



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**MICROCHIPS TISULARES COMO UNA ALTERNATIVA  
EN LA REGENERACIÓN DE TEJIDOS EN  
ODONTOLOGÍA.**

**T E S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**CIRUJANO DENTISTA**

P R E S E N T A:

**DANIEL MARTÍNEZ CERRITEÑO**

**TUTORA: Esp. SURISADEY ALBARRÁN VERGARA**

**MÉXICO, Cd. Mx.**

**2016.**



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme aceptado para ser parte de ella y por abrirme sus puertas de tan incomparable casa de estudios; así mismo a los docentes que me brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Agradezco a la Dra. Santa y Esp. Surisadey, por sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación que han sido fundamentales para el proceso de mi titulación.

Agradezco a mi madre, quien por ese simple hecho, le debo la vida; por formarme con buenos hábitos y valores, lo cual me llevó hasta esta nueva meta.

A mi familia en general, porque me han acompañado en los buenos y malos momentos. Por enseñarme que el conocimiento no tiene límites y que la formación académica requiere de nuestro máximo esfuerzo.

Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer tarea titánica e interminable. Quisiera dedicarles este trabajo, quienes me ofrecen su amor, bienestar, y apoyo incondicional en la vida.

Los llevo siempre en mi alma, gracias.

INTRODUCCIÓN	4
JUSTIFICACIÓN	5
OBJETIVOS	6
OBJETIVO GENERAL	6
OBJETIVOS ESPECIFICOS	6
1. INGENIERÍA DE TEJIDOS	7
MÉTODOS Y TÉCNICAS EN INGENIERÍA TISULAR	12
2. REGENERACIÓN TISULAR	16
RENOVACIÓN CELULAR	18
CICLO CELULAR	19
MITOSIS	22
MEIOSIS	24
3. CHIPS TISULARES	30
DEFINICIÓN	30
FUNCIÓN	32
CONDICIONES DE TRABAJO	33
4. COMO IMPLEMENTAR LOS CHIPS EN ODONTOLOGÍA	35
5. REGENERACIÓN EN ODONTOLOGÍA Y APLICACIÓN DE LOS CHIPS	37
NUEVAS ALTERNATIVAS DE REGENERACIÓN TISULAR	37
REGENERACIÓN CON LOS ÓRGANOS EN CHIP	42
CONCLUSIONES	46
REFERENCIAS	48



## INTRODUCCIÓN.

La pérdida total o parcial de tejido, como también la pérdida de la función de un órgano, es uno de los más graves y costosos problemas de salud de un ser humano.

Actualmente, la cirugía reconstructiva y trasplantológica es el arma fundamental para la atención de estos pacientes. Al uso de tejidos biológicos o productos artificiales y su manejo terapéutico, para restaurar, sustituir o incrementar las actividades funcionales de los propios tejidos orgánicos, se le denomina ingeniería tisular.

Tratar la pérdida de función de los tejidos y órganos ha sido preocupación continua de los investigadores, habiéndose intentado a través de los cuatro procesos básicos: trasplantes, injertos autólogos, prótesis y regeneración tisular.

El empleo de órganos para trasplantes usualmente se ve limitada por la baja cantidad de donantes. Anualmente un gran número de pacientes muere en listas de espera y muchos otros no llegan siquiera a integrarlas.

Esta creciente necesidad de órganos, llevó a los investigadores a utilizar células vivas cultivadas en micro dispositivos para la reconstrucción de órganos y tejidos con la ventaja de evitar la terapéutica inmunosupresora, pues intenta crear un modelo que además sea estructural y fisiológicamente semejante.

Los “órganos-on-chip” pueden proporcionar una nueva vía para acelerar la investigación y el desarrollo en el campo de la medicina regenerativa, ya que ha ofrecen otras ventajas tales como la posibilidad de crear los microambientes celulares que se tienen in vivo.



## JUSTIFICACIÓN.

Las limitaciones de los implantes artificiales, así como la escasez de órganos para trasplante han motivado una intensificación de las investigaciones en el campo de la ingeniería tisular para desarrollar sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función de los tejidos.<sup>1</sup>

A través de varios campos como la química, la física, la ciencia de materiales, la biología y la medicina, se han creado diversas innovaciones técnicas para proporcionar nuevas estrategias en la ingeniería de tejidos. Esta ciencia se ha convertido en un enfoque interdisciplinario prometedor para hacer frente a la necesidad del reemplazo de órganos y la regeneración de tejidos, donde se combinan los principios de ingeniería, materiales y ciencias de la vida para crear sustitutos biológicos que restauren las funciones fisiológicas.<sup>2</sup>

La construcción de tejidos bucodentales por ingeniería tisular ha permitido el desarrollo de diferentes tipos celulares y tejidos que por sus características estructurales y funcionales pueden emplearse dentro de la terapéutica odontológica.



