



# Universidad Autónoma de Querétaro

## Facultad de Medicina

“Expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental, con la estimulación con cemento Biodentine y MTA.”

### Tesis

Que como parte de los requisitos  
para obtener el Diploma de la

### ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Presenta:

L.O. Mariana Licea Martínez

Dirigido por:

D. en C. Rosa Martha Pérez Serrano

Querétaro, Qro. a agosto 2025

L. O. MARIANA LICEA MARTÍNEZ

EXPRESIÓN DEL GEN OSTEOCALCINA EN CÉLULAS TRONCALES  
MESENQUIMALES DE LA PULPA DENTAL, CON LA ESTIMULACIÓN CON  
CEMENTO BIODENTINE Y MTA.

2025

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Especialidad en Endodoncia

“Expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental, con la estimulación con cemento Biodentine y MTA”

### **Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la  
Especialidad en Endodoncia

#### **Presenta:**

L. O. Mariana Licea Martínez

#### **Dirigido por:**

D. en C. Rosa Martha Pérez Serrano

Dra. Rosa María Pérez Serrano  
Presidente

C.D. E. E. María del Socorro Maribel Liñán  
Fernández  
Secretario

Dra. en C. Elsa Gabriela Valero Vélez  
Vocal

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez  
Suplente

Dra. en C. Claudia Adriana Rivera Albarrán  
Suplente

Centro Universitario,  
Querétaro, Qro. A junio 2025  
México

## Resumen

**Introducción:** La pulpa dental contiene Células Troncales Mesenquimales las cuales se han aislado *in vitro* para estudiar el efecto que tienen sobre diferentes materiales que son utilizados en contacto directo con estas células, como en el caso de tratamientos de terapia pulpar vital, un ejemplo de estos son el Mineral Trióxido Agregado (MTA) Angelus y Biodentine, ambos cuentan con reportes de altas tasas de éxito en cuanto a su biocompatibilidad y bioactividad. Sin embargo, aún falta más información para conocer si estos productos presentan la capacidad de inducir la diferenciación de las células y promover el proceso de regeneración tisular.

**Objetivo:** Determinar los niveles de expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental expuestas al cemento Biodentine o MTA Angelus.

**Material y métodos:** Se realizó un estudio de tipo experimental *in vitro*. Se utilizaron células troncales mesenquimales obtenidas de la pulpa dental de órganos dentarios de dos pacientes (con dos replicas por condición y experimento). Se realizó una expansión celular para, posteriormente, exponerlas a eludidos con tres concentraciones diferentes (0.5, 1 y 2  $\mu$ M) de dos cementos endodónticos, el MTA Angelus y Biodentine en un periodo de 7 días. Se aisló el ARN mensajero, se convirtió a ADN complementario por transcripción reversa y se midió la expresión del gen osteocalcina. Se utilizó el programa Prism (GraphPad) para determinar diferencias entre la expresión del gen de osteocalcina y los tratamientos aplicados, se consideró un valor de  $p \leq 0.05$  como significativo.

**Resultados:** La expresión de osteocalcina de las células expuestas a MTA Angelus no mostraron diferencias significativas en comparación con el control negativo, en ninguna concentración. Mientras que, la expresión de las células expuesta al Biodentine fue superior en comparación con el MTA Angelus y el control negativo en tres diferentes concentraciones.

**Conclusiones:** El Biodentine favorece la expresión de genes como la osteocalcina en concentraciones de 0.5, 1 y 2 Mm. sugiriendo que tiene propiedades de odontodiferenciación. De modo contrario, el MTA Angelus no favorece la expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental.

**Palabras clave:** (Células Troncales Mesenquimales, MTA Angelus, Biodentine, Osteocalcina)

## Summary

**Introduction:** Dental pulp contains Mesenchymal Stem Cells, which have been isolated in vitro to study their interaction with various materials that come into direct contact with these cells, such as those used in vital pulp therapy treatments. Examples of such materials include Mineral Trioxide Aggregate (MTA) Angelus and Biodentine, both of which have been reported to exhibit high success rates in terms of biocompatibility and bioactivity. However, further research is needed to determine whether these materials can induce cell differentiation and promote tissue regeneration processes.

**Objective:** To determine the expression levels of the osteocalcin gene in mesenchymal stem cells derived from dental pulp exposed to either Biodentine or MTA cement.

**Materials and Methods:** An in vitro experimental study was conducted. Mesenchymal stem cells were obtained from the dental pulp of two patients (with two replicates per condition and experiment). The cells were expanded and subsequently exposed to eluates of two endodontic cements—MTA Angelus and Biodentine—at three different concentrations (0.5, 1, and 2  $\mu$ M) for a period of seven days. Messenger RNA was isolated, reverse transcribed into complementary DNA (cDNA), and the expression of the osteocalcin gene was quantified. The Prism (GraphPad) software was used to analyze differences in osteocalcin gene expression among the treatment groups, considering a p value  $\leq$  0.05 as statistically significant.

**Results:** The expression of osteocalcin in cells exposed to MTA Angelus did not show significant differences compared to the negative control at any concentration. In contrast, osteocalcin expression in cells exposed to Biodentine was higher than that observed in the MTA Angelus and negative control groups across all three concentrations.

**Conclusions:** Biodentine enhances the expression of genes such as osteocalcin at concentrations of 0.5, 1, and 2  $\mu$ M, suggesting it possesses odontogenic differentiation properties. Conversely, MTA Angelus does not appear to enhance osteocalcin gene expression in mesenchymal stem cells of the dental pulp.

**Key words:** (Mesenchymal Stem cells, MTA, Biodentine, osteocalcin)

## **Dedicatorias**

A Dios que inspira y acompaña cada paso de mi vida.

A mis padres, Arturo y Romy, que han estado conmigo en todo momento, mis logros son todos suyos.

A mis hermanos, Arturo, Manuel y Andrea que siempre me han motivado y acompañado.

A mis tíos, Guille y Santos por su apoyo incondicional.

A mis primos Diana y Armando por darme un hogar mientras estaba lejos del mio.

A mi esposo que siempre esta a mi lado, ayudándome a alcázar mis metas y haciéndolas tuyas.

A mi hijo Luis Daniel, que me motiva a mejorar cada día.

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios por que siempre acompaña mis pasos.

A mis padres por todo su esfuerzo, por su ejemplo por sus consejos, por su amor incondicional.

A mis docentes que me enseñaron con dedicación y pasión.

A mi directora de tesis, la Dra. Rosa Martha Pérez Serrano, por compartir sus conocimientos y apoyarme en todo momento en la realización de esta investigación.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por darme las herramientas para formarme profesionalmente.

A mis compañeros del posgrado con los que compartí dos años y medio de memorias.

## Índice

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>Resumen</b>	i
<b>Summary</b>	ii
<b>Dedicatorias</b>	iii
<b>Agradecimientos</b>	iv
<b>Índice</b>	v
<b>Índice de tablas, gráficas y figuras</b>	vi
<b>Abreviaturas y siglas</b>	viii
<b>I. Introducción</b>	1
<b>II. Antecedentes</b>	4
<b>III. Fundamentación teórica</b>	7
Células Troncales Mesenquimales	7
Terapia Pulpar Vital	7
Mineral trióxido agregado	8
Biodentine	9
Osteocalcina	10
<b>IV. Hipótesis o supuestos</b>	12
<b>V. Objetivos</b>	13
V.1 General	13
V.2 Específicos	13
<b>VI. Material y métodos</b>	14
VI.1 Tipo de investigación	14
VI.2 Unidad de análisis	14
VI.3 Muestra	14
VI.4 Criterios de selección	14
VI.5 Variables estudiadas	15
VI.6 Técnicas e instrumentos	15



VI.7 Procedimientos	16
<b>VII. Resultados</b>	25
<b>VIII. Discusión</b>	31
<b>IX. Conclusiones</b>	37
<b>X. Propuestas</b>	38
<b>XI. Bibliografía</b>	40
<b>XII. Anexos</b>	46

### **Índice de tablas, gráficas y figuras.**

	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Tabla 1.	Compuestos del MTA Angelus	8
Tabla 2.	Indicaciones del uso del Biodentine	9
Tabla 3.	Descripción de las variables del estudio.	15
Figura 1.	Buffer Salino con antimicrobianos, colocado en tubos falcón.	16
Figura 2.	Representación de la secuencia de corte de los órganos dentarios para exponer la pulpa dental.	17
Figura 3.	Tejido pulpar disgregado	17
Figura 4.	Proceso de centrifugación para el aislamiento de las células presentes en la pulpa dental.	18
Figura 5.	Células resuspendidas en pellet.	18
Figura 6.	Células dentro de incubadora	19
Figura 7.	Obtención de las concentraciones de los tratamientos (MTA Angelus y Biodentine).	19
Figura 8.	Conteo de células en cámara de Neubauer	20
Figura 10.	Proceso de electroforesis.	22
Figura 11.	Proliferación celular del cultivo a 6, 12 y 18 días.	25
Figura 12.	Productos de PCR obtenidos para el gen de Osteocalcina en DPSC expuestas a dos cementos	26

selladores.

Gráfica 1.	Niveles de expresión del gen de Osteocalcina a 7 días de exposición a una concentración de 0.5 mM de los dos Cementos Endodónticos probados (Biodentine, MTA Angelus).	28
Gráfica 2.	Niveles de expresión del gen de Osteocalcina a 7 días de exposición a una concentración de 1 mM de dos Cementos Endodónticos (Biodentine, MTA Angelus).	29
Gráfica 3.	Niveles de expresión del gen de Osteocalcina a 7 días de exposición a una concentración de 1 mM de los dos Cementos Endodónticos (Biodentine, MTA Angelus)	30

## **Abreviaturas y siglas**

CTM: Célula troncal mesenquimal

DPSC: Células troncales mesenquimales de la pulpa dental

TPV: Terapia Pulpar Vital

MTA: Mineral trióxido agregado

## I. Introducción

El término "célula troncal mesenquimal" (CTM), fue descrito por primera ocasión por Caplan en los años 90's (Horwitz et al., 2005), se definen como células pluripotenciales, con alta capacidad de autorrenovarse y diferenciarse en tejidos especializados (Horst et al., 2012). Las CTM posnatales se han aislado de varios tejidos, incluyendo médula ósea, músculo, retina, piel, tejido neural y dental (Harada et al., 1999; Fuchs y Segre, 2000 y Bianco et al., 2001).

Los dientes y sus estructuras de soporte contienen diversos linajes de CTM las cuales les brindan un microambiente óptimo para reparar y regenerar el tejido. Entre las que destacan, están presentes las CTM aisladas de la pulpa dental de órganos dentales exfoliados, conocidas como SHED (Miura et al., 2003). Además, se encuentran las células del folículo dental (DFC) y las células del ligamento periodontal, responsables de mantener la homeostasis y de la formación de tejido periodontal (PDLSC). Por otro lado, las CTM de la papila apical (SCAP) han sido aisladas del tejido de dientes permanentes inmaduros (Sonoyama et al., 2006). Finalmente, las células implicadas en los procedimientos de Terapia Pulpar Vital (TPV), las CTM de la pulpa dental (DPSC), han demostrado capacidad de diferenciación *in vitro* hacia un fenotipo odontoblástico, caracterizado por cuerpos celulares polarizados y la formación de nódulos mineralizados (Tsukamoto et al., 1992; About et al., 2000; Couble et al., 2000).

Diferentes tipos celulares se han estudiado en combinación con diversos materiales que actualmente se utilizan, en la práctica odontológica, con la finalidad de entender el efecto que causan al estar en contacto directo con las células (Primus et al., 2019). Esta información es útil a la hora de elegir el material más óptimo para los tratamientos que requieran el contacto directo con cualquiera de estos sistemas de células, como en el caso de los tratamientos de TPV que incluye pulpotomía parcial o completa y recubrimiento pulpar directo (Aguilar y Linsuwanont, 2011).

Las DPSC son pluripotentes, capaces de autorrenovarse y diferenciarse (Gronthos et al., 2000a); así como juegan un papel importante en el proceso de reparación y regeneración del complejo dentina-pulpa a través de la diferenciación a odontoblastos. Se ha demostrado que algunos materiales pueden inducir la diferenciación de células troncales de la pulpa dental (Peng et al., 2011).

Existen reportes donde se comparan los niveles de proliferación odontogénica/osteogénica, utilizando diversos marcadores relacionados (Rathinam et al., 2015). Uno de ellos es la osteocalcina, descrita como una proteína no colágena importante que se encuentra en el hueso y la dentina. Entre las principales funciones asociadas es la de actuar como regulador en la mineralización del tejido duro (Lai et al. 2015) y la homeostasis del ion calcio (Garnero y Delmas, 1993).

