

VIII Seminario Internacional de Investigación en Odontología 2018 Maestría en Odontología · Facultad de Odontología · Universidad Nacional de Colombia

VIII International Dental
Research Seminar 2018

PRESENTACIÓN

El Seminario Internacional de Investigación es un encuentro de investigación organizado por la Maestría en Odontología con una frecuencia de cada dos años, que tiene como objetivo promover el encuentro de intereses y perspectivas de estudiantes de pregrado y posgrado, docentes e investigadores nacionales e internacionales, enfatizando en la importancia de la innovación y el desarrollo. Tiene con fin de: 1. Difundir y conocer los últimos avances de investigación 2. Presentar avances metodológicos tecnológicos y clínicos, 2. Enseñar, intercambiar y consolidar conocimientos, 3. Promover la investigación y crear redes de cooperación internacional para realizar colaboraciones inter y transdisciplinarias en odontología en conjunto con la Universidad Nacional de Colombia, 4. Fomentar la producción de conocimiento propio y 5. Difundir el programa de Maestría en Odontología.

Este año 2018, en su versión octava, nuestro tema central fue Biología regenerativa e Ingeniería de tejidos y medicina translacional, de gran importancia y actualidad, donde nuestros invitados internacionales de España, Argentina y Brasil y los nacionales de la Universidad de Antioquia, Universidad Antonio Nariño y la Universidad Nacional de Colombia, docentes y estudiantes del programa, presentaron las tendencias actuales y actualizaron en el uso de diferentes técnicas y métodos de regeneración tisular guiada aplicados a la odontología, sistemas de señalización celular, andamios (biomateriales, nanomateriales), células madre, creación de redes vasculares y nanotecnología.

El seminario fue organizado por la coordinadora del programa de Maestría en Odontología, Dra. Carolina Torres Rodríguez, quien en colaboración con la Dra. Talía Yolanda Marroquin, se seleccionaron los ponentes para el conversatorio y las conferencias magistrales y mediante convocatoria pública, se realizó la selección, corrección y compilación de los resúmenes de los pósters en memorias que presentamos a continuación.

1 Cell Culture Laboratory, School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

2 Grupo de investigación Bone Research Lab

Resumen

El hueso es un tejido conectivo especializado con gran capacidad de reparación, regeneración y remodelación. Aunque la regeneración ósea es altamente eficiente, los defectos óseos grandes resultado de algunas enfermedades y traumas requieren una mejora del proceso de reparo para asegurar el restablecimiento de las funciones fisiológicas. Para tratar estos defectos se han propuesto enfoques novedosos, como la ingeniería de tejidos y la terapia celular como alternativas para superar las limitaciones de injertos óseos alogénicos y autólogos en términos de fuente y potencial de regeneración. La ingeniería tisular se ha definido como “un campo interdisciplinario que aplica los principios de la ingeniería y las ciencias de la vida para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauran, mantienen o mejoran las funciones tisulares” y la terapia celular como “la administración de células enteras vivas al paciente para el tratamiento de una enfermedad”. Nuestro grupo de investigación ha utilizado los enfoques de ingeniería de tejidos y terapia celular para evaluar las respuestas de los tejidos a estos tratamientos, con el objetivo de encontrar una nueva terapia para regenerar por completo el tejido óseo en situaciones clínicas desafiantes. Se demostró que las células madre mesenquimales indiferenciadas de la médula (MSC), osteoblastos en etapa temprana de diferenciación, combinadas con un compuesto 3D de un polímero y fosfato de calcio favorecen el reparo óseo en comparación con el scaffold control, y que uno asociado con osteoblastos más maduros cuando se implanta en defectos de calvarias de ratas. La asociación de MSC de la médula ósea y osteoblastos indujo una formación ósea similar en comparación con las MSC de la médula ósea o de los osteoblastos solos después de colocarlos en una esponja e implantarlas en defectos de la bóveda craneal de ratas. Los osteoblastos diferenciados de MSC de médula ósea combinados con una membrana compuesta polimérica/cerámica aumentaron la formación ósea, mientras que los osteoblastos diferenciados de MSC de tejido adiposo no mejoraron la reparación ósea inducida por la membrana en el mismo modelo de defectos óseos. La combinación de osteoblastos diferenciados de MSCs de médula ósea con esta membrana mostró resultados similares en un modelo animal osteoporótico. A pesar de que el uso de células ha mostrado buenos resultados en términos de formación de hueso en comparación con los biomateriales sin células, en ninguno de esos estudios se observó la regeneración completa del defecto. Con el fin de abolir los comportamientos biológicos impredecibles de los biomateriales, ahora nos centramos en la terapia celular, que implica el uso de células sin scaffolds, para regenerar el tejido óseo. Nuestros resultados han demostrado que las MSCs derivadas tanto de la médula ósea como del tejido adiposo, los osteoblastos diferenciados de ellas y los osteoblastos derivados de la calvaria de rata recién nacida estimulan la formación ósea, pero aún no la regeneración, cuando se inyectan localmente en defectos de la calvaria de rata. A pesar de que la regeneración permanece incompleta, en general, la reparación ósea inducida por

la terapia celular es más efectiva cuando se compara con las células combinadas con los scaffolds. Por lo tanto, esta terapia basada en células emerge como una alternativa innovadora y prometedora para tratar defectos óseos, abriendo ventanas para investigaciones preclínicas adicionales en animales grandes y diferentes modelos de defectos óseos.

Apoyo financiero: FAPESP y CNPq.

Palabras clave: célula madre mesenquimal; hueso; terapia celular; ingeniería de tejidos; osteoblast; regeneración ósea

Potencial osteogénico del titanio con nanotopografía *Osteogenic potential of titanium with nanotopography*

Marcio Mateus Beloti ¹

Paulo Tambasco de Oliveira ²

Adalberto Luiz Rosa ³

Cell Culture Laboratory, School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil. Grupo de investigación Bone Research Lab

Resumen

El titanio (Ti) con superficies nanoestructuradas puede producirse mediante diferentes tratamientos que pueden generar distintos patrones de topografía. Se sabe que las características de la superficie pueden regular las respuestas de los osteoblastos a lo largo de su proceso de diferenciación, desde los primeros eventos como la unión celular, hasta el evento final que es la mineralización de la matriz extracelular. Una oxidación química controlada de las superficies de Ti utilizando una mezcla de H₂SO₄/H₂O₂ crea una nanotopografía bien caracterizada en términos de estructura física y química de la superficie. Esta nanotopografía exhibe nanocavidad, que resultan en un aumento de tres veces en la rugosidad de la superficie, un aumento en el espesor de la capa de TiO₂, y bajas tasas de contaminantes cuando se compara con una superficie de Ti no tratada. Nuestro grupo de investigación ha utilizado modelos *in vitro* e *in vivo* para investigar las respuestas óseas a esta nanotopografía con el objetivo de identificar los mecanismos implicados en su potencial osteogénico. Se demostró que el Ti con nanotopografía mejora la diferenciación osteoblástica de las células cultivadas tanto en condiciones osteogénicas como en condiciones no osteogénicas. Además, se observó que esta nanotopografía tiene una respuesta ósea similar en términos de parámetros morfológicos y morfométricos en comparación con una superficie de Ti comercialmente disponible cuando se implanta en tibias de conejos. Basados en la relevancia de estos hallazgos, ahora estamos investigando los mecanismos intracelulares implicados en el potencial osteogénico de esta superficie. Nuestros resultados han demostrado que el Ti con nanotopografía induce la diferenciación osteoblástica por lo menos en tres vías principales que implican integrinas, proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) y WNTs. La nanotopografía aumentó la expresión de las integrinas $\alpha 1$, $\beta 1$ y $\beta 3$, y la inhibición de sus vías de señalización redujo considerablemente la diferenciación osteoblástica de las células cultivadas en esta superficie. El Ti con nanotopografía también reguló la vía de señalización de BMP mediante una combinación de producción endógena creciente de BMP-2 y la regulación negativa de la expresión de microRNA-4448, -4708 y -4773, que inhiben SMAD1 y SMAD4, ambos transductores de la señal osteogénica de la BMP-2. Vale la pena señalar que las células cultivadas