## **OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO GENERAL.**

- Describir que son los microchips tisulares y su posible aplicación en odontología.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Describir los principios y conceptos básicos de la ingeniería tisular.
- Identificar cómo se emplean los chips tisulares en odontología.



## 1. INGENIERÍA DE TEJIDOS.

La ingeniería tisular es el área científica interdisciplinaria (Fig. 1) cuyo fundamento esencial es el empleo de células vivas, manipulación del entorno extracelular, creación de sustitutos biológicos y su consecuente implantación en el cuerpo; cuya intención es reparar, reemplazar, mantener o mejorar la función particular de un órgano o tejido.

El término ingeniería tisular (tissue engineering) fue adjudicado a esta disciplina en 1987 durante una reunión de la Fundación Nacional de Ciencias, pero muchas de las técnicas utilizadas en ella habían sido desarrolladas en décadas anteriores. Para el desarrollo de la ingeniería tisular tuvieron que conjuntarse diversos campos como la biología celular, la bioquímica y la biología molecular; los científicos de estas áreas colaboran activamente con ingenieros biomecánicos para desarrollar tejidos análogos que permiten a los médicos mejorar, mantener y restaurar la función de un órgano.<sup>3</sup>

La ingeniería tisular sienta sus bases en las aportaciones y conocimientos histológicos así como de otras disciplinas fundamentales que ayudan al logro final del objetivo propuesto: la construcción de un nuevo tejido vivo y funcional capaz de sustituir con eficacia terapéutica al tejido original dañado.<sup>4</sup>



Fig. 1. Ciencias relacionadas con la ingeniería tisular (Tomada y modificada de Gómez M, Campos A. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2009.)<sup>4</sup>

Actualmente, la ingeniería tisular emplea tres estrategias diferentes:

- Ingeniería tisular por transferencia celular (terapia celular): las células son aisladas, mantenidas y tratadas in vivo, posteriormente se inyectan en la circulación sanguínea o implantan en determinadas localizaciones del organismo para poder, de ese modo, suplir la deficiencia estructural o funcional. La transferencia de condrocito autólogos para la reparación y sustitución de cartílago auricular o de células madre hematopoyéticas del cordón umbilical y de médula ósea son algunos ejemplos de la utilización de este tipo de estrategia (Fig. 2).

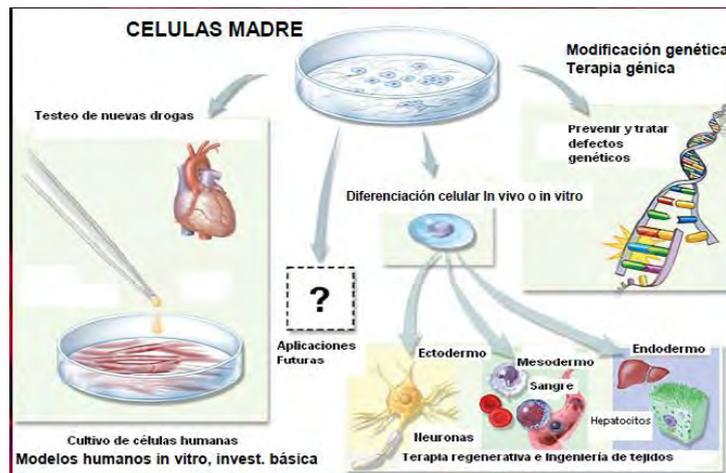


Fig. 2. Terapia celular (Tomado de <http://i2.wp.com/www.celulasmadre.org.mx/wp-content/uploads/2015/04/Celulas-Madre-Mexico-1.png>)

- Ingeniería tisular por inducción: la construcción de un nuevo tejido puede llevarse a cabo fomentando la inducción del mismo en el seno de nuestro propio organismo, con una amplia variedad de metodologías como son: la utilización de aquellas señales moleculares, fundamentalmente, los factores de crecimiento, que son capaces de estimular a las células madre pluripotentes o células madre progenitoras existentes en la región en la que deseamos crear el nuevo tejido, con el objeto de potenciar su proliferación, su diferenciación y su distribución en el espacio y en el tiempo. La incorporación de las señales moleculares a la región puede realizarse directamente o mediante la transferencia de células capaces de segregar dichos factores. La matriz extracelular, como producto natural o como biomaterial elaborado de modo artificial, tiene, también, en ciertos casos, la propiedad de inducir la formación de nuevos tejidos. Finalmente, en algunos casos se utilizan biomateriales y señales moleculares para inducir la construcción de algunos tejidos. En estos casos, el biomaterial actúa como barrera creando espacio para facilitar el posterior crecimiento expansivo del nuevo tejido.

Este mecanismo de ingeniería tisular es el utilizado en la denominada regeneración tisular guiada que se practica como tratamiento en la enfermedad periodontal (Fig. 3).