Diferentes materiales han sido utilizados en los tratamientos de TPV, entre los más comunes están el MTA, este tiene la propiedad de liberar hidróxido de calcio que induce la formación de dentina en tratamientos donde se aplica a la pulpa vital (Camilleri, 2008). También se ha descrito la capacidad de biocompatibilidad, desinfección y falta de citotoxicidad (Darvell y Wu, 2011) Sin embargo, hay algunos inconvenientes que ha presentado, como la presencia de compuestos tóxicos incluidos en la composición del material (Ramalho y Willenbring, 2007), mayor citotoxicidad en su estado de recién mezclado (Balto 2004), alto pH durante el fraguado (Camilleri, 2008), características de manejo difíciles (Santos et al., 2005), tiempo de fraguado prolongado (Torabinejad et al., 1995), decoloración de los dientes, además de un alto costo (Belobrov y Parashos, 2011).

Tratando de mejorar estos inconvenientes, en el 2009, se diseñó un cemento a base de silicato de calcio nombrado "Biodentine" (Kaur et al., 2017). Aunque la información hasta el momento con respecto a la biocompatibilidad de Biodentine es bastante limitada, los datos disponibles generalmente están a favor

de este material por su baja o nula citotoxicidad y aceptabilidad de los tejidos (Malkondu et al., 2014).

Con el objetivo de elegir correctamente el material adecuado que será utilizado directamente sobre el complejo dentino-pulpar, se requieren más estudios que comparen los efectos que tendrán sobre las CTM que, como se ha descrito, juegan un papel crítico para la reparación y regeneración del tejido, obteniendo así una estructura dental con mejor calidad, promoviendo un pronóstico favorecedor para la función de los órganos dentarios, permaneciendo más tiempo en boca y cumpliendo las funciones masticatoria, fonética y estética; logrando una mejor calidad de vida de los pacientes.

## II. Antecedentes

Los odontoblastos son células pulpares que tienen la capacidad de responder a estímulos ambientales leves regenerando, como producto final, la dentina (Smith et al., 1995). Sin embargo, un estímulo más intenso puede provocar la muerte de la población de odontoblastos, en estos casos, la regeneración de la dentina está mediada por la diferenciación de una nueva generación de células que, son descritas como similares a los odontoblastos, actúan durante el proceso de dentinogénesis reparadora y regenerativa (Smith et al., 1990). En tal proceso las células DPSC presentan un papel protagónico.

Gronthos et al. (2000) estudiando la regeneración odontogénica e identificaron CTM, tras este descubrimiento, el interés e investigaciones asociadas a las DPSC aumento significativamente. Las DPSC son inducidas, *in vitro*, para diferenciarlas al linaje celular odontoblástico, el cual, se caracteriza por presentar acumulación de nódulos mineralizados y cuerpos celulares polarizados (Tsukamoto et al., 1992; About et al., 2000 y Couble et al., 2000). En este experimento se aislaron DPSC de terceros molares y fueron trasplantadas a ratones inmunodeprimidos. Los resultados mostraron una generación de una estructura similar a la dentina revestida con células similares a los odontoblastos humanos las cuales se situaban alrededor del tejido intersticial similar a la pulpa, comprobando de esta manera la capacidad de las DPSC de diferenciarse en células parecidas a odontoblastos.

Se han realizado diferentes estudios para evaluar la capacidad proliferativa y el potencial de diferenciación a tejidos especializados, con diferentes tipos de células y con múltiples materiales.

Entre los estudios que destacan está el de Paranjpe et al. (2011) donde estudiaron la interacción directa e indirecta del MTA ProRoot Grey con las DPSC, reportando que el MTA promovió la expresión de genes odontoblásticos más importantes como la osteocalcina y la sialoproteína de la dentina. Se mencionó que, al estar en contacto directo las células con el MTA, se promovió la diferenciación de las

células pulpares resultando en colonias celulares con morfología y función similar a los odontoblastos, que a su vez son responsables de la formación del puente de dentina.

En diversos estudios se ha evaluado la respuesta de las células de la pulpa dental humana cuando son expuestas a cementos de silicato dicálcico radiopaco y al MTA de color blanco. Entre las técnicas usadas fueron la citometría de flujo para cuantificar el porcentaje de células que se encontraban en las diferentes fases del ciclo celular y se usó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con transcripción inversa para determinar la expresión génica en las células pulpares cultivadas en los cementos. Los resultados indicaron diferencias entre las células de la pulpa dental expuestas al cemento de silicato dicálcico radiopaco o al MTA blanco en términos de ciclo celular, proliferación, inmunocompatibilidad y diferenciación osteogénica (Chen et al., 2011b).

Jung et al. (2015) compararon la capacidad inductiva de mineralización de Biodentine y Bioagregado comparados con MTA. Para investigar su potencial para inducir la diferenciación hacia el linaje odontoblástico, se evaluó la expresión de sialofosfoproteína de dentina y el nivel de ARNm de la proteína de matriz de dentina 1 (DMP1) mediante RT - PCR, los resultados obtenidos en la expresión de estos genes no fueron significativamente diferente para los 3 materiales.

Luo et al. (2014) estudiaron la respuesta de las CTM de la pulpa dental humana al ser expuestas al Biodentine. Midió los niveles de expresión de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), el factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) y el calcio/calmodulina, teniendo como resultado un aumento significativamente de la actividad de la fosfatasa alcalina y la formación de nódulos mineralizados. Concluyendo que Biodentine es un material bioactivo y biocompatible capaz de inducir la diferenciación de odontoblastos.

Se ha comparado la efectividad de varios materiales biocerámicos (ProRoot MTA, Biodentine y RetroMTA) como materiales de sellado en tratamientos de endodoncia regenerativa, para la proliferación y diferenciación de



SCAP, teniendo como resultado que los 3 biomateriales probados mostraron una significativa proliferación en SCAP y con respecto a la diferenciación odontoblástica solo Biodentine mostró, tinción positiva con rojo de alizarina (Wongwatanasanti et al., 2018).

Araújo et al. (2018) evaluaron los efectos del MTA, hidróxido de calcio y Biodentine, como materiales de recubrimiento en SHED, obteniendo como resultados que los tres materiales de protección pulpar son biocompatibles, mantienen la viabilidad y estimulan la proliferación, migración y diferenciación observando una mayor migración de SHED hacia medios condicionados con Biodentine y mayor expresión del gen DMP-1 en el grupo MTA.

En modelos animales se han estudiado y comparado cavidades con exposición pulpar de ratas que fueron cubiertas con Biodentine y MTA, teniendo como resultado que tanto el Biodentine y el MTA indujeron la proliferación celular y se observó la formación del puente de dentina de tipo homogéneo en el sitio de la lesión, secretado por las células que muestran un fenotipo odontoblástico (Tran et al., 2012).

Una de las formas de evaluar la diferenciación celular ha sido mediante la expresión de diferentes genes, siendo uno de ellos la osteocalcina que, aunque es reconocida como un marcador de formación óseo, también está documentada su participación en la dentinogénesis, Chen et al. (2022) nos presentan una recopilación de más de 300 genes que participan en la dentinogénesis, entre los cuales encontramos a la osteocalcina. Papagerakis et al. (2002) demostraron que la proteína osteocalcina está presente en los odontoblastos humanos, se detecta a lo largo de los procesos odontoblásticos y se encuentra dentro de la matriz del esmalte.

### **III. Fundamentación teórica**

#### Células Troncales Mesenquimales (CTM)

Son un tipo de células indiferenciadas con un alto potencial de proliferación, elevada capacidad de autorrenovarse y la habilidad de diferenciarse en uno o más tipos celulares del tejido conectivo (Mayani, 2003). En el organismo existen distintos tipos de CTM clasificándose según el potencial de diferenciación y su origen de obtención y aislamiento.

Las CTM pertenecen a un grupo de células troncales obtenidas desde tejidos adultos conservando las características atractivas de estas células como la proliferación elevada, autorrenovación y diferenciación. Autorrenovación, es el concepto utilizado para describir la capacidad que tienen de dividirse en células idénticas a las células de origen (Mayani, 2003). Dentro de este grupo encontramos a las células Troncales de la pulpa dental (Dental Pulp Stem Cell, DPSC), las cuales se encuentran en la cámara central de la cavidad dentaria en la pulpa dental (Tsutsui, 2020).

#### Terapia Pulpar Vital (TPV)

Es una modalidad de tratamiento de base biológica cuyo objetivo es preservar el tejido pulpar. La TVP incluye recubrimiento pulpar indirecto y directo, y pulpotomía parcial o total (Aguilar y Linsuwanont, 2011).

Biocompatibilidad, correcto sellado contra fugas y la capacidad para estimular la curación del tejido inflamado, así como promover la formación de dentina reparadora, serían las características ideales para un material utilizado en VPT. Históricamente, el hidróxido de calcio era el material más común utilizado en VPT. Sin embargo, ha sido reemplazado por la introducción de cementos a base de silicato de calcio hidráulicos, que se convirtieron en el estándar de oro para VPT (Parirokh et al., 2018)

### Mineral trióxido agregado (MTA)

Fue desarrollado y descrito por la Universidad de Loma Linda. Su primera inclusión en la literatura científica se dio en 1993, gracias al trabajo de Lee, Monsef y Torabinejad, y posteriormente fue patentado en 1995 por Torabinejad y White.

Se describe como un polvo que contiene partículas finas hidrofílicas que, en presencia de humedad, tienen la capacidad de fraguar. Al momento de entrar en contacto con el agua se genera un gel de tipo coloidal con una estructura dura (tabla 1).

Tabla 1. Compuestos del MTA

Compuestos principales del MTA	<ul style="list-style-type: none"><li>• Óxido de silicato</li><li>• Silicato dicálcico</li><li>• Silicato tricálcico</li><li>• Sulfato de calcio dihidratado</li><li>• Aluminato férrico tetracálcico</li><li>• Óxido tricálcico</li></ul>
<p>-Incluye una pequeña concentración de óxidos minerales, los cuales son responsables de las diversas propiedades físico-químicas de este compuesto.</p> <p>-Adicionado con óxido de bismuto el cual le proporciona la capacidad radio-opaca</p>	

El MTA, es uno de los materiales más usados por los resultados positivos reportados. En varios estudios se han descrito elevadas tasas de éxito cuando se utiliza en terapias de pulpa vital (Mente et al., 2014; Kundzina et al., 2017; Torabinejad et al., 2018; Mente et al., 2014). La biocompatibilidad del MTA es una

de sus características principales, en la mayoría de los estudios que son realizados *in vitro* o *in vivo*, se registra una respuesta favorable, tanto cuando se utiliza de forma exclusiva o en combinación con otros materiales (Hwand et al., 2009).

### Biodentine

Es un material compuesto de sulfato tricálcico, se reporta como un compuesto biocompatible con propiedades y comportamiento mecánico muy similar a la descrita en dentina sana, por lo cual es indicado para diferentes tratamientos (tabla 2).

Compuesto por:

- La porción del polvo que contiene silicato tricálcico, considerándose como el principal componente y responsable de la regulación del fraguado. Incluye también el carbonato de calcio que es un relleno del material y dióxido de zirconio que otorga radiopacidad.
- La porción del líquido incluye cloruro de calcio que funciona como un acelerador y polímero hidrosoluble que reduce la viscosidad (Laurent et al., 2008).

Tabla 2. Indicaciones del uso del Biodentine

Zona coronal	Restauración permanente de la dentina Restauración temporal del esmalte dentinario Restauración de lesiones cariosas profundas y radiculares cervicales Recubrimiento pulpar y Pulpotomía.
Zona Radicular	Reparación de perforaciones radiculares Perforaciones de furca Resorciones internas y externas Apexificación Obturación de la raíz en cirugía endodóntica

(Ficha tecnica, Septodont).

Como agente de apósito en pulpotomías ha demostrado sus propiedades bioactivas, las cuales estimulan la regeneración del tejido duro sin provocar inflamación, tanto moderada o grave, en la pulpa dental (Malkondu et al., 2014). Cabe resaltar que la información actual sobre la biocompatibilidad es limitada, los datos disponibles reportan resultados favorecedores en términos de su baja citotoxicidad y aceptabilidad de los tejidos (Malkondu et al., 2014).

### Osteocalcina

La osteocalcina es una proteína sintetizada por el osteoblasto. Fue descubierta en los años 70's y desde entonces ha sido utilizada como marcador de formación ósea al ser un producto osteoblástico (Karsenty G. 2023). Sin embargo, también se ha informado de la expresión de osteocalcina en la dentina (Papagerakis et al., 2002).

