



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**USOS Y APLICACIONES DE LAS CÉLULAS MADRE DE
LOS DIENTES TEMPORALES.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

PAMELA MAYORGA LIZAOLA

TUTOR: Esp. ROSA EUGENIA VERA SERNA

MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

GRACIAS

A mi mamá y a mi papá por su apoyo y amor que me han brindado toda mi vida, por respetar mis decisiones es por eso que he podido realizar esta meta.

A Christian por ser parte de mi vida y por su constante amor y paciencia para ayudarme cuando lo he necesitado.

A mis amigos por su compañía y los buenos momentos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de pertenecer a ella.

A la Facultad de Odontología por brindar mi formación profesional.

A los profesores que a lo largo de mi formación académica me transmitieron sus conocimientos.

A mi tutora por su dedicación y atención para realizar este trabajo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	5
1. CÉLULAS MADRE.....	6
1.1 Clasificación según su potencial.....	9
1.1.1 Células madre totipotentes.....	9
1.1.2 Células madre pluripotentes.....	9
1.1.3 Células madre multipotentes.....	9
1.1.4 Células madre unipotentes.....	10
1.2 Tipos de células según el sitio de obtención.....	11
1.2.1 Células madre embrionaria.....	11
1.2.2 Células madre germinales.....	13
1.2.3 Células madre de los teratomas y teratocarcinomas.....	13
1.2.4 Células madres adultas o somáticas.....	14
1.3 Tipos de células dentales.....	15
1.4 Células madre en la cavidad bucal.....	17
1.4.1 Células madre en pulpas de dientes temporales (SHED CELLS).....	17
1.4.2 Células madre en pulpas de dientes permanentes (DPSCs)....	19
1.4.3 Células madre presentes en espacios periodontales (PDLSCs).....	20
1.4.4 Células madre de la mucosa bucal.....	21
1.4.5 Células madre de la papila dental (SCAP).....	22
1.4.6 Células madre de folículo dental (DFPC).....	23
2. APLICACIONES DE CÉLULAS MADRE DE DIENTES TEMPORALES.....	24
2.1 Terapias con células madre.....	25
2.1.1 Regeneración dental.....	25
2.1.2 Regeneración cardíaca.....	28
2.1.3 Problemas neurológicos.....	28
2.1.4 Células madre dentales y la diabetes.....	29
2.1.5 Células madre dentales y el accidente cerebral-vascular.....	29
2.1.6 Células madre que pueden revertir algunos efectos del Alzheimer.....	30

2.1.7	Células madre contra el mal de Parkinson.....	31
2.1.8	Reparación de daño de la cornea por medio de células madre dentales.....	32
2.1.9	Quemadura química.....	32
2.2	Células madre y medios de cultivo.....	34
2.3	Andamiaje y regeneración de tejidos orales.....	36
2.3.1	Regeneración de tejidos dentino-pulpares.....	36
3.	RECOLECCIÓN, AISLAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE CÉLULAS MADRE DE DIENTES TEMPORALES (SHED)	42
3.1	Recolección dental.....	42
3.2	Aislamiento de las células madre.....	43
3.3	Almacenamiento de las células madre.....	45
3.3.1	Criopreservación.....	
3.3.2	Congelación magnética.....	46
3.4	BioEDEN.....	47
3.4.1	Diferencias de células madre dentales con células madre del cordón umbilical.....	48
3.4.2	Proceso de laboratorio.....	49
	CONCLUSIONES.....	50
	BIBLIOGRAFÍA.....	51

INTRODUCCIÓN

Las células madre están consideradas como uno de los futuros más prometedores de la Medicina. Actualmente se están desarrollando investigaciones para su estudio y para determinar sus posibles aplicaciones.

El objetivo principal de esta revisión bibliográfica ha sido actualizar el conocimiento acerca de las células madre de origen dentario, sus características y diferencias; así como conocer y estudiar las diferentes aplicaciones clínicas actuales y cuál podría ser su potencial en un futuro.

Varios estudios han sugerido que la potencialidad de algunos tipos de células madre adultas es mayor de lo esperado, pues han mostrado en determinadas condiciones capacidad para diferenciarse en células de diferentes tipos, lo que las acercan a la potencialidad de las células embrionarias. Esto ha creado nuevas perspectivas para el tratamiento de diferentes enfermedades con células madre adultas, lo que inicialmente se pensaba solo podía hacerse con células embrionarias.

Los dientes temporales, son una importante fuente de células madre mesenquimatosas, la cuales sirven para tratar enfermedades relacionadas con los órganos y enfermedades nerviosas, por lo que su preservación se convierte en un seguro de vida el cual brinda las posibilidades de cumplir con las posibles necesidades biológicas del niño en un futuro.

1. DEFINICIÓN DE CÉLULAS MADRE

Célula madre se define como una célula totipotente/pluripotente o multipotente, capaz de generar uno o más tipos de células diferenciadas, y que además posee la capacidad de auto-renovación, es decir, de producir más células madre.¹

Las células madre son células indiferenciadas que tienen la capacidad de replicarse y que, bajo ciertas condiciones, pueden ser inducidas a diferenciarse en células específicas y diferentes. Lo anterior puede tener valor terapéutico y de hecho, en los últimos años éstas células se han usado para recuperar la función de órganos en modelos animales de enfermedades humanas como diabetes, Parkinson, infarto al miocardio y lesiones de médula espinal, indicando los datos experimentales y los estudios hasta ahora disponibles que ellas son una fuente adecuada para terapia.²

Además, una célula madre tiene la capacidad de producir líneas celulares especializadas para varios tejidos del cuerpo, tales como: músculo cardíaco, tejido cerebral, tejido hepático, fibras periodontales y dentina, entre otras; asimismo se le han añadido dos propiedades funcionales, con la capacidad de implantación persistente, tanto en tejidos dañados como en sanos.

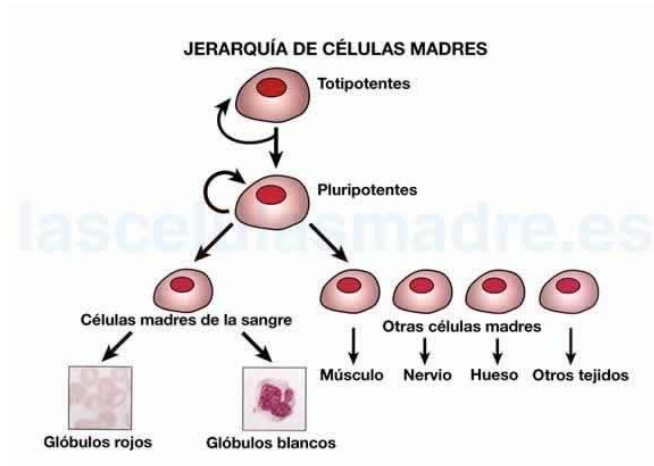


Fig. 1

A las células madre también las encontramos con estos nombres:

- ✓ Células troncales
- ✓ Células tronco
- ✓ Células precursoras
- ✓ Células progenitoras
- ✓ Células estaminales
- ✓ Stemcells

Por otra parte, la célula progenitora o precursora puede considerarse una célula que ya ha alcanzado una diferenciación parcial y ha perdido la capacidad pluripotencial de la célula madre.³

Todas las células madre poseen 3 características comunes a saber:

- Ser indiferenciadas. Estadio celular en el que la célula no está especializada, es inmadura, tiene capacidad para modificar su fenotipo y dar origen a distintos tipos de células especializadas.
- Auto-renovación. Es el proceso de división celular que garantiza dos células hijas, se puede dar de dos formas. La división simétrica que, permite la producción de dos células madre idénticas a la original.

La división asimétrica en la cual se obtiene una célula madre idéntica a la célula de la que provino y otra célula hija comprometida a diferenciarse en un linaje particular celular, con la propiedad de multiplicarse muchas veces (por eso son llamadas células de amplificación transitoria), y el destino de la célula madre es definido por las interacciones con su nicho de anidación. De esta manera la división caracteriza a la célula madre adulta.

- Derivación. Se caracteriza por contar con el potencial de diferenciarse hacia cualquier tipo de célula madura y la capacidad de regenerar un tejido.⁴

Algunos conceptos relacionados con las células madre: ¿Qué propiedades caracterizan a la célula madre que la definen como tal?

1. Capacidad de proliferar sin diferenciarse durante periodos de tiempo prolongado, en principio durante el tiempo de vida del órgano del que procede;
2. Las células madre tienen la capacidad de diferenciarse hasta formar células maduras y funcionales. Una célula madre es capaz de generar células madre existentes en distintos tejidos maduros;
3. Capacidad diferenciadora in vivo, en otras palabras es capaz de una vez injertada en un animal de experimentación, diferenciarse hacia células maduras y funcionales.⁵

1.1 Clasificación según su potencial

Las células madre también se han clasificado, según su potencialidad celular, en:

- Totipotentes
- Pluripotentes
- Multipotentes
- Unipotentes

1.1.1 Células madre totipotentes.

Se llama así porque tienen la capacidad de generar un individuo completo, creando tanto el tejido embrionario (el feto y la placenta) al ser implantadas en el útero. Estas células se forman desde que el espermatozoide fecunda al óvulo, para dar el llamado cigoto, el cual sufre procesos mitóticos y produce células hijas, cada una de ellas totipotentes, constituyendo los blastómeros, que al completar de 8 a 10 unidades, conforman la mórula.