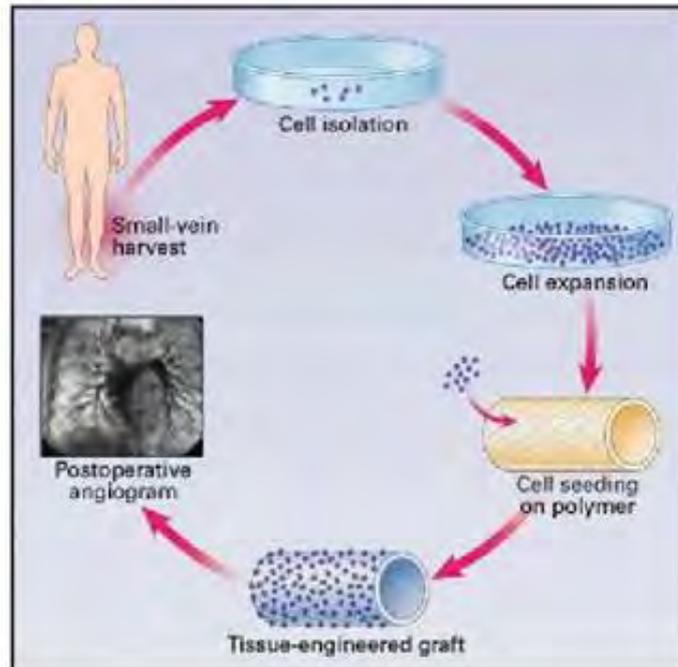


Fig. 3 Inducción tisular (Tomado de <http://enciende.cosce.org/imagenes/ingenieria-tisular2.jpg>)

- Ingeniería tisular por elaboración de constructos: un constructo es la estructura que resulta la asociación, en un dispositivo denominado biorreactor, de los tres elementos básicos –las células, el biomaterial y los factores de crecimiento- que suelen utilizarse para construir un tejido artificial. Con el fin de elaborar un constructo es necesario aislar las células del organismo y situarlas, junto a los factores de crecimiento, sobre o dentro del biomaterial más adecuado en relación con el tejido u órgano que se desee construir. Para la elaboración de constructos se utilizan modelos con un solo tipo de células y un solo tipo de biomaterial, como ocurre con algunos constructos de cartílago y modelos con varios tipos de células y de biomaterial, como ocurre con constructos de piel o mucosas en los

que se utilizan fibroblastos y queratinocitos o constructos de vasos arteriales, en los que se utilizan células endoteliales y musculares y distintos tipos de biomateriales. El diseño y la elaboración de constructos por ingeniería tisular para uso clínico debe intentar conseguir a) la naturaleza estructural y funcional de los tejidos naturales, b) los tamaños y las formas deseadas, c) la posibilidad de continuar su desarrollo una vez implantado en el cuerpo y d) la posibilidad de integrarse completamente en el huésped (Fig. 4).<sup>4</sup>

### Ingeniería Tisular: Equivalente dermoepidérmico

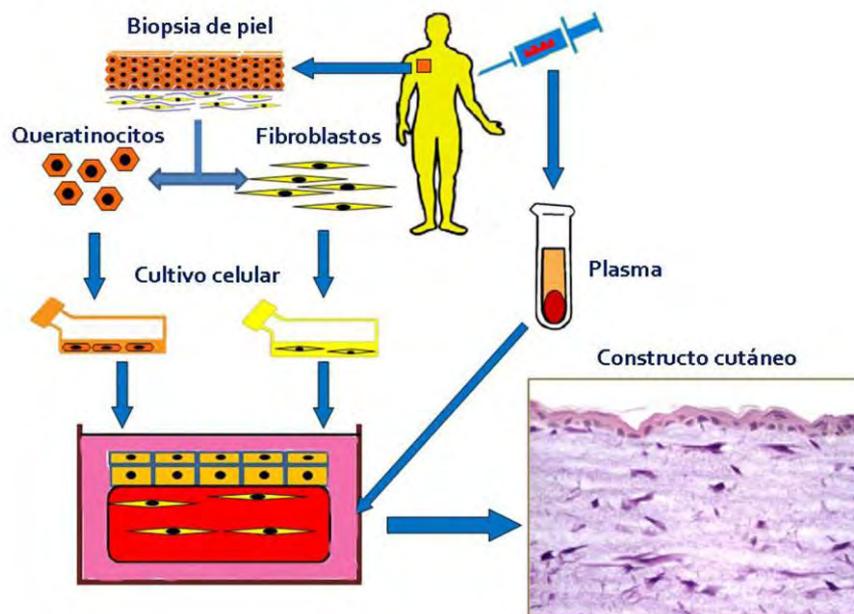


Fig. 4 Ingeniería tisular por elaboración de constructos (Tomado de <http://www.dqcs.unam.mx/boletin/bdboletin/multimedia/WAV120101/004-PIEL%201.jpg>)

