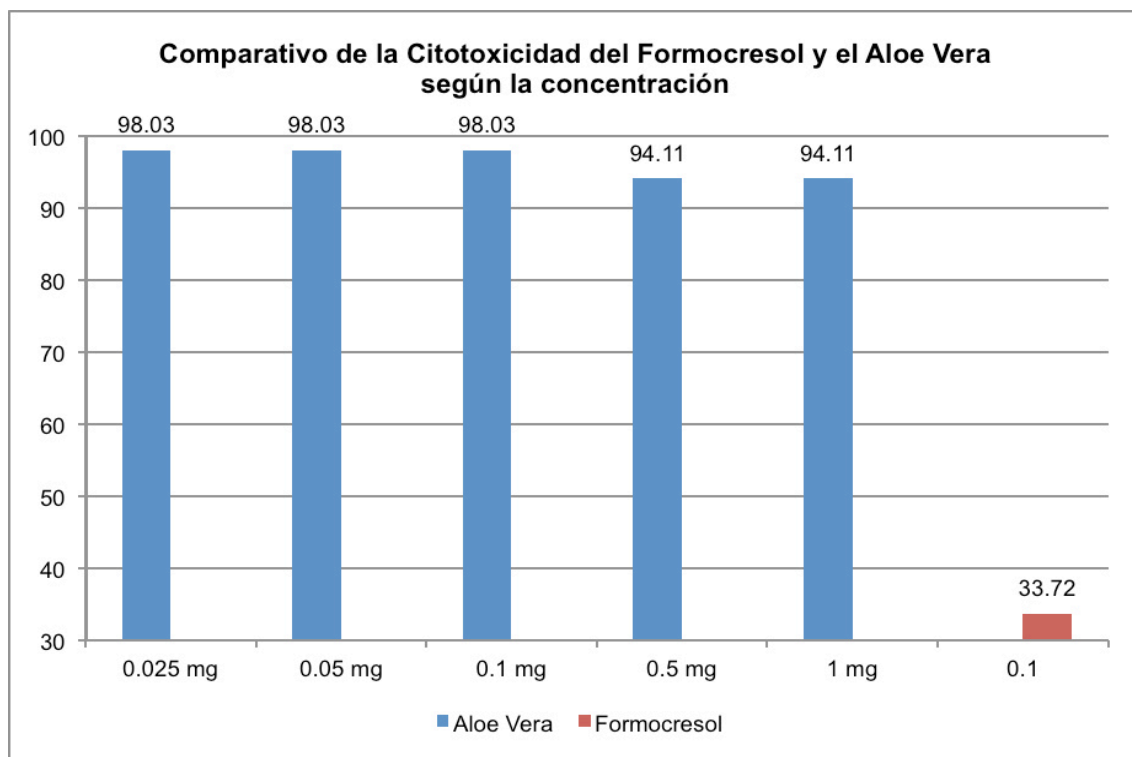
CONCLUSIONES

La respuesta de las células mesenquimales de pulpa dental al tener contacto con el Aloe Vera no presentó cambios o alteraciones en su morfología que pudieran impedir su correcto funcionamiento; a diferencia de las células mesenquimales de pulpa dental que recibieron como tratamiento el formocresol, en este grupo de células se observó una respuesta exagerada ante la toxicidad de esta sustancia y por consecuencia, se observó una disminución considerable en el número de células, así como una notoria alteración de la morfología de éstas.

El Aloe Vera no evidenció tener niveles significativos de citotoxicidad sobre las células mesenquimales de pulpa dental; a diferencia del formocresol, el cual presentó una viabilidad significativamente reducida con respecto al control.

8. GRÁFICAS

En la siguiente gráfica se observa el comparativo de viabilidad celular entre los dos tratamientos colocados a las células mesenquimales de pulpa dental. Este resultado está descrito en porcentajes. Por lo cual, queda demostrado que el el aloe vera no muestra citotoxicidad en ninguna de las concentraciones que se utilizaron para este estudio, a diferencia del formocresol, que deja evidencial una considerable disminución de la viabilidad celular.



