



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**CÉLULAS MADRE, UNA ALTERNATIVA EN MEDICINA
REGENERATIVA**

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:

SANDRA BÉLEN LEAL GARCÍA

TUTOR: Esp. LILIA ESPINOSA VICTORIA

MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

LA VIDA ES UN SENDERO LLENO DE AVENTURAS Y PEQUEÑAS PRUEBAS QUE NECESITAN SER SUPERADAS PARA CRECER Y FORTALEZAR AL SER HUMANO CONFORME TRANSCURRA SU TIEMPO.

EL IR EVOLUCIONANDO FISICAMENTE E INTELECTUALMENTE CONLLEVA CAMBIOS BUENOS Y ALGUNOS NO TAN BUENOS PERO NECESARIOS PARA EVOLUCIONAR Y SEGUIR ANDANDO HACIA NUEVOS HORIZONTES; COSECHANDO NUEVOS Y VALIOSOS PROYECTOS.

TODA PERSONA QUE PRETENDA RECORRER EL SENDERO DE LA VIDA REQUIERE DE UNA ARMA MUY VALIOSA: LA PERSEVERANCIA... Y EL AMOR A LO QUE HACE DÍA CON DÍA.

HOY DESPUÉS DE ALGÚN TIEMPO CONCLUYO ESTÉ MI PEQUEÑO Y GRAN PROYECTO.

AGRADESCO A DIOS POR PERMITIRME LLEGAR AQUÍ Y DAR ESTE PASO, DANDOME SIEMPRE MUESTRAS DE SU PRESENCIA EN MI VIDA.

A MI MADRE POR LA OPORTUNIDAD DE VIVIR Y SU ESFUERZO BRINDADO.

A MI CHIPI POR NO DEJARME SOLA, POR SU CARIÑO, CONFIANZA, APOYO Y POR CREER SIEMPRE EN MI Y EN LO QUE HAGO.

A MI HERMANO POR ESTAR CONMIGO Y BRINDARME SU APOYO.

A MI ABUE MAMI POR BRINDARME SU CARIÑO Y POR SUS PORRAS DE SEGUIR ADELANTE ... "SIEMPRE ECHANDOLE GANAS"

A MI FAMILIA ENTERA: TIOS, PRIMOS QUE CON UNA PALABRA ME ALENTARON SIEMPRE CREYENDO EN MI.

A MI TUTORA EN ESTE TRABAJO; LA ESP.LILIA, POR SU AYUDA, PACIENCIA Y POR LOS CONOCIMIENTOS QUE TOMÉ DE ELLA AL REALIZAR MI SERVICIO SOCIAL. GRACIAS.

A MIS AMIGAS QUE CURSARON CON MIGO ESTE TIEMPO MI ETAPA UNIVERSITARIA, QUE NO LAS NOMBRO A TODAS POR NO OMITIR ALGUNA, PERO SABEN CADA UNA A QUIEN ME DIRIJO; A ELLAS MUCHAS GRACIAS PUES LLEGARON JUSTO EN EL MOMENTO ADECUADO A BRINDARME UNA MANO, UNA SONRISA O UN BUEN CONSEJO.

A TODAS LAS PERSONAS QUE ME BRINDARON SU AYUDA EN EL MOMENTO JUSTO; DE FORMA DIRECTA O INDIRECTA.

A ESTA INSTITUCIÓN QUE ME ABRIÓ LAS PUERTAS PARA ADQUIRIR NUEVOS CONOCIMIENTOS.