A raíz de la realidad que supone la ingeniería tisular, la histología ha dejado de ser una ciencia meramente descriptiva para convertirse en una ciencia constructiva cuya misión consiste no sólo en conocer cada vez mejor la naturaleza de los distintos tejidos de nuestro cuerpo en sus distintos estados euplástico, proplástico y retroplástico, sino en elaborar y en construir tejidos y órganos nuevos. Se ha pasado, por tanto, de una histología útil sólo para la interpretación y el diagnóstico de la enfermedad, a una histología útil también para la terapéutica.<sup>4</sup>

## MÉTODOS Y TÉCNICAS EN INGENIERÍA TISULAR.

Aunque la construcción de un nuevo tejido con destino a la terapéutica puede realizarse mediante distintas modalidades: transferencia celular, inducción o elaboración de constructos; la generación de tejidos artificiales, mediante ingeniería tisular, requiere aislar y cultivar células y disponer de biomateriales capaces de sustituir a las matrices extracelulares.<sup>4</sup>

### TÉCNICAS DE CULTIVO CELULAR.

Gran parte de las células tienen capacidad de proliferación por lo que pueden ser mantenidas y cultivadas en el laboratorio. Así, las células pueden obtenerse a partir de muestras de biopsia obtenidas de los tejidos de un individuo (células adultas), del cordón umbilical de un recién nacido (células del cordón) o de un embrión en desarrollo (células embrionarias)<sup>4</sup> (Fig. 5).

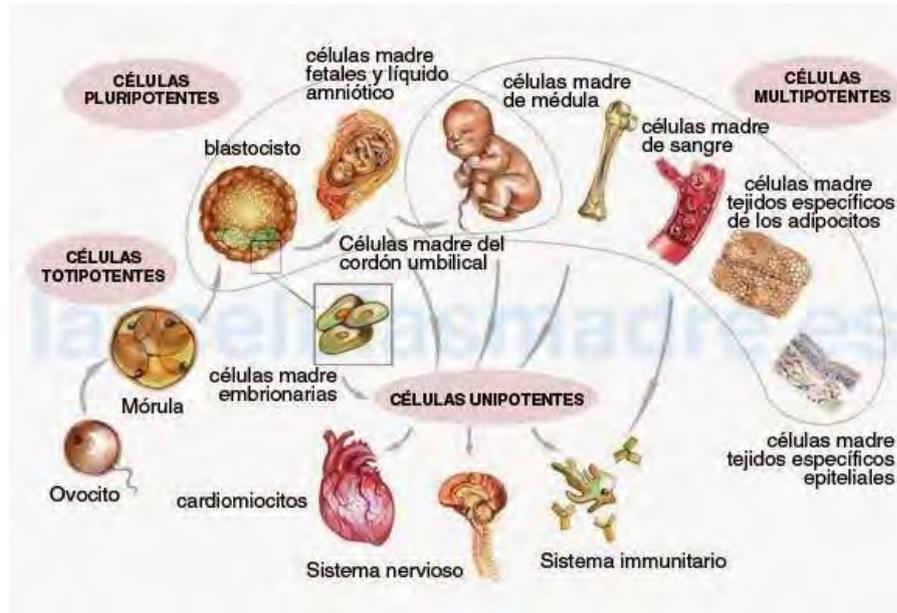


Fig. 5 Tipos celulares (Tomado de <http://3.bp.blogspot.com/-aH1NwWfzbo/U4tTgY5Qq1/AAAAAAAAArU/MP4UVKpsBeQ/s1600/tipos.jpg>)

Los métodos de aislamiento más utilizados son los métodos enzimáticos y las técnicas de explante. En el método enzimático las muestras biológicas

son tratadas enzimáticamente para eliminar la matriz extracelular y aislar las células de interés empleando enzimas como son: colagenasas, dispasas y tripsina. En la técnica de explantes se emplean fragmentos de tejido que son directamente mantenidos en cultivo, de modo que las células proliferarán a partir de este y forman el denominado cultivo primario (Fig. 6).<sup>4</sup>