sobre Ti con nanotopografía tuvieron una mejor respuesta a la BMP-2 y BMP-9 en comparación con las células cultivadas en superficie de Ti sin tratar. La inhibición de la vía de señalización WNT canónica silenciando el Frizzled 4, que es un receptor transmembrana WNT, también redujo la diferenciación osteoblástica inducida por Ti con nanotopografía. Curiosamente, el silenciamiento de integrina $\beta 3$ redujo la expresión de varios componentes de las rutas de señalización de BMP y WNT en células cultivadas sobre esta superficie. En conjunto, estos hallazgos indican que un complejo mecanismo regulador que involucra un circuito de integrina-BMP-WNT impulsa la diferenciación osteoblástica inducida por Ti con nanotopografía.

Apoyo financiero: FAPESP y CNPq.

Palabras clave: hueso; nanotopografía; titanio; integrina; BMP; WNT

Mucosa bucal artificial generada por ingeniería tisular de posible uso en odontología *Artificial buccal mucosa generated by tissue engineering of possible use in dentistry*

Ismael Ángel Rodríguez 1

Cátedra "B" de Histología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina. Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, España.

Grupo de investigación en Ingeniería Tisular Granada- España

Resumen

Diversas situaciones clínicas que se presentan en la práctica odontológica, como extirpación de tumores (patología de tipo oncológicas), recesiones gingivales vestibulares, traumatismos y la necesidad de mejorar los requerimientos estéticos en el contorno gingival y papilar de los tratamientos de implantes dentales, exigen en ocasiones la regeneración de mucosa bucal. En este sentido, la terapia sustitutiva de la mucosa bucal actualmente comprende la utilización de diversas técnicas, entre las que destacan el uso de injertos cutáneos autólogos de espesor parcial o completo, el empleo de colgajos regionales y locoregionales, los injertos de tejido conectivo autólogo y la interposición de materiales biocompatibles. Sin embargo, ninguno de estos procedimientos está libre de la posibilidad de problemas asociados; además, muchas veces requieren de más de una intervención sobre el paciente y existe una limitación en la obtención del tejido necesario para la solución del problema. Son estas problemáticas las que justifican la exploración de nuevas fuentes de obtención de tejido bucal. En este contexto, la elaboración *in vitro* de mucosa bucal o de sustitutos de conectivo de mucosa bucal, empleando las técnicas desarrolladas por la Ingeniería Tisular se ha convertido en una alternativa. En la presente ponencia se expondrán las técnicas que permiten obtener una mucosa bucal *in vitro* y los controles de calidad a distintos niveles que se llevan adelante sobre la misma, mostrando además a este novedoso desarrollo como un recurso terapéutico de posible uso en odontología.

Palabras clave: tissue engineering; buccal mucosa; in vitro; dentistry; quality control; connective tissue

Generación de tejidos biológicos magnéticos para uso en técnicas de regeneración odontológica *Generation of magnetic biological tissue for use in dental regeneration techniques*

Ismael Angel Rodríguez 1

Cátedra "B" de Histología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina. Departamento de Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, España.

Grupo de investigación en Ingeniería Tisular Granada- España

Resumen

Las soluciones clínicas que actualmente nos presentan los distintos biomateriales utilizados en odontología, presentan limitaciones evidentes para regenerar los tejidos perdidos. En este sentido, desde hace algunos años ha surgido la Ingeniería Tisular, que es una ciencia que, asentada en la Histología, busca formar tejidos artificiales biomiméticos que sean funcionalmente activos para reemplazar aquellos tejidos u órganos que se han visto dañados o perdidos. Asimismo, durante los últimos años el uso de nanopartículas magnéticas en biomedicina se ha transformado en un campo de gran interés y de hecho diversas aplicaciones en el campo de la Ingeniería Tisular han sido propuestas, entre las que destacan la regeneración de tejidos. Las nanopartículas más usadas en este ámbito son las Fe_3O_4 (magnetita) y la $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (maghemita). Además, se ha demostrado que los efectos de campos magnéticos externos estáticos sobre un andamiaje de polycaprolactona y nanopartículas magnéticas estimula la función de osteoblastos y en consecuencia la formación de un tejido mineralizado.

Los productos desarrollados mediante Ingeniería Tisular se consideran medicamentos y para su aprobación, fabricación y aplicación deben seguirse protocolos muy estrictos con el objeto de garantizar, además de su éxito terapéutico, los niveles más altos de seguridad.

En esta ponencia se mostrará el desarrollo de un tejido biológico magnético, que es una reciente innovación llevada adelante por nuestro grupo de investigación. El mismo está conformado por una matriz de fibrina y agarosa a la que se ha incorporado nanopartículas magnéticas. Asimismo, se expondrá en el proceso de control de calidad, mediante la realización de estudios *in vitro* e *in vivo*, importantes avances en el conocimiento de la biocompatibilidad, biodistribución y la influencia de los campos magnéticos externos sobre las nanopartículas magnéticas en los procesos de regeneración de tejidos. A partir de los avances desarrollados, creemos que este tejido biológico magnético podría ser utilizado en un futuro en técnicas de regeneración de tejidos bucales para así lograr terapias más fisiológicas.

Palabras clave: tissue engineering; magnetic nanoparticle; in vitro; in vivo; dentistry; quality control.

Nuevos retos en la Ingeniería Tisular en Odontología *New challenges in Dental Tissue Engineering*

Ingrid J Garzón Bello 1

Grupo de Ingeniería Tisular, Departamento of Histología, Universidad de Granada, España. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.
Grupo de Investigación en Ingeniería Tisular CTS 115 Universidad de Granada, España

Resumen

En la práctica odontológica, uno de los grandes retos es la regeneración de tejidos dentales perdidos por diversas lesiones o patologías. En este contexto, la Ingeniería Tisular propone nuevas estrategias dirigidas hacia la regeneración de tejidos y órganos a través de la fabricación de sustitutos tisulares tridimensionales, que reestablezcan la funcionalidad de los tejidos, a partir del uso de células, biomateriales y factores de crecimiento. La Ingeniería tisular es un área que evoluciona continuamente asimilando las aportaciones de las áreas científicas adyacentes y sus avances tecnológicos, incluidos los avances en nanotecnología que han generado la gama de opciones disponibles para la manipulación y control de las células y su entorno. En el área de la odontología, la regeneración de tejidos dentales como pulpa, el hueso y mucosa oral, han experimentado importantes avances y en la actualidad la investigación se centra en el desarrollo de estructuras complejas con funcionalidad mejorada, propiedades biomecánicas y vascularizadas para mejorar la bioestabilidad y la supervivencia. La Ingeniería Tisular en odontología continúa siendo un reto fascinante cuyo objetivo fundamental es la traslación clínica para ofrecer al paciente alternativas de tratamiento enfocadas hacia la regeneración.

Palabras clave: Ingeniería tisular; odontología; células; biomateriales; factores de crecimiento; traslación clínica.