*A TODOS Y SIN OMITIR A ALGUNO
iiiiiiiiiiii MUCHAS GRACIAS!!!!!!!!!!!!!!
~~~LOS QUIERO~~~*

*ORGULLOSAMENTE UNAM.*

## INDICE.

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| <b>INTRODUCCIÓN</b>                                       | 5  |
| 1. Objetivos                                              | 7  |
| 2. Células madre                                          | 8  |
| 3. Embriología                                            | 13 |
| 4. Odontogénesis                                          | 17 |
| 4.1 Biología molecular reguladora                         | 21 |
| 5. Fuentes de obtención                                   | 26 |
| 5.1 Proceso de recolección                                | 30 |
| 6. Proceso de conservación<br>(Manipulación experimental) | 32 |
| 7. Perspectivas sobre su uso terapéutico                  | 42 |
| 8. Conclusiones                                           | 50 |
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b>                                       | 51 |



## INTRODUCCIÓN

El presente trabajo expone de manera global lo que hoy en día ha causado tanta polémica y pone a la expectativa de cualquier avance o descubrimiento al personal involucrado en el área de la salud como es la terapia celular a base de "células madre," la cual tiene la capacidad de dividirse indefinidamente y diferenciarse a distintos tipos celulares no sólo morfológicamente sino funcionalmente.

Consideramos a la célula como la unidad funcional de todo organismo vivo, y posee la capacidad de formar un linaje celular hasta un embrión completo y a su vez llevar a cabo diversas funciones que mantengan o prolonguen la vida misma.

En el ser humano el término "regeneración" se ha usado clásicamente para describir el proceso mediante el cual un tejido especializado que se ha perdido es remplazado por la proliferación de células especializadas que no están dañadas.

Aquí entra la medicina regenerativa que se ha desarrollado considerablemente en los últimos años vinculándose estrechamente con la ingeniería de tejidos a base de células madre. Que podemos encontrar en: medula ósea, musculo esquelético, tejido adiposo, pulpa dental, ligamento periodontal, limbo corneal y cordón umbilical.

Su preservación es delicada pues cada célula tiene que mantenerse en estado indiferenciado para su utilización una vez que se requiera. Las medidas terapéuticas empleadas pueden incluir trasplante, terapia génica e ingeniería de tejidos. En la actualidad, el método más empleado es el trasplante de células madre adultas.



Actualmente el campo odontológico no se encuentra tan alejado con respecto a la obtención e investigación sobre las mismas. El desarrollo dental se produce a través de la interacción entre el cráneo y la cresta neural derivada de las células mesenquimales y epiteliales.

Recientemente, se han identificado poblaciones de células madre en pulpa dental (DPSC) y dientes humanos deciduos exfoliados (SHD); clasificándose como células multipotenciales con capacidad de autorenovación y diferenciación en células como adipocitos, células neuronales y odontoblastos. Que presentan una alternativa en regeneración de hueso útil en enfermedad periodontal principalmente.



## OBJETIVOS

- Documentar la información actual sobre la terapia con células madre.
- Conocer los métodos de obtención, conservación y usos terapéuticos de las células madre.



## CÉLULAS MADRE

La célula es la unidad básica para desarrollar vida, pues es la estructura primordial que realiza funciones como nutrición y replicación.<sup>1</sup>

La célula madre o también llamada troncal la podemos definir como la célula con capacidad de autoreplicarse indefinidamente por división celular (autorenovación) y bajo condiciones microambientales adecuadas hacia diferentes tipos de células especializadas, morfológicamente y funcionalmente.<sup>2</sup> Figura 1

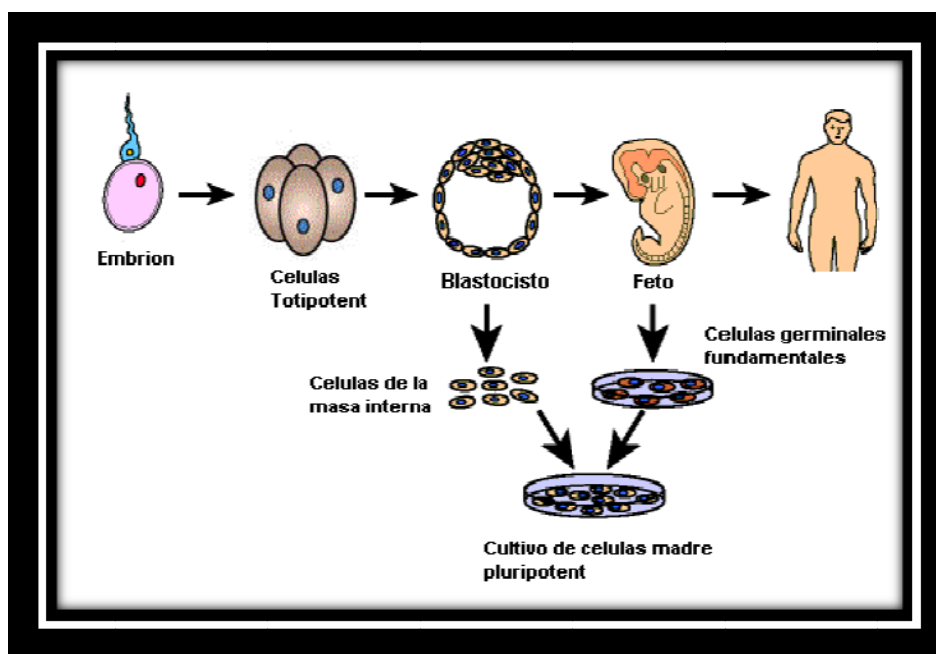


Fig. 1 Ejemplificación de la obtención de células madre<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Disponible en: <http://www.encarta.com>

<sup>2</sup> Disponible en: [http://www.embrios.org/celulasmadre/definicion\\_celula\\_madre.htm](http://www.embrios.org/celulasmadre/definicion_celula_madre.htm)

<sup>3</sup> Disponible en: <http://www.galileog.com/ciencia/biologia/celulas/celmad3.htm>



Contando con características como la transdiferenciación o plasticidad, refiriéndonos a plasticidad como la capacidad de generar grupos celulares diferentes a los tejidos de origen, como las células hematopoyéticas que pueden dar lugar a células hepáticas, nerviosas y musculares; las células mesenquimales pueden originar osteoblastos y adipocitos.

La autorenovación y la diferenciación son características de las células madre que varían entre los diferentes tipos celulares según el tejido en el que se encuentren.

El estudio de su biología nace en 1916 cuando Danchakoff describe la presencia en la médula ósea de células precursoras de otras.<sup>4</sup>

Las primeras evidencias científicas registradas; provienen de estudios realizados por Till y McCulloch a finales de los 50, en células madre hematopoyéticas.

En 1988, los científicos de la Universidad de Wisconsin consiguieron células madre embrionarias humanas. Desde el año 1989 se utilizan las células madre del cordón umbilical para más de 75 enfermedades malignas y benignas.<sup>5</sup>

Las células madre se han clasificado en dos grupos. Por un lado, las células madre embrionarias (Embryonic stem o ES cells) que derivan de la masa celular interna del embrión en estadio de blastocisto (7-14 días), y son capaces de generar todos los diferentes tipos celulares del cuerpo, por ello

---

<sup>4</sup> Acevedo-Toro PA, C.-M. M. (septiembre de 2008). Células madre: generalidades, eventos biológicos y moleculares. *IATREIA*, 21(3), págs. 292-293.

<sup>5</sup> Prósper F, G. J., & col, y. (2006). Cell transplan and regenerative therapy with stem cells. *an. sist.sanit. navar*, 29(2), pp. 220-221.

son llamadas pluripotenciales. De estas células se derivaran, tras muchas divisiones celulares, las células madre órgano-específicas que son multipotenciales, capaces de originar las células de un órgano concreto en el embrión y en el adulto. El ejemplo más claro de este grupo, es el de las células de la médula ósea, que son capaces de generar todos los tipos celulares de la sangre y del sistema inmune.<sup>6</sup>

A las células las podemos clasificar según su potencial de diferenciación en: totipotenciales capaces de producir tejido embrionario y extraembrionario; pluripotenciales que puede dar tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias y multipotenciales que puede dar distintos tipos celulares de la misma capa embrionaria.<sup>7</sup>



Fig.2 Célula madre en las primeras etapas de desarrollo embrionario.<sup>8</sup>

<sup>6</sup> Prósper f, art.cit. pág293

<sup>7</sup> Cortez Romero J.L. (2008). *Tesis Doctoral "Células madre embrionarias: aspectos ético-legislativos y desarrollo de una nueva metodología para la derivación de líneas celulares embrionarias"*. Granada, España: Universidad de Granada, departamento de anatomía y embriología humana. pp12

<sup>8</sup> Disponible en: <http://myprofeciencias.wordpress.com/2011/05/10/las-clulas-madre/>



Las características esenciales que permiten que una célula se defina como célula madre son las siguientes:

- a) Deriven de células pluripotenciales del blastocito
- b) Células diploides estables que poseen un cariotipo normal cuando se encuentran in vitro.
- c) En estado embrionario sepropagan de forma indefinida en estado indiferenciado por lo que son capaces de experimentar un número ilimitado de divisiones mitóticas simétricas sin diferenciarse.
- d) Sudiferenciación puede ser de forma espontánea, dando lugar a múltiples células en las tres capas germinales embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo).
- e) La diferenciación se puede llevar a cabo si son transplantadas integrándose en todos los tejidos.
- f) En condiciones apropiadas se puede diferenciar in vitro de forma dirigida.<sup>9</sup>

Para ser considerada pluripotencial debe ser capaz de diferenciarse y demostrar funcionalidad en vivo e in vitro y finalmente producir un asentamiento claro y persistente de estas células en el tejido diana, tanto en presencia como en ausencia de daño en los tejidos donde se injerta.<sup>10</sup>

Las células madre tienen la capacidad de expresar ciertos marcadores en su superficie denominados transcripcionales, así como receptores de factores de crecimiento o la producción de sustancias, receptores de factores de crecimiento. Estas células expresan el gen oct-4 que está envuelto en el mantenimiento del estado indiferenciado y de la pluripotencialidad.<sup>11</sup>

---

<sup>9</sup> Cortez Romero J.L, op cit. pp24

<sup>10</sup> Prósper F, V. C. (septiembre -diciembre de 2003). Adult stem cell. *an sist sanit navar*, 26(3), pp.347

<sup>11</sup> Prósper f, v. c. (2004). células madre adultas: fuentes, características y perspectivas sobre su uso terapéutico. (f. m. medicas, Ed.) *monografias humanitas*, 4, pp9



Estas células pueden derivar de la masa celular interna o de células germinales primordiales (células germinales embrionarias). En los adultos, se han aislado células madre de tejidos como: médula ósea, músculo esquelético, el cerebro y la grasa.