1.1.2 Células madre pluripotentes.

Estas células aunque no son capaces de generar un individuo, ya que no pueden diferenciarse en células extraembrionarias para formar la placenta y demás tejidos de sostén, tienen la capacidad de generar cualquier tipo de célula de las tres capas embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo) estas son obtenidas por microdissección de la masa celular interna del blastocito y son cultivadas en capas alimentadoras.

1.1.3 Células madre multipotentes.

Son células inmaduras que proceden de alguna de las tres capas embrionarias, son células madre adultas. Estas células son auto-renovables y más diferenciadas que las células pluripotentes, se encuentran en los

diferentes tejidos del cuerpo en pequeñas proporciones ayudando a la renovación de los mismos.³

1.1.4 Células madre unipotentes.⁶

Del latín unus, que significa uno. Es una célula que puede formar otras células hijas que se diferencian a lo largo de una única línea celular.

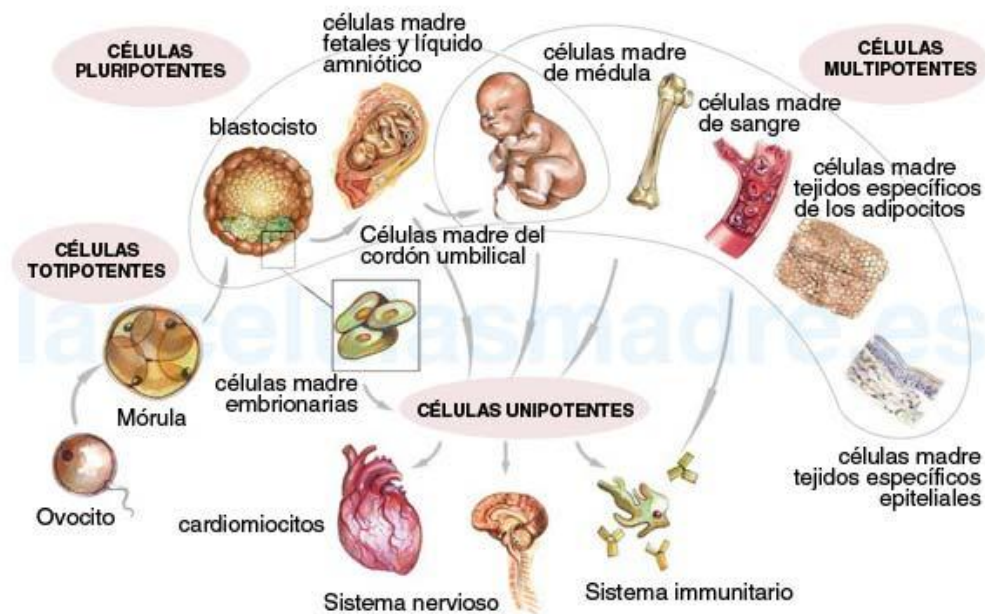


Fig. 2 Tipos de células madre

1.2 Tipos de células según el sitio de obtención

Se pueden aislar a partir de embriones, es la denominada, célula madre embrionaria, que se obtiene de la masa celular interna del embrión en estadio de blastocito entre los días 5-6 y da origen a las tres capas embrionarias: mesodermo, endodermo y ectodermo, así como las células germinales y las células madre adultas, que se encuentran en todos los tejidos del cuerpo formando el patrimonio con que cuenta el organismo para reemplazar las células senescentes a lo largo de la vida.

Las células madre adultas se encuentran con mayor frecuencia en la médula ósea, el tejido adiposo, la sangre del cordón umbilical, el cordón umbilical, la placenta, el bulbo olfatorio, la pulpa dental, entre otras.⁴

1.2.1 Células madre embrionarias (1981):

Deriva del embrión de los mamíferos en su etapa de blastocitos que se obtienen de fetos abortados. Son útiles para propósitos médicos o para investigación, porque pueden producir células para casi todos los tejidos del cuerpo.

Después de la penetración de espermatozoide, el óvulo fecundado adquiere la condición de cigoto, en el que durante su recorrido por la trompa de Falopio, se van produciendo sucesivamente distintos periodos de división celular que incrementan rápidamente el número de sus células, las cuales reciben el nombre de blastómeros.

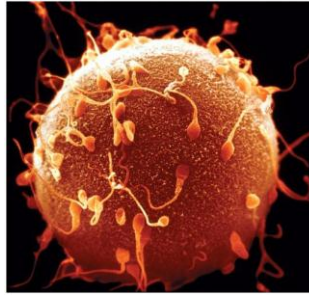


Fig. 3 La vida a través del microscopio

Aproximadamente a los 3 días, el embrión tiene el aspecto de una esfera compacta que se denomina mórula y que contiene de 12 a 16 blastómeros. Alrededor de los 4 días llega a la cavidad uterina, y sobre los 5, comienza a introducirse líquido en su interior para formar una cavidad: el blastocele. En esta etapa, el cigoto se llama blastocito y posee en uno de sus polos una agrupación celular que recibe el nombre de masa celular interna o embrioblasto, que forma una prominencia dentro del blastocele.

Las células de la masa interna no mantienen indefinidamente in vivo su capacidad de generación de cualquier tipo celular, pues estas se van diferenciando progresivamente en los diversos tipos celulares durante la fase intrauterina del desarrollo.

Sin embargo cuando se extraen de su ambiente embrionario natural y se cultivan *in vitro*, sí son capaces de proliferar ilimitadamente, y a su vez, mantener su potencial de generar células capaces de diferenciarse en cualquiera de los tejidos del organismo.

En este estado es que se clasifican como células madre embrionarias. Puesto que estas células proceden de un embrión humano vivo, desde el primer momento su manipulación y destino se ha enfrentado en diferentes países a una fuerte oposición, basada principalmente en aspectos éticos, religiosos y políticos.

El primer reporte acerca del aislamiento de células madre embrionarias provenientes de blastocitos humanos data de 1994, cuando se denominó que estas células in vitro se diferencian espontáneamente en estructuras multicelulares conocidas como “cuerpos embrionarios”, que contienen elementos de las tres capas germinales a partir de las cuales se pueden formar varios tipos de células como cardiomiocitos, neuronas y progenitores hematopoyéticos, entre otros.

1.2.2 Células madre germinales:

No es tipo básico. Se localizan en la cresta germinal de los fetos, lugar donde se produce la diferenciación de la línea germinal. Algunos las consideran también embrionarias.³



Fig.4 Embrión y célula madre embrionaria.

1.2.3 Células madre de los teratomas y teratocarcinomas:

Se localizan en las gónadas en forma de tumoración. Las células diferenciadas del tumor se forman a partir de células madre pluripotentes de carcinoma embrionario que derivan, a su vez, de células primordiales germinales del embrión.

Son tumores que contienen una gran variedad de tipos celulares que incluyen desde células musculares, cartílago, hueso, epitelio, neuroectodermo primitivo, estructuras ganglionares y epitelio glandular, es

decir, derivan de las 3 capas embrionarias que tiene un embrión (endodermo, mesodermo y ectodermo).¹

1.2.4 Células madres adultas o somáticas:

Se ha definido como una célula especializada dentro de la organización de las células de un tejido específico de un organismo ya formado, que está restringida en su capacidad de diferenciación y es capaz únicamente de generar células del tejido que representa, a las que debe recambiar de forma natural, aunque han mostrado en determinadas condiciones, capacidad para diferenciarse en células de diferentes linajes, así las células madres hematopoyéticas son capaces de diferenciarse en diversos tejidos, entre ellos: endotelio, músculo cardíaco, músculo estriado, hepatocitos, neuronas, piel e intestino.

El término “célula madre adulta” puede confundir, porque tanto los niños como los adultos las tienen. Se ha señalado la existencia de células madres adultas en varios sitios del organismo, que incluyen: médula ósea, sangre periférica, sangre del cordón umbilical, cerebro, médula espinal, grasa, pulpa dentaria, vasos sanguíneos, músculo esquelético, piel, tejido conjuntivo, córnea, retinas, hígado, conductos pancreáticos, folículo piloso, tejido gastrointestinal y pulmón.

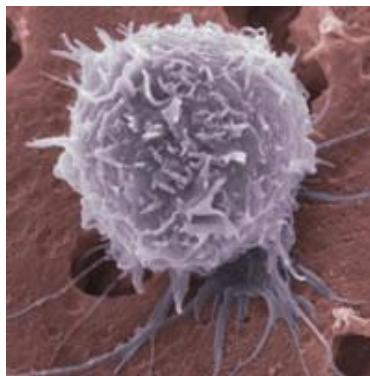


Fig.5 Célula madre adulta Imagen de microscopio electrónico de barrido (MEB)

1.3 Tipos de células dentales:

Las células madre mesenquimatosas o conocidas también como multipotenciales se encuentran en la pulpa dental. Estas células se diferencian en distintos tipos y desempeñan diferentes funciones en todo el cuerpo.