Biofabricación de sustitutos mucoperiosticos para la reparación de paladar hendido mediante el uso de técnicas avanzadas de ingeniería tisular *Biofabrication of Mucoperiosteal substitutes for cleft palate repair by advanced tissue Engineering techniques*

Ingrid J Garzón Bello 1

Grupo de Ingeniería Tisular, Departamento of Histología, Universidad de Granada, España. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.
Grupo de Investigación en Ingeniería Tisular CTS 115 Universidad de Granada, España

Introducción

El paladar hendido es uno de los defectos congénitos más comunes que supone un gran reto a nivel quirúrgico. En este sentido, las estrategias terapéuticas actuales incluyen el uso de colgajos mucoperiosticos para cerrar las hendiduras que involucran el paladar duro. Sin embargo, uno de los principales problemas en la reparación de hendiduras es la reconstrucción ósea del paladar duro y la mucosa, ya que depende de injertos autólogos. En este trabajo, se ha desarrollado por primera vez un sustituto mucoperiostico completo que contiene mucosa oral artificial y hueso subyacente con el fin de superar

los inconvenientes de las estrategias terapéuticas actuales para la reconstrucción del paladar hendido. **Objetivos:** Generar y caracterizar un sustituto mucoperióstico para la reconstrucción del paladar hendido. **Métodos:** Para este trabajo se utilizaron biopsias de la mucosa oral de paladar y tejido adiposo de conejo las cuales se procesaron mediante el uso de tratamientos enzimáticos para obtener cultivos celulares primarios de queratinocitos, fibroblastos y células adiposas. Para desarrollar la mucosa oral artificial, se utilizaron 250,000 fibroblastos en 5ml de hidrogeles de fibrina-agarosa. Una vez que el sustituto estromal gelificó, los queratinocitos de la mucosa oral del conejo se colocaron en la parte superior. Para desarrollar los sustitutos óseos, se indujeron 250.000 células adiposas durante 28 días utilizando el kit de diferenciación de osteogénesis StemPro®. Tras 7 días de maduración, los sustitutos mucoperiósticos se nanoestructuraron para unir ambos tejidos usando 500g de presión durante 3 minutos. Se realizaron estudios de caracterización en muestras las de estudio y control. **Resultados:** El análisis histológico de los sustitutos mucoperiósticos reveló la presencia de una capa de células epiteliales sobre el sustituto estromal. Además, los sustitutos óseos revelaron la presencia de depósitos de calcio mediante la expresión positiva de rojo de alizarina y osteocalcina. Los resultados de inmunofluorescencia mostraron la expresión típica de marcadores de mucosa oral como CK4 y CK3, así como, CK19 y CK5 que revelaron positivos en los sustitutos mucoperiósticos. **Conclusión:** Todos estos hallazgos sugieren que los sustitutos mucoperiósticos obtenidos mediante técnicas de ingeniería tisular podrían tener un potencial clínico traslacional en la reconstrucción de los trastornos del paladar hendido sin la necesidad del uso de injertos autólogos.

Palabras clave: Paladar hendido; sustitutos mucoperiósticos; paladar duro; mucosa oral; regeneración; ingeniería tisular.

La Ingeniería Tisular. Una investigación traslacional *Tissue Engineering. A translational research*

Ingrid J Garzón Bello 1

Grupo de Ingeniería Tisular, Departamento of Histología, Universidad de Granada, España. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.
Grupo de Investigación en Ingeniería Tisular CTS 115 Universidad de Granada, España

Resumen

La ingeniería tisular ha ido proporcionando perspectivas prometedoras para superar la eficacia limitada de las opciones de tratamiento convencionales o el trasplante de órganos. Avances significativos en terapias con células madre, biomateriales y el desarrollo de sistemas de liberación de moléculas capaces de imitar la producción de factores de crecimiento podrían, sin lugar a duda, ofrecer avances en el tratamiento de múltiples patologías en el área médica y odontológica. En este contexto, fomentar la investigación traslacional de terapias avanzadas se ha convertido en una prioridad principal tanto de la comunidad científica como de los gobiernos nacionales. Los medicamentos de terapia avanzada (ATMP) son una nueva categoría de medicamentos que comprende la terapia génica y los medicamentos basados en células, así como los medicamentos elaborados con ingeniería tisular. El desarrollo ATMP abre nuevos caminos para enfoques terapéuticos en numerosas patologías. Sin embargo, su desarrollo es lento debido a la complejidad del marco regulatorio, los altos costos y las necesidades de buenas instalaciones de

fabricación (GMP). Por lo tanto, se necesita una cooperación estratégica entre los diferentes interesados (universidades, industria y expertos en cuestiones regulatorias). Recientemente, se ha dado una gran importancia a las infraestructuras de investigación dedicadas a fomentar la medicina traslacional de las terapias avanzadas. En este seminario se presentan algunas iniciativas europeas en curso en este campo y se analiza su impacto potencial.

Palabras clave: Ingeniería tisular; investigación traslacional; traslación clínica; instalaciones de fabricación; terapias avanzadas; producción.

Biología Regenerativa: una mirada celular y molecular en especies con capacidades para regenerar *Regenerative Biology: a cellular and molecular view in species with capacities to regenerate*

Belfrán Alcides Carbonell Medina ¹

¹ Odontólogo Universidad del Magdalena-Colombia, Magister en Odontología Universidad Nacional de Colombia. Candidato a Doctor Ciencias Biológicas Universidad de Antioquia Colombia.
Grupo de Investigación en Genética, Regeneración y Cáncer, Universidad de Antioquia.

Resumen

Desde hace varios años la medicina regenerativa busca brindar a la humanidad las mejores herramientas tendientes a reemplazar aquellos tejidos perdidos, por enfermedad o traumatismo. Principalmente, ha hecho uso del gran potencial de las células madres para dar origen a diferentes linajes celulares y del desarrollo de biomateriales, cuyo uso combinado se ha convertido en una solución que promete continuos avances en el campo de la regeneración. Lo anterior ha generado un gran interés en dilucidar los principales eventos celulares y moleculares que subyacen bajo el fenómeno de la regeneración de tejidos y órganos en varias especies con alta capacidad regenerativa, a lo largo de toda la escala animal. Desde protozoos hasta mamíferos como humanos, se puede identificar que poseen capacidades de regenerar tejidos; sin embargo, esta habilidad puede variar grandemente entre una especie y otra. De esta manera, organismos como las Planarias pueden regenerar la mayoría de estructuras e incluso todo su cuerpo. Otra especie como el *Ambystoma Mexicanum*, representa a los vertebrados con mayor capacidad para regenerar sus estructuras a lo largo de toda su vida. Esta especie a través de la regeneración epimórfica puede regenerar estructuras complejas como cola y extremidades (compuestas por tejido óseo, tejido muscular, cartílago y nervios). Adicionalmente, otras estructuras regeneradas incluyen: corazón, sistema nervioso central y mandíbula. Finalmente, mamíferos como los humanos son considerados como organismos con poca capacidad regeneradora la cual va disminuyendo con el envejecimiento; sin embargo, esta podría ser potencializada.