En respuesta a combinaciones específicas de agentes exógenos, como mezcla de factores de crecimiento añadidas al medio de cultivo, pueden ser inducidas a diferenciarse en tipos específicos de células adultas, como: leucocitos, eritrocitos, neuronas, músculo esquelético, cardíaco o cartílago.<sup>12</sup>

Se han descrito diferentes tipos de células madre en la médula ósea: hematopoyéticas (HSC), mesenquimales (MSC), y recientemente las células progenitoras adultas multipotenciales o MAPCs<sup>13</sup>

---

<sup>12</sup>Carlson Bruce M, M. p. (2009). *Embriología humana y embriología del desarrollo*. Barcelona, España: Elsevier.pp54

<sup>13</sup>Prósper F, V. C. (septiembre -diciembre de 2003). Adult stem cell. *an sist sanit navar*, 26(3), págs. 345-356. Pp348

## EMBRIOLOGÍA

Para conocer el origen y la naturaleza de las células madre hay que tomar en cuenta que todo humano empieza su formación en el momento de la fecundación, unión entre un ovulo (célula de reproducción femenina) y el espermatozoide (célula de reproducción masculina).<sup>14</sup>

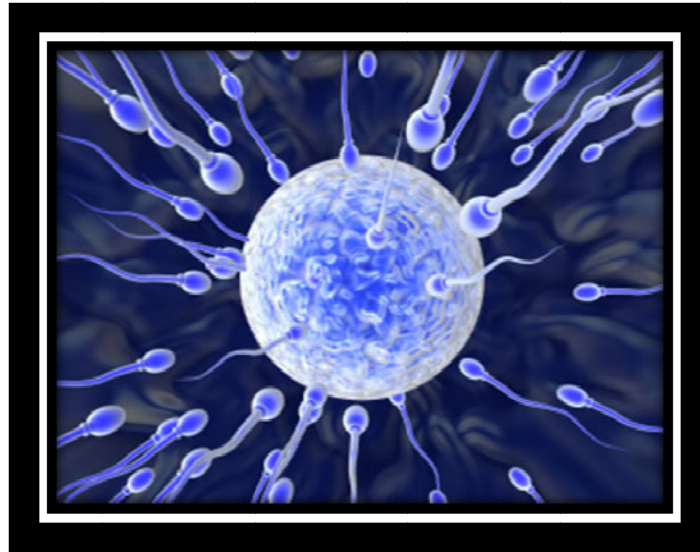


Fig. 3 Fecundación: ovulo+ espermatozoide.<sup>15</sup>

El cigoto formado experimenta un cambio metabólico llamado segmentación que dura varios días, avanzando en desarrollo de una división celular diaria los 2 primeros días. Una vez constando el embrión de 16 células se denomina mórula (latín mora).

Alrededor del 4 día el embrión está rodeado de una membrana pelúcida constando de dos tipos de células: una capa externa (trofoblasto) que a su vez rodea a una masa celular interna. Estas darán origen al cuerpo

<sup>14</sup>Cortez Romero J.L., op.cit.pág 24-25

<sup>15</sup><http://www.colombia.com/tecnologia/noticias/sdi/32632/celulas-madre-que-producen-ovulos-fertiles-en-mujeres-adultas>

mismo del embrión y algunas estructuras; y las células del trofoblasto formaran estructuras extraembrionarias incluyendo la placenta.

Aquí interviene el factor de crecimiento fibroblástico -4 secretado por células de la masa celular interna, que participa en la actividad mitótica.<sup>16</sup>

Al implantarse la mórula en la cavidad uterina, entra líquido, desplazando la masa celular a un polo donde se forma una cavidad: el blastocele. La masa celular que queda interna se llama ahora embrioblasto y la masa celular externa trofoblasto.

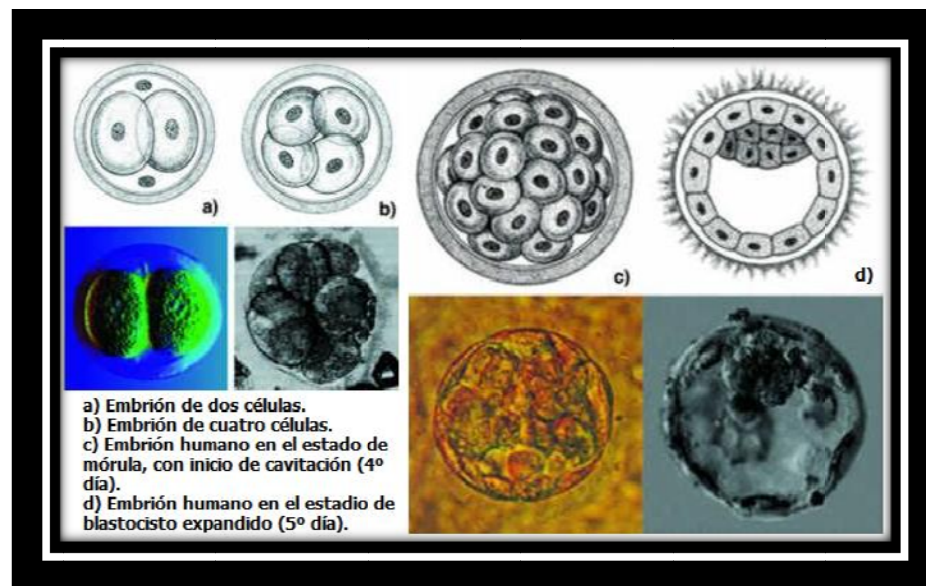


Fig. 4 Primeras divisiones celulares después de la fecundación.<sup>17</sup>

<sup>16</sup>Carlson Bruce M, M. P. op.cit.pág43-44

<sup>17</sup> Disponible en: <http://www.sindioces.org/sociedad/stemcell.html>



Al entrar a la etapa de gastrulación se forman las 3 hojas germinativas. Comienza por la formación de la línea primitiva en la superficie del Epiblasto. Donde sus células migran hacia la línea primitiva para formar el Mesodermo y el Endodermo. Secuente se invagina y se desliza al Hipoblasto dando origen al Endodermo. La subdivisión de la masa celular interna da lugar al cuerpo del embrión. Rico en células madre de origen embrionario, que se encuentra en la etapa de dar origen a cualquier linaje celular, tejido u órgano.

Se presenta un movimiento de las células por la línea primitiva que da lugar al surco primitivo, que en el extremo anterior presenta acumulación celular llamada nódulo primitivo o nódulo de Hensen, siendo el mayor centro de señalización posterior, y estas células que migran son canalizadas a células mesenquimatosas, formando la notocorda y hacia un grupo anterior, placa precordial.

La notocorda tiene la forma de una varilla y ejerce un papel inductor para la formación del SNC. Las células de la lámina proliferan y forman la notocorda definitiva que se encuentra por debajo del tubo neural y sirve de base para el esqueleto axial.<sup>18</sup>

La placa neural se extiende hacia la línea primitiva; al finalizar la 3ª semana y los bordes laterales forman los pliegues neurales que se acercan a la línea media y se fusionan en la región del futuro cuello avanzando en dirección cefálica y caudal formando el tubo neural. Se completa el proceso de neuralización y el sistema nervioso central (SNC) está representado por

---

<sup>18</sup>Sadler TW, P. D. *Langman Embriología Médica*. USA, 11ª. Ed. Lippincott Williams & Wilking. 2010. pp.55



una estructura tubular caudal: la médula espinal; y una porción craneal más ancha: las vesículas cerebrales.<sup>19</sup>

Cuando los pliegues neurales se elevan y fusionan, las células del borde lateral forman la cresta neural que a su vez originará: ganglios espinales, células de Schwann, meninges, melanocitos, médula de la glándula suprarrenal, huesos y estructuras craneo faciales.<sup>20</sup>

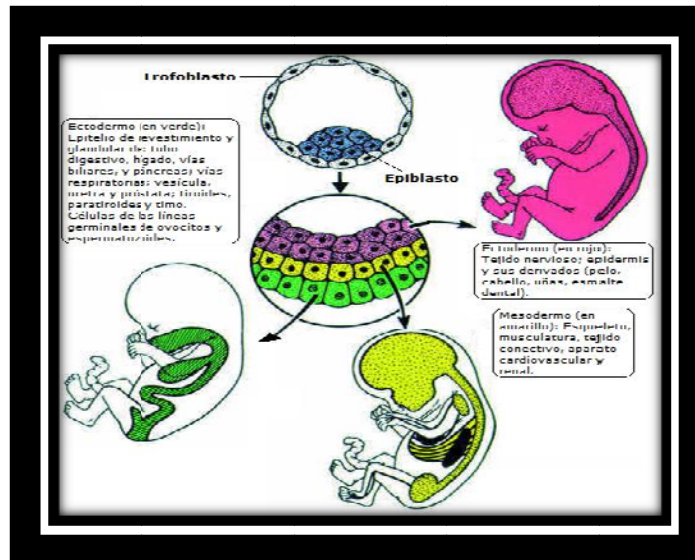


Fig. 5 Estructuras derivadas de las diferentes capas germinales.<sup>21</sup>

<sup>19</sup> Sadler T.W, op.cit. pp61-64

<sup>20</sup> Ib. pp.67-71

<sup>21</sup> Disponible en: <http://www.sindioses.org/sociedad/stemcell.html>

## ODONTOGENESIS

En odontología las células madre son aisladas a partir de extractos de ligamento periodontal y depulpas de órganos dentarios exfoliados (SHED). estas células pueden formar estructuras que parecen complejos pulpa-dentina y ligamento periodontal, cemento radicular respectivamente, o pueden participar en procesos de reparación.<sup>22</sup>

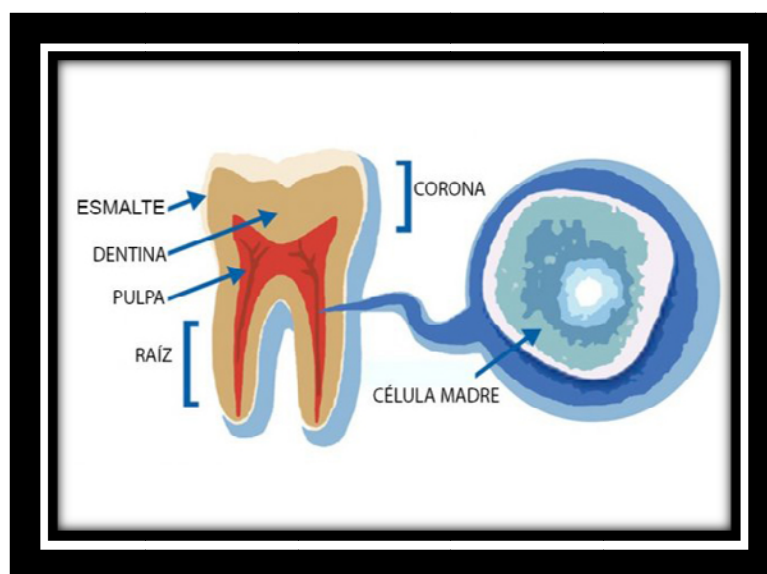


Fig.6 Obtención de células madre de pulpa dental.<sup>23</sup>

La odontogénesis es el proceso embriológico que dará lugar a la formación del germen dental, donde intervienen los tejidos ectodermo y mesodermo, separados por la capa basal.<sup>24</sup>

<sup>22</sup>Magallanes-fabián M, C.-R. B.-P. (Marzo de 2010). Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. *Revista Odontologica Mexicana*, 14(1), págs. 15-16.

<sup>23</sup>Disponible en: <http://www.vidaideasegura.com/?p=9361>

<sup>24</sup>Boj J.R., y col. *Odontopediatría: la evolución del niño al adulto joven*. Madrid España: Ripano.2011.pp.70



Las estructuras dentales tienen un patrón de crecimiento único y de gran estabilidad metabólica; este periodo comienza en el segundo trimestres de embarazo extendiéndose hasta después del nacimiento.

Todo empieza en la región cefálica, las células de la cresta neural migran ventralmente hacia los arcos branquiales, donde interaccionan con los tejidos circundantes constituyendo el ectomesenquima que va a contribuir al desarrollo facial.

La proliferación y el engrosamiento de dicho epitelio y la consiguiente formación de la banda epitelial primaria, ponen de manifiesto el desarrollo dental, fenómeno llamado interacción epitelio-mesenquimal.

Los tejidos dentarios derivan del mesodermo y de la cresta neural (formando la papila dental, cementoblastos y fibroblastos) como del ectodermo oral (que constituirá el órgano del esmalte y los ameloblastos).

Durante la 4<sup>a</sup>-6<sup>a</sup> semana de desarrollo embrionario aparecen áreas de engrosamiento del ectodermo del estomodeo o boca primitiva y constituye la banda epitelial primaria para formar dos arcos en forma de herradura, uno en maxilar y otro en la mandíbula, la llamada lámina dental.<sup>25</sup>

Aparece una extensión media de lámina ectodérmica que dará origen a los dientes. La dentición primaria se origina a partir de una invaginación en forma de herradura del epitelio bucal hacia el mesénquima llamada lámina dental epitelial primaria. Las extensiones distales de esta banda formaran los molares permanentes en los cuatro cuadrantes.

Hay expansión de la capa basal del epitelio que dará origen a la lámina dental del germen dentario, a lo largo aparecen 20 lugares

---

<sup>25</sup>Barberia Leache E, op.cit.pp.54-55



específicos, donde las células más internas del epitelio adyacentes tendrán mayor actividad, etapa llamada de brote.<sup>26</sup>

En la lámina dental hay proliferaciones ectodérmicas, las células mesenquimatosas sufren un proceso de condensación que constituirá la papila dental. El extremo posterior de la lámina dental continúa su crecimiento profundizando en tejido conjuntivo llamándose lámina sucesiva o definitiva, ya que proveerá los brotes de los dientes permanentes que no tienen predecesores deciduos.

En la 10ª semana; la superficie profunda de los brotes se invagina y constituye el órgano del esmalte que adopta la forma de caperuza o casquete. Cada esbozo dentario está constituido por: órgano del esmalte (origen epitelial), papila dental (ectomesenquimal), rodeados por el folículo dental (mesodérmico).

El órgano del esmalte posee 4 capas:

- Epitelio dental externo, son células cuboidales en contacto con el folículo en desarrollo.
- Retículo estrellado, células polimórficas incluidas en una matriz fluida.
- Epitelio dental interno, que se transformará en ameloblastos encargados de producir esmalte.
- Estrato intermedio, ayuda a los ameloblastos a formar esmalte.

Las células del germen se especializan. La membrana basal en cuyo interior se expande el retículo estrellado se organiza para la posterior formación del esmalte.

---

<sup>26</sup>Boj J.R., op.cit.pp.70-71



La lámina dentaria del diente temporal se va construyendo progresivamente hasta semejarse a un cordón, a la vez que comienza a emitir una extensión que dará lugar al diente permanente.