Ejemplos de estas células son:

Los condrocitos: generan cartílago y funcionan en el tratamiento de la artritis y en las articulaciones lesionadas.

Los osteoblastos: regeneran hueso y destrucciones óseas por cáncer o por algún accidente. También tiene la capacidad de regenerar órganos dentarios.

Los adipocitos: reparan el tejido que se daña después de haber ocurrido un infarto o ataque cardíaco. También son útiles para tratar problemas ortopédicos y de columna vertebral, insuficiencia cardíaca congestiva. Generan tejido adiposo con una importante función en cirugía plástica y de reconstrucción.

Los miocitos: sirven para reparar tejido muscular y lesiones de los músculos.

Células nerviosas: tienen la capacidad de tratar enfermedades neuronales degenerativas como por ejemplo, parálisis cerebral, Alzheimer y Parkinson.

Células mesenquimatosas: estas células tienen el potencial de reparar lesiones en la médula espinal y devuelven la movilidad y sensibilidad a pacientes con parálisis. Estas células son las que encontramos en los dientes y se conocen como: células madre mesenquimatosas indiferenciadas.⁷



Fig. 6

1.4 Células madre en la cavidad bucal.

En la actualidad se ha empezado a investigar con células madre provenientes de tejidos dentarios tales como la pulpa, folículo dental, dientes deciduos, papila apical de dientes inmaduros y ligamento periodontal, por la capacidad regenerativa de estas células a nivel oral. Incluso, existen autores que declaran que las células madre provenientes de la región orofacial tienen una mayor capacidad de proliferación que aquellas que provienen de la médula ósea.⁸

Se han identificado 6 grupos principales de células madres en la cavidad bucal, de sus tejidos específicos.

- Células Madres en pulpas de dientes temporales (SHED CELLS).
- Células Madres en pulpas de dientes permanentes (DPSCs).
- Células Madres presentes en espacios periodontales (PDLSCs).
- Células Madres de la mucosa bucal.
- Células madre de la papila dental (SCAP)
- Células madre del folículo dental (DFPC)

1.4.1 Células madre en pulpas de dientes temporales (SHED CELLS)

Songtao Shi, odontopediatra del Instituto Nacional Dental de Investigaciones Craneofaciales de Bethesda, Maryland, en sus experimentos iniciales utilizó un diente de su hija. “Una vez que se le cayó, comenzamos a mirarlo cuidadosamente”. Dijo Shi. Al observar en el mismo, tejido de color rojo, lo extrajo y lo examinó en el laboratorio, y de allí logró extraer células madres vivas.



Fig.7 Songtao Shi, odontopediatra

Aisló células madre adultas en dientes temporales de niños de 7 u 8 años de edad. Previamente había aislado células madres en dientes permanentes y amplió el estudio a las deciduales. Los dientes fuentes de células, fueron mantenidos por los padres de los niños (en leche y refrigerados), para garantizar la viabilidad celular.

Las pulpas dentales se extrajeron y manipularon enzimáticamente, obteniéndose cultivos de células madres. Se encontró más frecuencia en los incisivos que en los molares de las células madre y que entre un 12 y un 20% de las células en pulpas de dientes deciduales eran células totipotenciales. Estas células fueron denominadas SHED CELLS (células madre exfoliadas de dientes deciduales).

Las SHED CELLS, se sometieron a factores tisulares de crecimientos diferenciados en cultivos y se logró la diferenciación en células nerviosas, adipositas y odontogénicas, identificadas clínicamente e inmunofenotípicamente.

Estas células SHED, fueron trasplantadas a tejidos cerebral y dérmico en ratas inmunocomprometidas y desarrollaron características nerviosas, muy replicables y viables. Así, estas células, presentes en todos los

individuos, resulta una fuente segura de un material replicable para producir dentina y tejido neurológico autogénico.



Fig. 8

1.4.2 Células madre en pulpas de dientes permanentes (DPSCs)

Las poblaciones de células madres adultas en pulpas dentales de dientes permanentes también resultan muy evidentes y estas se han denominado DPSCs. El rasgo más llamativo de estas células es su capacidad extrema de regenerar el complejo pulpa-dentina compuesto por una matriz mineralizada con túbulos lineales, con odontoblastos y tejido de contenido fibroso, rico en vasos sanguíneos, con semejante disposición al complejo dentina-pulpa adulto.

Se ha encontrado también que las DPSCs son capaces al igual que los osteoblastos, de expresar marcadores óseos, tales como: sialoproteínas óseas, fosfatasa alcalina, colágeno tipo I y osteocalcina.

La principal fuente de células madre adultas permanentes son los terceros molares, extraíbles entre los 19 y 29 años de edad por diferentes razones. Estas células madres tienen la ventaja de ser autógenas y de baja inmunogenicidad.

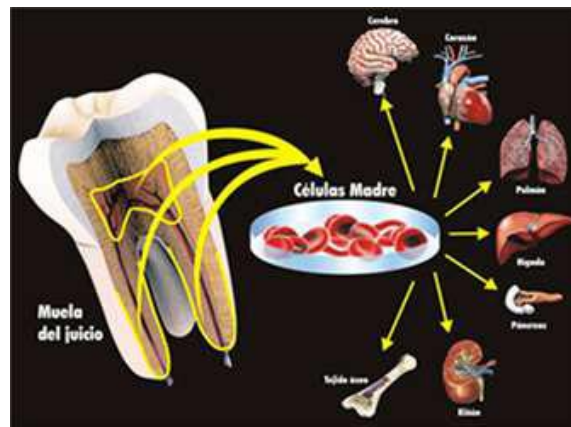


Fig. 9

1.4.3 Células madre presentes en espacios periodontales (PDLSCs)

La reparación del ligamento periodontal parece involucrar las células madre presentes en el mismo para la formación de fibroblastos, cementoblastos y osteoblastos. Estas células aparecen en racimos en la vecindad de los vasos sanguíneos periodontales y presentan características semejantes a las células madre embrionarias.

Para su obtención, las muestras dentales fueron tomadas de donantes hembras previo consentimiento; los dientes extraídos fueron lavados con solución salina, con estreptomycin y penicilina, sujetos mediante clanes en las coronas, para lo cual se usó una pieza de mano a baja velocidad y un disco de diamante con adecuada irrigación.

A continuación se efectuó una sección de la superficie dental, con profundidad de 0.5mm y se colocó en un medio esencial con 10% de suero de ternero enriquecido, antibiótico y a una atmósfera CO₂ al 5%. Después de 10 días de cultivo las células proliferativas tomaron varias morfologías.

Las células con morfología semejante a ligamento periodontal fueron diluidas y cultivadas en láminas de vidrio específicas, cultivadas por 24 horas y tratadas inmunohistoquímicamente.

Las células madre obtenidas se colocaron en un medio, conjugándose con células habituales del ligamento, en un medio que contenía suero de ternero fetal al 10% y antibióticos.

Transcurridos 7 días se identificó inmunohistoquímicamente que el ligamento periodontal adulto neoformado expresaba colágeno III, sin embargo, las células presentaban una morfología más fusiforme. Los niveles de osteocalcina obtenidas fueron menores que los del ligamento normal, las sialoproteínas óseas también fueron identificadas.

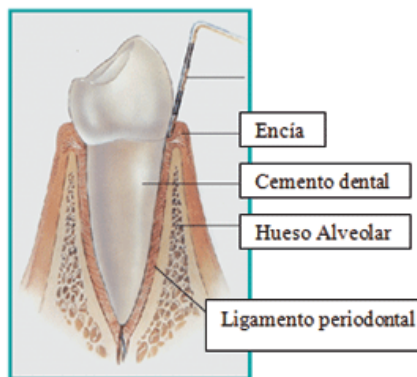


Fig. 10

1.4.4 Células madre de la mucosa bucal

Los queratocitos bucales también han sido aislados para expresar su totipotencialidad y fueron recopilados de la mucosa oral, cultivados en suero libre de cualquier producto de otra procedencia animal; estas células se sembraron en dermis de cadáver humano de 1cm cuadrado de área y luego de cuatro días en medios neutros se obtuvo una monocapa de células, que fue colocada en medio enriquecido y se obtuvo en epitelio estratificado de estructura semejante a la dermis del cadáver, que llegó a tener las 13 días una extensión de 4cm.

Esta investigación resultó la base para el aislamiento e incluso de células madre de la mucosa oral, en mallas de piel sintética, para la

reparación de defectos por lesiones cutáneas que tuvieron baja inmunogenicidad, sin cicatrizar después de ser evaluadas por 3 años.³

1.4.5 Células madre de la papila dental (SCAP).

La papila apical hace referencia al tejido blando situado en los ápices del diente que permite que se está formando. Existe una zona muy rica en células entre la papila apical y la pulpa. Es interesante destacar que, sin estimulación neurológica, las SCAP se muestran positivas para varios marcadores neurológicos, pero cuando se someten a estimulación neurológica, el número de marcadores aumenta notablemente.