Los avances en las tecnologías y técnicas de Biología Celular y Molecular han permitido identificar las principales vías de señalización involucradas en la regeneración de tejidos de organismos como *Xenopus Leavis*, *Ambystoma Mexicanum*, Planarias y Gecko, evidenciando en gran parte una conservación evolutiva de estos mecanismos regenerativos. Sin embargo, todavía hay varios interrogantes no resueltos que necesitan de más estudios. Por lo tanto, comprender en profundidad cada uno de los mecanismos celulares y mole-

culares que utilizan cada una de estas especies para regenerar estructuras complejas, representa abrir una puerta para el control y diseño de condiciones experimentales y terapéuticas, que potencialicen las capacidades regenerativas de organismos poco regeneradores como los humanos y así promover la regeneración ósea, muscular y nerviosa, entre otros tejidos.

Palabras clave: Medicina Regenerativa; *Ambystoma Mexicanum*; regeneración ósea; regeneración muscular; regeneración de cordón espinal; ingeniería de tejidos.

Regeneración del complejo pulpodental. Desafíos de la transición de la odontología tradicional a la terapia basada en la biología.
Pulpodental Complex Regeneration. Challenges of the transition from traditional dentistry to based on biology therapy.

Paula Alejandra Baldión Elorza 1

1 Odontóloga, Especialista en rehabilitación Oral, PhD en Ingeniería-Ciencia y tecnología de materiales. Profesora Asociada, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá
Grupo de Investigación Básica y Aplicada en Odontología (IBAPO)

Abstract

Regenerative therapy of the pulp-dentinal complex, based on tissue engineering, is a promising approach to achieve pulp and dentin regeneration, preserving dental structure and function, and replacing deteriorated structures. The discovery of dental stem cells, which can potentially be *in vitro* differentiated into odontoblast-like cells, able to produce a mineral structure similar to dentine, has been the basis for the *in vivo* based-on-biology regenerative endodontic procedures (REP), (Murray et al., 2007). The therapeutic objective is to generate functional pulp tissue to simulate root growth competition in immature teeth with necrotic pulp.

There are three important factors for tissue regeneration: stem cells, bioactive signaling molecules and scaffolds. The scaffolds must have optimal structural, chemical, mechanical, and biophysical characteristics. Likewise, the induction of a capillary network, the differentiation of the dental pulp stem cells (or progenitor cells of the pulp) and an isolated environment, are necessary for a successful and predictable pulp-dentine complex regeneration.

To induce cell differentiation, it is fundamental to count with appropriate growth factors, correct administration system, a scaffold necessary to induce cell adhesion and proliferation, stabilization of the extracellular matrix and the formation of blood vessels. Studies have shown induction of pulp-dentinal regeneration with gene therapy using members of the bone morphogenetic protein family (BMP) including BMP7 and GDF11.

The regeneration of pulp tissue points to important developments in the future. However, many challenges are expected, especially in neural and vascular regeneration, despite the significant improvement in tissue engineering for regenerative pulp therapy. With the help of tissue engineering through novel discoveries in materials science and cellular and molecular biology, new opportunities and new therapies can be achieved for the benefit of patients' oral health.

Palabras clave: Regenerative therapy; dentin, pulp; Human dental pulp stem cells; scaffolds; odontoblast.

Remineralización acelular acelerada *Swift acellular remineralization*

Edgar Delgado-Mejía ¹

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia. Director grupo GRAMO (Grupo de aplicaciones de materiales a la odontología)

Resumen

El esmalte alcanza cerca de 2.5 mm de espesor en cúspides pero es mucho más delgado en cuellos y valles. En los primeros dientes permanentes el tiempo de formación es de cerca de siete años y en cordales puede ser aproximadamente el doble de tiempo. La velocidad de formación del esmalte es entonces alrededor de 5 o 6 micrómetros por semana lo que es inferior al tamaño de un glóbulo rojo. La formación de una pulgada de esmalte llevaría entre 70 y 120 años, es una formación muy lenta. Su construcción es tan controlada y delicada que se depositan ordenadamente apenas dos o tres átomos de “esmalte” por minuto.

El esmalte es acelular y contiene muy pocas proteínas y consiste casi en su totalidad de fosfatos cálcicos (96%) y agua (2-3%), razones por la que no se re-genera y también por este motivo se puede trabajar como un mineral inorgánico.

La saliva remineraliza en una proporción extremadamente pequeña y su alcance no cubre daños considerables. Actualmente se ha fortalecido una corriente de estudiar tratamientos y materiales que conserven la integridad adamantina. Dentro de esta nueva aproximación sobresale la ciencia de la biomimética. En esta conferencia se tocan los conceptos y las propiedades de ciencias básicas y biomiméticas que permiten acelerar la remineralización del esmalte y sus aplicaciones en áreas como el blanqueamiento, la adhesión, la restauración y otros.

Se empieza por definir qué es un mineral, se diferencia entre los diferentes tipos de minerales y cuales son útiles en boca. Se busca aclarar la confusión generalizada de lo que es el mineral del esmalte. Luego se analiza el diente desde el punto de vista de la ciencia de los materiales.

Se ilustran Las diferentes estrategias biomiméticas surgidas de la naturaleza y luego nos concentraremos en las condiciones fisicoquímicas del ambiente bucal y en ver los procesos de la nucleación de diferentes tipos de minerales. Se incluyen ejemplos experimentales de varias aplicaciones de aclaramiento dental, adhesión, grabado, recubrimientos y mimesis del esmalte natural.

Palabras clave: Dental enamel; dental enamel solubility; tooth remineralization; calcium phosphates; biomimetics; Physical chemistry.

1 Odontóloga, Especialista en Cirugía Oral y Maxilofacial, PhD en Biotecnología. Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia. Grupo de Investigación de Biología de Células Madre, Grupo de Investigación de Cirugía Oral y Maxilofacial Universidad Nacional de Colombia

Resumen

Dada las limitaciones de las técnicas actualmente empleadas para la reconstrucción de los defectos óseos y con el fin de establecer estrategias terapéuticas, surge un nuevo paradigma en el ámbito de la cirugía reconstructiva: la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa. Esta área del conocimiento, pretende desarrollar protocolos terapéuticos que incrementen el potencial regenerativo del cuerpo para restaurar la integridad estructural y la funcionalidad del tejido óseo dañado, tomando como base los principios fundamentales que rigen el comportamiento fisiológico del tejido.

Gracias a facilidad de aislamiento y expansión en cultivo, sus propiedades inmunogénicas e inmunomoduladoras y su potencial osteogénico, las Células Madre Mesenquimales (MSC) han surgido como una de las alternativas más prometedoras para el tratamiento de las lesiones óseas. Estudios in vivo, han demostrado que la implantación de las MSC tiene un efecto positivo en la regeneración del tejido óseo, sin embargo, el mecanismo de acción a través del cual hacen este efecto no está claramente definido. Inicialmente, se pensó que la acción terapéutica se daba a través de la proliferación y diferenciación de las MSC para el reemplazo de las células del tejido lesionado, sin embargo, los últimos estudios han demostrado que las MSC secretan una serie de citoquinas, factores de crecimiento y otras moléculas de señalización que tienen un potente efecto durante la reparación y regeneración tisular a lo que se le ha denominado "el efecto paracrino".

Estos factores se conocen como secretoma y se pueden encontrar en el medio donde se cultivan las células madre o medio condicionado. Los medios condicionados contienen los agentes regenerativos tisulares capaces de promover y modular la formación de nuevos tejidos.

Nuestro grupo de Investigación Biología de Células Madre de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, fue uno de los pioneros en evidenciar el efecto paracrino de las células madre mesenquimales en la regeneración específica del tejido óseo, al identificar que la aplicación de los medios condicionados en lesiones óseas promueve el proceso de regeneración tisular, generando un nuevo tejido óseo de mejor calidad y mayor densidad.