Esta proteína pertenece a la clasificación de proteínas de tipo no colágeno de la matriz ósea. Se ha reconocido ampliamente como biomarcador de la diferenciación osteogénica y odontogénica. Se ha reportado como sintetiza en un proceso dependiente de vitamina K, la cual permite que se desencadene la carboxilación, aumentando así la afinidad de los cristales de hidroxiapatita en los tejidos mineralizados. Entre las principales funciones es la regulación de la correcta y continua mineralización ósea y dentinaria, facilitando el desarrollo de depósitos de calcio y fósforo en la matriz extracelular (Karsenty, 2023).

Adicional a la función propiamente estructural, la osteocalcina se ha identificado como una molécula bioactiva con propiedades hormonales, ya que esta involucrada en la homeostasis energética y su expresión es crucial para la diferenciación al linaje odontoblástico promoviendo la formación de dentina y asegurando la funcionalidad (Karsenty, 2023).

Estudios recientes han demostrado que materiales bioactivos como los cementos endodónticos modulan la expresión de osteocalcina, lo que sugiere su importancia en la selección de biomateriales para la regeneración dental y la TPV.

En el estudio de Ching et al. (2017) se comparó el potencial de diferenciarse al linaje odontogénico entre las DPSC y células troncales derivadas de dientes deciduos exfoliados. Las proteínas de osteocalcina, colágeno Tipo 1 y Fosfatasa Alcalina fueron utilizadas como marcadores positivos de la diferenciación. Los resultados reportaron que la osteocalcina destacó por su papel directo en la mineralización tardía y la maduración celular. Este precedente refuerza el potencial de utilizar a este marcador para monitorear el proceso de diferenciación celular hacia el odontoblasto.

Con la finalidad de corroborar la función directa asociada a la expresión y síntesis de la osteocalcina, se realizó un estudio que alteró la expresión de la proteína hnRNP A1 (relacionada con la supresión de la osteocalcina) en un modelo *in vitro* en DPSC. Los resultados indicaron una reducción significativa en la presencia de la osteocalcina en las células. Esto desencadenó una inconclusa formación de nódulos mineralizados. Estos hallazgos sugieren el papel fundamental de la osteocalcina como marcador de diferenciación positivo hacia el linaje odontoblástico.

La evaluación de tipo comparativa entre cementos endodónticos que determine la expresión de osteocalcina; así como su impacto en la diferenciación de los odontoblastos, representa un avance fundamental que servirá como antecedente para las terapias de reparación y regeneración tisular en la odontología regenerativa. La osteocalcina, al ser un marcador clave de la mineralización dentaria permite definir la bioactividad de los materiales utilizados en tratamientos de TPV y regeneración tisular. Los resultados obtenidos no solo mejorarán la práctica clínica actual, sino que sentarán las bases para el diseño de nuevos biomateriales que favorezcan la conservación y preservación de los órganos dentarios.

## **IV. Hipótesis**

### **Hipótesis de trabajo**

La estimulación con cemento Biodentine genera un nivel de expresión más alto del gen de la osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental en comparación con el obtenido mediante el uso de MTA Angelus.

### **Hipótesis nula**

La estimulación con cemento Biodentine genera un nivel de expresión similar del gen de la osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental en comparación con el obtenido mediante el uso de MTA Angelus.

## **V. Objetivos**

### **V.1 Objetivo general**

Determinar los niveles de expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental expuestas al cemento Biodentine o MTA Angelus.

### **V.2 Objetivos específicos**

1. Estandarizar el cultivo de células troncales mesenquimales de la pulpa dental en condiciones *in vitro*.
2. Medir la expresión del gen osteocalcina como marcador odontoblásticos en células troncales mesenquimales de la pulpa dental expuestas al cemento Biodentine y MTA Angelus.
3. Comparar los niveles de expresión del gen osteocalcina como marcador odontoblásticos en células troncales mesenquimales de la pulpa dental, que fueron expuestas al cemento Biodentine y MTA Angelus.



## **VI. Material y métodos**

### **VI.1 Tipo de investigación**

El presente proyecto es de tipo experimental *in vitro*.

### **VI.2 Unidad de análisis**

Se utilizaron células troncales mesenquimales obtenidas de la pulpa dental de personas adultas (DPSC).

### **VI.3 Muestra**

DPSC aisladas de dos pacientes con dos repeticiones cada uno y con una réplica por condición y experimento.

### **VI.4 Criterios de selección**

#### **Criterios de inclusión**

##### Pacientes

- Pacientes sanos mayores de 18 y menores de 25 años.
- Con prueba negativa de COVID-19 (vigencia 7 días).

##### Órganos Dentales

- Terceros molares sin odontosección al momento de la extracción.

##### Cultivos Celulares

- Cultivos de células DPSC con evidente viabilidad celular.
- Cultivos de células con características celulares asociadas a las CTM.

#### **Criterios de exclusión**

Cultivos celulares con nula o baja tasa de proliferación y con viabilidad celular alterada.

## Criterios de eliminación

Se eliminaron todos los cultivos celulares y las muestras que presentaron alguna alteración o modificación imprevista que imposibilitaban evaluar las variables de interés.

## VI.5 Variables estudiadas

En el presente proyecto se consideró una variable dependiente y una independiente para describir el fenómeno a estudiar (tabla 3).

Tabla 3. Descripción de las variables del estudio.

Variable	Tipo	Descripción Conceptual	Tipo de variable	Escala de Medición	Unidades de medida	Instrumento de medición	Recolección de datos
Gen Osteocalcina	Dependiente	Gen asociado a la diferenciación odontoblástica que determina la morfología y función de los odontoblastos.	Cuantitativa	Ordinal	Ct (Ciclo de Treshold)	StepOne Plus (equipo de qPCR)	EXCEL
Material endodóntico	Independiente	Se probarán dos materiales, Biodentil y MTA	Cuantitativa	Ordinal	Concentración (mM)	Bascúla y micropipetas	

## VI.6 Técnicas e instrumentos

Se realizó qPCR en el equipo STEP ONE PLUS (Applied biosystem) y se registraron, en una hoja de Excel (Microsoft Office), el número de ciclos cuando se cruza el treshold (Ct) del gen Osteocalcina en los diferentes cultivos (en los estimulados con MTA Angelus y los estimulados con Biodentine).

## VI.7 Procedimientos

### Objetivo 1: Estandarizar el cultivo de células troncales mesenquimales de la pulpa dental en condiciones *in vitro*.

Se realizó el siguiente procedimiento para la extracción y asilamiento de la CTM de la pulpa dental de dos pacientes adultos:

1. Se realizó a 2 terceros molares obtenidos por indicación de extracción asociada a tratamientos ajenos al presente proyecto y por motivos ortodónticos. Es importante resaltar que solo se utilizaron para esta línea de investigación y fueron sin fines de lucro. Una vez realizados los experimentos, los productos de desecho fueron eliminados conforme a las normas de bioseguridad y disposición de materiales biológicos infecciosos.
2. Los órganos dentarios se colocaron en un tubo falcon de 15 ml con Buffer Salino estéril al 1% adicionado con antimicrobianos al 3% (estreptomicina, penicilina y anfotericina).
3. Posteriormente, se realizaron dos lavados en frío a 4°C, en el lugar de la extracción.
4. Se colocaron en Medio de Transporte (dulbecco modified Eagles minimal essential medium), enriquecido con antimicrobianos al 3% (estreptomicina, penicilina y anfotericina) (figura 1).



Figura 1. Buffer Salino con antimicrobianos, colocado en tubos falcón.

5. se realizó un corte longitudinal en el órgano dentario para exponer el paquete vasculonervioso. El procedimiento se realizó dentro de la campana de flujo laminar, (figura 2).



Figura 2. Representación de la secuencia de corte de los órganos dentarios para exponer la pulpa dental.

6. Se realizaron lavados con una jeringa estéril de 1ml y aguja (31G, diámetro .25, azul) en una caja Petri con Medio de transporte.
7. Se disgrego el tejido pulpar hasta eliminar coágulos, astillas y fibrina (figura 3).

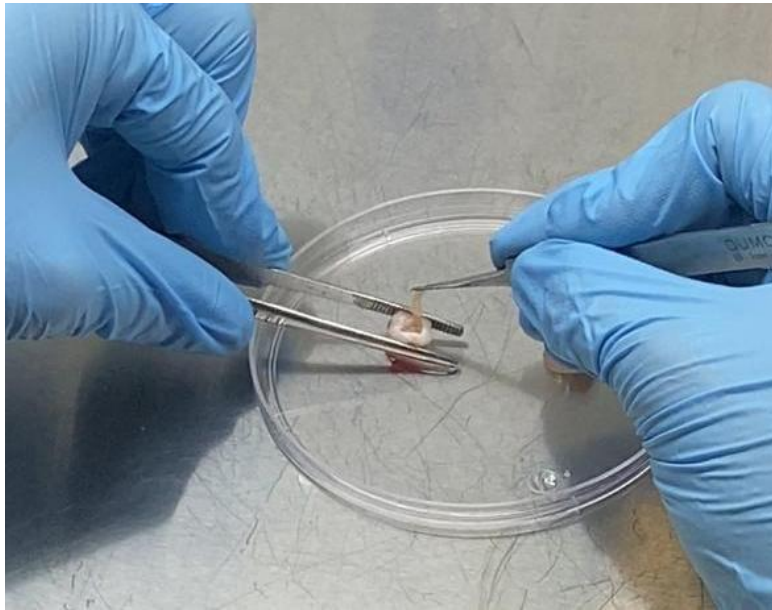


Figura 3. Tejido pulpar disgregado

8. Se retiró del medio de transporte el material obtenido de la pulpa dental y fue colocado en un tubo falcón de 15 ml con medio de trasporte nuevo.
9. Se centrifugo, a temperatura ambiente, a 3,000 rpm por 5 min (figura 4).



Figura 4. Proceso de centrifugación para el aislamiento de las células presentes en la pulpa dental.

10. Se retiraron del medio de transporte.

11. El pellet celular fue resuspendido en Medio Basal de Cultivo (DMEM, 20% de suero fetal bovino y 1% de antimicrobianos estreptomicina, penicilina y anfotericina) (figura 5).

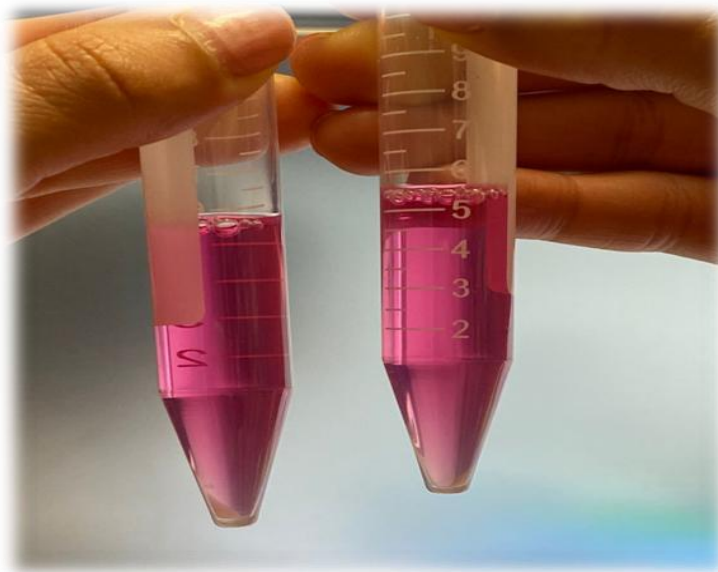


Figura 5. Células resuspendidas en pellet.

12. Se mantuvieron en una incubadora celular con una temperatura de 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> (figura 6).



Figura 6. Células dentro de incubadora

#### Obtención de Biodentine y MTA Angelus

1. Los materiales se homogenizaron respetando las instrucciones del fabricante y bajo condiciones asépticas.
2. Posteriormente, los materiales se colocaron en moldes de silicona; los cuales tienen un diámetro de 5 mm y altura de 3 mm.
3. El proceso de fraguado se realizó en una incubadora a 37 ° C con el 95% de humedad durante 24 hrs.
4. Posteriormente, las pastillas formadas fueron retiradas del molde de plástico y expuestas a la luz ultravioleta por 15 min.
5. Se realizaron diluciones en Medio Basal con concentraciones de 0.5 mM, 1 mM, 2 mM para ambos cementos (figura 7).



Figura. 7. Obtención de las concentraciones de los tratamientos (MTA Angelus y Biodentinee).

**Objetivo 2. Medir la expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental (DPSC) expuestas al cemento Biodentine y MTA.**

Con la finalidad de obtener una mayor cantidad de células para la exposición a los cementos, fue requerido primero expandir el cultivo celular, el proceso realizado fue el siguiente:

- 1 Se realizaron subcultivos fijos cada 3 días por un total de 11 pasajes.
- 2 La densidad de siembra fue de 50,000 células en cajas Petri de 3 cm.
- 3 El medio de cultivo fue renovado cada 48hrs.
- 4 Se cosecharon las células con tripsina y EDTA en condiciones frías.
- 5 Se contaron las células en cámara de Neubauer (figura 8).
- 6 El proceso de repitió por 11 ocasiones.