Parece que las SCAP son las precursoras de los odontoblastos primarios, responsables de la formación de la dentina radicular, mientras que las células madre de la pulpa (DPSC) son, probablemente, las precursoras de los odontoblastos que forman la dentina reparativa. Además estas últimas, contienen un mayor componente vascular y celular que las SCAP.

Se utilizaron las SCAP para conseguir raíces mediante ingeniería tisular utilizando cerdos como modelo experimental y así probar que son una fuente prometedora para las futuras aplicaciones clínicas.

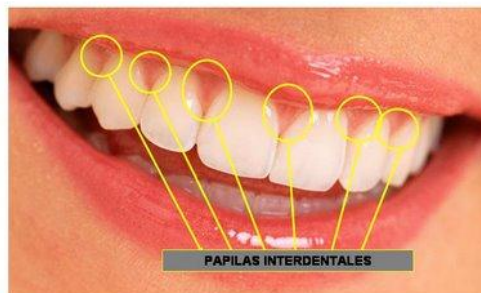


Fig. 11

1.4.6 Células madre de folículo dental (DFPC).

El folículo dental es un tejido ectomesenquimal que rodea el órgano del esmalte y la papila dental del germen del diente permanente en formación. Este tejido contiene células madre., que son las que acabarán formando el periodonto, constituido por cemento, ligamento, hueso alveolar y encía. Las DFPC han sido aisladas de los folículos dentales de los terceros molares impactados.

Son semejantes al resto de células madre de origen dental pero constituyen colonias clonogénicas en menor número que los demás tipos.

In vitro, estas células muestran una morfología típica de fibroblastos.

Después de la inducción, se ha demostrado diferenciación odontogénica. In vivo se ha identificado el antígeno STRO-1 en los folículos dentales. El trasplante de estas células genera una estructura constituida de tejido fibroso rígido. No se ha observado ni dentina, ni cemento, ni formación ósea en el trasplante in vivo. Distintos autores han explicado la posibilidad de que sea debido al reducido celular en los cultivos.⁶



Fig. 12

2. APLICACIONES DE CÉLULAS MADRE DE DIENTES TEMPORALES

Songtao Shi et al., descubrieron células capaces de convertirse en odontoblastos productores de dentina. Los investigadores usaron pulpa dental extraída de terceros molares de seres humanos, las dividieron con enzimas y procedieron a la incubación en soluciones de Petri. La mayor parte de las células murió, pero algunas continuaron creciendo y dividiéndose –una clara señal de que se trataba de células madre. Los investigadores calcularon que de los millones de células de una cámara de pulpa dental, cerca de 80 son células madre. El próximo desafío era descubrir si se podría estimular a esas células para que se desarrollaran en forma de odontoblastos.

El equipo de Shi mezcló las células madre de la pulpa dental con hidroxiapatita, la parte mineral de la dentina, y las implantó bajo la piel de ratones, para simular su posición normal de bajo de las células epiteliales de la encía.

Dos meses más tarde, algunas de las células, se habían formado en odontoblastos y comenzaron a excretar dentina, con su reveladora estructura cristalina, algunas habían formado una sustancia semejante a la pulpa, que contenía vasos sanguíneos y tejido nervioso. “todos nos sorprendimos cuando vimos el resultado en el microscopio”, recuerda Shi. “La experiencia demostraba que la regeneración de dientes era, por lo menos, teóricamente posible”.

La investigación publicada en la edición de julio del importante periódico de odontología, el *Journal of Dental Research* (vol. 83, n.7), utilizó células madre adultas retiradas de la estructura dentaria de ratones para desarrollar una tercera dentición. Las células de un animal donante fueron

implantadas en otro individuo, lo que resultó en bajo riesgo de rechazo, contrariamente a las tentativas hechas con células embrionarias, en la etapa inicial de desarrollo. El uso de estas células adultas es un importante avance con relación a otras tentativas de desarrollar dientes biológicos.

Para el trabajo, los investigadores retiraron células madre dentales-dientes en la etapa inicial de formación- que fueron cultivadas en laboratorio y después agregadas a matrices hechos de polímero biodegradable. Estas matrices fueron entonces implantadas en el abdomen de los ratones, pues esta región es altamente vascularizada y permite nutrir el implante. Doce semanas después, la matriz había sido absorbida por el organismo y se habían formado los dientes.⁹

2.1 Terapias con células madre

2.1.1 Regeneración dental

Las células madre dentales se pueden diferenciar en tejidos dentales como la dentina y la pulpa teniendo la posibilidad de generar piezas dentales completas para reemplazar dientes perdidos y utilizar dientes naturales o biológicos en lugar de implantes artificiales.

Así también, las células madre dentales se pueden utilizar para tratar problemas con tejidos dentales específicos como problemas relacionados a la dentina.

Utilizando las células madre dentales de una rata, se demuestra la posibilidad de formar dientes creados por medio de la bioingeniería.

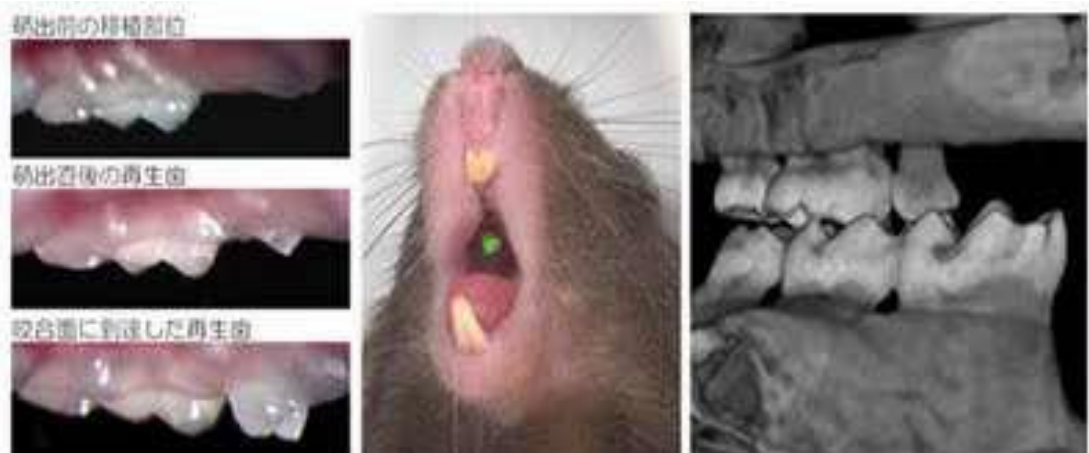


Fig.13 Imagen de la regeneración dentaria en dientes de una rata.

Utilizando las células madre dentales de cerdos se crea la formación de un diente que tenga dentina y esmalte. Esto da la posibilidad de crear dientes de bioingeniería para personas que requieren reemplazar dientes perdidos.

Al poder lograr una reproducción rápida de las células, se da a conocer la posibilidad de llegar a tratar problemas de la dentina en un futuro.

Las células madre dentales pueden ser utilizadas para regenerar tejidos dentales in-vivo.

Las células madre dentales son la fuente más accesible de células madre. Éstas tienen las características de multipotencialidad y se reproducen en grandes cantidades por lo que son una buena opción para la regeneración de tejidos.

Las células madre dentales pueden ser diferenciadas en osteoblastos (células óseas) y pueden ser utilizadas para corregir defectos craneofaciales.

Al combinar las células madre con matrices de colágena se ha demostrado que las heridas y los defectos craneofaciales pueden ser

corregidos de forma más rápida y con estructuras óseas mejor formadas que esperando la regeneración natural de los tejidos.

Todas las estructuras craneofaciales son derivadas del tejido mesenquimal. Las células madre dentales pueden regenerar varios tejidos craneofaciales por lo que pueden representar un significativo avance en la odontología regenerativa.

Las células madre dentales se pueden utilizar para la regeneración de hueso por lo que representan un gran potencial para revolucionar la implantología dental.

Las células madre dentales son una herramienta prometedora para la regeneración de hueso y la facilidad de utilizarlas las hace confiables para hacer experimentos en humanos.

Las células madre dentales pueden ser utilizadas para corregir grandes defectos craneofaciales en ratas, esto nos indica que pueden ser una forma para un futuro prometedor para la reconstrucción de problemas craneofaciales en humanos.

Con este estudio se puede demostrar que las células madre dentales y las matrices de colágena pueden llegar a corregir completamente los defectos de la mandíbula así como de otros tejidos y órganos.

La aplicación de las células madre en pacientes con enfermedades periodontales ha presentado resultados favorables, por lo que las investigaciones apuntan a que pueden ayudar a tratar este tipo de enfermedades.