Este concepto representa un cambio en el paradigma del efecto terapéutico de las MSC centrado en la diferenciación celular, a una visión en la cual las MSC pueden ejercer su efecto benéfico, aún sin que se requiera su injerto y diferenciación a células específicas del tejido. Solo suministrar los factores biológicos, sin aplicar las células madre en sí, estimula la proliferación y diferenciación de las células del mismo individuo promoviendo la reparación del tejido lesionado.

El potencial terapéutico de los medios condicionados derivados de MSC es particularmente atractivo como estrategia que aprovecha los beneficios clínicos de la medicina regenerativa utilizando un producto libre de células, que puede ser de gran ayuda en diversas condiciones de daño tisular u orgánico.

Palabras clave: Mesenchymal stem cells; Conditioned médium; Bone Regeneration; Regenerative medicine; Paracrine signaling.

Terapia génica para la regeneración ósea utilizando el sistema CRISPR-Cas9 *Gene therapy for bone regeneration using CRISPR-Cas9 system*

Gileade Pereira Freitas ¹

Helena Bacha Lopes ¹

Coralee Tye ²

Jane Lian ²

Janet Stein ²

Gary Stein ²

Márcio Mateus Beloti ¹

Adalberto Luiz Rosa ¹

¹ Departamento de Cirugía Oral y Maxilofacial y Periodoncia, Facultad de Odontología de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo.

² Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Vermont.
Grupo de investigación Bone Research Lab

Introducción

Un interés especial en las áreas de cirugía maxilofacial y ortopedia es el tratamiento de las fracturas sin consolidación. Entre la gran cantidad de tratamientos disponibles, la terapia celular se ha convertido en un enfoque prometedor, pero de acuerdo con nuestros resultados, no es suficiente para obtener regeneración ósea. Con base en estos hallazgos, planteamos la hipótesis de que el uso de células que sobre-expresan un gen relacionado con la osteoinducción podría ser una estrategia interesante para lograr la reparación completa del defecto. Entre los genes directamente implicados en la formación ósea están las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), que son un grupo de proteínas secretadas que pertenecen al factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y algunos de sus miembros son potentes agentes osteoinductores. Además, la BMP9 es considerada como una de las BMP más osteogénica. En conjunto, la BMP9 representa un objetivo importante para las terapias relacionadas con el tejido óseo y puede ser útil en varias aplicaciones de medicina regenerativa. Objetivos: El objetivo de este estudio es analizar in vitro el comportamiento de las células madre mesenquimales derivadas de médula ósea de ratón (mBM-MSC) que sobre-expresan el gen BMP9 por el sistema de repeticiones palindrómicas cortas regularmente inter-espaciada/asociado a la nucleasa Cas-9 (CRISPR-Cas9). Métodos: El gen BMP9 se sobre-expresó transduciendo mBM-MSC con lentiviral dCas9-VPR- vector puro y RNA guía único. La sobreexpresión del gen BMP9 fue confirmada por la expresión de genes y proteínas detectada por PCR en tiempo real y Western Blot. Todos los datos se obtuvieron por triplicado y se analizaron mediante la prueba T Student ($p \leq 0.05$).

Resultados

La sobreexpresión de BMP9 en mBM-MSC mejoró su potencial osteogénico en comparación con las células control. La expresión génica de los genes de interés, los marcadores osteoblásticos, la expresión de proteínas y la actividad de ALP fue mayor en los cultivos que sobre expresaban BMP9 que en los controles. Conclusión: La sobre-expresión de BMP9 aumentó el potencial de diferenciación osteoblástica de células madre mesenquimales derivadas de médula ósea de ratón.

Palabras clave: CRISPR-Cas9; Bone formation; Mesenchymal stem cells; Cell therapy; Bone morphogenetic proteins; Bone regeneration.

El titanio con nanotopografía induce la diferenciación osteoblástica por la activación del circuito integrina beta 3/Wnt/BMP
Titanium with nanotopography induces osteoblast differentiation by activating an integrin beta 3/Wnt/BMP circuit

Helena Bacha López Gileade ¹

Pereira Freitas ¹

Paulo Tombasco de Oliveira ¹

Carlos Nelson Elias ²

Coralee Tye ³

Janeth L Stein ³

Gary S Stein ³

Jane B Lian ³

Adalberto Luiz Rosa ¹

Marcio Mateus Beloti ¹

¹ Laboratorio de Cultivo de Células, Facultad de Odontología de Ribeirão Preto, Universidad de Sao Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

² Laboratorio de biomateriales, Instituto Militar de Ingeniería, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ Departamento de Bioquímica, Universidad de Vermont Centro de Cáncer, Universidad de Vermont, Burlington, VT, USA.

Grupo de investigación Bone Research Lab

Introducción

Las superficies de titanio con nanotopografía (Ti-Nano) favorecen la diferenciación osteoblástica sin embargo los mecanismos celulares relacionados no son comprendidos todavía. En este contexto, hipotetizamos que las integrinas podrían desempeñar un papel importante en la diferenciación osteoblástica inducida por Ti-Nano. Objetivos: Investigar la participación de integrinas en la diferenciación osteoblástica inducida en una superficie por Ti-Nano comparada con Ti-Micro (microtopografía disponible comercialmente). Métodos: Basado en resultados de PCR array, observamos que Ti-Nano comparada con Ti-Micro regula positivamente la expresión de cinco integrinas en células madre mesenquimales, particularmente la integrina $\beta 3$, que afecta la diferenciación osteoblástica. Se silenció la integrina $\beta 3$ transduciendo células MC3T3-E1 con vector lentiviral dCas9-KRAB (KRAB) utilizando el RNA guía integrina $\beta 3$ (KRAB- integrina $\beta 3$). El silenciamiento integrina $\beta 3$ fue confirmado por expresión génica y proteica detectadas por PCR en tiempo real y Western blot. Luego, las células KRAB y KRAB-integrina $\beta 3$ fueron cultivadas sobre Ti-Nano y Ti-Micro en condiciones no osteogénicas por 7 días para evaluar marcadores

óseos y componentes de las vías de señalización WNT y BMP. Todos los datos se obtuvieron por triplicado y analizaron mediante la prueba T de Student ($p \leq 0,05$). Resultados: Las células KRAB-integrina $\beta 3$ mostraron una expresión reducida del gen integrina $\beta 3$ (80%) y proteína (100%) en comparación con las células KRAB. Para Ti-Nano, el silenciamiento integrina $\beta 3$ disminuyó la expresión génica del factor de transcripción 2 relacionado con runt (*Runx2*), fosfatasa alcalina (*Alp*), osteocalcina (*Oc*), osterix (*Osx*), osteopontina (*Opn*) y la expresión de proteína de RUNX2. Para Ti-Micro, el silenciamiento integrina $\beta 3$ disminuyó la expresión génica de *Alp* y *Osx*, pero aumentó la expresión del gen y la proteína RUNX2. Concomitantemente, el silenciamiento de integrina $\beta 3$ reguló negativamente la expresión de integrina αV y componentes de las vías de señalización Wnt/ β -catenina y BMP/Smad, todas ellas implicadas en la diferenciación osteoblástica, sobre Ti-Nano y no así con Ti-Micro. Conclusión: Nuestros resultados mostraron el papel clave de la integrina $\beta 3$ en el potencial osteogénico del Ti-Nano, y no relevante para Ti-Micro. Además, proponemos un nuevo mecanismo para explicar la mayor diferenciación de osteoblastos inducida por Ti con nanotopografía que implica una red reguladora compleja desencadenada por la regulación positiva de integrina $\beta 3$, que activa la transducción de señal Wnt y BMP.