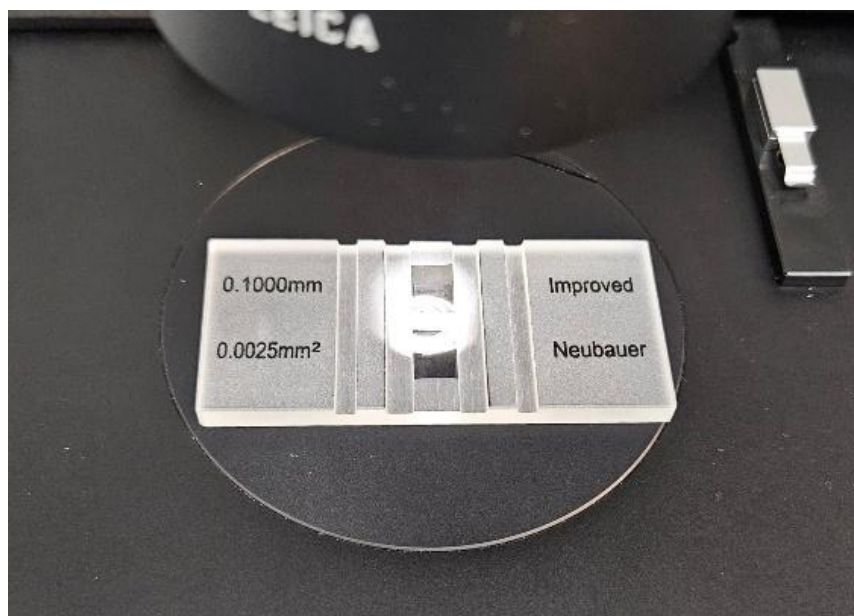


Figura 8. Conteo de células en cámara de Neubauer

Con la finalidad de determinar los niveles de expresión del gen de osteocalcina se realizó el siguiente procedimiento.

- 1 Se sembraron dos cajas de Petri de 3 cm con una densidad de 50,000 células.
- 2 Se dejaron incubar por 24 hrs. En el caso del control negativo inicial, se extrajo el RNA mensajero previo inicio a la exposición de los tratamientos.
- 3 El tratamiento total duro 21 días con recambios de medio de diferenciación osteogénica cada 48hrs. Es importante resaltar que, para el presente proyecto, se extrajo el RNA mensajero a los 4 días post exposición.
- 4 El método de extracción de RNA fue con la técnica del TRIzol(®) (Sigma Aldrich) siguiendo el protocolo de manufactura.
- 5 El RNA mensajero obtenido se almacenó a -80°C.
- 6 Con la finalidad de determinar la concentración y pureza del RNA mensajero aislado, se midieron por nanoespectrofotometría (NANODROP PLUS, Thermo Fisher). Las muestras se clasificaron en excelente calidad con una concentración superior a 100ng/ul, 2.0 (260/280) y 2.0 (260/230). Calidad intermedia con una concentración entre 30 a 100ng/ul, 2.0 ±0.5 (260/280) y 2.0 ±0.5 (260/230). Calidad baja (eliminadas) con una concentración menor a 30 a 100ng/ul, 2.0 ±0.6 (260/280) y 2.0 ±0.6 (260/230).
- 7 Adicional a ello, se realizó un gen de electroforesis al 1% de agarosa para determinar la integridad del material genético. Las bandas que fueran visiblemente degradadas fueron eliminadas.
- 8 La síntesis del DNA complementario (cDNA) se realizó por transcripción reversa con el kit Access RT-PCR System (Promega) respetando las indicaciones del fabricante.





Figura 10. Proceso de electroforesis.

### Reacción en Cadena de la polimerasa en tiempo real

Las condiciones utilizadas para el análisis cuantitativo en tiempo real de la reacción en cadena de la polimerasa (qPCR) fueron las siguientes:

1. Se realizó el master mix que incluye 2ul de cDNA 0.5 ml de cebador directo e inverso, H<sub>2</sub>O libre de contaminantes y Taq Polimerasa asociada al SYBR Green (Kit LightCycler® 480 SYBR Green I Master, ROCHE) resultando en un total de 10 ml para cada reacción. En cada ocasión, se incluyó un control negativo carente de cDNA y reemplazado por H<sub>2</sub>O para descartar contaminaciones.
2. Se realizaron un total de 40 ciclos de qPCR. Cada ciclo incluyó una desnaturalización a 94°C por 5 min. Posteriormente, la fase de extensión incluyó una etapa de desnaturalización a 95°C por 30 s, seguido por la temperatura de alineación (60°C) por 30 s. Finalmente, una fase de

extensión a 72°C por 1 min. Posteriormente, se realiza una curva de melting para definir la presencia de artefactos inespecíficos que sobre o sub estimen los resultados.

### **Objetivo 3: Comparar los niveles de expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental, con cemento Biodentine y MTA.**

Con la finalidad de determinar que cemento promovió en mayor proporción los niveles de expresión del gen de osteocalcina se realizó un análisis estadístico como se describe a continuación:

#### **VI.8 Análisis estadístico**

El análisis estadístico que se realizó estuvo orientado a comparar los niveles de expresión génica asociados con la diferenciación odontogénica en células troncales expuestas a dos cementos endodónticos: Biodentine y MTA. Debido a que los datos no siguieron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para evaluar las diferencias en la expresión del gen marcador de diferenciación (osteocalcina) entre los grupos experimentales. Los resultados inferiores al  $p \leq 0.05$  fueron consideradas con diferencias significativas.

#### **VI.9 Consideraciones éticas**

El proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética y el Consejo de Investigación y Posgrado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro. Los órganos dentales fueron donados por los pacientes después de su extracción y una vez realizados los experimentos, los dientes se desecharon conforme a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 que habla del Manejo de Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos. El presente proyecto se llevó a cabo respetando los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki, emitida por la Asociación Médica Mundial. Se garantizó el respeto por los derechos, la seguridad

y el bienestar de los participantes, quienes fueron informados detalladamente sobre los objetivos, riesgos y beneficios del estudio. Además, todos los participantes otorgaron su consentimiento informado por escrito antes de su inclusión en la investigación, asegurando así el cumplimiento de las normativas internacionales de ética en investigación biomédica.

## VII. Resultados

### Estandarizar el cultivo de células troncales mesenquimales de la pulpa dental (DPSC).

Se obtuvo satisfactoriamente un cultivo celular viable durante más de 18 días con un total de 11 pasajes. Lo anterior, permitió registrar un total de más de 1,300,000 células expandidas en cajas de Petri de 10 cm.

La elevada tasa de proliferación fue comprobada al duplicar la cantidad de células sembradas en un total de 1.3 días. Durante el cultivo, la morfología registrada es de tipo fibroblastoide acorde con la esperada en las DPSC (figura 11). Es importante resaltar que durante la primera semana fueron visibles muy pocas células obtenidas del aislamiento, en su mayoría se ubicaban por debajo de los acúmulos del detrito celular lo que dificultaba visualizarlas. Para los 12 días eran visibles colonias definidas de células y para los 18 días, se encontraba totalmente cubierta la superficie de la caja de Petri. En este punto, se realizó la siembra celular para los tratamientos con los cementos probado.

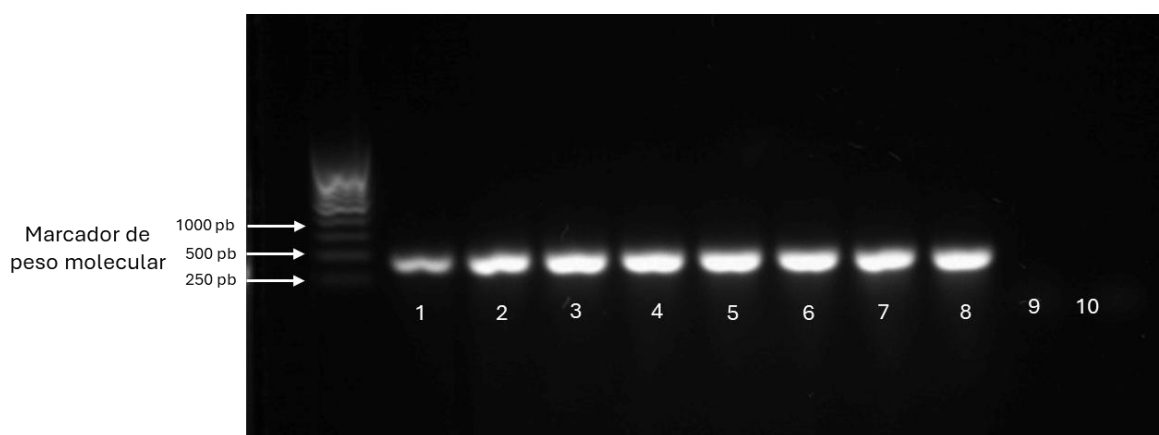
Figura 11. Proliferación celular del cultivo a 6, 12 y 18 días.



## Expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental (DPSC) expuestas al cemento Biodentine y MTA Angelus.

El gen de osteocalcina fue utilizado como marcador de diferenciación hacia el linaje odontoblástico. Se realizaron PCR convencionales para identificar la expresión positiva o negativa, de este gen, en los diferentes tratamientos. Los resultados muestran una expresión positiva en todas las condiciones experimentales a las que fueron expuestas las DPSC independientemente de la concentración de cada cemento (figura 12)

Figura 12. Productos de PCR obtenidos para el gen de Osteocalcina en DPSC expuestas a dos cementos selladores.



Descripción: carriles 1,2- Osteocalcina expresada en DPSC expuestas a 0.5 mM de los cementos. Carriles 3,4- Osteocalcina expresada en DPSC expuestas a 1 mM de los cementos. Carriles 5,6- Osteocalcina expresada en DPSC expuestas a 2 mM de los cementos. Carriles 7,8- Actina expresada en DPSC expuestas a 0.5 mM de los cementos. Números impares: Biodentine. Número pares: MTA Angelus.

Este resultado permite dilucidar que los dos cementos (Biodentine y MTA Angelus) fueron capaces de promover una diferenciación asociada al linaje similar a los odontoblastos al expresar el gen de la osteocalcina. Esta información, no es suficiente para determinar que cemento y concentración fue la que más expreso osteocalcina al ser solo mediante PCR convencional. Para definir, con sensibilidad

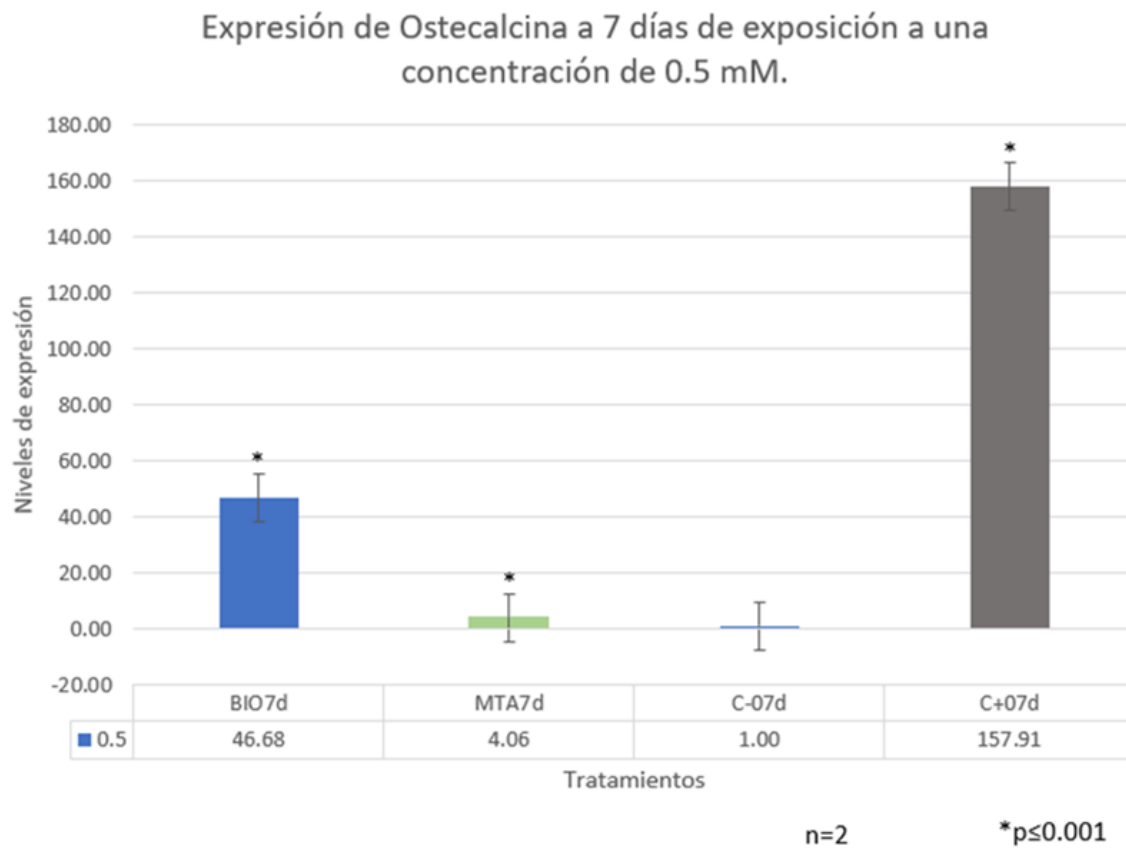
y especificidad, los niveles de expresión de la osteocalcina se realizaron qPCR para cuantificar con exactitud al gen y su asociación a los cementos y concentraciones de estos.