Hasta el momento la inyección de células madre a nivel de la encía, se ejecuta mediante un tratamiento estomatológico, en el cual se prepara la zona y aplican las células madre, previamente obtenidas del paciente, que

por ser del propio organismo no tiene riesgos y en ninguno de los casos se han presentado manifestaciones secundarias.

2.1.2 Regeneración cardíaca

Las células madre de origen dental tienen la posibilidad de diferenciarse en células cardíacas (cardiomiocitos). Por lo cual se considera que las células madre dentales se pueden usar en tratamientos para regenerar el corazón después de haber ocurrido un infarto.

Así también las células mesenquimales de los dientes son una pieza clave en la regeneración de válvulas cardíacas para aplicarse en humanos.

En un experimento se utilizaron células madre dentales para tratar un infarto cardíaco en ratas. Al revisar los resultados, se da la posibilidad de que las células madre dentales podrían ser una buena opción para la regeneración de corazones que han sufrido infartos.

2.1.3 Problemas neurológicos

Las células madre dentales producen factores neurotróficos y son útiles para reparar lesiones de médula espinal.

Las células madre dentales se pueden diferenciar en el laboratorio y formar neuronas activas y funcionales.

Las células dentales son capaces de pasar por las zonas afectadas del cerebro, activar la vascularización y mejorar la isquemia cerebral.

Las células madre dentales fueron diferenciadas en tejidos de tipo neural y mostraron propiedades de protección a las neuronas por lo que representan una gran posibilidad para tratar enfermedades neurodegenerativas como el mal de Parkinson.

Las células madre dentales mantienen su potencial de neuroprotección después de la crío-preservación de largo plazo.

Esto pudiera ser recomendable conservar las células madre de los niños para un posible uso en el futuro en enfermedades degenerativas relacionadas con la edad.

2.1.4 Células madre dentales y la diabetes:

La diabetes es un problema muy grande que afecta a millones de mexicanos. Se considera que la población de pacientes diabéticos en nuestro país ya ha superado los 10 millones de personas y el número sigue creciendo.

Uno de los proyectos más importantes de la medicina regenerativa es la investigación con células madre dentales para tratar la diabetes y en la actualidad existen muchas formas de experimentar para buscar disminuir esta condición. Los enfoques clínicos para tratar la diabetes son múltiples y se realizan en los mejores hospitales y centros médicos del mundo.

Uno de los principales avances, es que ya se logró diferenciar a las células madre mesenquimatosas (las mismas que las células dentales) en células beta, que son las encargadas de producir la insulina y regular los niveles de azúcar del cuerpo, por lo que estas investigaciones nos dan un futuro prometedor.

2.1.5 Células madre dentales y el accidente cerebral-vascular

“Stroke”, así es conocido en inglés, y en español se dice: “Accidente Cerebral -Vascular” y es una de las principales causas de muerte y pérdida de funciones motrices en miles de personas en todo el mundo.

El Dr. Simon Koblar y su equipo del “Queen Elizabeth Hospital” en Australia, encontraron que los pacientes afectados por un accidente cerebral-vascular podrán ser tratados con células madre dentales.

Las investigaciones del equipo han demostrado que las células madre de los dientes tienen una enorme habilidad para reparar células nerviosas y en ese sentido podrán ayudar a cientos de miles de pacientes que sufren un accidente de este tipo y quedan inhabilitadas y hasta en un 30% de los casos pierden la vida.

El profesor Stan Gronthos, quien formó parte del equipo que descubrió las células madre dentales en el 2000, también forma parte del equipo de investigación y declaró que éste tipo de células revolucionarán los tratamientos para accidentes cerebrales-vasculares y devolverán la calidad de vida a miles de pacientes que sufren de este mal.

El equipo del profesor Koblar ha recibido mucho apoyo económico del gobierno y otras instituciones, pues sus descubrimientos con las células dentales se han vuelto muy prometedores para encontrar curas para distintos tipos de enfermedades.

2.1.6 Células madre que pueden revertir algunos efectos del Alzheimer.

La enfermedad de Alzheimer afecta a miles de personas alrededor del mundo afectando no sólo la calidad de vida de los propios pacientes sino también de sus familiares.

El objetivo principal de la terapia celular para las enfermedades neurodegenerativas es reemplazar células perdidas mediante el trasplante de neuronas producidas en la placa de cultivo. Si se implantan células en el cerebro éstas no parecen reemplazar a las neuronas perdidas; pero, a través de moléculas que secretan, mejoran la salud de las neuronas que todavía siguen vivas, frenando el Alzheimer o el Parkinson.

La investigación y la expectativa de patologías susceptibles de ser tratadas con terapias de células madre medulares ha evolucionado en pocos meses. Además de tratar y mejorar el mal de Parkinson, la diabetes y

algunos tipos de artritis, en el último año ha demostrado su efectividad en el tratamiento de pacientes con enfermedades neurodegenerativas como el mal de Alzheimer.

El médico Orlando Sánchez Golding, ha desarrollado la terapia de células madre medulares en Venezuela y director de Unimed, asegura que 90% de pacientes afectados con Alzheimer, que se someten a la terapia de células madre de origen medular, logran revertir algunos efectos de esta enfermedad, como la desmemoria y la pérdida de la noción de tiempo, espacio y personas.

Sánchez Golding asegura que “no existen efectos secundarios porque las células madre provienen del mismo paciente”. Además añade, que los efectos de la nueva terapia celular duran entre uno y dos años, pero que “sólo en ocasiones” es necesario aplicarse de nuevo el tratamiento celular.

2.1.7 Células madre contra el mal de Parkinson

Los temblores causados por el mal de Parkinson pueden reducirse, casi en su totalidad, en 48 horas. Lo mismo ocurre con severas secuelas de un accidente cerebrovascular o con las consecuencias de una artrosis avanzada: en un par de días, una persona que estaba prácticamente incapacitada, se levanta y comienza a andar.

Suena a milagro pero, en realidad, es una nueva terapia médica basada en esas pequeñas células que sí se han convertido en el milagro de la medicina: Las células madre. Los efectos son tan rápidos, sin embargo, enfatiza en que no es nada sobrenatural, sino sólo un buen aprovechamiento de las funciones naturales del cuerpo. El nombre completo es terapia celular regenerativa con células madre autólogas.

2.1.8 Reparación de daño de la cornea por medio de células madre dentales.

Los avances científicos con las células madre dentales siguen sobrepasando los niveles y expandiendo sus áreas de alcance.

Recientemente se descubrió que la multipotencialidad de las células madre dentales pueden reparar el daño corneal en modelos de animales, presentando una gran posibilidad para usar estas células en tratamientos para humanos.

2.1.9 Quemadura química

La reparación normal de la córnea se realiza en el ojo por las células madre límbicas que se encuentran dentro del mismo ojo. Si no existen células madre límbicas en el ojo, la córnea puede resultar dañada y se puede llegar a una disminución de la visión o hasta la ceguera.

Hay varias razones que pueden causar la ausencia de las células madre límbicas o bien razones que pueden destruir dichas células. Las causas más comunes son:

Trastornos genéticos

-Quemaduras químicas y térmicas

-Radiación

-Enfermedades inflamatorias

-Queratopatía inducida por lentes de contacto

-Múltiples cirugías oculares

Los resultados que se obtuvieron son:

- Los ojos que recibieron las células madre mesenquimatosas (células dentales) fueron capaces de reconstruir un epitelio corneal bien organizado.

- Tenían una transparencia corneal significativamente mejorada.
- Se ha reducido significativamente la inflamación.

Esta técnica aún no está lista para aplicación clínica en humanos. Sin embargo, ofrece una esperanza real para devolver la vista a aquellos que la han perdido por lesiones en la córnea.

La importancia de la investigación, que publica la revista 'Science', radica en que es la primera vez que se crean pulmones viables a partir de la nueva tecnología de ingeniería de tejidos. Asimismo, la técnica ha aportado injertos de hígado implantables en ratas. Y en 2008, una mujer de 30 años de edad recibió el reemplazo de uno de los conductos de aire principales de los pulmones, que los científicos habían sembrado con sus propias células.

Expertos de la Universidad de Yale estudiaron si era posible injertar pulmones creados con tejidos cultivados en laboratorio y si podían cumplir la función normal de intercambiar oxígeno por dióxido de carbono. Con ese propósito extrajeron componentes de células y preservaron la matriz que las contenía, así como las estructuras de los bronquios de las vías respiratorias y del sistema vascular que fueron empleadas como base para hacer crecer nuevas células.

Después los investigadores cultivaron una combinación de células madre y pulmonares sobre la matriz y lograron producir células funcionales. Cuando los pulmones fueron injertados en los roedores tuvieron un funcionamiento normal entre 45 y 120 minutos después.⁷

2.2 Células madre y medios de cultivo

Desde el descubrimiento de las células madre, se han creado nuevos objetivos en la regeneración de tejidos enfocados al campo de la Odontología.