Hay formación de los tejidos duros del diente, esmalte y dentina. La lámina dental se desintegra y el diente continua separado del epitelio oral. Los preodontoblastos se alejan del preameloblasto y de su membrana basal hacia la papila y extienden sus fibras de Tomes hacia los preameloblastos. El área que hay entre ellos se llena de fibras de colágeno largas llamadas fibrillas de von korff y son la primera matriz para la dentina o preentina. La dentina se deposita alrededor de estos procesos celulares y después de la calcificación pasa a formar túbulos de dentina.<sup>27</sup>

Los pre ameloblastos se diferencian y producen esmalte. Después de que se haya formado la primera capa de dentina comenzará el periodo de amelogénesis o de aposición.

Todo el proceso de histodiferenciación y de morfodiferenciación se halla regulado por algunas proteínas estructurales: syndecan y tenascin o de factores reguladores int-2 o hox-7 resultando de la activación de diferentes genes.

La calcificación o mineralización dentaria comprende la precipitación de sales minerales (calcio y fosforo) sobre la matriz tisular previamente desarrollada.<sup>28</sup>

La formación de los tejidos duros de la raíz comienza cuando las células mesenquimales situadas fuera del diente y en contacto con la dentina

---

<sup>27</sup> Barberia Leache E, op.cit.pp56-58

<sup>28</sup> Boj J.R., op.cit.pp.73-76



de la raíz se diferencian en cementoblastos que fabrican una matriz que posteriormente se mineraliza y forma una delgada capa especializada llamada cemento sobre la dentina.<sup>29</sup>

Empieza su constitución cuando acaba de formarse el esmalte de la corona, al 6º mes pos-parto. Las células del asa cervical aumentan el número de sus mitosis, profundizan en el mesénquima englobando a la papila dental construyendo la vaina radicular epitelial de hertwig que determina el número, tamaño y la forma de las raíces por la subdivisión de la capa radicular.

Al crecer la raíz la vaina radicular se fragmenta y prácticamente desaparece. Fuera del cemento, el mesénquima que reviste el folículo dental da origen al ligamento periodontal junto con la matriz de los cementoblastos, y las criptas óseas donde se desarrollan los dientes y donde erupcionan.<sup>30</sup>

## **BIOLOGIA MOLECULAR**

Durante el proceso de embriogénesis intervienen genes codificadores para ciertos marcadores que influyen de forma específica en la señalización, desarrollo, y expresión celular para que se pueda desencadenar una función.

El gen oct-4 se expresa en todas las blastómeras hasta la fase de mórula. Esta proteína se piensa tiene la función reguladora en el mantenimiento del estado indiferenciado y en establecimiento de las células germinales y la conservación de la pluripotencialidad. En su ausencia se diferencian las células en trofoblasto.

---

<sup>29</sup> Barberia Leache E., op.cit.pp59

<sup>30</sup> Ib. pág. 60



Otro gen importante es nanog, aparece primero en la mórula tardía y ayuda a mantener la integridad celular. En su ausencia las células de la masa interna se diferencian en endodermo primitivo (hipoblasto).<sup>31</sup>

Las moléculas que regulan el desarrollo pueden permanecer dentro de la misma célula que las produce y actúan como factores de transcripción. Muchas de estas proteínas se denominan factores de crecimiento que para inducir un efecto se unen como ligandos a moléculas receptoras que son proteínas transmembrana.

Existen los llamados Factores de Transcripción suelen ser fundamentales en la iniciación de expresión en los genes que dan lugar a los cambios principales durante el desarrollo, activando u oprimiendo funciones.

El ser humano posee 39 genes homeobox homólogos denominados *hox* que juegan un papel importante en la segmentación rostrocaudal del cuerpo. Dirigiendo en muchas ocasiones la ubicación de ciertas partes del cuerpo.

Los genes se activan y expresan de acuerdo a una secuencia estricta en dirección 3' -5' y siguiendo sus posiciones en los cromosomas. Su función consiste en el establecimiento de diversas estructuras a lo largo del eje corporal principal. A continuación se describen a grandes rasgos sus principales funciones a desempeñar; de los más sobresalientes:<sup>32</sup>

El Gen *pax* desempeña varias funciones importantes en los órganos de los sentidos y en el sistema nervioso en desarrollo, participa en proceso de diferenciación que implica transiciones epitelio-mesenquimatosas.

---

<sup>31</sup>Carlson Bruse M., op.cit.pp47

<sup>32</sup> Ib.pp67-68



Las proteínas Lim participan en la fase de formación de casi todo el cuerpo. Su ausencia da lugar a que se desarrollen embriones sin cabeza.

El Gen Dlx: actúa en asociación estrecha con el gen Hox además de intervenir en la morfogénesis

El Gen Msx: desempeña la acción en interacciones epitelio mesénquima de los miembros y de la cara. Son inhibidores generales de la diferenciación celular en el desarrollo prenatal y mantienen la capacidad proliferativa de los tejidos en la vida postnatal.

La familia génica T-Box nombrado por el locus braquiuro (T), el humano posee 18 genes de este tipo, los cuales ayudan al desarrollo y la inducción de la capa germinal mesodérmica y la especificación de un miembro.<sup>33</sup>

Familia del factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), algunas de sus funciones en TGF- $\beta$ 1 a TGF- $\beta$ 5 son: inducción mesodérmica proliferación de mioblastos. Inhiben de la secreción de gonadotropinas por la hipófisis.

Factor neurotrófico derivado: inducción del crecimiento del esbozo uretral, colonización neural del intestino de la línea de células gliales.

Lefty: lleva a cabo la determinación de la asimetría corporal.

He aquí algunos factores y su principal relevancia:

(FGF) sustancia que estimula crecimiento de los fibroblastos en cultivo.<sup>34</sup>

---

<sup>33</sup> Ib.pp.70

<sup>34</sup> Carlson Bruse M., op.cit.pp72-73





FGF-1 estimulación de la producción de queratinocitos, inducción hepática inicial.

FGF-2 estimulación de la producción de queratinocitos, estimula la proliferación del mesénquima de los maxilares, inducción hepática temprana, inducción de los túbulos renales.

FGF-4: funciona durante el mantenimiento de la actividad mitótica en el trofoblasto, cresta ectodérmica apical en crecimiento de los miembros, esbozo del esmalte en los dientes en desarrollo, estimula la proliferación del mesénquima de los maxilares.

FGF-5 estimula la formación de la placoda ectodérmica

FGF-8 participa en la inducción temprana de los dientes, estimula la proliferación del mesénquima de la cresta neural en la región frontonasal, estimula la proliferación del mesénquima de los maxilares, inducción de las papilas filiformes de la lengua, inducción hepática temprana, crecimiento del tubérculo genital.

La familia Wnt desempeña importantes papeles durante el periodo de gastrulación cuando muchos esbozos de órganos están adquiriendo su forma, estimula la proliferación celular necesaria para que las estructuras tomen proporciones normales. En el desarrollo tardío actúan en procesos relacionados con la diferenciación celular y la polaridad.<sup>35</sup>

El factor BMI-1 regula la expresión de p16 (Ink4a) y ARF, genes supresores de tumores identificados como bio marcadores del envejecimiento celular, la expresión anormal se asocia con la autorenovación

---

<sup>35</sup>Carlson Bruse M., op.cit.pp74-75

en CMH de ratones, puesto que detiene la proliferación y lleva a la apoptosis. Actúan como reguladores de las proteínas retinoblastoma controlando la diferenciación envejecimiento y supervivencia.<sup>36</sup>

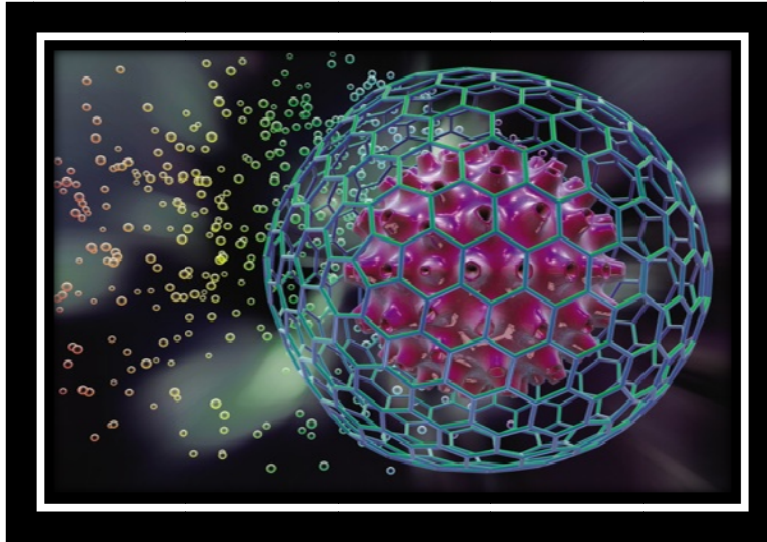


Fig. 7 Expresión de marcadores en las células madre.<sup>37</sup>

<sup>36</sup>Acevedo Toro P.A., art.cit.pp.300

<sup>37</sup>Disponible en:<http://biopolo.blogspot.mx/2011/01/fotos-celulas-madre.html>

## FUENTES DE OBTENCIÓN

Las células madre las podemos encontrar en tejido hematopoyético, neuronal, epidérmico, gastrointestinal, músculo esquelético, músculo cardiaco, hígado, páncreas y pulmón.

El crecimiento de células progenitoras humanas de la medula ósea y sangre periférica (PB) fue descrito por vez primera en 1970.

Los tipos de colonias de células más primitivas también pueden ser obtenidas de cultivos humanos o de colonias de células blásticas; sin embargo, los usos clínicos son limitados por la baja frecuencia de estos tipos de colonias y por problemas asociados con su precisión cuantitativa.

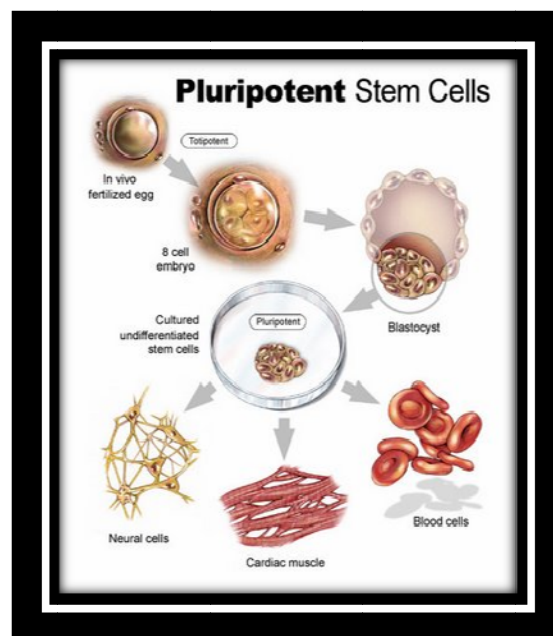


Fig. 8 Ejemplos de tejidos derivados de células madre pluripotentes.<sup>38</sup>

<sup>38</sup> Disponible en <http://www.tuylasalud.wordpress.com>



Células madre hematopoyéticas (HSC), identificadas tanto in vivo como in vitro, en ratones de laboratorio como las células que expresan marcadores Sca-1, Thy-1, c-Kit y no expresan marcadores específicos de linaje (Lin-) y la expresión de CD34. En humanos se han aislado de médula ósea, cordón umbilical, sangre periférica o hígado fetal. Estas células son capaces de contribuir a la angiogénesis y vasculogénesis in vivo. Se caracterizan por la expresión de marcadores de superficie como AC133 y VEGFR-2. En modelos de isquemia cardíaca en rata, las poblaciones de células CD34+, CD117 bright, AC133+, VEGFR2+ contribuyen a reparar el miocardio gracias a su capacidad de mejorar la vasculogénesis. Estas a su vez pueden diferenciarse en hepatocitos basándose en que las células ovales expresan a los marcadores mencionados.<sup>39</sup>