Palabras clave: CRISPR; integrina; nanotopografía; osteoblasto; titanio.

Soportes de colágeno tipo I con partículas hidroxipatita para ingeniería de tejidos óseos *Scaffolds of Collagen type I and Hydroxyapatite for Bone Tissue Engineering.*

Ivan Yesid Poveda Chocontá ¹
Italy Marcelly Linero Segrera ²
Ronald Andrés Jimenez Cruz ³
Adriana Matilde Florez Cabrera ⁴
Diana Milena Millán Cortés ⁵
Marta Raquel Fontanilla ⁶

- 1 Maestría en Odontología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Estudiante de Doctorado Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
 - 2 Profesora, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.
 - 3 Estudiante de Doctorado Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
 - 4 Estudiante de Doctorado Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
 - 5 Estudiante de Doctorado Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
 - 6 Profesora Titular, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.
- Grupo de Trabajo en Ingeniería de Tejidos

Introducción

La ingeniería de tejidos ofrece estrategias terapéuticas para restaurar la forma y función biológica de los tejidos lesionados, trabajando fundamentalmente con biomateriales, células madre y biomoléculas. Los biomateriales más utilizados en ingeniería de tejido óseo son el colágeno tipo I (COL-I) y la hidroxipatita (HAP) por ser los principales constituyentes orgánicos e inorgánicos del hueso y por su eficiencia como inductores de osteogénesis. **Objetivo:** Evaluar las características estructurales y físicoquímicas y la citotoxicidad invitro de soportes de COL-I que contienen micropartículas de HAP recubiertas con

COL-I. **Métodos:** Microscopía electrónica de barrido (SEM) se estableció la microestructura de los soportes con el equipo Quanta200-FEI operado a (<4Pa) de vacío con resolución 3-10nm y voltaje de aceleración 200v a30kv. Difracción de rayos x (XRD) se analizó la fase inorgánica de los soportes en el equipo X'pert PRO MPC en el rango 10 a 60 ° Θ , tamaño de paso 0,02 (2 ° Θ), tiempo de paso 0,4 s, radiación Cu K α 1 (λ =1,5406 Å). Tasa de hinchamiento (TH) se cuantificó evaluando la variación en el peso de los soportes después de la absorción de PBS a las 12, 24, 48 horas. Citotoxicidad in vitro (MTT) basados en la norma ISO 10993-5/1999; se evaluó la viabilidad in vitro de células L929 en soportes de COL-I. **Resultados:** En las imágenes de SEM se observan las partículas de HAP de tamaño y forma irregulares, mientras que las partículas tratadas con COL-I eran romas y se asociaban con las paredes de los soportes, preservando la microestructura de este. La XRD determinó que el contenido inorgánico de los soportes emite señales que coinciden con los picos 211, 300, 130, 222, característicos de la HAP. La intensidad de las mismas, se redujo y su amplitud aumentó en los soportes que contienen las partículas HAP recubiertas con COL-I. La tasa de hinchamiento se estableció tomando como referente la capacidad de absorción de PBS que tiene un soporte de COL-I (18 \pm 2). Se observó que los soportes de COL-I que contienen las partículas de HAP recubiertas de COL-I absorbieron 15,2 \pm 2 veces su peso, siendo esta superior al de las partículas sin recubrir (7 \pm 1). En el ensayo de biocompatibilidad in vitro los soportes de COL-I con partículas de HAP obtuvieron viabilidades del 98 %, superando el umbral de toxicidad establecido en la norma. Sin embargo, con los soportes que incluyeron las partículas recubiertas se obtuvo una viabilidad de 69 %. Al analizar individualmente las partículas recubiertas, se encontró una viabilidad del 52%. **Conclusiones:** La microestructura de los soportes elaborados con la mezcla colágeno I-hidroxiapatita es similar a la de los soportes de COL-I. El recubrimiento e inclusión de las partículas de HAP con COL-I en los soportes enmascaró los picos característicos de la hidroxiapatita en XRD. Los soportes de COL-I con partículas de hidroxiapatita recubiertas con colágeno presentan una absorción cercana a la de los soportes de COL-I empleados como control. Las partículas de HPA recubiertas con COL-I fueron citotóxicas probablemente debido a remanentes de los reactivos empleados para el recubrimiento.

Palabras clave: Ingeniería de tejidos; colágeno tipo I; hidroxiapatita; sustitutos óseos. Tissue engineering; collagen type I; hydroxyapatite; bone substitutes.

Vía Notch en la regeneración de glándulas salivares, una aproximación. *Notch signaling pathway in salivary glands regeneration, an approach.*

Yorindel Juliana Cardozo Amaya ¹

Edwin Acosta Virgüez ²

Belfrán Carbonell Medina ³

¹ Estudiante de Maestría, Universidad Nacional de Colombia.

² Profesor, Universidad Nacional de Colombia.

³ Profesor, Universidad Nacional de Colombia.

Grupo de Investigación Crecimiento y Desarrollo Craneofacial

Introducción

Actualmente las cifras de casos de pacientes que refieren eventos de hiposalivación han aumentado considerablemente. Este aumento obedece a las altas tasas de tratamientos con quimio y radioterapia en pacientes con cáncer de cavidad oral que generan síntomas indeseables como xerostomía, lo cual muchas veces es consecuencia de la degeneración de los tejidos de las glándulas salivares. Sin embargo, las terapias actuales, solo generan un efecto paliativo que, aunque brindan alivio a los pacientes, no ofrecen una solución efectiva. La biología del desarrollo propone estudiar los mecanismos celulares implicados en el desarrollo y la capacidad regenerativa de las glándulas salivares, con el propósito de promover nuevas terapias regenerativas. La vía de señalización Notch es una vía implicada en el mantenimiento de células madre, desarrollo de múltiples tejidos y además en el desarrollo de tejidos glandulares. Por lo anterior, el objetivo de esta revisión es conocer la implicación de los genes componentes de la vía Notch en el desarrollo y regeneración de las glándulas salivares. **Métodos:** Revisión sistematizada de la literatura. En bases de datos Medline, Scopus, Embase, ScienceDirect, Google académico (GoogleA), Springerlink y Springer-Book se introdujo la ecuación: Notch AND salivary gland NOT carcinoma. Se excluyeron de la búsqueda artículos que tuvieran más de 10 años de publicación, resultando finalmente 34 artículos y un libro. Se realizó una búsqueda manual que sumó 44 títulos a la búsqueda quedando seleccionados 78 textos. **Resultados:** Se reportó presencia de la vía Notch (Ligandos, receptores y genes diana) durante todos los estadios de morfogénesis en ramificación de las glándulas salivares en modelos murinos y en humanos. Adicionalmente, Notch está relacionado con la génesis neural y vascular, lo cual es necesario para el desarrollo glandular. En cuanto a la regeneración, Notch contribuye a la formación de plácodas glandulares y a la recuperación de la morfología en ramificación. **Conclusiones:** Los genes de la vía de señalización Notch contribuyen activamente a la formación y regeneración de las glándulas salivares, ubicando esta vía como un potencial blanco para terapias regenerativas. Lo anterior hace necesario investigar la interacción entre Notch y otras vías de señalización para generar propuestas terapéuticas acorde a los mecanismos celulares y moleculares orquestados por esta vía de señalización durante el desarrollo de glándulas salivares.

Palabras clave: Proteínas Serrate-Jagged; Receptores Notch; Glándulas Salivares; Biología Molecular; Regeneración.