9. LITERATURA CITADA

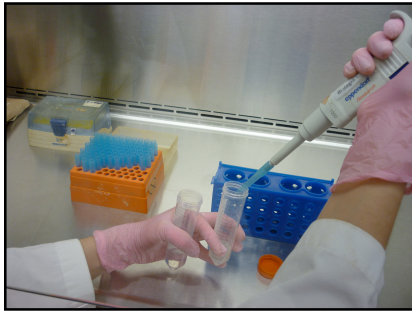
LITERATURA CITADA

1. Hargreaves K, Goodis H, Tay F. Seltzer and Bender's Dental Pulp. Pulp as a Connective tissue. Second Edition, P.95.
2. Avery J, Arbor A. Structural elements of the young normal human pulp. Oral Surg, 1971.
3. Lovera N, Robles N, Doroteo D, Alanís J. Comportamiento clínico y radiográfico de Agregado Trióxido Mineral (MTA) vs material de restauración intermedio (IRM) en pulpotomías de dientes temporales. Revista ADM /Sep-Oct 2011/Vol .LXVIII. NO.5. PP. 244-248.
4. Contreras MF, Sáez S, Bellet L. Pulpotomías en molares primarios. Revisión de la literatura. Odontología Pediátrica, 2007 May-Ago.
5. Loos P, Straffon L, Han S. Biological Effects of Formocresol. Journal of Dentistry for Children. May-Jun 1973.
6. Vega A, Ampuero N, Díaz L, Lemus R. El Aloe Vera (Aloe barbadensis miller) como componente de alimentos funcionales. Rev Chil Nutr Vol. 32, No 3, Diciembre 2005.
7. Ramachandran Sudarshan, Rajeshwari G. Annigeri, G Sree Vijayabala. Aloe vera in Dentistry. Indian J Stomatol 2013; 4(1):45-47.
8. Subramaniam P, Dwivedi S, Uma E, Babu G. Effect of pomegranate and aloe vera extract on streptococcus mutans: An in vitro study. ORIGINAL RESEARCH. Department of Pedodontics, The Oxford Dental College, Hospital and Research Centre, Bommanahalli, Hosur Road, Bangalore, India.
9. Mohammadmehdi F, Jamshid K. Inhibitory activity of Aloe vera gel on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. Journal of Oral Science, Vol. 54, No. 1, 15-21, 2012.
10. Duggal P. Aloe vera: the miracle medicine. General. Mayo 2013.
11. Neha Gupta, Manohar Bhat, Prabha Devi, Girish. Aloe-Vera: A Nature's Gift to Children. International Journal of Clinical Pediatric Dentistry, May-August 2010;3(2):87-92.
12. Salazar N, López P, Camacho F, Sánchez M. Efficacy of topical Aloe vera in patients with oral lichen planus: a randomized double-blind study. J Oral Pathol Med (2010) 39: 735–740 doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00947.x a 2010 John Wiley & Sons A/S Æ All rights reserved.
13. Ruchi. Aloe Vera, el uso de plantas a base de hierbas en la Odontología. Abril de 2012.

14. Pradeep A, Agarwal E, Naik S. Clinical and Microbiologic Effects of Commercially Available Dentifrice Containing Aloe Vera: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*. Jun2012, Vol. 83 Issue 6, p797-804. 8p.
15. Trade News. What's new. *British Dental Journal* Volume 196 NO. 2 January 24 2004.
16. Chantarawatit P, Sangvanich P, Banlunara W, Soontornvipart K, Thunyakitpisal P. Acemannan sponges stimulate alveolar bone, cementum and periodontal ligament regeneration in a canine class II furcation defect model. *J Periodontal Res*. 2013 May 28. doi: 10.1111/jre.12090.
17. New products and focus on infection control and surgery design. *British Dental Journal*. Volume 212 NO. 1 JAN 14 2012.
18. Xiao L, Tsutsui T. Human dental mesenchymal stem cells and neural regeneration. *Journal Human Cell Society and Springer Japan*. DOI. 2013;10.1007/s13577-013-0069-4.
19. Yamazaki H, Tsuneto M, Yoshino M, Yamamura K, Hayashi S. Potential of Dental Mesenchymal Cells in Developing Teeth. *STEMCELLS*. 2007;25:78-87.
20. Sanguino D, Carrión Bolaños J, Regeneración de Tejidos Orales Mediante Células Madre. *Universidad Europea de Madrid. Gaceta Dental*. 2011;231:94-114.
21. Valencia R, Espinosa R, Saadia M, Velasco J, Nario H. Panorama Actual de las Células Madre de la Pulpa de Dientes Primarios y Permanentes. *RODYB*. 2013;II(2):1-13.
22. Mahboob KM, Bajjappa RY, Gupta S, Dadheech N, Damodaran NP, Gupta KP, Ramchandra BR. Transplantation of Islet-like Cell Clusters Derived from Human Dental pulp Stem Cells Restores Normoglycemia in Diabetic Mice. *International Society Cellular Therapy (ISCT). Cytotherapy*. 2013;0:1-9.
23. González MN Aspectos Generales en Relación al Estudio de las Células Madre Dentales. Tesis de Lic Regenerativa. *Med. Oral. Patol. Oral Cir Bucal*. 2012;17(6):E1062-E1067.
24. Department of Periodontology, Oral Implantology. Towards a New Era Futuristic Oral Disorders. *Indian J Med. Res*. 2013;137:1207.
25. Gómez de Ferraris ME. *Histología y Embriología Bucodental*, 2o ed, Madrid 2002, Panamericana.
26. Khairwa A, Bhat M, Sharma R, Satish V, Maganur P, Goyal AK. Clinical and radiographic evaluation of zinc oxide with aloe vera as an obturating material in pulpectomy: An *in vivo* study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2014 Jan-Mar;32(1):33-8. doi: 10.4103/0970-4388.127051.
27. Barrantes, MG, S. Barrantes, JM. Rodríguez (2009). Aloe Vera, Llantén y Mentol para uso Odontológico. *Odontología Vital* 2009 1(10): 29-35.