Se reconocen las células madre mesenquimales conocidas como estromales capaces de diferenciarse a tejidos mesodérmicos funcionales como osteoblastos, condroblastos, adipositos y mioblastos. Reconocidas con marcadores: SH2, SH3, CD29, CD44, CD71 Y CD90; no expresando antígenos como: CD34, CD45 y presentan gran actividad de la telomerasa durante el tiempo de cultivo permitiendo 120 procesos de división sin envejecer. También presentan activación de los factores de transcripción Oct-4 Nanog y Rex-1 que son necesarios para permanecer en estado indiferenciado y proliferativo.<sup>40</sup>

Células side population SP han sido aisladas mediante técnica de citometría de flujo (FACS) basándose en su capacidad para excluir el colorante fluorescente Hoescht 33342.<sup>41</sup>

---

<sup>39</sup>Prósper F., art.cit.pp.11-12

<sup>40</sup>Morstyn G, S. W. *Cell Therapy: stem cell transplantation, gene therapy, and cellular immunotherapy*. USA: Cambridge University Press.1996

<sup>41</sup>Ib.pp.11-12



Células adultas progenitoras multipotenciales (MAPC) , con capacidad diferenciadora como una célula madre embrionaria capaces de proliferar in vitro más de 120 divisiones celulares, no expresan CD34, CD44, MHC II, CD45 (proteínas que se expresan en la superficie de la célula para su reconocimiento), c-Kit; expresan niveles bajos de Flk-1, Sca-1 y Thy-1 y altos de CD13, SSEA-1 (raton) y SSEA-4 (humano); hay activación de los factores de transcripción Oct-4 y Rex-1, factores que son necesarios para mantener la célula en un estado proliferativo e indiferenciado.<sup>42</sup>

Las MAPC se diferencian a tejidos mesodermicos como hueso, cartílago, adipositos, músculo esquelético, estroma hematopoyético o endotelio, hepatocitos, neuronas, astrocitos y oligodendrocitos, no sólo fenotípicamente sino también funcionalmente.<sup>43</sup>

Las células madre neuronales, su existencia se dedujo a partir de los hallazgos de que en algunas regiones del cerebro en ratones, como el hipocampo y el bulbo olfatorio, se producían neuronas maduras a lo largo de su vida. Estas células forman estructuras denominadas neuroesferas y representan agregados de células heterogéneas con células capaces de autorrenovarse y diferenciarse en astrocitos y glía. Las áreas neurogénicas fundamentales son la zona subventricular, el bulbo olfatorio y el hipocampo.

En las células madre de músculo, conocidas como célula satélite en estado quiescente, son capaces de proliferar y diferenciarse con el objetivo de reponer fibras dañadas. En músculo esquelético hay otros tipos de células que se basan en su capacidad de adhesión y proliferación denominadas Muscle Derived Stem Cells (MDSC) su potencialidad es mayor a las de satélite ya que pueden mantenerse en cultivo durante más de 60 divisiones

---

<sup>42</sup>Disponible en: <http://www.sobrecelulasmadre.com/proteina-cd34.html>

<sup>43</sup> Ib.pp.13

celulares y son capaces de hacerlo tanto in vivo como in vitro a endotelio, músculo y células de linaje neuronal.

En la capa basal se localizan dos tipos de queratinocitos con capacidad proliferativa limitada y células amplificadoras transitorias o TAC con una capacidad más limitada. Pueden mantenerse en cultivo por más de 12 meses sin diferenciarse, y pueden inducirse in vitro a neuroectodermo (neuronas y células de la glía) o linaje mesodérmico (adipocitos y músculo liso)

Las células madre cardíacas, son multipotenciales capaces de diferenciarse in vitro e in vivo a cualquiera de los tejidos necesarios para reconstruir un corazón, endotelio, músculo liso y cardíaco. Hay expresión de c-Kit (receptor de membrana para células madre) sin la expresión de marcadores de la línea (c-Kit+. Lin-).

También existen unas células menos mencionadas, las células madre corneales, se encuentran en la región del limbo corneal(zona de transición entre cornea y esclerótica). Sólo dan lugar a células del epitelio corneal y conjuntival.<sup>44</sup>

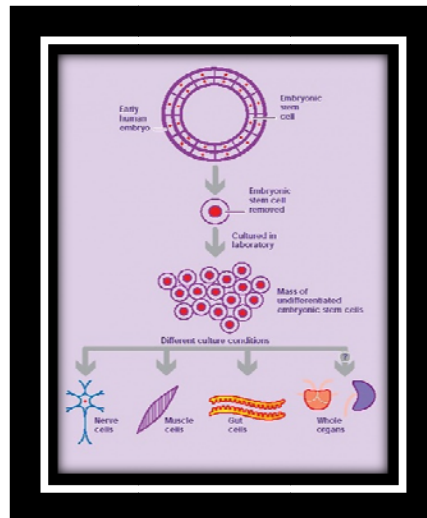


Fig.9 Tejidos regenerados a partir de células madre.<sup>45</sup>

<sup>44</sup> Prósper F., art.cit.pp.14-16

<sup>45</sup> Disponible en: <http://neofronteras.com/especiales/?p=34>



## PROCESOS DE RECOLECCIÓN

Las células madre posnatales tienen el potencial de diferenciarse en células específicas más allá de los tejidos y de su origen. Las células madre de la pulpa (DPSC) han sido clasificadas como células madre multipotenciales, por lo tanto tienen el potencial de autorenovación y diferenciación en células como los adipocitos, células neuronales y odontoblastos.

Las células madre dan origen a células progenitoras comprometidas que tienen una capacidad de proliferación reducida, capacidad de autorenovación limitada, y la habilidad para generar únicamente un limitado linaje de células; sin embargo, la cuantificación de estas células pueden realizarse simple y confiablemente en cultivos de clones. Estos ensayos también sirven como una herramienta esencial para experimentos hematológicos. Además, comienzan a ser usadas en muchos centros para asegurar la adecuación de muestras clínicas colectadas de trasplantes.

Las células de médula ósea, han sido usadas desde 1957 para revertir la mielosupresión producida por dosis altas de quimioterapia. La médula es generalmente obtenida de las crestas ilíacas posteriores del donador o del paciente bajo anestesia general, y luego infundido inmediatamente o criopreservado. Utilizado en un volumen final de BM de aproximadamente 800 a 2,000 ml es colectado.<sup>46</sup>

---

<sup>46</sup>Morstyn G, S. W. *Cell Therapy: stem cell transplantation, gene therapy, and cellular immunotherapy*. USA: Cambridge University Press.1996

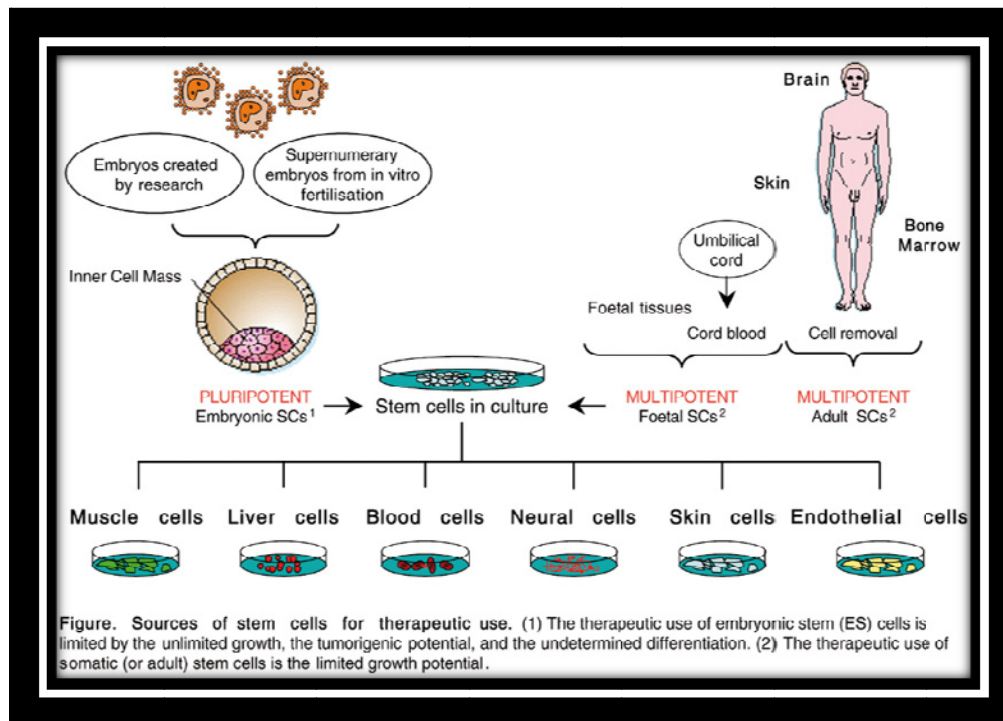


Fig.10 Terapia a través de obtención y cultivo de células madre.<sup>47</sup>

En el campo odontológico se ha requerido del aislamiento y caracterización parcial de células madre obtenidas de la pulpa dental, ligamento periodontal y dientes deciduos exfoliados para lograr la regeneración del tejido después de una lesión o daño causado por un ataque bacteriano han llevado a la identificación y aislamiento de poblaciones de células progenitoras que bajo estímulos específicos pueden diferenciarse.<sup>48</sup>

Estas células pueden formar estructuras que parecen complejos pulpa-dentina y ligamento periodontal- cemento radicular al ser transplantadas subcutáneamente en ratones o pueden participar en procesos de reparación periodontal, estimulando la formación de hueso.<sup>49</sup>

<sup>47</sup> [http://www.msif.org/es/publications/ms\\_in\\_focus/issue\\_11\\_stem\\_cells\\_and\\_remyelination\\_in\\_ms/neural\\_stem\\_cell.html](http://www.msif.org/es/publications/ms_in_focus/issue_11_stem_cells_and_remyelination_in_ms/neural_stem_cell.html)

<sup>48</sup> Magallanes Fabián M, art.cit.pp15

<sup>49</sup> Ib. pág. 16



## PROCESO DE CONSERVACIÓN (MANIPULACIÓN EXPERIMENTAL)

Una de las más consideradas es la de inyectar células marcadas de forma genética o por medios artificiales en la cavidad blastocística de un embrión anfitrión. Esta técnica se ha utilizado para demostrar que las células añadidas se integran con normalidad en el cuerpo del embrión receptor, lo que proporciona nuevas pruebas de la regularización embrionaria. Una aplicación de este método ha sido el estudio de los linajes celulares durante las primeras fases donde se ha podido determinar la potencia de desarrollo de células donantes al identificar la descendencia de estas células marcadas.

Un avance tecnológico es la creación de líneas de células madre procedentes de embriones (células ES). Que derivan inicialmente de la masa celular interna y pueden multiplicarse *in vitro* como líneas de células pluripotenciales que se mantenga en estado indiferenciado o que sean estimuladas para entrar en estirpes específicas de diferenciación.<sup>50</sup>

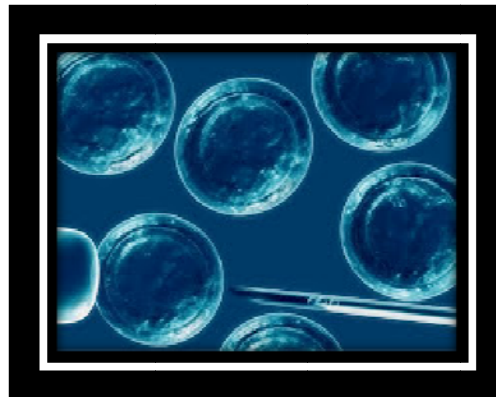


Fig. 11 Manipulación experimental.<sup>51</sup>

<sup>50</sup>Gutiérrez Alcántara J., (Noviembre de 2011). Características de las Células Madre, su importancia en la práctica odontológica. *ECOS*, 8, págs. 1-11

<sup>51</sup>Disponible en: <http://lapasioncientifica.blogspot.mx/>



Dentro de la conservación y preservación de las células en su estado más puro se han realizado diversos ensayos en laboratorio dentro de los que se mencionan los siguientes:

❖ Ensayos de cultivo de tejidos a corto plazo;

Un ejemplo de cultivo a corto plazo es utilizando un medio a base de metil–celulosa, donde se pretende evaluar de manera cuantitativa las células formadoras de colonias de granulocitos, macrófagos comprometidos en un cultivo, en células hematopoyéticas. Con este medio al formarse un coágulo de fibrina puede ser usado para estimular al megacariocito en las fracciones de células progenitoras. El periodo estimado es de 10 a 14 días antes de que puedan analizarse los cultivos, esto hace que el uso clínico no sea tan propicio, con respecto a realizar injertos hematopoyéticos para el óptimo cuidado de los pacientes.<sup>52</sup>

❖ Ensayos con cultivos de tejido a largo plazo

Sutherland et al. Desarrollaron el ensayo con cultivo celular inicial a largo plazo usado con frecuencia para evaluar el más primitivo progenitor de células hematopoyéticas humanas que es representado por CFU – S. los ensayos miden las células que pueden dar origen a progenitores clonogénicos detectables en metil – celulosa después de un mínimo de 5 semanas de cultivo en presencia de estroma pre irradiado. Aunque este experimento puede ser usado en estudios pre clínicos de injertos hematopoyéticos para determinar los procedimientos óptimos que serán

---