Células Madre Mesenquimales: medios condicionados y regeneración ósea. Revisión de la literatura. *Mesenchymal stem cells: conditioned media and bone regeneration. Literature review*

Luisa Fernanda Martínez Solano 1

Orlando Chaparro Garzón 2

1 Estudiante de Maestría en Odontología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

2 Profesor Titular, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Colombia.

Grupo de Investigación Biología de Células Madre

Introducción

La medicina regenerativa proporciona nuevas terapias para reemplazar o restaurar la función normal de células, tejidos u órganos en el cuerpo humano, por medio de la terapia celular, la ingeniería de tejidos y los biomateriales. Los avances en la investigación proponen a las células madre mesenquimales (MSC) como una de las alternativas más prometedoras para regeneración de una amplia variedad de tejidos dentro de ellos el tejido óseo. Uno de los mecanismos mediante los cuales las MSC promueven la regeneración es la liberación de productos celulares (secretoma), como citoquinas, proteínas y factores de crecimiento y el efecto paracrino que estos ejercen, lo cual permite proponer una nueva estrategia terapéutica sustentada en el secretoma de dichas células y no en las células per se. El secretoma de células madre mesenquimales puede ser recolectado de medios de cultivos y se conoce como Medios Condicionados (MSC-MC). El uso de los MC se ha planteado como una alternativa prometedora en tratamientos de regeneración tisular ósea. Sin embargo, esta es una propuesta reciente, objeto de una extensa investigación. Por esta razón, el objetivo de esta revisión de la literatura científica es evaluar si existe evidencia experimental que sustente que los MSC-MC favorecen la regeneración ósea.

Objetivos: Evaluar por medio de una revisión de la literatura científica, si existe evidencia experimental que sustente que los medios condicionados de células madre mesenquimales favorecen la regeneración ósea. **Métodos:** Revisión bibliográfica de las bases de datos Embase, Pubmed, Medline, EBSCO, Scisearch, ScisearchDirect. Las ecuaciones de búsqueda utilizadas fueron mesenchymal stem cell AND conditioned media OR paracrine effect AND bone regeneration; mesenchymal stem cell AND conditioned medium OR Secretome AND osteogenesis. Los criterios de inclusión: artículos primarios de investigación, últimos 5 años, ensayos In Vitro o In Vivo y los criterios de exclusión regeneración de otros tejidos, trasplante de células, artículos de revisión. **Resultados:** Se encontraron 422 artículos en la búsqueda inicial; se seleccionaron 13 artículos de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión. En los 13 artículos se reporta que los MC favorecieron la regeneración ósea. A nivel experimental se encontró que 2 artículos se desarrollaron in vitro y 11 in vivo, de los cuales 9 fueron en animales, con lesiones experimentales y 2 estudios clínicos en humanos, uno de ellos en regeneración alveolar y uno en elevación del piso de seno maxilar. Además, se encontró que no hay unidad de criterio, ni suficiente información para definir los mecanismos de acción de los medios condicionados en la regeneración ósea, así como tampoco se encuentran estandarizados los ensayos, razón por la cual es difícil establecer una comparación entre grupos. **Conclusión:** Se evaluó a través de esta revisión evidencia experimental que sustenta que los medios condicionados de células madre mesenquimales favorecen la regeneración de tejido óseo. Sin embargo, es necesario ampliar los estudios con el desarrollo de investigaciones para dilucidar su mecanismo

de acción, estandarizar métodos para reducir variables entre estudios y generar instrumentos para la aplicación clínica y terapéutica.

Palabras clave: Conditioned Media; Bone regeneration; Mesenchymal Stem Cells; Secretome; Regenerative Medicine.

Transición Epitelio Mesénquima y metástasis en Osteosarcoma y Sarcoma de Ewing. Revisión literatura *Epithelial-Mesenchymal Transition and metastasis in Osteosarcoma and Ewing Sarcoma. Literature review*

Juan Sebastián Rojas Ramírez ¹

Claudia Patricia Peña Vega ²

Natalia Olaya Morales ³

¹ Estudiante Maestría en Odontología. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

² Directora del Departamento de Salud Oral, Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

³ Profesora Experta, Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

Grupo de Investigación Patología Oncológica, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción

El Osteosarcoma (OS) y el Sarcoma de Ewing (ES) son tumores óseos con una elevada tasa de mortalidad. El porcentaje de supervivencia a 5 años en pacientes con Osteosarcoma que no presentan metástasis es de aproximadamente el 70 % y de tan solo el 30% para los casos que si la presentan. Para el Sarcoma de Ewing, esta cifra no alcanza el 20% y en ausencia de quimioterapia, el 90% de los pacientes mueren a pesar de realizarse cirugía o radioterapia. Debido a esto, se hace necesario identificar y describir mecanismos asociados a la alta metástasis a fin de hacer un diagnóstico oportuno y mejorar así su pronóstico. Uno de estos elementos es la Transición Epitelio-Mesénquima (EMT), la cual se describe como un proceso de flexibilidad celular, en el que las células con rasgos epiteliales adquieren rasgos mesenquimales, logrando movilidad y capacidad de invasión. Lo anterior conlleva a preguntar ¿Cuál es la relación entre Transición Epitelio-Mesénquima (EMT) y la metástasis en Osteosarcoma y Sarcoma de Ewing? **Objetivos:** Identificar a través de una revisión de la literatura si existe o no una relación entre la EMT y la metástasis en OS y ES. **Métodos:** Previa búsqueda bibliográfica en Pubmed, Science Direct, Micromedex, Embase, Springer Journal, Google Scholar y Scopus mediante las ecuaciones de búsqueda utilizadas, Osteosarcoma AND Epithelial Mesenchymal transition AND metástasis; Ewing Sarcoma Epithelial Mesenchymal transition AND metástasis, se seleccionaron aquellos que cumplieran los criterios de inclusión: artículos primarios de investigación básica, últimos 5 años, idioma inglés y texto completo. **Resultados:** Se encontraron 634 artículos en la búsqueda inicial. Finalmente se seleccionaron 22 artículos de acuerdo al resumen y se obtuvieron textos completos. Se eliminaron artículos duplicados y sin información relevante para la revisión. En 19 artículos se encontró una relación directa entre EMT y metástasis en OS y ES, mediante regulación de diferentes genes que podían estimular o inhibir la EMT, lo que conllevaba así mismo a un incremento o a una reducción de la progresión de los tumores. En 2 artículos no se encuentra una asociación entre estos procesos, y 1 artículo no presentó claridad en la identificación de la relación. Los

métodos de análisis utilizados para determinar la presencia de metástasis, crecimiento celular y EMT, fueron: análisis por la prueba de Western blotting (4), inmunohistoquímica (2), métodos combinados (8), microsecuenciación de micro-RNA (1), reacción inversa de polimerasa en tiempo real PCR (qRT-PCR) (6), y una prueba no descrita (1). **Conclusión:** Se identificó a través de la revisión de la literatura que la EMT es un elemento altamente relacionado a los procesos de malignidad tumorales tales como la metástasis en OS y SE.

Palabras clave: Osteosarcoma; Sarcoma de Ewing; EMT; Metástasis.

Respuesta de células indiferenciadas pulpaes (OD-21) frente a una cerámica biomimética para recubrimiento pulpar
Response of non-differentiated pulp cells (OD-21) to a biomimetic ceramic for dental pulp capping

Lina C. González-Pita ¹

Paula K. Vargas-Sanchez ²

Edgar Delgado-Mejía ³

Carolina Torres- Rodríguez ⁴

Karina Fittipaldi Bombonato –Prado ⁵

¹ Posgrado de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia.