Algunos investigadores mantienen la idea de que un medio condicionado para gérmenes dentales tiene la capacidad biológica y molecular para crear un microambiente que puede guiar a las células madre a la odontogénesis, por ende, evitando que las células pierdan sus capacidades multipotenciales. Han demostrado que en este tipo de medio condicionado se puede inducir a que células madre pulpares se diferencien en células de tipo odontoblasto, y que generen un complejo dentino-pulpar rectangular ectópico in vivo.

Estos investigadores decidieron llevar a cabo un estudio en donde cultivan células madre provenientes de la pulpa en un medio condicionado para gérmenes dentales porcinos, comparando su comportamiento con un cultivo para gérmenes dentales humanos, tanto in vivo como in vitro.

Demostraron que un medio de cultivo para gérmenes dentales porcinos puede ser un sustituto, ya que tuvieron resultados similares a aquellas células cultivadas en un medio humano. Actualmente, otro objetivo que se intenta alcanzar con las células madre provenientes de la pulpa es su expansión. Se ha experimentado con varios tipos de cultivos, diversos nutrientes y factores de crecimiento.

Los más comúnmente utilizados provienen de sueros animales; sin embargo, existen problemas con esto debido a su riesgo asociado a la transmisión de priones o zoonosis y, por esta razón, los más aceptados son aquellos sueros alogénicos o autólogos. No obstante, sigue existiendo un

problema para que estos estudios sean aceptados para experimentación clínica.

Debido a esto, un estudio propuso encontrar un medio sin suero que permitiera la expansión de células madre dentales, incluyendo aquellas que se encuentran en dientes deciduos (SHEDs) y en el ligamento periodontal (PDLSCs). Pudieron demostrar que las células madre derivadas de tejidos dentales tienen la gran ventaja de ser extraídas de tejidos no funcionales (a diferencia de aquellas provenientes de médula ósea), y demuestran que estas células son capaces de expandirse y mantener su carácter multipotencial. Aun así, todavía se debe determinar si estas células pueden mantener su potencial regenerativo *in vivo*. Además, sería importante desarrollar o mejorar este estudio, consiguiendo que estas células sean cultivadas, aisladas y expandidas sin tener contacto alguno con suero animal.

El folículo dental es un tejido conectivo suelto que envuelve un diente que aún no ha erupcionado. Su presencia, según estudios realizados, regula la osteoclastogénesis y osteogénesis, necesitada para su posterior erupción. A medida que el diente penetra la encía, el folículo dental se diferencia en el ligamento periodontal. Se ha postulado que algunas células del folículo dental se pueden diferenciar en cementoblastos, al igual que algunos osteoblastos del hueso alveolar. Asimismo, las células madre parecen estar presentes en el folículo dental de los terceros molares humanos.

El objetivo de un estudio realizado por Yao et al era determinar si se encuentran células madre en el folículo dental de ratas, para luego investigar las capacidades de diferenciación de estas células. Se demuestra que estas células presentan expresiones de células madre. Además, sus capacidades de diferenciación pudieron ser determinadas cuando, tras su cultivo, se trasladaron a un medio de diferenciación osteogénico, produciendo así

nódulos de mineralización. Esto no se apreció en células que no fueron trasladadas en un medio osteogénico.

La misma operación anterior fue realizada pero variando a un medio adipogénico y hubo una proliferación de éste tipo de célula.

Lo mismo se hizo en un medio de inducción neuronal, formándose células que se asemejan a neuronas multipolares. En conclusión, se puede observar que existen células madre en el folículo dental con capacidad regenerativa si se colocan en el medio adecuado, in vitro.

En otra investigación realizada por Li et al, mediante el uso de células madre de la médula ósea y neurales provenientes de ratas, se intentó reproducir las señalizaciones que ocurren en la odontogénesis para formar un diente in vitro, reemplazando las células embrionarias. Como resultado, en una de las variables observaron expresiones que se detectan en la odontogénesis, pero sin la formación de una estructura dentaria en concreto, mientras que en la otra sí hubo formación dentaria. Esto demuestra que las células madre pueden sustituir a las células embrionarias y llevar a cabo el proceso odontogénico.

2.3 Andamiaje y regeneración de tejidos orales

2.3.1 Regeneración de tejidos dentino-pulpaes

Otro factor de importancia en la ingeniería tisular es un andamio que sirva como una matriz extracelular temporal para que exista una óptima función, nutrición, adhesión, proliferación y señalización celular. Se consigue esto «sembrando» células en este material poroso para así, permitir el crecimiento de las células en el material, que como finalidad terminará desarrollándose como un tejido normal y funcional.

Generalmente, se utilizan andamiajes compuestos por polímeros debido a su capacidad biológica, química y mecánica. A pesar de la gran variedad de andamiajes, existe en la actualidad una falta de información veraz, en relación a cuál debe ser la naturaleza de la estructura de soporte que se debe utilizar en las investigaciones con células madre. Como hipótesis, se propuso el uso de andamiajes de tipo PLG (ácido polilactico-co-glicolico), variando las porosidades, para investigar con células madre dentales (provenientes de conejo), para observar si se regeneran la pulpa y la dentina.

Con estos andamiajes en tejidos dañados, los odontoblastos son reemplazados por poblaciones de células parecidas y así regeneran tejidos tipo dentina/pulpa. Para confirmar esto, deciden regenerar este tipo de tejido, teniendo en cuenta la influencia del tipo de andamiaje utilizado.

Afirman los autores de esta investigación que, en un andamio, el diámetro de poros apropiado oscila entre 100 y 350 micras para hacer regeneraciones.

El uso del PLG demuestra que se produce regeneración de tejido dentinario/pulpar, y proponen variar el tamaño del poro según el área que se desea regenerar. Deducen que los poros más grandes son los más adecuados para regenerar tejidos mineralizados, mientras que los pequeños son mejores para estructuras más organizadas.

En otra investigación realizada por Tzong-Fu et al se decide llevar a cabo la regeneración de tejidos dentinarios y pulpares, con el propósito adicional de saber si estas estructuras, tras ser trasplantadas en mandíbulas de cerdos, tendrían algún tipo de función. Utilizaron un andamiaje a base de un tri-copolímero formado por gelatina, condroitina y ácido hialurónico, con un tamaño de poro uniforme de 180 micras.

Las células madre que fueron utilizadas eran provenientes del folículo dental (porcino) y, como resultado, demostraron la regeneración de un diente con la formación de raíz, dentina, pulpa, cemento e incluso, ligamento periodontal. En 36 semanas, se regeneraron dientes en dos de los seis cerdos. El resto de ellos presentó un tejido tipo dentina-hueso sin ningún tipo de organización dental o periodontal. Se observó que los dientes eran más pequeños de lo normal y sin presencia de esmalte.

Proponen que el tamaño de los dientes es proporcional al andamiaje utilizado, ya que las piezas dentarias regeneradas son de las mismas dimensiones del andamiaje. Por tanto, estos autores pudieron encontrar una estructura dentino-pulpar, con sus túbulos dentinarios e incluso, cemento y el ligamento periodontal unido al hueso.

Parecido al estudio anterior, otros investigadores tuvieron como objetivo formar coronas dentales mediante andamiajes que fueron insertados en la mandíbula de ratas, conteniendo células del folículo dental. Demostraron en un período de 12 semanas la formación de manera desorganizada de tejidos dentales: dentina, pulpa, ligamento periodontal y, a diferencia del anterior, encontraron esmalte. Como consecuencia, el andamiaje utilizado pudo haber influido en el resultado en comparación con la investigación anterior, aunque no mencionan las porosidades y diámetro de poros de la matriz. Se debe tener en cuenta también que este estudio fue hecho en un modelo animal de menor tamaño, y que se formaron varios dientes pequeños, en vez de una estructura un poco más organizada, como fue demostrado en el modelo animal porcino.

El andamiaje, pues, funciona mimetizando la arquitectura de la matriz extracelular de los tejidos «nativos», necesaria para la regeneración tisular. Una de sus desventajas es que aún no existe una adecuada señalización

celular de la regeneración, un aspecto que, como se ha mencionado previamente, es vital para el desarrollo de las células madre ya cultivadas.

Un estudio realizado por Yang et al comprueba que hay maneras de disminuir este problema, sumergiendo estas estructuras fibrosas en materiales naturales gelatinosos. Utiliza hidroxiapatita (HA) para observar si promueve el proceso de diferenciación y adhesión celular en una estructura de andamiaje de poly-e-caprolactone (PCL) y gelatina.

Se observa que la HA hace que se diluya y se precipiten iones de fosfato y calcio en la superficie de la fibra, haciendo que se forme un microambiente que se asemeja a la pulpa; estimulando la diferenciación odontogénica. En este estudio también se evidenciaron en las células madre de la pulpa dental expresiones que confirman su diferenciación, e incluso, comprueban que la HA aumenta la eficacia de la diferenciación celular.

También se detectaron expresiones genéticas, responsables de la mineralización de dentina y hueso. Hubo una variable que quizás se debería modificar en futuros estudios, la ausencia de homogeneidad de HA, ya que se aglomeraban entre las fibras de la matriz, en donde sería conveniente agregar un surfactante.