<sup>52</sup>Morstyn G, op.cit.cap 7



usados clínicamente, la espera de semanas retrasa su uso clínico para los análisis de injertos específicos.<sup>53</sup>

En la médula ósea se reconocen dos tipos: las de largo plazo (CMH-LP) que participan en el mantenimiento del sistema hematopoyético durante toda la vida. De corto plazo (CMH-CP) que originan los progenitores comprometidos en el proceso de la hematopoyesis.

El cultivo de células madre in vitro ha sido posible gracias a la reproducción del microambiente; el uso de una capa de soporte fibroblástico mitóticamente inactivo que permite mantener líneas celulares indiferenciadas en procesos de investigación.

Para mantener con éxito el estado indiferenciado se requiere de la integración de diferentes vías de señalización intrínsecas con las señales extrínsecas emitidas desde dicho microambiente, mencionadas a continuación:

❖ Vía Wingless (Wnt).

Se describe como una cascada de señales que dirige los eventos proliferativos y de diferenciación en el desarrollo embrionario y en el adulto. Sus proteínas son hidrofóbicas. Se ha estudiado en ratones, expresando: Wnt2B, Wnt3A y Wnt 10B que son proteínas que actúan como ligandos y se unen a receptores específicos.<sup>54</sup>

Los estudios de los mecanismos de autorenovación de la CMH están restringidos a la vía B-cateína, cuyos eventos son la traslocación nuclear y

---

<sup>53</sup> Morstyn G, op.cit.cap. 5,7.

<sup>54</sup> Acevedo-Toro PA, art.cit.pp.294-298



la unión física a la B-catenina para activar el factor de transcripción TCF/LEF y prevenir la diferenciación celular, colaborando así en el mantenimiento de la pluripotencialidad.

Al hacer referencia a una vía activada: la proteína citoplasmática DVL se activa por un mecanismo desconocido cuando Wnt se une con su receptor. DVL es movilizada a la membrana celular, lo que permite que GSK3B se disocie de la axina y evite la fosforilación de la B-catenina para que pueda trasladarse al núcleo donde actúa como coactivador transcripcional asociándose con los factores de transcripción de la familia TCF/LEF.

En una vía no activada: en ausencia de estimulación, la proteína B-catenina es desestabilizada por un complejo citoplasmático compuesto por los productos del gen supresor de tumor axina y APC; este paso da lugar a la fosforilación de la B-catenina en cuatro residuos conservados del extremo amino terminal y crea un reconocimiento para el complejo E3-ubiquitina-ligasa, el cual está compuesto por la proteína B-TRCP que marca a la B-catenina con moléculas de ubiquitina para ser degradada por el proteosoma. Esta cascada de señalización cumple un papel durante el desarrollo embrionario, la morfogénesis y la migración, proliferación y diferenciación celular.<sup>55</sup>

#### ❖ Vía Notch

Esta constituida por 4 proteínas Notch 1,2,3,4, que interactúan con ligandos delta, delta like, jagged 1 y jagged 2. Las proteínas son de tipo transmembrana que da lugar a la traslocación nuclear del dominio intracelular de Notch (DIGN) su liberación contiene señales de localización nuclear y

---

<sup>55</sup> Acevedo-Toro PA, art.cit.pp.294-298



secuencias OPA ricas en glutamina que funcionan como activadores de la transcripción.<sup>56</sup>

Se ha demostrado que in vitro la sobreexpresión de Notch4 inhibe la diferenciación de células epiteliales normales en glándula mamaria, in vivo cumple la función en el desarrollo y la carcinogénesis mamarios. Esta vía mantiene el estado indiferenciado de las CMH y conduce a la supresión transcripcional de los genes específicos de linaje, de tal modo que inhibe la diferenciación y favorece la autorrenovación.

#### ❖ Vía Hedgehog

Tiene tres ligandos relevantes Sonic hedgehog (Shh), Desert hedgehog (Dhh) e Indian hedgehog (Ihh) que se unen a la proteína de interacción Hedgehog 1 (Hip 1) y a la proteína Patched (Ptch) receptores transmembrana. Al darse la interacción Shh activa la transcripción de factores Gli 1, 2 y 3 que se traslocan al núcleo para controlar la transcripción de genes blanco importantes en el control de la proliferación celular, así como componentes de la vía del factor de crecimiento epidérmico y la angiogénesis.

Esta vía es necesaria para el mantenimiento de las células hematopoyéticas y neuronales promoviendo la proliferación y la supervivencia de las mismas in vivo. Interviene en el desarrollo embrionario y a su vez en la morfogénesis.<sup>57</sup>

En el campo de la odontología experimental el proceso de conservación de las células madre para su manipulación terapéutica, se describe a continuación

---

<sup>56</sup> Acevedo-Toro PA, art.cit.pp.294-298

<sup>57</sup> Ib.pp.299-300



El órgano dentario es extraído y se coloca en un medio llamado Dulbelcos modified Eagle médium (DMEM), el cual debe estar frío para garantizar el estado celular del tejido pulpar.

Las pulpas dentales se colocaron en una solución de 3mg/ml de colagenasa tipo I y 4mg/ml de dipasa durante 10 minutos. Posterior a ello se lavaron con un medio DMEM con suero fetal bovino al 10% por 3 minutos. Se dejaron crecer en cajas de cultivo de 6 pozos en presencia del medio de cultivo modificado Eagle's suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB), una solución de antibióticos (penicilina 100UI/ml, estreptomycin 100ug/ml y fungisona 0.3ug/ml), 100mM de aminoácidos no esenciales y 100mM piruvato de sodio, hasta obtener colonias clonogénicas de 2 a 5 semanas de cultivo.<sup>58</sup>

Al detectar los marcadores específicos las células se permeabilizarán con metanol frío por 10 minutos y se incubaron con los anticuerpos específicos que reconocen a los epítopes STRONH-1 y CD-44 a una concentración de 1:100 incubados a 4° C durante 24 hrs. La determinación de la diferenciación celular por un medio que contiene DMEM suplementado con 10% SFB, 50ug/ml de ácido ascórbico, 10mM de b-glicerofosfato, 10<sup>-7</sup> M de dexametasona y una solución de antibióticos, cambiando el medio cada dos días.

Para analizar la diferenciación celular derivada de la pulpa dental, se evaluaron los niveles de expresión del gen que codifica para dos de las proteínas más importantes: siaoloproteína ósea (BSP) y osteopontina (OPN) por medio de reacción en cadena de la polimerasa reversa (RTPCR), por inmunoistoquímica utilizando anticuerpos policlonales anti-BSP y anti OPN a

---

<sup>58</sup>Magallanes Fabián M, art.cit.pp.16



concentraciones de 1.500 y por detectar la presencia de nódulos mineralizados por medio de tinción con rojo de alizarina roja S.

Las células que se obtuvieron del cultivo de células pulpares; muestran una morfología de tipo fibroblástico, alargada y aplanada que se pueden ubicar en colonias clonogénicas, característica esencial de las células madre post-natales

Tanto la proteína BSP (sialoproteína ósea) y OPN (osteopontina) están involucradas en el proceso de bio mineralización. La BSP se expresa en los periodos iniciales de mineralización una vez que la nucleación se lleva a cabo la OPN regula el crecimiento adecuado de los cristales de hidroxiapatita.<sup>59</sup>

Las células madre aisladas de dientes deciduos, células derivadas del ligamento periodontal y células mesenquimales de médula ósea han sido diferenciadas hacia células osteoblásticas y/o cementoblásticas, expresando marcadores como BSP, OPN, osteocalcina, fosfatasa alcalina, colágena tipo I..<sup>60</sup>

En la pulpa dental se puede encontrar una "zona rica de células"(DPSCs). Su origen embrionario, explica su multipotencia. Hasta ahora, dos grupos han estudiado extensamente estas células, aunque con diferentes resultados. Un grupo informa que estas células producen "dentina" como tejido", mientras que el otro grupo ha demostrado que estas células son capaces de producir hueso, tanto in vitro como in vivo. Y pueden ser fácilmente criopreservados y almacenados durante largos periodos de tiempo conservando su multipotencia. Además, la atención reciente se ha

<sup>59</sup>MagallanesFabián M, art.cit.pp.17

<sup>60</sup>Ib.pp.19



centrado en la ingeniería de tejidos y en las propiedades de estas células lo que ha mostrado una buena adherencia y formación de tejido óseo en texturas superficiales. Además estos resultados ponen al descubierto la idea de que DPSCs puede ser utilizadas con éxito para la ingeniería de tejidos.<sup>61</sup>

En un estudio que tenía por objeto la utilización de Biocomplex (colágeno) construido a partir de la pulpa dental células madre / progenitoras (CPD) y una esponja de colágeno andamio de oro-maxilo-facial (OMF). Se probó en pacientes que presentaban una reabsorción ósea bilateral de la cresta alveolar distal secundaria a la impactación del segundo molar contra el tercer molar en la cortical produciendo un defecto de al menos 1,5 cm de altura.

Mediante la extracción de terceros molares superiores se obtuvieron células que fueron sembradas junto con una esponja de colágeno y Biocomplex. Las colonias de células madre obtenidas se utilizaron para implantarse en el sitio de la lesión residual de la extracción de los terceros molares inferiores. Tres meses después del injerto, el hueso alveolar de los pacientes tuvo una reparación óptima vertical y la restauración completa de los tejidos periodontales, se comprobó el éxito del tratamiento mediante la evaluación clínica con sondeo periodontal y evolución radiográfica. Las observaciones histológicas demostraron claramente la completa regeneración del hueso en el sitio de la lesión. Este estudio clínico demuestra que Biocomplex DPC / esponja de colágeno puede restaurar los defectos óseos.<sup>62</sup>