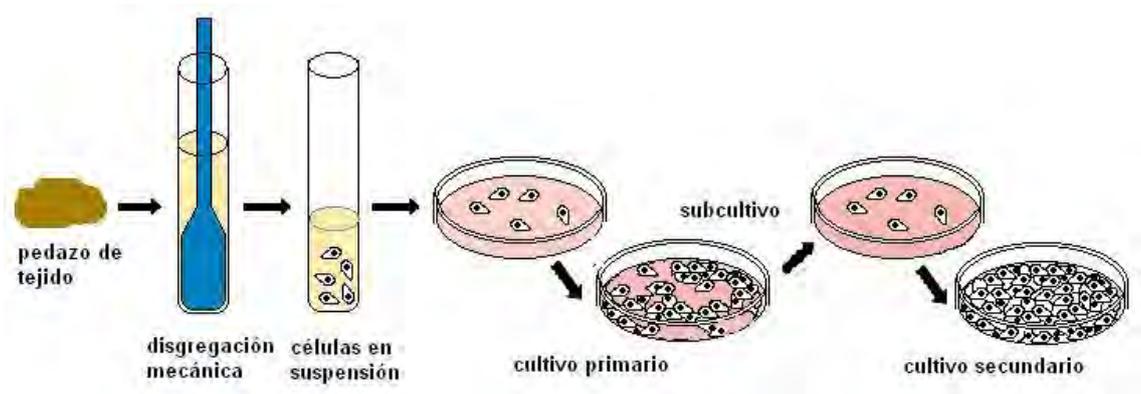


Fig. 6 Cultivo celular (Tomado de

[http://www.argenbio.org/adc/uploads/imagenes\\_doc/cultivos%20celulas/cultivo%20primario%20y%20secundario.JPG](http://www.argenbio.org/adc/uploads/imagenes_doc/cultivos%20celulas/cultivo%20primario%20y%20secundario.JPG))

Los medios de cultivo permitirán el crecimiento y proliferación de dichas células, estas células pueden almacenarse utilizando cámaras de cultivo a 37°C y una atmósfera enriquecida en CO<sub>2</sub> o bien pueden congelarse y mantenerse en estado quiescente en blancos de tejidos hasta el momento de su utilización.

## BIOMATERIALES.

Los biomateriales son compuestos de origen natural o sintético diseñados para implantarse con el objetivo de reemplazar y/o restaurar tejidos y sus funciones, lo que implica que están expuestos de modo temporal o permanente a fluidos del cuerpo, aunque en realidad pueden estar localizados fuera del propio cuerpo, incluyéndose en esta categoría a la



mayor parte de los materiales dentales que habitualmente se estudian por separado.

Estos presentan una estructura que permite un adecuado crecimiento celular tanto en su interior y/o en su superficie. Los biomateriales más utilizados se obtienen a partir de tejidos biológicos humanos o animales, especialmente el colágeno tipo I o la fibrina. Otros biomateriales más utilizados en ingeniería tisular son el ácido poliláctico o el ácido poliglicólico.<sup>4</sup>

Todos los biomateriales empleados deben someterse a una serie de estrictos controles y contar con altos indicadores de calidad como son<sup>4</sup>:

1. Biocompatibilidad o aceptación por el organismo receptor.
2. Ausencia de toxicidad o efectos secundarios.
3. Ser químicamente estable e inerte.
4. Cumplir los requerimientos biomecánicos necesarios para llevar a cabo su función en el organismo: adecuada resistencia mecánica, elasticidad, tiempo de fatiga suficiente, etcétera.
5. Facilidad de producción y procesamiento.

## **TÉCNICAS DE ENSAMBLAJE Y ASOCIACIÓN DE COMPONENTES TISULARES.**

Actualmente para la generación en laboratorio de sustitutos de órganos (sustitutos organotrópicos), es necesario asociar diferentes componentes tisulares. Las terapias de regeneración están influenciadas y basadas en la comprensión del desarrollo embrionario, la biología de células madre (CM) y la tecnología de ingeniería tisular.<sup>5</sup>

La ingeniería tisular se desarrolla bajo la premisa básica que es la manipulación controlada del microambiente extracelular interviniendo y



controlando la capacidad de las células para organizarse, diferenciarse, crecer, desarrollar una matriz extracelular funcional y conformar un nuevo tejido funcional. Esto mediante el control de un complejo proceso que logrará la formación de la arquitectura 3D del tejido y su función.<sup>6</sup>

Actualmente en odontología se cuenta con distintos materiales para la reconstrucción de defectos de tejidos blandos y duros, tanto autógenos, como alogénicos, aloplásticos o xenogénicos, que han estado disponibles desde hace años y siguen evolucionando. La ingeniería de tejidos se ha proyectado como un medio de regeneración de tejidos que intenta minimizar los riesgos, la morbilidad y aumentar el éxito en los tratamientos.<sup>7,8</sup>

Para lograrlo, frecuentemente se asocia un componente tisular de tipo epitelial, constituido fundamentalmente por una única población celular, y de un componente de tipo conjuntivo, formado por células inmersas en una matriz extracelular. Para el ensamblaje y el mantenimiento de los distintos componentes tisulares, lo más común es utilizar biorreactores que permiten el cultivo y el desarrollo de estructuras biológicas complejas; un ejemplo de esto son los insertos porosos, en los que una membrana sintética permite el paso de nutrientes desde un compartimiento acelular hacia el compartimiento en el que se cultiva el tejido, además de permitir el cultivo diferencial de distintas zonas del tejido, manteniendo unas zonas en cultivo sumergido y otras zonas en exposición directa al aire. Este método de denomina aire-líquido, favorece la estratificación y la maduración del epitelio de los tejidos generados mediante ingeniería tisular.<sup>4</sup>