Otro estudio realizado por Yoshikawa et al, también realizado con células madre de la médula ósea en los poros de estructuras compuestas por HA, esta vez tratadas con laminina, observan la formación de tejidos duros. Utilizaron un andamio de HA con un centro hueco, sin mencionar el diámetro de poro.

Los resultados que obtuvieron estos investigadores son útiles para las regeneraciones a nivel de tejidos duros dentales o del complejo dentino-pulpar, ya que se comprueba que la laminina promueve la diferenciación celular y la osteogénesis. También cabe agregar que los autores de esta

investigación opinan negativamente sobre la utilización de células madre mesenquimales provenientes de la pulpa, afirmando que no hay suficientes células indiferenciadas en cada diente para regenerar una pieza dentaria.

Otro estudio afirma que en un diente se pueden conseguir suficientes células madre para su posterior aplicación regenerativa, aunque en el último, se refieren a las células madre provenientes del ligamento periodontal.

A diferencia de lo mencionado anteriormente, unos investigadores se propusieron generar un complejo periodontal denominado «bio-raíz», en donde utilizaron células madre de la papila apical y aquellas provenientes de ligamento periodontal, para una posterior colocación de una corona de porcelana en cerdos.

Demostraron una aumentada capacidad de regeneración de las células de la papila apical de dientes inmaduros en comparación con las células madre provenientes del ligamento periodontal.

Estas dos poblaciones celulares fueron trasplantadas a un «bloque» (con forma similar a una raíz) de hidroxiapatita/ fosfato tricálcico (HA/TCP). Esto fue colocado en el alveolo posterior a una extracción, y se pudo demostrar la presencia de ligamento periodontal y un tejido mineralizado parecido a la raíz. Luego, el lugar del trasplante fue abierto quirúrgicamente para la colocación de una corona de porcelana, cuya resistencia compresiva fue menor en comparación con la natural, aunque de igual manera, capaz de soportar la incorporación de una corona y realizar funciones normales.⁸

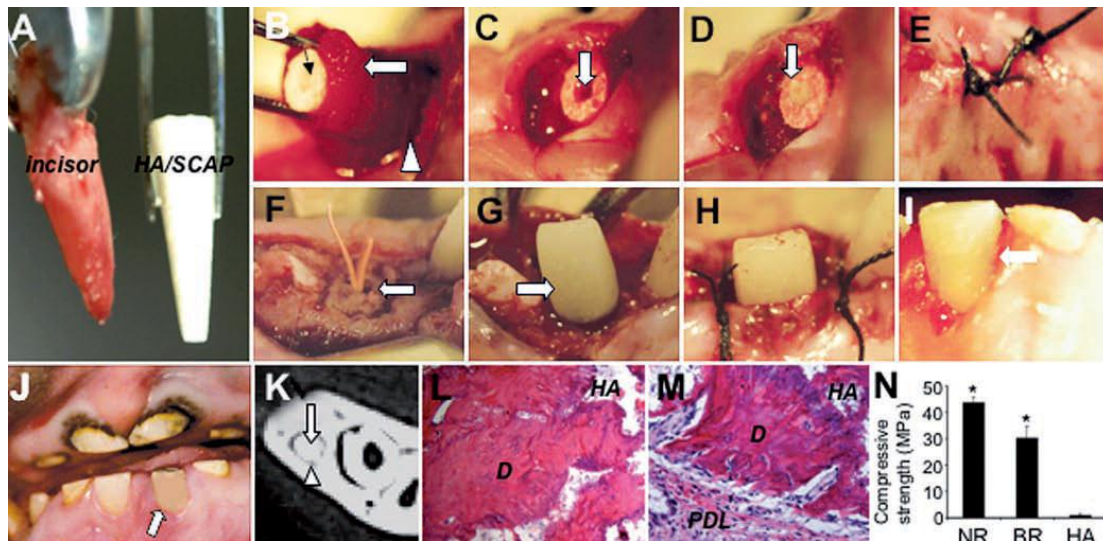


fig. 14 (A) Incisivo porcino extraído y estructura en forma de raíz, sembrada con células madre de la papila apical. (B) Andamio sembrado con células madre del ligamento periodontal, cubriendo el andamio cargado con células madre de la papila apical. Estas se implantan en el alveolo del incisivo inferior. (C) Implantación en el alveolo tras la extracción del incisivo inferior. Se observa un canal creado previamente en el centro del andamio (flecha). (D) Se sella el canal con un relleno temporal para cementar la corona de porcelana en el próximo paso. (E) Se sutura el implante para 3 meses. (F) Se expone el implante y se remueve el relleno temporal, descubriéndose de nuevo el canal del andamio. (G) Una corona prefabricada se cementa en la estructura. (H) Sutura de la porción expuesta (I, J) Tras cuatro semanas, se pudo observar cómo la corona se retuvo, tras el funcionamiento normal de esa pieza. (K) Después de 3 meses, el implante formó una estructura dura a nivel radicular en el área incisal, demostrada con la imagen de una tomografía computarizada. Se observa un espacio de ligamento periodontal entre el implante y el tejido óseo (flecha). (L, M) Se aprecia que el implante contiene dentina nuevamente regenerada dentro del implante (L) y tejido periodontal (PDL) en la parte externa (M). (N) Análisis de las fuerzas compresivas. Las bio-raíces nuevamente formadas tienen una mayor fuerza que el andamio original, pero menor que una raíz natural.

3. RECOLECCIÓN, AISLAMIENTO ALMACENAMIENTO Y PRESERVACIÓN DE DIENTES TEMPORALES SHED

La técnica es simple y no invasiva.

3.1 Recolección dental

Puesto que, la recolección de SHED es una decisión proactiva hecha por los padres, el primer paso es informales el procedimiento que se llevará a cabo, desde que el diente será puesto bajo criterios en solución estéril salina, se mandará al banco dental y esperaremos los resultados del mismo.

El diente deciduo deberá tener pulpa de color rojo, indicando que la pulpa recibió sangre hasta el momento en que fue removido, lo cual indica viabilidad celular. Un diente con movilidad ya sea por trauma o enfermedad a menudo tiene un suministro de sangre limitado y no son candidatos para la recolección de células madre.

Por esto es que es preferible la recolección de células madre de dientes deciduos después de una extracción a que sea cuando éste “está colgando de un hilo” con movilidad. Las células madre de la pulpa no deberán ser recolectadas de dientes con abscesos apicales, tumores o quistes.

En el caso de un evento en el procedimiento regular, el dentista visualiza e inspecciona el diente recién extraído para confirmar la presencia de tejido pulpar sano y posteriormente el diente será transferido a un contenedor con una solución salina de fosfato hipotónico. El cual provee nutrientes y ayuda a prevenir que el tejido se seque durante su transporte.

Se coloca el diente dentro de esta solución en un termo a temperatura baja la cual induce hipotermia. La solución es después cuidadosamente

sellada y así mantiene la muestra en este estado mientras se transporta. El procedimiento se describe como sustentación.



Fig. 15

La viabilidad de las células madre requiere de tiempo y temperatura y es requerida la atención cuidadosa para que la muestra siga viable. El tiempo entre la recolección de las células y su llegada a la instalación del almacenamiento no debe exceder las 40 horas.

3.2 Aislamiento de las células madre

Cuando el banco dental recibe la muestra, se realiza el siguiente protocolo.

- a) La superficie dental se limpia y se lava 3 veces con solución salina fosfatada de dulbecco sin calcio ni magnesio. (PBSA)
- b) La desinfección es realizada con yodo y lavada nuevamente con PBSA.
- c) Se aísla el tejido de la cámara pulpar con pequeños fórceps y un excavador estériles. Las células madre del tejido pulpar también pueden ser lavadas con solución salina.
- d) El tejido pulpar contaminado es colocado dentro de una caja de Petri estéril, el cual fue lavado las últimas tres veces con PBSA.

- e) El tejido es entonces procesado con colágena tipo I y disipada por una hora a 37°C. también puede ser utilizado Trypsin-EDTA.
- f) Las células aisladas se pasan a través de un filtro para obtener células simples en una suspensión.
- g) Después las células son cultivadas un medio de células madre mesenquimatosas (MSC). Este medio consiste en células esenciales con 2mM de glutamina y es suplementado con 15% de suero bovino fetal (FBS), 0.1Mm de ácido L-ascorbico fosfatado, 100u/ml de penicilina y 100ug/ml de estreptomina a 37°C y 5 % de CO₂ en aire. Normalmente las colonias aisladas son visibles después de 24 horas.
- h) Se pueden obtener diferentes líneas celulares, como células odontogénicas, células adipogénicas y células neurales haciendo cambios en las MSC.
- i) Si los cultivos son obtenidos con preparaciones no seleccionadas, pueden ser establecidas colonias de células con una morfología parecida a las células epiteliales o células endoteliales.

Confirmando el estado de salud y la viabilidad de estas células son dadas a los padres del donador.