**Comparar los niveles de expresión del gen osteocalcina en células troncales mesenquimales de la pulpa dental (DPSC), con cemento Biodentine y MTA Angelus.**

Los dos cementos de interés del presente proyecto son ampliamente utilizados en la práctica clínica. Sin embargo, es relevante describir el potencial de estimular la diferenciación celular hacia el linaje odontoblástico al favorecer la regeneración tisular. Por lo anterior, se compararon los dos cementos a tres concentraciones distintas. El análisis se realizó durante los primeros 7 días de exposición para determinar los niveles de expresión del gen de osteocalcina (marcador positivo de diferenciación) en las DPSC expuestas.

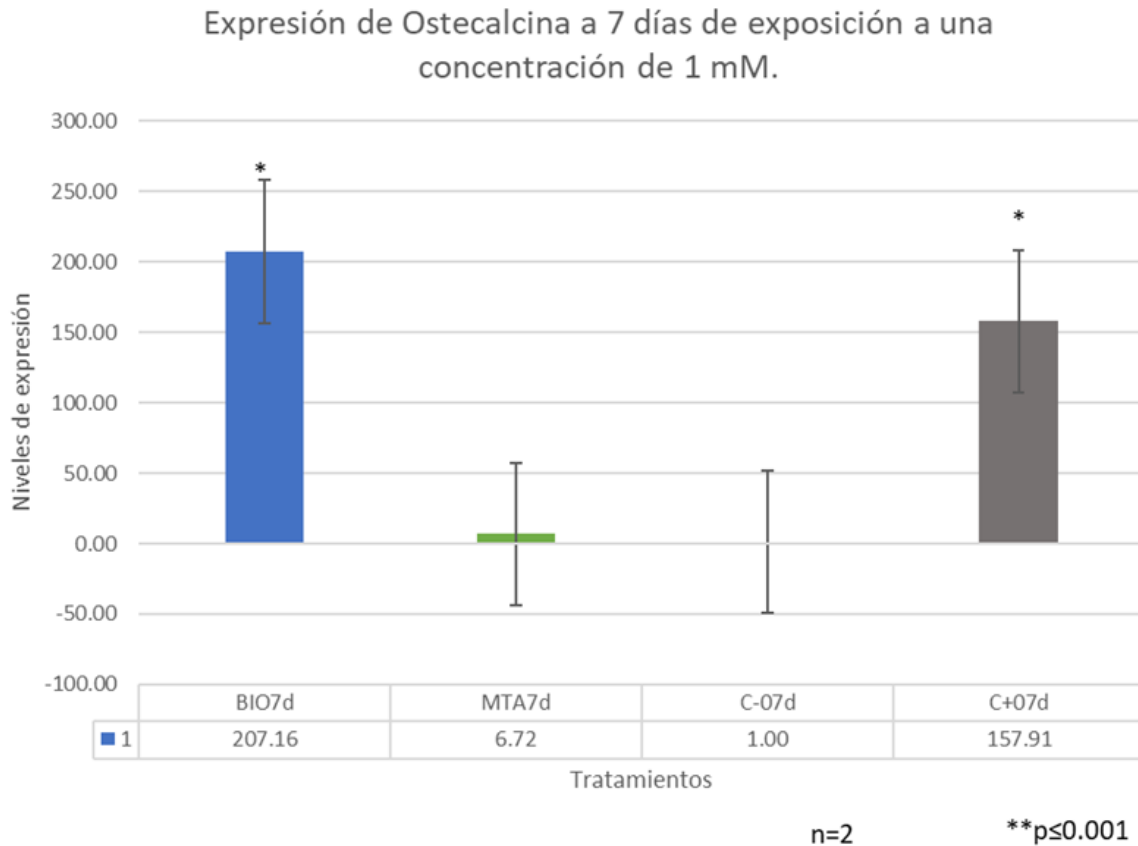
Los resultados asociados a la concentración de 0.5mM de ambos cementos muestran una diferencia significativa (gráfica 1) entre los dos cementos comparándolos con el control positivo (medio de diferenciación establecido para favorecer la diferenciación odontoblástica). El Biodentine, presentó una diferencia significativa contra el control negativo, no así para el MTA Angelus donde no existió diferencia significativa (gráfica 1). Lo anterior, evidencia que los cementos promovieron la diferenciación odontoblástica. Sin embargo, en mayor proporción el Biodentine. Es importante destacar que el control positivo registró un aumento significativo de la expresión del gen (gráfica 1).

Gráfica 1. Niveles de expresión del gen de Osteocalcina a 7 días de exposición a una concentración de 0.5 mM de los dos Cementos Endodónticos probados (Biodentine, MTA Angelus).



Los resultados obtenidos con la concentración de 1Mm muestran un aumento significativo del Biodentine a diferencia del MTA Angelus y el control negativo (gráfica 2). Es importante resaltar que, el Biodentine, registró un nivel de expresión similar al control positivo (gráfica 2). En el caso de MTA Angelus, los niveles de expresión medidos no mostraron diferencia significativa en comparación con el control negativo (gráfica 2). Esto quiere decir que, a dosis de 1 mM, el Biodentine fue el cemento más efectivo en promover la diferenciación.

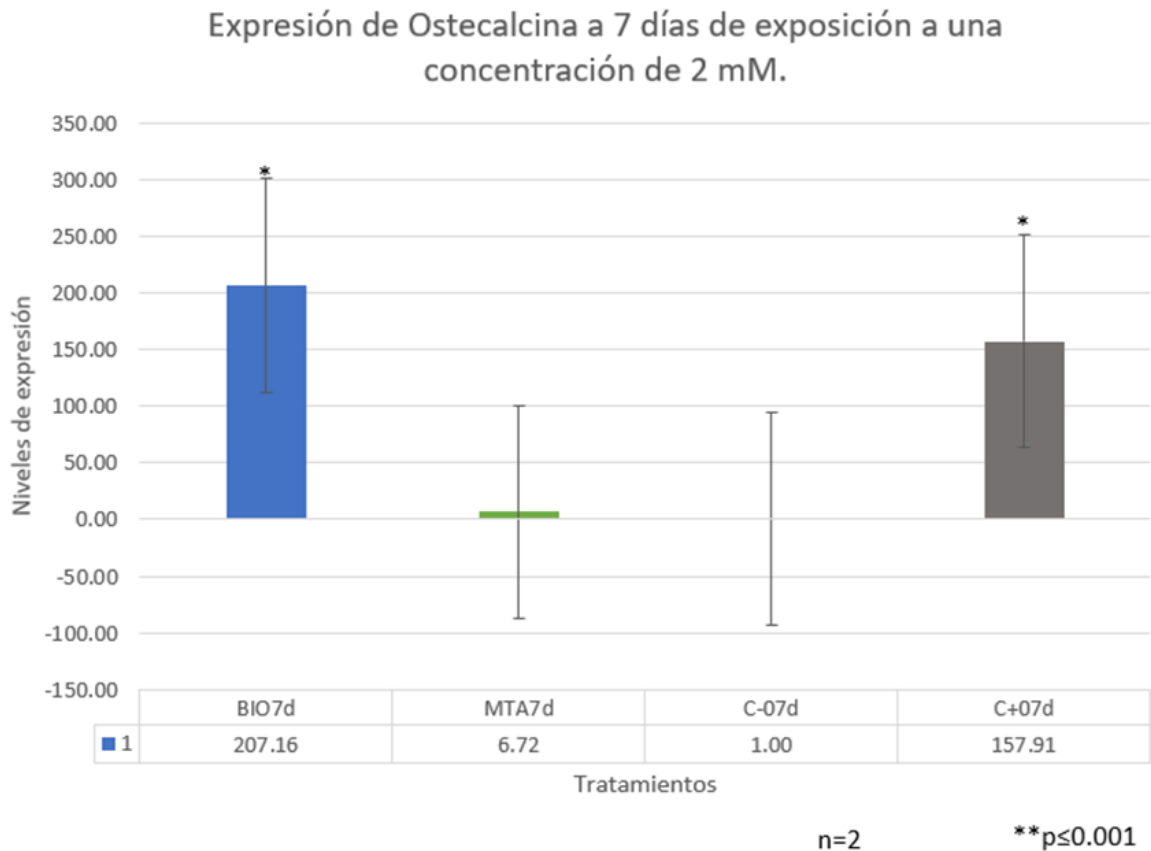
Gráfica 2. Niveles de expresión del gen de Osteocalcina a 7 días de exposición a una concentración de 1 mM de dos Cementos Endodónticos (Biodentine, MTA Angelus).



Los resultados registrados para la concentración de 2mM son similares a la concentración de 1 mM de los cementos. Se demuestra que Biodentine es el cemento que promueve, en mayor grado, los niveles de expresión siendo similar al control positivo (gráfica 3). MTA Angelus, no promovió la exposición del gen registrándose igual al control negativo (gráfica 3).



Gráfica 3. Niveles de expresión del gen de Osteocalcina a 7 días de exposición a una concentración de 1 mM de los dos Cementos Endodónticos (Biodentine, MTA Angelus)



En general, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que Biodentine tiene un mayor potencial para su aplicación clínica como material promotor de la diferenciación odontoblástica, especialmente en concentraciones de 1 mM y 2 mM, posicionándose como una alternativa prometedora en comparación con el MTA Angelus.

## VIII. Discusión

Numerosos factores son los involucrados en la modulación y promoción del proceso de diferenciación de las células troncales mesenquimales. Los materiales que son utilizados en TPV, deberían de promover este proceso con la finalidad de favorecer la regeneración tisular efectiva. Los cementos de silicato tricálcico, entre ellos MTA Angelus y Biodentine, han sido recomendados ampliamente para estos tratamientos, por sus buenas características de bioactividad (Torabinejad 1995), (Rathinam et al. 2015). Dentro de los cementos más utilizados en la actualidad para los tratamientos TPV, están el MTA Angelus y el Biodentine, los cuales han sido comparados en este trabajo por su amplio uso en la práctica clínica.

Se han realizado análisis comparativos entre Biodentine y el hidróxido de calcio en dientes primarios con caries profundas, donde se evidenciaron diferencias significativas en términos de éxito clínico y radiográfico a los 6 y 12 meses de seguimiento. Los resultados sostienen que el Biodentine mostró tasas de éxito clínico del 99.2% a los 6 meses y del 98.8% a los 12 meses, superando completamente al hidróxido de calcio (Laser et al., 2023). En el caso del MTA, se han reportado diversos estudios que resaltan su gran eficacia en tratamientos enfocados a la reparación de perforaciones radiculares, regeneración endodóntica y apexificación. En específico, se ha descrito una capacidad significativa para facilitar la formación de puentes de dentina, disminuir la inflamación pulpar y promover una mejor cicatrización en la región periapical. Sin embargo, y a pesar de sus resultados prometedores, se han reportado desventajas como el prolongado tiempo de fraguado, una solubilidad alta en etapas iniciales, la presencia de decoloración dental y una baja resistencia compresiva en comparación con otros materiales similares. A pesar de lo anterior, sigue siendo en la actualidad un material de elección en cuadros clínicos complejos (Wang et al., 2023).

Considerando que son dos cementos actualmente muy usados en la práctica clínica, es relevante conocer y describir el efecto que ejercen en el proceso de la diferenciación odontoblástica.