28. Gala-García A, Teixeira K , Mendes LL, Sobrinho PR,1 Santos VR, Cortes ME. Effect of Aloe vera on Rat Pulp Tissue. *Pharmaceutical Biology* 2008, Vol. 46, No. 5, pp. 302–308.

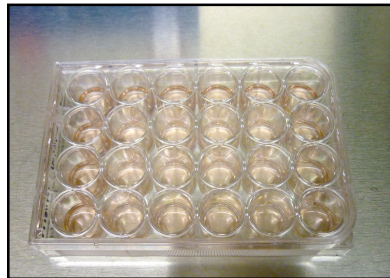
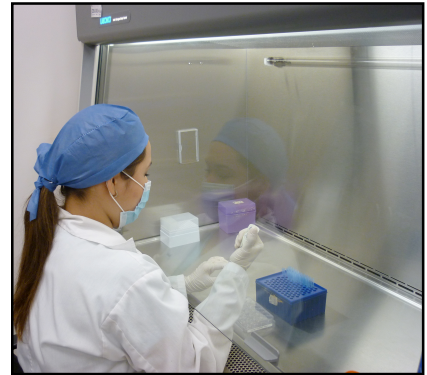
ANEXO



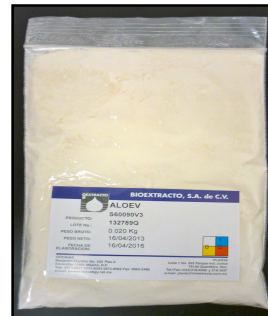
Siembra de células mesenquimales de pulpa dental.



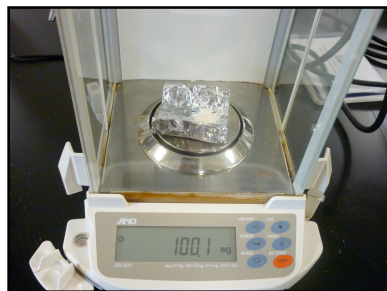
Vibrador utilizado para que las células no se concentren en un solo sitio.



Células mesenquimales de pulpa dental sembradas en placa de cultivo celular BD Falcon de 24 pozos.



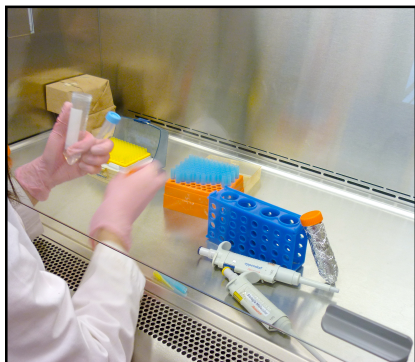
Aloe Vera en polvo



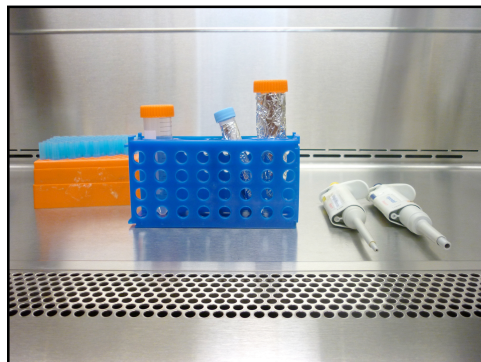
Peso del Aloe Vera en balanza analítica.



Preparación del Aloe Vera para su dilución.



Preparación de los tratamientos para su posterior adición a los cultivos celulares.



1er. tubo: medio de cultivo
2o. tubo: formocresol
3er. tubo: Aloe Vera



Preparación de la placa de cultivo celular ya teñida con FMCA para realizar medición de citotoxicidad en GLOMAX.



GLOMAX lector de citotoxicidad mediante fluorescencia.