---

<sup>61</sup>d'Aquino R, d. R. (2009). Human Mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *European Cell and Materials*, 18, pp. 75-85.

<sup>62</sup>d'Aquino R, d. R. (2009, July 15). Human dental pulp stem cell: from Biology to clinical applications. *Journal of Experimental Zoology Part B Molecular and Developmental Evolution*, 312(5), pp. 408-415.





Después de conservarse durante 2 años se ha encontrado que las células madre siguen siendo capaces de diferenciarse, de proliferar y producir tejido, las células expresan todos sus antígenos de superficie, lo que confirma la integridad celular. En particular, SBP-DPSCs se han diferenciado en pre-osteoblastos, que muestra positividad difusa para ALP, BAP, RUNX-2, y calceína. Sin alteraciones observadas en este nivel, después de trasplante in vivo el tejido óseo se convierte en un tipo de hueso laminar. Por lo tanto, las células madre de la pulpa dental y sus células derivadas de los osteoblastos pueden ser a largo plazo criopreservados y puede llegar a ser utilizado en aplicaciones clínicas.<sup>63</sup>

Las células madre dentales de celulosa (hDPSCs) aisladas a partir de la pulpa de los terceros molares pueden mostrar diferenciación pluripotencial después de la criopreservación. En un estudio se aislaron mediante procedimientos enzimáticos, y se congelaron en nitrógeno líquido hasta su uso. Después de descongelar, las células fueron analizadas por potencial proliferativo y la expresión del marcador de células madre STRO-1. Posteriormente, fueron cultivadas en medios inductivos neurogénica, osteogénicas / odontogénico, adipogénica, miogénica, y condrogénica, y se analizaron en base a la morfología, inmunohistoquímica, y la transcriptasa inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) para genes marcadores específicos. Los resultados de las células se compararon con pruebas similares con una cepa adicional, obtenida de Institutos Nacionales de Salud (NIH). Los resultados mostraron que la población de células podría mantenerse durante al menos 25 duplicaciones. La existencia de células madre / progenitoras en las dos cepas de células fue demostrado por el STRO-1 tinción.

---

<sup>63</sup>Papaccio G, G. A. (2006, august). long-term cryopreservation of dental pulp stem cell (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts:a cell source fof tissue repair. *journal of Cellular Phyiology*, 208(2), pp. 319-325.



El tejido de la pulpa de un tercer molar puede servir como una fuente adecuada de células madre pluripotentes para futuras estrategias de ingeniería de tejidos y terapias basadas en células, incluso después de su criopreservación.<sup>64</sup>

---

<sup>64</sup>Zhang W, W. X. (2006, october). Multilineage Differentiation Potential of Stem Cells Dorived From Human Dental Pulp After Cryopreservation. *Pub Med*, 12(10), pp. 2813-2823.



## PERSPECTIVAS SOBRE SU USO TERAPÉUTICO

En 1933 se introdujo el concepto de ingeniería tisular por Biscgelie; la cual tiene por objetivo la construcción de tejidos nuevos funcionalmente activos, a partir de células procedentes de cultivos y de biomateriales de soporte. Esta ingeniería se puede desarrollar utilizando tres tipos de estrategias:

1. Ingeniería tisular por transferencia celular (terapia celular): las células son aisladas, mantenidas y tratadas in vitro; posteriormente son inyectadas en la circulación sanguínea para así suplir la diferenciación estructural o funcional, por ejemplo la transferencia de condrocitos autólogos, células de cordón umbilical y de médula ósea.<sup>65</sup>
2. Ingeniería tisular por inducción: se fomenta la construcción de tejido nuevo utilizando factores de crecimiento, potencializando su proliferación, diferenciación y distribución. Este mecanismo se emplea en el tratamiento de la enfermedad periodontal.
3. Ingeniería tisular por elaboración de constructos: Es la estructura que resulta de la asociación de un dispositivo biorreactor y tres elementos, células, biomaterial y factores de crecimiento.<sup>66</sup>

Para un uso terapéutico hay que tener en cuenta dos características:

1. Su potencial de diferenciación permitiría utilizarlas para regenerar tejidos destruidos o dañados,
2. Las células podrían ser empleadas como vehículo terapéutico de genes, como en el caso de enfermedades monogénicas como la

---

<sup>65</sup>Gutiérrez Alcántara J, (Noviembre de 2011). Características de las Células Madre, su importancia en la práctica odontológica. *ECOS*, 8, pp.2.

<sup>66</sup>Ib. pp2-3.

hemofilia o incluso como vehículo de terapias antitumorales o antiangiogénicas.<sup>67</sup>

La terapia de altas dosis con células hematopoyéticas apoya que es un tratamiento efectivo para pacientes de alto riesgo seleccionados con neoplasias hematológicas o tumores sólidos en los que la terapia con dosis estándar tienen un beneficio mínimo.

A continuación se mencionan algunos campos en los que se pretende implementar a las células madre como la fuente médica para una posibilidad de cura o tratamiento alternativo a muchas enfermedades que van degenerando la calidad de vida en muchos humanos.

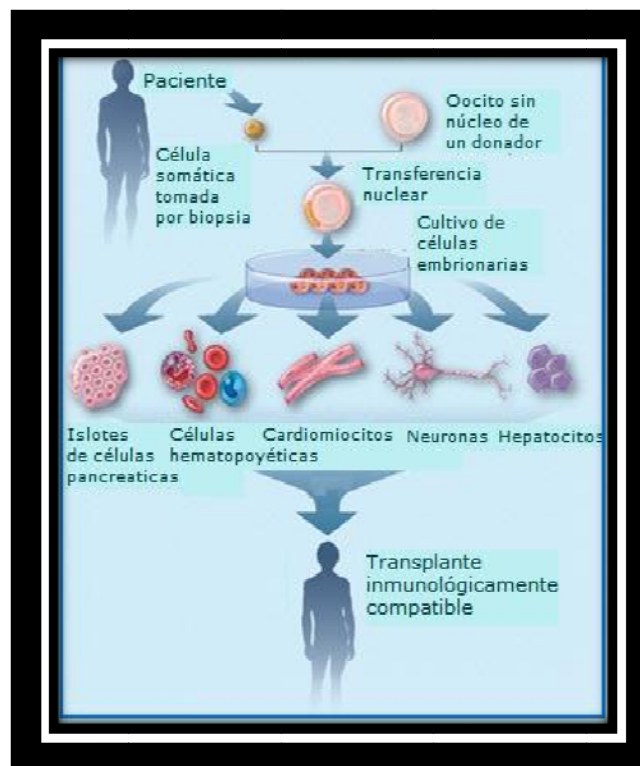


Fig. 12 Terapia con células madre.<sup>68</sup>

<sup>67</sup> Prósper F, art.cit.pp.222.

<sup>68</sup> Disponible en: <http://www.sindioses.org/sociedad/stemcell.html>



Importancia en el campo oncológico.

Las mejores fuentes de células madre hematopoyéticas para trasplantes clínicos incluyen células de la médula (BM) y células progenitoras periféricas de la sangre (PBPCs), más recientemente el cordón umbilical (CB) ha sido utilizado como una fuente alternativa de apoyo hematopoyético. Trasplantes alogénicos de BM, PB, y CB han sido realizados con células de donadores genéticamente parecidos o no. Trasplantes autólogos, donde los pacientes sirven como sus propios donadores, son típicamente realizados ya sea con BM y/o PBPCs.

Las PBPCs pronto podrán reemplazar a las BM como la fuente principal de células progenitoras hematopoyéticas para el apoyo en pacientes que han recibido dosis altas de quimioterapia debido, a la percepción que múltiples procedimientos de leucoforesis son menos mórbidos que una cosecha de BM. Adicionalmente, algunos estudios no aleatorios han mostrado mejoras en la velocidad de recuperación de plaquetas en pacientes que recibieron solo PBPCs o en combinación con BM cuando se compararon con pacientes que solo recibieron BM o con pos trasplantes de injertos de factores de crecimiento.

En los últimos años, CB umbilicales han sido investigadas clínicamente como una fuente alternativa de progenitores hematopoyéticos de trasplantes alogénicos. Estudios de reactividad inmunológica sugieren que las células T CB han limitado la actividad citotóxica después de una estimulación alogénica y rápidamente se vuelven “tolerantes” a inducir una proliferación de aloantígenos.<sup>69</sup>

---

<sup>69</sup> Morstyn G, op.cit.



### Importancia en endocrinología.

La diabetes originada por la incapacidad de las células B del páncreas al secretar insulina, han llevado al estudio con células madre embrionarias a que puedan diferenciarse a células secretoras de insulina y que cuando estas células se implanten sean capaces de inducir a la normalización de cifras de glucosa en sangre.<sup>70</sup>

### Importancia en el campo odontológico.

Se han identificado células madre de la pulpa dental (DPSC) y de dientes deciduos exfoliados (SHED).<sup>71</sup>

Las DPSC son células multipotentes con capacidad de diferenciación a neuronas así como para reducir la progresión de fibrosis en hígado e infarto agudo al miocardio en ratas; a su vez dan lugar a proliferar y diferenciarse para la formación de dentina reemplazando a odontoblastos dañados.

En diversos estudios con estas células han probado que son capaces de formar nódulos de mineralización in vitro en presencia de inducción de los medios que contienen ácido ascórbico, dexametasona y exceso de fosfato; expresando marcadores osteogénicos como fosfatasa alcalina, colágeno tipo I, sialoproteína ósea, osteocalcina, osteopontina, el factor transformador de crecimiento TGF y morfogenética proteica ósea. Por lo tanto la matriz mineralizada de la dentina, contiene las fibras de colágeno similares a la formada por derivados DPSC; son capaces de formar grandes cantidades de

---

<sup>70</sup> Prósper F, art.cit.pp. 222.

<sup>71</sup> Gutiérrez Alcántara J., art.cit.pp.4



hueso en vivo, ofreciendo una alternativa para la regeneración de hueso alveolar.

Las DPSC y las células madre del ligamento periodontal (PDLSCs) son capaces de formar un complejo dentino-pulpar, cemento, ligamento periodontal. Así las células madre de los dientes deciduos exfoliados SHED en algunos aspectos son similares a las células del cordón umbilical en su multipotencialidad. Su principal ventaja es la forma de obtención de las células, puesto que no es invasiva.<sup>72</sup>

Importancia en el campo neurológico.

Las células madre tienen perspectivas de su uso para reconstruir las neuronas y estructuras dañadas en procesos degenerativos como la enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, Alzheimer, esclerosis en placa, infartos cerebrales o lesiones medulares. Las células implantadas son capaces de establecer nuevas conexiones sinápticas e integrarse con el resto del tejido circundante.