Esta diferenciación celular asociada al linaje odontoblástico es considerada como un proceso maestro en la formación de dentina y se considera un componente esencial para fomentar la reparación y/o regeneración tisular. Este mecanismo se encuentra regulado por una amplia y muy compleja red de diversas vías de señalización celular y molecular donde intervienen factores de transcripción, expresión de genes clave y mecanismos epigenéticos que modulan la tasa de éxito en el compromiso, diferenciación y maduración de las DPSC. En el estudio de Pan et al. (2023), se buscó comprender los mecanismos celulares y moleculares asociados a la diferenciación odontoblástica; los cuales no solo desencadenan el compromiso de las células DPSC a un linaje odontoblástico, sino que favorecen la maduración metabólica para que las células resultantes se comporten fisiológicamente como se espera para este tipo de células. Estos estudios son valiosos para profundizar en la etiología y corrección de los defectos dentarios asociados a padecimientos y síndromes genéticos. El conocimiento generado de estos estudios ofrece un antecedente prometedor en diseño, desarrollo y aplicación de biomateriales que sean efectivos en facilitar la regeneración o reparación tisular.

Considerando la relevancia de conocer y describir el proceso de odontogénesis, se han desarrollado formas de evaluar la diferenciación odontogénica, una de ellas es la expresión de marcadores genéticos, como la osteocalcina, la producción de esta proteína está restringida a las células que funcionan con capacidad de mineralización, incluidos osteoblastos y odontoblastos y se considera un símbolo terminal en la regeneración del tejido duro (Zhang 2008).

En el estudio de Alzer et al. (2024) se demostró una expresión significativa del gen de osteocalcina en odontoblastos humanos adultos mediante técnicas de inmunohistoquímica. Este marcador genético es reconocido ampliamente por la capacidad de unión a la hidroxiapatita; así como desempeña un papel importante en la regulación de la mineralización. Estos resultados subrayan el potencial de este gen para ser utilizado como un marcador positivo de diferenciación odontoblástica como se realizó en el presente estudio y donde se demostró una expresión positiva en ambos cementos de interés (MTA, Biodentine).

Con respecto al MTA Angelus, en el presente estudio, aunque se obtuvo la expresión de osteocalcina, esta no fue estadísticamente significativa, comparada con el grupo del control negativo, en ninguna de las 3 concentraciones expuestas (0.5, 1 y 2mM) a los 7 días de exposición.

Una de las posibles causas asociadas y que limitó que no se mostrara un aumento en la expresión, fue el tiempo de exposición tan corto. Huang et al. (2007), estudiaron la secuencia de los perfiles de expresión de factores de crecimiento de células osteoprogenitoras a osteoblastos, estableciendo que de los días 15 al 28, se daba la diferenciación terminal y la maduración de las células, en estos días la osteocalcina fue uno de los marcadores principales que se expusieron.

En paralelo Wei et al. (2007), evaluaron la expresión de marcadores durante la mineralización en a los 7, 14 y 21 días, y la expresión de la osteocalcina fue exponencial alcanzado el nivel máximo a los 21 días, esto indicado el aumento de la expresión del gen con cada incremento de la diferenciación en el linaje de odontoblastos con base a esta información se podría deducir que con el tiempo el gen de osteocalcina de las DPSC se incrementaría y si se tomaran muestras en los días 14 y 21, del experimento se podría esperar que se alcanzará una expresión del gen de osteocalcina mayor. En el presente estudio, se analizaron células que estuvieron expuestas por 7 días. Por lo anterior, era de esperarse que el nivel de expresión fuera bajo o casi nulo. Sin embargo, para el control positivo y el Biodentine, se obtuvo una expresión positiva.

Los resultados obtenidos en la presente investigación no coinciden con el estudio de Xiu (2012), donde las células DPSC, expuestas a MTA, si registraron un aumento significativo en la expresión de osteocalcina con dos diferentes concentraciones, al igual que en este estudio la concentración del cemento no jugó un papel determinante. En otro estudio se reportó la expresión de osteocalcina en células identificadas como preosteoblásticas favoreciendo la diferenciación osteogénica. Este efecto se reflejó de manera independiente de las populares Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMP) y se mencionó que el proceso molecular estuvo a cargo del Factor de Transcripción Atf6, el cual se describe como un gen clave en la vía de señalización ante el estrés del retículo endoplasmático (Maeda et al., 2015). Estos resultados declaran el potencial del MTA en la regeneración ósea inicial.

Con relación a los resultados obtenidos con el cemento Biodentine, en el presente trabajo, se registró un aumento en los niveles de expresión del gen de osteocalcina en las células DPSC expuestas a este material en cualquiera de las tres concentraciones probadas. Aunado a ello, para el caso de las concentraciones de 1mM y 2mM no se mostró diferencia significativa comparado con el control positivo, coincidiendo con los resultados obtenidos por Wongwatanasanti et al. (2018) en donde observaron un aumento en la expresión de este gen en células troncales de la papila apical. Es importante puntualizar que este registro se logró al paso de 14 post exposición. A diferencia de la presente investigación la cual logró identificar la expresión a los 7 días post exposición. Esto refuerza la teoría asociada al potencial odontogénico que se le adjudica al Biodentine.

Por otro lado, Pedano, et al. (2018) al evaluar la expresión de osteocalcina reportaron su expresión hasta el día 10. En el presente estudio, la expresión de osteocalcina en las células DPSC expuestas al material Biodentine a una concentración de 2 mM mantuvo el efecto observado con la concentración de 1 mM. Aunque se registró un aumento en la expresión en comparación con el control positivo, la alta variabilidad entre las muestras generó una desviación

considerable, lo que seguramente facilita el enmascaramiento del efecto real del material sobre la expresión génica. Esta situación debe considerarse para futuros estudios, fomentando un número mayor de muestras para el análisis.

Cuando se evalúan las características de los cementos asociadas a la citotoxicidad, proliferación y adhesión, tanto MTA como Biodentine se describen resultados prometedores que los convierten en materiales efectivos para su aplicación clínica (Widbiller et al. 2016; Cátala et al., 2017). Sin embargo, aún existen áreas de oportunidad para describir el efecto celular y molecular que desencadenan los cementos en especial, respecto a las alteraciones en el proceso de odontogénesis.

En el presente estudio, Biodentine registró un nivel de expresión superior para el gen osteocalcina con respecto al MTA, estos resultados difieren a los obtenidos por Maher et al. (2018), en donde el MTA fue superior al Biodentine, presentando una menor citotoxicidad, proliferación celular y en la expresión de los genes Fostatasa Alcalina, Colageno tipo I y Osteocalcina, pero este resultado puede ser debido a la alta concentración de Biodentine utilizada. Luo et al. (2014) recomendaron el uso de una concentración baja de este material sobre el rango de 0,2 mg/mL.

En el estudio de Maru et al. (2023) se evaluó la citotoxicidad y la expresión génica de Biodentine y MTA en células troncales derivadas de dientes deciduos exfoliados (SHEDs). El tratamiento de exposición fue de 21 días en total. Los resultados demuestran que Biodentine es el cemento con mayor expresión del gen de osteocalcina. Adicional a ello, otros genes asociados a la diferenciación de los odontoblastos como el gen conocido como Factor 2 de Transcripción asociado a Runt (Runx2), Fosfatasa Alcalina (ALP) y Proteína de la Matriz Dentinaria 1 (DMP-1) también aumentaron en el tratamiento con Biodentine. Estos registros contrastan con los obtenidos con el cemento MTA, el cual fue el material con menos capacidad odontogénica.

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que, si bien es cierto que ambos materiales presentan biocompatibilidad y contribuyen a la diferenciación celular, Biodentine es el material que destaca al registrar una mayor capacidad para inducir la expresión genética de marcadores odontoblásticos, en particular de la osteocalcina. La superioridad del Biodentine se atribuye a su composición química y su capacidad de liberar iones de calcio de forma más efectiva. Esto favorece un microambiente óptimo para que se desencadene la diferenciación y maduración celular. A diferencia del MTA Angelus, que aunque también es un material bioactivo y fuertemente utilizado en terapias endodónticas, mostro una expresión inferior del gen marcador de diferenciación (osteocalcina). Estos resultados resaltan la relevancia de considerar las propiedades bioactivas de los cementos; así como describir la diferenciación odontoblástica con la finalidad de crear herramientas útiles para fortalecer el área de la regeneración tisular y sus futuras aplicaciones clínicas.

## **IX. Conclusiones**

En este estudio se puede concluir que las DPSC expuestas a cemento Biodentine obtuvieron mayor expresión del gen osteocalcina que las expuestas al MTA Angelus, con las condiciones descritas en este estudio se puede deducir que el cemento Biodentine podría tener mejores características bioactivas, teniendo una mejor participación en los tratamientos de TPV, obteniendo mejores resultados en la formación de tejido mineralizado.

Las investigaciones relacionadas con la expresión génica en células troncales (obtenidas de diferentes tejidos orales) que son expuestas a diferentes biomateriales es prioritario para comprender el potencial que presentan y su aplicación en terapias de regeneración tisular. Evaluar la capacidad de los cementos usados en el área de la endodoncia, permitiría identificar a los materiales con mejores registros sobre sus propiedades bioactivas y capacidad de inducción la diferenciación hasta la maduración de los odontoblastos.

Además, estos estudios proporcionan una base científica para el desarrollo de nuevos biomateriales con una mayor y mejorar eficiencia en la formación de tejidos mineralizados, mejorando la predictibilidad clínica y la tasa de éxito en procedimientos de conservación pulpar. Al analizar marcadores clave como la osteocalcina, se obtiene información relevante sobre la interacción celular con estos materiales, lo que facilita su selección y aplicación en odontología regenerativa.



## IX. Propuestas

En este estudio se tomó registro de la expresión del gen en el día 7, sería importante evaluarlo nuevamente en diferentes tiempos en los días 14, 21 y 48, para evaluar si el gen aumenta, debido a que la osteocalcina se considera un símbolo terminal en la regeneración del tejido duro. La estimulación de las células con los cementos fue realizada mediante concentraciones de estos, para simular un entorno más parecido al que se presenta cuando se lleva a cabo un tratamiento de TPV, se podría desarrollar un protocolo en el que las células tuvieran un contacto directo con los cementos.

El avance de la investigación en el área odontológica, en especial en los biomateriales más usados y populares, abre nuevas perspectivas en la odontología regenerativa y en la optimización de los tratamientos endodónticos. La integración de estudios basados en la expresión génica permite no solo identificar materiales con mejores propiedades para la diferenciación celular, sino también desarrollar enfoques personalizados en la terapia pulpar, esto favoreciendo la resolución exitosa de cuadros clínicos complejos. Conforme se profundiza la comprensión de los mecanismos celulares y moleculares que están implicados en la regeneración tisular odontológica, será posible diseñar cementos que estimulen, de manera más efectiva, la reparación y regeneración del tejido pulpar. Esto fomentará una mejor respuesta biológica reduciendo la necesidad de otros tratamientos mas invasivos en el futuro.

Además, estos estudios representan un paso clave hacia la incorporación de estrategias de medicina regenerativa en la odontología clínica. Con el desarrollo de materiales bioactivos que interactúan de manera más eficiente con las células madre dentales, se pueden mejorar significativamente los resultados clínicos a largo plazo. La combinación de la investigación en biomateriales con herramientas avanzadas de biotecnología, nanotecnología y biomedicina se permitirá la creación de productos con propiedades mejoradas, como una mayor liberación controlada de iones, mejor integración con los tejidos y con una menor inflamación desencadenada. En este contexto, la odontología del futuro se perfila hacia el uso

de materiales inteligentes y terapias regenerativas que no solo restauren la función dental, sino que también promuevan la regeneración de los tejidos dañados de manera más eficiente y biológicamente compatible.