² Magíster en Odontología, Universidad Estadual De Ponta Grossa. Laboratorio de Cultura de Células, Facultad de Odontología de Ribeirão Preto, Universidad De São Paulo

³ M.Sc. Química- S.U.N.Y. Profesor Asociado, Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia.

⁴ Ph.D. en Investigación en Estomatología Universidad de Granada España. Profesora Asociada Facultad de Odontología Universidad Nacional de Colombia

⁵ PhD en Odontología, Laboratorio de Cultura de células, Facultad de Odontología de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo.

Grupos de Investigación: Aplicación de Materiales a la Odontología (GRAMO)- Colombia y Biomateriais para Implante em Tecido Ósseo-Brasil

Introducción

Existen cementos de recubrimiento pulpar directo a base de hidróxido de calcio, MTA, silicato de calcio, fosfato de calcio, alumino cálcico, capaces de estimular y modular el proceso de cicatrización en la dentina, pero presentan desventajas como la citotoxicidad, tiempo de fraguado y costo. Actualmente se proponen otro tipo de materiales bioce-
rámicos QCP5 en la Universidad Nacional de Colombia. **Objetivos:** Evaluar el efecto de una cerámica biomimética (QCP5) sobre la viabilidad y la actividad de fosfatasa alcalina en células pulpaes indiferenciadas (linaje celular OD-21). **Métodos:** Las células pulpaes indiferenciadas derivadas de la papila dental de primeros molares de ratón *Mus musculus* (linaje OD-21) cedidas por el Prof. Jaques Eduardo Nor, de la Facultad de Odontología de Michigan USA, se cultivaron en una densidad de 1x10⁴ células por pozo, se dividieron en tres grupos experimentales: G1: control (solamente células), G2: QCP5 (células OD-21 en contacto con QCP5) y G3: MTA (células OD-21 en contacto con MTA). La QCP5 fue manipulada siguiendo las indicaciones establecidas en el estudio piloto con la QCP4, y el MTA fue manipulado siguiendo las instrucciones del fabricante. A los 3, 7 y 10 días de contacto con el material se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo colorimétrico MTT (bromuro de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio]) (Sigma) y la actividad de ALP (Labtest Diagnostica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza

(ANOVA) con nivel de significancia de 5%. **Resultados:** En el ensayo de viabilidad celular (MTT), a los 3 y 7 días no se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p=0,1585$, $p=0,1202$ respectivamente), a los 10 días se observó un aumento significativo en el grupo MTA con respecto al grupo Control ($p=0,0099$) y no hubo diferencia entre el grupo QCP5 con los grupos Control ($p=0,2180$) y MTA ($p=0,2126$). Sobre la actividad de ALP se observó que a los 3 días no hubo diferencia significativa entre los grupos ($p=0,5337$), a los 7 días la expresión de ALP fue mayor en el grupo control con respecto a los grupos QCP5 ($p=0,0008$) y MTA ($p=0,0003$), sin embargo no se observó diferencia entre estos dos últimos ($p=0,8324$), a los 10 días no hubo diferencia estadística entre los grupos ($p=0,9102$). **Conclusión:** La cerámica biomimética QCP5 no afectó la viabilidad de las células OD-21 ni la expresión de fosfatasa alcalina, además tuvo un comportamiento similar al MTA, sin embargo, se necesitan ensayos adicionales.

Palabras clave: dental pulp capping; MTA cement; calcium phosphate; biomimetic materials; cell survival; ALP protein.

Viabilidad celular de células pulpares indiferenciadas (OD-21) en contacto con una sustancia biomimética (QCP) – Estudio piloto
Cell viability of undifferentiated pulp cells (OD-21) in contact with a biomimetic substance (QCP) – Pilot Study

Paula Katherine Vargas-Sanchez ¹

Roger Rodrigo Fernandes ¹

Carolina Torres Rodríguez ²

Edgar Delgado-Mejía ³

Karina Fittipaldi Bombonato Prado ¹

¹ Laboratorio de Cultura de Células, Facultad de Odontología de Ribeirão Preto - Universidad de São Paulo.

² Facultad de Odontología – Universidad Nacional de Colombia

³ Departamento de Química, Facultad de Ciencias - Universidad Nacional de Colombia. Grupos de Investigación: Aplicación de Materiales a la Odontología (GRAMO)- Colombia y Biomateriais para Implante em Tecido Ósseo-Brasil

Introducción

El desarrollo de nuevos materiales de recubrimiento pulpar para reparación y regeneración de tejidos afectados por caries y trauma es una realidad. Aquellos se usan con el fin de disminuir procesos inflamatorios e infecciosos, favorecer la reparación/regeneración y promover la preservación del diente en el alvéolo. Los más usados actualmente son Hidróxido de calcio y el MTA que promueven la formación dentinaria, sin embargo análisis histológicos mostraron que ninguno de estos materiales restaura completamente la arquitectura y morfología dentinaria y tienen algunos elementos deletéreos. Por esta razón se están investigando nuevos materiales que tengan características físico-químicas superiores, costo-beneficio razonable y que no sean tóxicos al entrar en contacto con los tejidos dentales y periapicales. En el departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia se está estudiando una cerámica compuesta biomimética (QCP4B) de la misma composición elemental inorgánica que los tejidos duros humanos sanos, preparada a partir de cáscara de huevo, fosfatos y carbonatos que puede promover una rápida mineralización. Estudios previos *in vivo* en ratones mostraron que este material favoreció la formación de una matriz dentinaria densa y homogénea, sin embargo son necesarios experimentos *in vitro* para evaluar su citotoxicidad sobre células pulpaes y así

después evaluar su biocompatibilidad. **Objetivo:** Evaluar la viabilidad de células indiferenciadas de la pulpa dental de ratón (Linaje celular OD-21) en contacto con la sustancia biomimética QCP4B. **Métodos:** Las células pulpares indiferenciadas derivadas de la papila dental de primeros molares de ratón *Mus musculus* (linaje OD-21) fueron cedidas por el Prof. Jaques Eduardo Nor, de la Facultad de Odontología de Michigan USA, fueron cultivadas en una densidad de 1×10^4 células por pozo ($n=5$ por grupo). El hidróxido de calcio fue manipulado siguiendo las instrucciones del fabricante, y la QCP4B fue manipulada utilizando 0,189g para cada 120 μL de agua deionizada. La exposición al material inicio inmediatamente utilizando transwell con poros de 0,4 μm . Los grupos experimentales fueron: Grupo control (Células OD-21 sin ningún material), Grupo QCP4B (Células OD-21 en contacto con QCP4B) y Grupo HC (Células OD-21 en contacto con hidróxido de calcio). La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo colorimétrico de MTT (bromuro de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio]) a las 24 horas, 3 días y 7 días de cultivo celular. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de 5%. **Resultados:** A las 24 horas y 3 días no se observó diferencia estadística significativa entre los grupos ($p=0,6929$ y $p=0,1042$ respectivamente), y a los 7 días se observó una menor viabilidad en el grupo QCP4B en comparación con los grupos Control y HC ($p < 0,0001$). Se observó un aumento en la viabilidad celular de los tres grupos con el transcurrir del tiempo. **Conclusión:** La sustancia QCP4B no disminuyó la viabilidad de las células pulpares indiferenciadas (OD-21), sin embargo se necesitan más ensayos para establecer su efecto evaluando otros parámetros.

Palabras clave: Biomimetic materials; calcium hydroxide; cell culture; cell viability; MTT; bioceramics.