En la enfermedad de Parkinson se han utilizado células de origen fetal en ensayos clínicos realizados en humanos con resultados tanto *in vitro* como *in vivo* son capaces de diferenciarse a neuronas dopaminérgicas pero no se ha podido establecer hasta donde las células reestablecen los circuitos neuronales destruidos y así eliminar los síntomas de la enfermedad.

En las lesiones medulares las células madre embrionarias poseen la capacidad de diferenciarse a neuronas motoras y facilitar así la recuperación motora en animales con lesiones espinales, pero su

---

<sup>72</sup>Gutiérrez Alcántara J., art.cit.pp.5-8



mecanismo para restablecer las neuronas motoras está relacionado con la liberación de factores de crecimiento que contribuyen al crecimiento de axones destruidos.

En la esclerosis múltiple hay degeneración de células productoras de mielina (oligodendrocitos) y que se manifiesta por afectación motora y sensitiva como consecuencia de la desmielinización de los axones. La posibilidad de favorecer la formación de mielina en ratones se logra de forma focal.<sup>73</sup>

El beneficio de la terapia celular podría deberse al aporte exógeno de células con capacidad de neurogénesis o de angiogénesis, con modulación del microambiente, estimulando la supervivencia y diferenciación de las células residentes en el tejido dañado.

Estudios sugieren que las células de la médula ósea son llevadas a zonas lesionadas por infarto cerebral y contribuyen a la mejoría funcional cuando son inyectadas focalmente e incluso vía intravenosa. La inyección de células se asocia a la formación de nuevos vasos, liberación de factores tróficos así como con la expresión de marcadores neurales por parte de las células implantadas.

Importancia en cardiología.

El músculo cardíaco posee una limitada capacidad de regenerarse; por lo que un infarto puede llevar a una disminución progresiva e irreversible de la función. Diversos estudios en modelos experimentales y posteriormente en humanos, han utilizado células madre para regenerar el músculo cardíaco. La estrategia se basa en obtención de una biopsia muscular del propio

---

<sup>73</sup>Prósper F., art.cit.pp.223.





paciente entre 2-3 semanas previas a la cirugía de revascularización en pacientes con infarto al miocardio antiguo. Durante la cirugía se procede al implante por inyección intramiocárdica de células cultivadas in vitro en la región peri-infarto. Aun así no se ha podido demostrar que las células originadas a partir de mioblastos sean capaces de transmitir las señales electromecánicas derivadas de las células musculares cardíacas o de transdiferenciarse a células musculares cardíacas.<sup>74</sup>

Importancia en el campo oftalmológico.

Las estructuras involucradas en la obtención de células madre son el epitelio corneal, epitelio conjuntival, retina y la fuente de células que se encuentra en la región del limbo corneal ya que posee una gran capacidad de renovación, que se mantiene a lo largo de la vida y son capaces de originar células que pueden sufrir un proceso de diferenciación terminal a células especializadas y parece que sólo dan lugar a células del epitelio corneal y conjuntival.

Actualmente el trasplante de limbo corneal es una práctica reconocida, usándose células del ojo contralateral cuando el daño es en un solo ojo, y las células de un donante cuando el daño es bilateral. La combinación de células de limbo con membrana amniótica se usa con éxito para promover una rápida reepitelización de la córnea.

Importancia en el campo dermatológico.

En la epidermis podemos encontrar células madre distribuidas en la capa basal y en folículos pilosos, estas células expresan niveles altos de integrinas

---

<sup>74</sup>Prósper F, art.cit.pp 224-225



$\beta 1$  ,  $\alpha 6$  y niveles bajos de CD71; keratina 15, AC113-2 (isomorfa de CD133) y el factor de transcripción forman colonias que pueden ser cultivadas en serie en condiciones apropiadas dando cantidad suficiente de epitelio para transplantar a pacientes con grandes quemaduras.

Terapia en enfermedades musculares.

El músculo contiene células satélite que contribuyen a la regeneración de miofibras, que han demostrado poder diferenciarse a otras líneas celulares como osteoblastos, condrocitos y adipocitos.<sup>75</sup>

Terapia en enfermedad hepática.

Las células madre embrionarias tienen la capacidad de diferenciarse en hepatocitos maduros in vitro, sin embargo existen pocos estudios in vivo, que hayan demostrado la eficacia de las células embrionarias en la regeneración hepática.

Hace ya 40 años se sugirió que las células ovas fueron las primeras candidatas a células madre hepáticas, localizadas en los canales de hering, son células madre multipotenciales capaces de diferenciarse a hepatocitos así como a epitelio ductal y que poseen algunos antígenos comunes con células de la médula ósea. Son células no hematopoyéticas de origen mesodérmico en las que al menos in vitro se ha podido demostrar su capacidad de diferenciarse a hepatocitos maduros y funcionales.<sup>76</sup>

---

<sup>75</sup> Prósper F., art.cit. pp.226- 227

<sup>76</sup> Ib.pp. 229



## CONCLUSIONES

Las células madre en la actualidad son una alternativa dentro de la medicina regenerativa puesto que sus fuentes de obtención son variables y poco a poco se han ido descubriendo por ejemplo: médula ósea, músculo esquelético, limbo corneal, cerebro, cordón umbilical, tejido adiposo, pulpa dental y ligamento periodontal para su posterior utilización dentro de varias especialidades.

En el campo odontológico, la pulpa dental así como el ligamento periodontal son una buena fuente de obtención de células madre, además de que facilitan su recolección, capacidad de aislamiento, proliferación y criopreservación en medios específicos y propicios para llegar a su fin; como la nueva formación de hueso y ligamento periodontal; hablando de su uso en boca, así mismo es útil para ayudar al tratamiento de algún daño en otro tejido o contribuir a la cura de alguna enfermedad.

La existencia de células madre en diversos tejidos de nuestro organismo a un requiere de un largo camino de investigación científica, a pesar de todos los avances que se han logrado hasta el momento; aún la misma naturaleza es la que decide el momento preciso de actuar.

Aunque se conocen los mecanismos y los medios por los cuales las células realizan su función el hombre aun no es capaz de controlarlos en mayor grado y utilizarlos en el tiempo oportuno para su beneficio.



## BIBLIOGRAFIA.

- Acevedo Toro PA, C.-M. M. (septiembre de 2008). células madre: generalidades, eventos biológicos y moleculares. *IATREIA*, 21(3), págs. 292-305.
- Barberia Leache E, B.Q. J. *Odontopediatria. 2ª Ed.* masson. México 2001
- Boj J.R, et al. *Odontopediatria: la evolución del niño al adulto joven.* Madrid España 2011 Ripano Editorial Medica.
- Carlson Bruce M, et al. *Embriología humana y embriología del desarrollo.* Barcelona España elsevier.
- Cortéz Romero JL. (2008). *Tesis Doctoral "Células madre embrionarias: aspectos ético-legislativos y desarrollo de una nueva metodología para la derivación de líneas celulares embrionarias"*. Granada, España: Universidad de Granada, departamento de anatomía y embriología humana.
- d'Aquino R, d. R. (2009, july 15). Human dental pulp stem cell: fom Biology to clinical aplicaciones. *Journal of Experimental Zoology Part B Molecular ady Develop mental Evolution*, 312(5), pp. 408-415.
- d'Aquino R, d. R. (2009). Human Mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/ progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *European Cell and Materials*, 18, pp. 75-85.
- Magallanes-fabián M, C.-R. B.-P. (Marzo de 2010). Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. *Revista Odontologica Mexicana*, 14(1), págs. 15-20.
- Morstyn G, et al. *Cell Therapy: stem cell transplatation, gene therapy, and cellular immunotherapy.* Cambridge University Press. Australia 1996.
- Papaccio G, G. A. (2006, august). long-term cryopreservation of dental pulp stem cell (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts:a cell source fof tissue repair. *journal of Cellular Phyiology*, 208(2), pp. 319-325.
- Prósper F, G. J., & col, y. (2006). Cell transplan and regenerative therapy with stem cells. *an. sist.sanit. navar*, 29(2), pp. 219-234.
- Prósper F, V. C. (septiembre -diciembre de 2003). Adult stem cell. *an sist sanit navar*, 26(3), págs. 345-356.



Prósper f, v. c. (2004). células madre adultas:fuentes, características y perspectivas sobre su uso terapéutico. (f. m. medicas, Ed.) *monografias humanitas*, 4, págs. 7-22.

Sadler TW, et al. *Langman Embriología Médica*.11ª Ed. Lippincott William Wilking. USA 2010

Zhang W, W. X. (2006, october). Multilineage Differentiation Potential of Stem Cells Dorived From Human Dental Pulp After Cryopreservation. *Pub Med*, 12(10), pp. 2813-2823.

<http://www.sobrecelulasmadre.com/proteina.html>

<http://www.tuylasalud.wordpress.com>

<http://www.encarta.com>

[http://www.embrios.org/celulasmadre/definición\\_celula\\_madre.html](http://www.embrios.org/celulasmadre/definición_celula_madre.html)

<http://www.vidaideasegura.com/?p=9361>

<http://www.sindioses.org/sociedad/stemcell.html>

<http://neofronteras.com/especiales/?p=34>

<http://lapasioncientifica.blogspot.mx/>

<http://biopolo.blogspot.mx/2011/01/fotos-celulas-madre.html>

<http://myprofeciencias.wordpress.com/2011/05/10/las-clulas-madre/>