## X. Bibliografía

- "Glossary of Endodontic Terms - American Association of Endodontists." n.d. Accessed May 3, 2020.
- Aguilar, Panuroot, and Pairoj Linsuwanont. 2011. "Vital Pulp Therapy in Vital Permanent Teeth with Cariously Exposed Pulp: A Systematic Review." *Journal of Endodontics* 37 (5): 581–87.
- Alzer, H., & Alsoleihat, F. (2024). Odontoblasts or odontocytes, expression of stem cells markers and differentiation markers among human adult odontoblasts. *The Saudi Dental Journal*, 36(2024), 894–898. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2024.03.011>
- Balto, Hanan A. 2004. "Attachment and Morphological Behavior of Human Periodontal Ligament Fibroblasts to Mineral Trioxide Aggregate: A Scanning Electron Microscope Study." *Journal of Endodontics* 30 (1): 25–29.
- Belobrov, Ilya, and Peter Parashos. 2011. "Treatment of Tooth Discoloration after the Use of White Mineral Trioxide Aggregate." *Journal of Endodontics* 37 (7): 1017–20.
- Bianco, Paolo, Mara Riminucci, Stan Gronthos, and Pamela Gehron Robey. 2001. "Bone Marrow Stromal Stem Cells: Nature, Biology, and Potential Applications." *Stem Cells* 19 (3): 180–92.
- Camilleri, J. 2008. "Characterization of Hydration Products of Mineral Trioxide Aggregate." *International Endodontic Journal* 41 (5): 408–17.
- Camilleri, Josette, Franco E. Montesin, Ken Brady, Richard Sweeney, Richard V. Curtis, and Thomas R. Pitt Ford. 2005. "The Constitution of Mineral Trioxide Aggregate." *Dental Materials* 21 (4): 297–303.
- Chen, C. C., M. Y. Shie, and S. J. Ding. 2011a. "Human Dental Pulp Cell Responses to New Calcium Silicate-Based Endodontic Materials." *International Endodontic Journal* 44 (9): 836–42.
- Chen, C. C., M. Y. Shie, and S. J. Ding. 2011b. "Human Dental Pulp Cell Responses to New Calcium
- Chen, C. C., M. Y. Shie, and S. J. Ding. 2011. 'Human Dental Pulp Cell Responses to New Calcium Silicate-Based.
- Chen, S., Xie, H., Zhao, S., Wang, S., Wei, X., and Liu, S. 2022. "The Genes Involved in Dentinogenesis." *Organogenesis*. 18 (1): 1–19.
- Ching, H. S., Luddin, N., Rahman, I. A., & Ponnuraj, K. T. (2017). Expression of Odontogenic and Osteogenic Markers in DPSCs and SHED: A Review. *Current stem cell research & therapy*, 12(1), 71–79. <https://doi.org/10.2174/1574888x11666160815095733>
- Couple, M. L., J. C. Farges, F. Bleicher, B. Perrat-Mabillon, M. Boudeulle, and H. Magloire. 2000. "Odontoblast Differentiation of Human Dental Pulp Cells in Explant Cultures." *Calcified Tissue International* 66 (2): 129–38.
- Darvell, B. W., and R. C.T. Wu. 2011. "MTA - An Hydraulic Silicate Cement: Review Update and Setting Reaction." *Dental Materials*. Elsevier.
- Endodontic Materials.' *International Endodontic Journal* 44 (9): 836–42. <https://doi.org/10.1111/J.1878-3642.01111.1> *International Endodontic Journal* 44 (9): 836–42.
- Ficha técnica de Septodont. May 3, 2020. <https://www.septodontusa.com/sites/default/files/Biodentine IFU.pdf>.
- Fuchs, Elaine, and Julia A. Segre. 2000. "Stem Cells: A New Lease on Life." *Cell*.

Cell Press.

- Garnero, Patrick, and Pierre D. Delmas. 1993. "Assessment of the Serum Levels of Bone Alkaline Phosphatase with a New Immunoradiometric Assay in Patients with Metabolic Bone Disease." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 77 (4): 1046–53.
- Gronthos, S., J. Brahimi, W. Li, L. W. Fisher, N. Cherman, A. Boyde, P. DenBesten, P. Gehron Robey, and S. Shi. 2002. "Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells." *Journal of Dental Research* 81 (8): 531–35.
- Gronthos, S., M. Mankani, J. Brahimi, P. G. Robey, and S. Shi. 2000a. "Postnatal Human Dental Pulp Stem Cells (DPSCs) in Vitro and In Vivo." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (25): 13625–30.
- Gronthos, S., M. Mankani, J. Brahimi, P. Gehron Robey, and S. Shi. 2000b. "Postnatal Human Dental Pulp Stem Cells (DPSCs) in Vitro and in Vivo." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (25): 13625–30.
- Harada, Hidemitsu, Päivi Kettunen, Han Sung Jung, Tuija Mustonen, Y. Alan Wang, and Irma Thesleff. 1999. "Localization of Putative Stem Cells in Dental Epithelium and Their Association with Notch and FGF Signaling." *Journal of Cell Biology* 147 (1): 105–20.
- Horst, Orapin V., Miquella G. Chavez, Andrew H. Jheon, Tejal Desai, and Ophir D. Klein. 2012. "Stem Cell and Biomaterials Research in Dental Tissue Engineering and Regeneration." *Dental Clinics of North America* 56 (3): 495–520.
- Horwitz, Edwin M., K. Le Blanc, M. Dominici, I. Mueller, I. Slaper-Cortenbach, F. C. Marini, R. J. Deans, D. S. Krause, and A. Keating. 2005. "Clarification of the Nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy Position Statement." *Cytotherapy* 7 (5): 393–95.
- Huang, Z., Nelson, E. R., Smith, R. L., and Goodman, S. B. 2007. "The sequential expression profiles of growth factors from osteoprogenitors to osteoblasts in vitro." *Tissue engineering*, 13 (9): 2311–2320.
- Hwang, Yun Chan, Song Hee Lee, In Nam Hwang, In Chol Kang, Min Seok Kim, Sun Hun Kim, Ho Hyun Son, and Won Mann Oh. 2009. "Chemical Composition, Radiopacity, and Biocompatibility of Portland Cement with Bismuth Oxide." *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 107
- Jung, J.-Y., S.-M. Woo, B.-N. Lee, J.-T. Koh, J. E. Nör, and Y.-C. Hwang. 2015. "Effect of Biodentine and Bioaggregate on Odontoblastic Differentiation via Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway in Human Dental Pulp Cells." *International Endodontic Journal* 48 (2): 177–84.
- Karsenty G. (2023). Osteocalcin: A Multifaceted Bone-Derived Hormone. *Annual review of nutrition*, 43, 55–71. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-061121-091348>
- Karsenty G. 2023. Osteocalcin: A Multifaceted Bone-Derived Hormone. *Annual review of nutrition*, 43: 55–71
- Kaur, Mandeep, Harpreet Singh, Jaidev Singh Dhillon, Munish Batra, and Meenu Saini. 2017. "MTA versus Biodentine: Review of Literature with a Comparative Analysis." *Journal Of Clinical and Diagnostic Research* 11 (8): ZG01.

- Kundzina, R., L. Stangvaltaite, H. M. Eriksen, and E. Kerosuo. 2017. "Capping Carious Exposures in Adults: A Randomized Controlled Trial Investigating Mineral Trioxide Aggregate versus Calcium Hydroxide." *International Endodontic Journal* 50 (10): 924–32.
- Lai, Wei Yun, Yi Wen Chen, Chia Tze Kao, Tuan Ti Hsu, Tsui Hsien Huang, and Ming You Shie. 2015. "Human Dental Pulp Cells Responses to Apatite Precipitation from Dicalcium Silicates." *Materials* 8 (7): 4491–4504.
- Laser, M. N., Alsadi, T. H., Rodriguez, F. M., & Rodriguez, S. M. (2024). Pulpotomy in primary teeth: Biodentine™ versus calcium hydroxide. A systematic review and meta-analysis. *The Saudi Dental Journal*, 36(2024), 1261–1267. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2024.08.007>
- Laurent, P., J. Camps, and I. About. 2012. "Biodentine TM Induces TGF-B1 Release from Human Pulp Cells and Early Dental Pulp Mineralization." *International Endodontic Journal* 45 (5): 439–48.
- Lee, Seung Jong, Mehdi Monsef, and Mahmoud Torabinejad. 1993. "Sealing Ability of a Mineral Trioxide Aggregate for Repair of Lateral Root Perforations." *Journal of Endodontics* 19 (11): 541–44.
- Luo, Z., Li, D., Kohli, M. R., Yu, Q., Kim, S., and He, W. X. 2014. "Effect of Biodentine™ on the proliferation, migration and adhesion of human dental pulp stem cells." *Journal of dentistry*. 42 (4) 490–497.
- Luo, Zhirong, Meetu R. Kohli, Qing Yu, Syngcuk Kim, Tiejun Qu, and Wen Xi He. 2014. "Biodentine Induces Human Dental Pulp Stem Cell Differentiation through Mitogen-Activated Protein Kinase and Calcium-/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II Pathways." *Journal of Endodontics* 40 (7): 937–42.
- Maeda, T., Suzuki, A., Yuzawa, S., Baba, Y., Kimura, Y., & Kato, Y. (2015). Mineral trioxide aggregate induces osteoblastogenesis via Atf6. *Bone Reports*, 2, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2015.03.003>
- Maher, A., Núñez-Toldrà, R., Carrio, N., Ferres-Padro, E., Ali, H., Montori, S., and Al Madhoun, A. 2018. "The Effect of Commercially Available Endodontic Cements and Biomaterials on Osteogenic Differentiation of Dental Pulp Pluripotent-Like Stem Cells." *Dentistry journal*. 6 (4) 48.
- Malkondu, Özlem, Meriç Karapinar Kazandağ, and Ender Kazazoğlu. 2014. "A Review on Biodentine, a Contemporary Dentine Replacement and Repair Material." Edited by Xiupeng Wang. *BioMed Research International* 2014: 160951.
- Maru, V., Madkaikar, M., Gada, A., Pakhmode, V., Padawe, D., & Bapat, S. (2023). Response of stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth to Bio-C Repair and Mineral Trioxide Aggregate Repair HP: Cytotoxicity and gene expression assessment. *Dental research journal*, 20, 55.
- Mayani, H. 2003. A glance into somatic stem cell biology: basic principles, new concepts, and clinical relevance. *Archives of Medical Research*, 34 (1): 3-15.
- Mente, Johannes, Sarah Hufnagel, Meltem Leo, Annemarie Michel, Holger Gehrig, Dimos Panagidis, Daniel Saure, and Thorsten Pfefferle. 2014. "Treatment Outcome of Mineral Trioxide Aggregate or Calcium Hydroxide Direct Pulp Capping: Long-Term Results." *Journal of Endodontics* 40 (11): 1746–51.
- Min, Kyung San, Seong Hak Yang, and Eun Cheol Kim. 2009. "The Combined

- Effect of Mineral Trioxide Aggregate and Enamel Matrix Derivative on Odontoblastic Differentiation in Human Dental Pulp Cells." *Journal of Endodontics* 35 (6): 847–51.
- Miura, Masako, Stan Gronthos, Mingrui Zhao, Bai Lu, Larry W. Fisher, Pamela Gehron Robey, and Songtao Shi. 2003. "SHED: Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (10): 5807–12.
- Mousa Ghannam, Matthew Varacallo. 2023. "Biochemistry, Polymerase Chain Reaction". StatPearls.
- Pan, H., Yang, Y., Xu, H., Jin, A., Huang, X., Gao, X., Sun, S., Liu, Y., Liu, J., Lu, T., Wang, X., Zhu, Y., & Jiang, L. (2023). The odontoblastic differentiation of dental mesenchymal stem cells: Molecular regulation mechanism and related genetic syndromes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1174579. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1174579>
- Papagerakis, P., Berdal, A., Mesbah, M., Peuchmaur, M., Malaval, L., Nydegger, J., Simmer, J., and Macdougall, M. 2002. "Investigation of osteocalcin, osteonectin, and dentin sialophosphoprotein in developing human teeth." *Bone* 30(2): 377–385.
- Paranjpe, Avina, Hai Zhang, and James D. Johnson. 2010. "Effects of Mineral Trioxide Aggregate on Human Dental Pulp Cells after Pulp-Capping Procedures." *Journal of Endodontics* 36 (6): 1042–47.
- Paranjpe, Avina, Tyler Smoot, Hai Zhang, and James D. Johnson. 2011. "Direct Contact with Mineral Trioxide Aggregate Activates and Differentiates Human Dental Pulp Cells." *Journal of Endodontics* 37 (12): 1691–95.
- Parirokh M , Torabinejad M , Dummer PMH. 2018. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview - part II: other clinical applications and complications. *Int Endod* 51 : 177 – 205 .
- Pedano, M. S., Li, X., Li, S., Sun, Z., Cokic, S. M., Putzeys, E., Yoshihara, K., Yoshida, Y., Chen, Z., Van Landuyt, K., and Van Meerbeek, B. 2018. "Freshly-mixed and setting calcium-silicate cements stimulate human dental pulp cells." *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials*. 34 (5) 797–808.
- Peng, Weiwei, Weining Liu, Wanyin Zhai, Long Jiang, Lifen Li, Jiang Chang, and Yaqin Zhu. 2011. "Effect of Tricalcium Silicate on the Proliferation and Odontogenic Differentiation of Human Dental Pulp Cells." *Journal of Endodontics* 37 (9): 1240–46.
- Primus, Carolyn M., Franklin R. Tay, and Li na Niu. 2019. "Bioactive Tri/Dicalcium Silicate Cements for Treatment of Pulpal and Periapical Tissues." *Acta Biomaterialia*. Acta Materialia Inc.
- Ramalho-Santos, Miguel, and Holger Willenbring. 2007. "On the Origin of the Term 'Stem Cell.'" *Cell Stem Cell*. Elsevier Inc.
- Rathinam, Elanagai, Sivaprakash Rajasekharan, Ravi Teja Chitturi, Luc Martens, and Peter De Coster. 2015. "Gene Expression Profiling and Molecular Signaling of Dental Pulp Cells in Response to Tricalcium Silicate Cements: A Systematic Review." *Journal of Endodontics* 41 (11): 1805–17.
- Santos, A. D., J. C.S. Moraes, E. B. Araújo, K. Yukimitu, and W. V. Valério Filho. 2005. "Physico-Chemical Properties of MTA and a Novel Experimental