Fig.16

3.3 Almacenamiento de las células madre

Según la investigación actual, existen dos métodos que se utilizan para el almacenamiento de células madre.

3.3.1 Criopreservación

La criopreservación, es el proceso de preservación de células o tejidos enteros por enfriamiento a temperatura bajo cero. Con esta temperatura de congelación, la actividad biológica se detiene, como en todos los procesos celulares que conducen a la célula a la muerte. Las SHED pueden ser almacenadas con éxito a largo plazo con la criopreservación y seguir siendo viables para su uso.

Las células recolectadas cerca del final de la fase de crecimiento son las mejores para la criopreservación. La muestra se divide en cuatro criotubos y cada parte se almacena un lugar separado en el sistema de criogenia de modo que incluso en el caso improbable de un problema, con las unidades de almacenamiento, habrá otra muestra disponible para su uso.

Las células se conservan en vapor de nitrógeno líquido a una temperatura de menos de -150°C . Esto preserva las células y mantiene su latencia y potencia. Un bajo o alto número de células podría decrecer la tasa de recuperación.



Fig. 17

3.3.2 Congelación magnética

La universidad de Hiroshima utiliza la congelación magnética en lugar de la criogenia. Esta tecnología es llamada CAS y explota el fenómeno poco conocido en el que un campo magnético débil de agua en los tejidos o células bajará el punto de congelación de ese órgano hasta en 06.07°C .

La idea de CAS es enfriar completamente un objeto a temperaturas bajo cero sin congelarse en el momento, por lo tanto garantiza, la temperatura baja distribuida sin que la pared celular tenga daños causados por la expansión del hielo, ni drenaje de nutrientes debido a la acción de capilaridad, como normalmente ocurre con la manera convencional de métodos de congelamiento.

Una vez que el objeto está uniformemente frío, el campo magnético se apaga y el objeto se congela al momento. La compañía de la universidad de Hiroshima afirma que puede incrementar la supervivencia de las células de un diente hasta de un 83%.⁶

3.4 BioEDEN

En el mundo, BioEDEN es el primer banco privado e internacional de células madre que extrae, evalúa, y criopreserva células viables de dientes deciduos.

Fundada en el 2006, BioEDEN ha establecido laboratorios para el procesamiento de células madre en el Reino Unido (para servir a Europa, India, y el Medio Oriente) y otro laboratorio en Estados Unidos de América (sirviendo a norte y centro América, Sudáfrica y Corea del Sur).

BioEDEN se especializa en la preservación de células madre dentales. Nuestro establecimiento en el Reino Unido tiene licencia completa y es regulado por La Autoridad de Tejido Humano (Human Tissue Authority – HTA). El laboratorio en EE.UU. también es estrictamente regulado pero por la Administración de Medicamentos y Alimentos (Food & Drug Administration – FDA). BioEDEN, Ltd es ISO 9001:2008 acreditada por el Departamento Británico de Evaluación (British Assessment Bureau).



Fig. 18 Sede y de la empresa en laboratorio Daresbury BioEDEN-ROM Inglaterra

3.4.1 Diferencias de células madre dentales con células madre del cordón umbilical

	CÉLULAS MADRE DENTALES	CÉLULAS MADRE CORDÓN UMBILICAL
TIPO DE CÉLULA MADRE	Mesenquimal	Hematopoyética
TRATAMIENTOS POTENCIALES	Regeneración de: <ul style="list-style-type: none"> • Músculo • Piel • Cartílago • Hueso • Hígado • dientes • células beta (diabetes) • tejido nervioso • tejido adiposo • tejido cardiaco • otros 	Únicamente enfermedades de origen sanguíneo: <ul style="list-style-type: none"> • Leucemias • Linfomas • Anemias • Otros
MULTIPLICACIÓN CELULAR	Se puede multiplicar en grandes cantidades para cualquier tipo de tratamientos (1×10^{40} de células)	No se pueden multiplicar en el laboratorio, por lo que el número celular es fijo y a veces las células no son suficientes para tratamientos en adultos
OPORTUNIDADES DE RECOLECCIÓN	Varias oportunidades para obtenerlas (20	Oportunidad única de obtención al momento

	dientes permanentes más algunos permanentes)	del nacimiento del bebe
PRESERVACIÓN	En BioEDEN México siempre recomendamos ambos tipos de células madre, pues de esta manera maximizamos el seguro biológico de nuestra familia y abarcamos varias de las enfermedades que se pudieran presentar en el futuro.	

3.4.2 Proceso de laboratorio

1. Recepción del Diente
2. Desinfección del Diente
3. Multiplicación Celular
4. Pruebas de Calidad Celular
5. Crio-Preservación de Largo Plazo¹⁰



Fig. 19

CONCLUSIONES

Con base en esta revisión bibliográfica, se concluye que el almacenaje de dientes deciduos exfoliados, terceros molares o dientes extraídos por razones ortodóncicas permite la utilización posterior de células madre dentarias.

La terapia regenerativa con células madre de dientes temporales surge como una nueva forma y revolucionaria para tratar enfermedades y lesiones con un amplio margen de beneficios médicos.

Es importante conocer los aspectos generales en relación al estudio de las células madre dentales y conocer los avances en materia de bioingeniería y sus aplicaciones.

Es de gran utilidad que el odontólogo conozca los aspectos generales y los procedimientos clínicos para la implantación de células madre dentales.

Las células madre dentales son de gran ayuda porque pueden ser utilizadas por el paciente sin problemas de rechazo en el tratamiento de diversas enfermedades.

Es por esto que se realizó este trabajo con el fin de dar a conocer los beneficios que ofrecen las células madre tanto en el ámbito de la medicina como en la odontología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Eugenia M. Células madre un nuevo concepto de medicina regenerativa. Disponible en: <http://bus.sid.cu/revistas/end/vol15n204/end07204.htm>
2. Oyarzún E. Células madre: Nuevas Fronteras para la medicina. Rev Chil Obstet Ginecol. 2005; 70 (4):211-212
3. Cruñas. A Estomatología Regenerativa. De las células madres a la ingeniería Tisular. (Internet) disponible en: www.16deabril.sid.cu/rev/230/articulo07.html
4. Avila Portillo LM. Stem Cells, corners of rejuvenescence. Clarifying concepts, Med IberLat Am 2012;40(1):3-10
5. Prosper F. Pérez A; Cosin J; Panizo A. Utilización de células madre en terapia regenerativa cardiaca. Rev. Med. Univ Navarra. 46 N°2, 2002: 24-28
6. Tomado de tesina Martínez R. Obtención de células madre provenientes de dientes deciduos y su aplicación clínica 2011 pag. 38, 47 y 48.
7. Toma de tesina González E. Aspectos generales al estudio de las células dentales 2011 pag. 24, 25, 36-45.
8. Sanguino D. Regeneración de tejidos orales mediante células madre. Gaceta Dental 231, dic 2011: 94-114
9. Elías R. odontología para Pacientes con Necesidades Especiales. 1ª ed. Madrid Una visión clínica. Editorial médica Ripano 2008. Pp 90 y 94.
10. Bioeden
11. Figura 1. tomada de <http://www.lascalulasmadre.es>
12. I Figura 2 tomada de <http://lascalulasmadre.es/tipos>
13. Figura 3 tomada de <http://www.taringa.net/posts/imagenes/3388383/La-Vida-a-traves-de-un-Microscopio.html>
14. Figura 4 tomada de <http://maee-bio.blogspot.mx/2011/01/celulas-madre.html>

15. Figura 5 tomada de <http://epigenome.eu/es/2,8,612>
16. Figura 6 tomada de <http://www.ortodonciaintegral.com.mx/bioeden/index.html>
17. Figura 7 tomada de www.newswise.com
18. IFigura 8 tomada de <http://www.gacetadental.com/noticias>
19. Figura 9 tomada de http://ortodonciaparatodos.mex.tl/399571_Celulas-Madres-Dentales.html
20. Figura 10 tomada de <http://odontored.wordpress.com/2011/08/11/%C2%BF-que-es-el-ligamento-periodontal/>
21. Figura 11 tomada de <http://dentistaroquetas.blogspot.mx/2009/03/10-palabrotas-dentales.html>
22. Figura 12 tomada de <http://www.gacetadental.com/noticia/>
23. Figura 13 tomada de <http://implantadococlear.blogspot.com/2009>
24. Figura 14 tomada de Sanguino D. Regeneración de tejidos orales mediante células madre. Gaceta Dental 231, dic 2011
25. Figura 15 tomada de <http://bioeden.wordpress.com/el-proceso/%C2%BFcomo-son-recolectados-los-dientes/>
26. Figura 16 tomada de <http://www.deltadent.es/blog/2012/04/14/los-dientes-de-leche-se-deben-empastar/>
27. Figura 17 tomada de <http://volumenextremo.com/?p=758>
28. Figura 18 tomada de <http://www.bioeden.si/o-podjetju/>
29. Figura 19 tomada de <http://www.bioeden.es/proceso-bioeden/laboratorio/>