## 2. REGENERACIÓN TISULAR.

Con el paso del tiempo y los debido a los procesos fisiológicos y patológicos que condicionan diversidad de cambios en el organismo, el ser humano ha tenido y tiene la voluntad de mantener o reemplazar las estructuras anatómicas (tejidos u órganos) pérdidas o dañadas, y en este intento ha desarrollado distintas técnicas que le han permitido restablecer los componentes del cuerpo con todas sus características estructurales y funcionales.

La regeneración tisular es un proceso muy complejo que integra información y estrategias de varios campos científicos y cuyo objetivo es la reconstrucción de los tejidos; reemplazar tejido perdido o dañado por otro idéntico.

En el proceso de regeneración tisular, se relacionan condicionantes de tipo local y otros de tipo general, por ello, el conocimiento de los procesos biológicos desencadenados como consecuencia del contacto de la materia viva con el biomaterial, será de vital importancia para poder identificar cada uno de ellos, ya que coloquialmente podrían confundirse, pero al estudiar el proceso celular que implican individualmente, lograremos reconocerlos y definirlos.

### REGENERACIÓN.

Se entiende como regeneración al crecimiento y diferenciación de nuevas células y sustancia intercelular para formar nuevos tejidos o partes. En el tejido oral consiste en fibroplasia, proliferación endotelial y aposición de sustancia fundamental intersticial, colágeno y maduración del tejido conjuntivo. Se produce por crecimiento del mismo tipo de tejido que el destruido o a partir de su precursor.<sup>9</sup>



Según Harrison se produce regeneración de los tejidos cuando éstos han sido restaurados completamente hasta obtener un patrón anatómico y funcional normal e igual a los que previamente existían, señalando que éste es el resultado del mecanismo de cicatrización por primera intención; en ocasiones sin que queden huellas residuales de la lesión anterior.<sup>10</sup>

Pero no todos los tejidos tienen ésta capacidad y cuando la regeneración no es posible, se produce una reparación.<sup>11</sup>

### **REPARACIÓN.**

Se entiende por reparación al proceso restauración física o mecánica de tejidos dañados o enfermos mediante el crecimiento de nuevas células sanas o por aposición quirúrgica, se ha denominado también cicatrización; dicho tejido no es completamente restaurado en arquitectura o función.<sup>12</sup>

La reparación de un tejido por lo general se considera como una fase de la reacción inflamatoria, por lo tanto, se inicia al principio de la inflamación e implica dos procesos separados, la regeneración del tejido lesionado por células parenquimatosas del mismo tipo y la sustitución por tejido conjuntivo que producen una cicatriz permanente.<sup>13</sup>

Los dos principales agentes que interviene en este proceso son los macrófagos, quienes limpian el tejido y los fibroblastos, quienes remiendan el daño. Ambas células actúan en la periferia del foco inflamatorio.<sup>11</sup>

### **CICATRIZACION.**

Se entiende por cicatrización al proceso de reparación mediante tejido conjuntivo, fibroplasia o fibrosis y acotan que cuando existe una lesión tisular grave o persistente e inflamación con daño a las células parenquimatosas, conducen a una situación donde la reparación no se puede lograr por la simple regeneración del parénquima. Si bien la cicatriz se considera funcionalmente imperfecta, hay que resaltar que ella cubre el



defecto en el tejido y permite que el parénquima residual continúe funcionando.<sup>13</sup>

Existen existen dos tipos de cicatrización, primera y segunda intención y tres componentes durante el proceso: angiogénesis, fibrosis y remodelado.<sup>13,14</sup>

## RENOVACIÓN CELULAR.

Todos los organismos vivos utilizan la división celular, bien como mecanismo de reproducción, o como mecanismo de crecimiento. La división celular es un mecanismo cíclico, el cual permite el aumento del número de células, y a partir de esas células lograr una especialización y una funcionalidad concreta.<sup>15</sup>

Las poblaciones celulares pueden clasificarse en estáticas, estables o renovables:

- Células permanentes: se componen de células que ya han terminado su proceso de diferenciación y división celular, ya no se dividen (células posmitóticas), como las células del sistema nervioso central y las células musculares esqueléticas o cardíacas.
- Células estables: son células que se dividen de manera episódica y con lentitud para mantener la estructura normal de los tejidos y de los órganos. Estas células pueden ser estimuladas por una agresión para tornarse más activas desde el punto de vista mitótico. Las células del periostio y del pericondrio, células musculares lisas y las células endoteliales en los vasos sanguíneos y los fibroblastos del tejido conjuntivo son ejemplo de estas.
- Células lábiles: son células que pueden ser de renovación lenta o rápida que exhiben actividad mitótica regular, las células de



renovación rápida cumplen un ciclo celular completo en unas 24 horas. La división de estas células suele producir dos células hijas que se diferencian morfológica y funcionalmente dos células que permanecen como células madre. Las células hijas pueden dividirse una vez o más antes de que alcancen su estado maduro. La célula diferenciada en última instancia puede perderse del organismo. Las células sanguíneas, células epiteliales, células musculares lisas y fibroblastos son ejemplos de estas.<sup>15,16</sup>

## **CICLO CELULAR.**

Algunos tipos celulares presentan la capacidad de renovar la población celular del tejido que conforman. En estos tejidos, existe una reserva o grupo de células denominadas células madre, que han quedado desde el desarrollo embrionario, lo que permite, en cierta medida, renovar su población celular respectiva pues constantemente van perdiendo células diferenciadas.

Asimismo, es importante recordar que no todos los tejidos presentan esta capacidad de renovación y/o reparación, por lo que será necesario conocer el proceso de crecimiento y multiplicación en las células y así identificar los tipos de población celular en cuanto a su capacidad de renovación.

## **FASES Y PUNTOS DE CONTROL DEL CICLO CELULAR.**

El ciclo celular es una secuencia de acontecimientos autorregulada que controla el crecimiento y la división de las células, cuyo objetivo es producir células hijas, cada una con cromosomas idénticos a los de la célula progenitora (Fig. 7).

El ciclo celular tiene dos fases principales: la interfase (donde ocurre el crecimiento continuo de la célula) y la fase M (mitosis), caracterizada por la



división del genoma. Otras tres fases, la fase G1 (gap1), la fase S (de síntesis) y la fase G2 (gap2), subdividen adicionalmente la interfase.

A lo largo del ciclo, varios mecanismos internos de control de calidad o puntos de control, representados por vías bioquímicas, controlan la transición entre las etapas del ciclo celular. Los puntos de control verifican y modulan la progresión de las células a través del ciclo celular en respuesta a señales intracelulares o del entorno.<sup>15,16</sup>

### **G1.**

Durante la fase G1, la célula capta sustancias nutritivas y sintetiza RNA y las proteínas necesarias para la síntesis del DNA y la duplicación de los cromosomas, presenta dos puntos de control: el punto de restricción (que es sensible al volumen celular, al estado de los procesos fisiológicos de la célula y a sus interacciones con la matriz extracelular y el punto de control del daño del DNA, que verifica la integridad del DNA de duplicación reciente.<sup>16</sup>

El punto de restricción (o "punto de no retorno") es el punto de control más importante del ciclo celular, está mediado por interacciones de la proteína de susceptibilidad al retinoblastoma (pRb) y una familia de factores de transcripción esenciales (E2F) con sus promotores diana. En las células normales la interacción adecuada entre pRb y E2F desactiva muchos genes y bloquea la progresión del ciclo celular.<sup>16</sup>



### **Fase S.**

En la fase S se duplica el DNA y se forman nuevas cromátidas que se tornarán obvias en la profase o la metafase de la división mitótica. La duplicación de los cromosomas se inicia en muchos sitios diferentes, llamados replicones, a lo largo del DNA cromosómico. Cada replicón tiene un tiempo asignado de manera específica para su duplicación durante la fase S. El punto de control del daño del DNA en S verifica la calidad del DNA en proceso de duplicación durante esta fase.<sup>16</sup>

### **Fase G2.**

En la fase G2 la célula se prepara para su división. Durante esta fase, la célula examina su DNA duplicado en preparación para la mitosis. Éste es un periodo de crecimiento celular y de reorganización de los orgánulos citoplasmáticos antes de que entren en el ciclo mitótico. Dos puntos de control del daño del DNA en G2 y el punto de control del DNA no duplicado. Este último impide la progresión celular hacia la fase M antes de que se complete la síntesis del DNA.<sup>16</sup>

### **Fase M.**

La mitosis ocurre en esta fase. La mitosis casi siempre incluye la cariosinesis (división del núcleo) y la citocinesis (división de la célula), hay dos puntos de control: el punto de control del armado del huso mitótico (que impide la entrada prematura en la anafase) y el punto de control de la segregación de los cromosomas (que impide el proceso de la citocinesis hasta que todos los cromosomas se hayan separado correctamente).<sup>16</sup>

El inadecuado funcionamiento de los puntos de control del ciclo celular puede conducir a la muerte celular o al desarrollo de células tumorales.<sup>16</sup>