- Cement." *International Endodontic Journal* 38 (7): 443–47.
- Sodek, J., B. Ganss, and M. D. McKee. 2000. "Osteopontin." *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 11 (3): 279–303.
- Sonoyama, Wataru, Yi Liu, Dianji Fang, Takayoshi Yamaza, Byoung Moo Seo, Chunmei Zhang, He Liu, et al. 2006. "Mesenchymal Stem Cell-Mediated Functional Tooth Regeneration in Swine." *PLoS ONE* 1 (1): 1–8.
- Tani-Ishii, Nobuyuki, Nobushiro Hamada, Kiyoko Watanabe, Yasuhisa Tujimoto, Toshio Teranaka, and Toshio Umemoto. 2007. "Expression of Bone Extracellular Matrix Proteins on Osteoblast Cells in the Presence of Mineral Trioxide." *Journal of Endodontics* 33 (7): 836–39.
- Tomás-Catalá, C. J., Collado-González, M., García-Bernal, D., Oñate-Sánchez, R. E., Forner, L., Llena, C., Lozano, A., Moraleda, J. M. and Rodríguez-Lozano, F. J. 2018. "Biocompatibility of New Pulp-capping Materials NeoMTA Plus, MTA Repair HP, and Biodentine on Human Dental Pulp Stem Cells." *Journal of endodontics*, 44 (1) 126–132.
- Thomson, Troy S., Janice E. Berry, Martha J. Somerman, and Keith L. Kirkwood. 2003. "Cementoblasts Maintain Expression of Osteocalcin in the Presence of Mineral Trioxide Aggregate." *Journal of Endodontics* 29 (6): 407–12.
- Tomson, Phillip L., Philip J. Lumley, M. Yvonne Alexander, Anthony J. Smith, and Paul R. Cooper. 2013. "Hepatocyte Growth Factor Is Sequestered in Dentine Matrix and Promotes Regeneration-Associated Events in Dental Pulp Cells." *Cytokine* 61 (2): 622–29.
- Torabinejad, M., C. U. Hong, T. R. Pitt Ford, and J. D. Kettering. 1995. "Cytotoxicity of Four Root End Filling Materials." *Journal of Endodontics* 21 (10): 489–92.
- Torabinejad, M., M. Parirokh, and P. M.H. Dummer. 2018. "Mineral Trioxide Aggregate and Other Bioactive Endodontic Cements: An Updated Overview – Part II: Other Clinical Applications and Complications." *International Endodontic Journal*. Blackwell Publishing Ltd.
- Torabinejad, Mahmoud, C. U. Hong, F. McDonald, and T. R. Pitt Ford. 1995. "Physical and Chemical Properties of a New Root-End Filling Material." *Journal of Endodontics* 21 (7): 349–53.
- Tsukamoto, Y., S. Fukutani, T. Shin-ike, T. Kubota, S. Sato, Y. Suzuki, and M. Mori. 1992. "Mineralized Nodule Formation by Cultures of Human Dental Pulp-Derived Fibroblasts." *Archives of Oral Biology*, 37 (12): 1045–55.
- Tsutsui T. W. 2020. "Dental Pulp Stem Cells: Advances to Applications". *Stem cells and cloning : advances and applications*, 13, 33–42.
- Wang, X., Xiao, Y., Song, W., Ye, L., Yang, C., Xing, Y., & Yuan, Z. (2023). Clinical application of calcium silicate-based bioceramics in endodontics. *Journal of Translational Medicine*, 21(853). <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04550-4>
- Wei, X., Ling, J., Wu, L., Liu, L., and Xiao, Y. 2007. "Expression of mineralization markers in dental pulp cells." *Journal of endodontics*. 33 (6): 703–708.
- Widbiller, M., Lindner, S. R., Buchalla, W., Eidt, A., Hiller, K. A., Schmalz, G., and Galler, K. M. 2016. "Three-dimensional culture of dental pulp stem cells in direct contact to tricalcium silicate cements." *Clinical oral investigations*, 20 (2) 237–246.
- Wongwatanasanti, Ninnita, Jeeraphat Jantararat, Hathaitip Sritanaudomchai, and

- Kenneth M Hargreaves. 2018. "Effect of Bioceramic Materials on Proliferation and Odontoblast Differentiation of Human Stem Cells from the Apical Papilla."
- Xiu Zhao, Wenxi He, Zhi Song, Zhongchun Tong, Shiting Li and Longxing Ni. 2012. "Mineral trioxide aggregate promotes odontoblastic differentiation via mitogen-activated protein kinase pathway in human dental pulp stem cells." *Molecular biology reports* 39 (1) 215–220.
- Yousefi-Koma, A. A., Assadian, H., Mohaghegh, S., and Nokhbatolfoghahaei, H. 2023. Comparative Biocompatibility and Odonto-/Osteogenesis Effects of Hydraulic Calcium Silicate-Based Cements in Simulated Direct and Indirect Approaches for Regenerative Endodontic Treatments: A Systematic Review. *Journal of functional biomaterials*, 14 (9) 446.
- Zhai, Qiming, Zhiwei Dong, Wei Wang, Bei Li, and Yan Jin. 2019. "Dental Stem Cell and Dental Tissue Regeneration." *Frontiers of Medicine* 13 (2): 152–59.
- Zhang, Y., Huang, J., Yan, L., Jia, R., & Guo, J. (2023). HnRNP A1 Suppresses the Odontogenic Differentiation and the Inclusion of RUNX2 Exon 5 of Dental Mesenchymal Cells. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 28(7), 139. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2807139>



## **XI. Anexos**

### **XI.3 Carta de consentimiento informado. (cuando proceda)**



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Laboratorio de Genética de Biología Molecular  
Especialidad en Endodoncia

#### **CARTA DE CONSENTIMIENTO**

**Título del Proyecto de Investigación: “EXPRESIÓN DEL GEN OSTEOCALCINA EN CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES DE LA PULPA DENTAL, CON LA ESTIMULACIÓN CON CEMENTO BIODENTINE Y MTA”**

#### **RESUMEN DEL PROYECTO**

Al realizar pulpotomías, se busca mantener la vitalidad pulpar, se han utilizado materiales bioactivos, como biodentine y MTA, aunque ambos han obtenido buenos resultados no hay suficiente información para elegir entre uno u otro, uno de los aspectos importantes a comparar es saber con cuál material se promueve mayor diferenciación de células parecidas a odontoblastos, que podrían tener participación formando tejido de reparación en los órganos dentarios a los que se les apliquen estos materiales, dando mejores pronósticos, prolongando el tiempo que estos duran en la cavidad bucal, dando al paciente una mejor calidad de vida.

El presente proyecto tiene como objetivo determinar con que se obtiene mayor nivel de expresión del gen osteocalcina como marcador de la odontogénesis en células troncales mesenquimales de la pulpa dental, con la estimulación con cemento Biodentine o con MTA.

#### **Estimado ciudadano/ciudadana:**

Usted ha sido seleccionado para ser invitado a participar en un proyecto de investigación, le pedimos de la manera más atenta que preste atención a la siguiente información. En caso de tener alguna duda o comentario, le pedimos acuda con la persona que le entregó este documento o si gusta contactar a la persona que aparece al final del escrito. Con mucho gusto estarán para responderle y orientarle.

Siguiendo los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana (NOM-012-SSA3-2012) ponemos a su disposición la información pertinente sobre el proyecto de investigación planeado para que si decide participar, nos brinde su consentimiento informado. Para tener referencia de lo anterior, y si participará en el estudio, se le solicitará su firma y firma/nombre de dos testigos y su dirección. En este caso se deberá obtener la firma original en dos ejemplares del consentimiento para que uno sea resguardado por usted y otro sea para el proyecto.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Laboratorio de Genética de Biología Molecular  
Especialidad en Endodoncia

**Procedimientos:**

Si Usted acepta participar en el estudio, ocurrirá lo siguiente:

1. Le realizaremos algunas preguntas en relación con su estado de salud como por ejemplo ¿Ha consumido antibióticos en el último semestre?
2. Con el fin de conocer a mayor detalle su estado de salud, tendremos acceso a su Historial Clínico.
3. Para realizar el proyecto, es necesaria la donación voluntaria de su/sus órganos dentarios para la obtención de la pulpa dental y su posterior análisis. El proceso de extracción dentaria será indicado exclusivamente por su especialista odontológico y será solo motivado para darle seguimiento a su tratamiento oral. Por ninguna razón, será extraído ningún órgano dentario exclusivamente con fines del presente proyecto. Las muestras serán etiquetadas, almacenadas y procesadas solo por el personal autorizado por el proyecto.
4. En caso de que requiramos alguna información adicional, nos pondremos en contacto con usted.

**Beneficios:**

La presente investigación no ofrece algún beneficio directo por su participación, tanto a usted como a ninguna otra persona relacionada con usted. Entiéndase lo anterior de que no existirá alguna retribución económica ni de ningún otro tipo, sin embargo, si usted acepta participar, de antemano se agradece su colaboración y le comentamos que estará apoyando a una investigación que busca generar un impacto positivo para ayudar a futuros pacientes con tratamientos que acorten tiempos y con más probabilidades de una resolución completa y exitosa.

**Confidencialidad:**

Toda la información que usted nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted quedará identificado con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos y se presentarán de tal manera que se proteja su identidad.

**Riesgos Potenciales/Compensación:**

La presente investigación no generará riesgo para su salud adicionales al tratamiento convencional al que será sometido por su odontólogo tratante. Por tal motivo, no se considera la compensación bajo ningún esquema ni razón contemplada en el presente ni futuro. El proyecto solo se limitará a contar con el acceso a dicha muestra, no siendo el causante de la toma de muestra en primer lugar.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Laboratorio de Genética de Biología Molecular  
Especialidad en Endodoncia

En cuanto a las entrevistas y monitoreos clínicos que se realizarán, si en algún momento existe incomodidad o inconformidad de su parte, usted tiene el derecho de no responder y le garantizamos que no será forzado a hacerlo.

#### **Participación Voluntaria/Retiro:**

La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en cómo le tratan en su tratamiento oral.

#### **Renovación de su participación:**

En caso de modificar sustancialmente el proyecto por alguna situación no contemplada, será notificado al número de contacto que nos proporcionó para explicarles dichos cambios e invitarlo a continuar en el proyecto. Su participación es voluntaria y si no desea continuar, no existirá ningún conflicto o represalia.

#### **Notas aclaratorias:**

- Tendrá derecho al acceso a las cartas de registro ante el Comité de Investigación y Posgrado y el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina- UAQ.
- Las Instituciones participantes, tendrán derecho al protocolo, avances del proyecto e informe final. Lo anterior, con la finalidad de verificar el procedimiento, sin violar su confidencialidad y conservando su privacidad.

#### **Números a Contactar:**

Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con el/la investigador/a) responsable del proyecto: L.O. Mariana Licea Martínez al siguiente número de teléfono: 446 128 0947 en un horario de 8 a 14hrs de lunes a viernes.

Si usted acepta participar en el estudio, le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar; así como se le obsequiará un diploma en físico (sin ningún valor comercial) como reconocimiento de su participación en la investigación.

¿Desea realizar algún comentario por escrito? SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Laboratorio de Genética de Biología Molecular  
Especialidad en Endodoncia

### Carta de consentimiento informado

Por medio de este conducto manifiesto que conozco el procedimiento de investigación llamada: **“EXPRESIÓN DEL GEN OSTEOPONETINA EN CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES DE LA PULPA DENTAL, CON LA ESTIMULACIÓN CON CEMENTO BIODENTINE Y MTA”**, que me informaron sobre la naturaleza del mismo, que me fue explicado completamente en qué consiste el estudio, que he sido informado(a) de los beneficios y potenciales riesgos, que recibí el documento titulado **“CARTA DE CONSENTIMIENTO”** el cual está compuesto por 4 páginas; así como fueron resueltas mis dudas de manera satisfactoria.

Mi nombre es \_\_\_\_\_  
tengo \_\_\_\_\_ años y es de mi interés participar en el mencionado estudio; y exonero de toda responsabilidad jurídica al personal del Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

Autorizo que se utilicen los datos obtenidos con fines académicos y científicos.

_____ Paciente interesado	_____ Fecha de firma
_____ Testigo 2, parentesco	_____ Fecha de firma
_____ Responsable del Proyecto	_____ Fecha de firma
_____ Médico Tratante	_____ Fecha de firma