La población de células madre de reserva puede activarse y reingresar en el ciclo celular. Las llamadas células madre de reserva se encuentran en G<sub>0</sub> y pueden ser inducidas a reingresar en el ciclo celular en respuesta al daño de las poblaciones celulares dentro de los tejidos del organismo.<sup>16</sup>

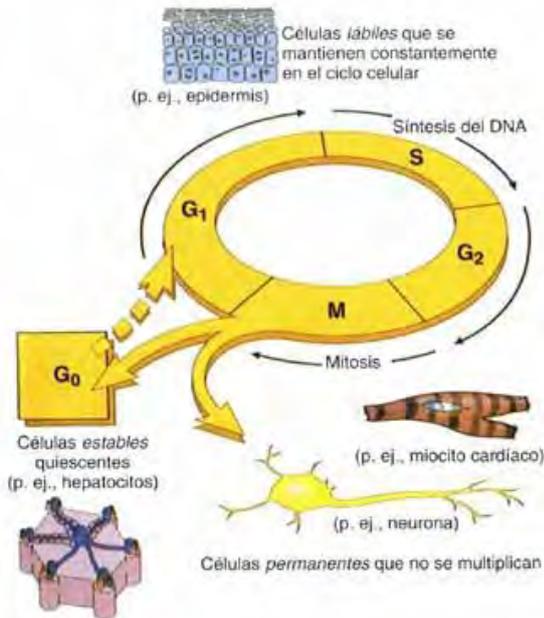


Fig. 7 Ciclo celular (Tomado de

[http://www10.uniovi.es/anatopatodon/modulo5/tema04\\_regeneracion/fotos/regulacion1.jpg](http://www10.uniovi.es/anatopatodon/modulo5/tema04_regeneracion/fotos/regulacion1.jpg))

## MITOSIS.

La mitosis es un proceso de segregación cromosómica y de división nuclear, seguido por división citoplasmática, que produce dos células hijas con la misma cantidad de cromosomas y contenido de DNA que la célula progenitora (Fig.8).

El término mitosis se utiliza para describir la distribución equilibrada de los cromosomas duplicados y de sus genes en dos grupos idénticos. El proceso de la división celular suele incluir la división tanto del núcleo (cariosinesis) como del citoplasma (citocinesis). El proceso de la citocinesis distribuyen los orgánulos no nucleares en las dos células hijas.<sup>16</sup>



La mitosis sigue la fase S del ciclo celular y está subdividida en cuatro fases:

**Profase.** Comienza cuando los cromosomas duplicados se condensan y se tornan visibles. Las cromátides hermanas se mantienen unidas por el anillo de proteínas llamadas cohesinas y por el centrómero. En la última parte de la profase la envoltura nuclear comienza a desintegrarse en vesículas de transporte pequeñas que parecen componentes del retículo endoplasmático liso. El nucléolo desaparece aparece el cinetocoro, en cada cromátide frente al centrómero. Los complejos de proteínas que forman los cinetocoros en la región centromérica de la cromátide están unidos a secuencias de DNA repetitivas específicas (el denominado DNA satélite), que son semejantes en cada cromosoma. Ciertos microtúbulos del huso mitótico en formación se fijan a los cinetocoros y, así, a los cromosomas.<sup>15,16</sup>

**Metafase.** Comienza cuando el huso mitótico, compuesto por tres tipos de microtúbulos, se organiza el rededor de los MTOC (centros organizadores de los microtúbulos) ubicados en polos opuestos de la célula. En algunas especies es microtúbuloscinetocóricos se forman por mecanismos independientes del MTOC en los que participan los cinetocoros.<sup>15,16</sup>

**Anafase.** Comienza con la separación inicial de las cromátides hermanas. Esta separación ocurre cuando se degradan las cohesinas que han mantenido las cromátidas juntas. Luego las cromátides empiezan a separarse y son arrastradas hacia polos opuestos de la célula por los motores moleculares (dineínas) que se deslizan a lo largo de los microtúbuloscinetocóricos hacia el MTOC.<sup>15,16</sup>

**Telofase.** Esta fase está marcada por la reconstrucción de una envoltura nuclear alrededor de los cromosomas en cada polo. Los cromosomas se

desenrollan y se tornan inconspicuos excepto las regiones que permanecen condensadas en el núcleo de interfase. Los nucleolos reaparecen y el citoplasma (citosis) se divide para formar dos células hijas. La citosis comienza con la formación de un surco de la membrana plasmática equidistante de ambos polos del uso mitótico, la célula se estrangula hasta quedar separada en dos células hijas. Dado que los cromosomas de las células hijas contienen copias idénticas de DNA duplicado, las células hijas son genéticamente idénticas y contienen el mismo tipo y la misma cantidad de cromosomas. Las células hijas son  $2d$  en cuanto al contenido de DNA y  $2n$  en lo que se refiere a la cantidad de cromosomas.<sup>16</sup>

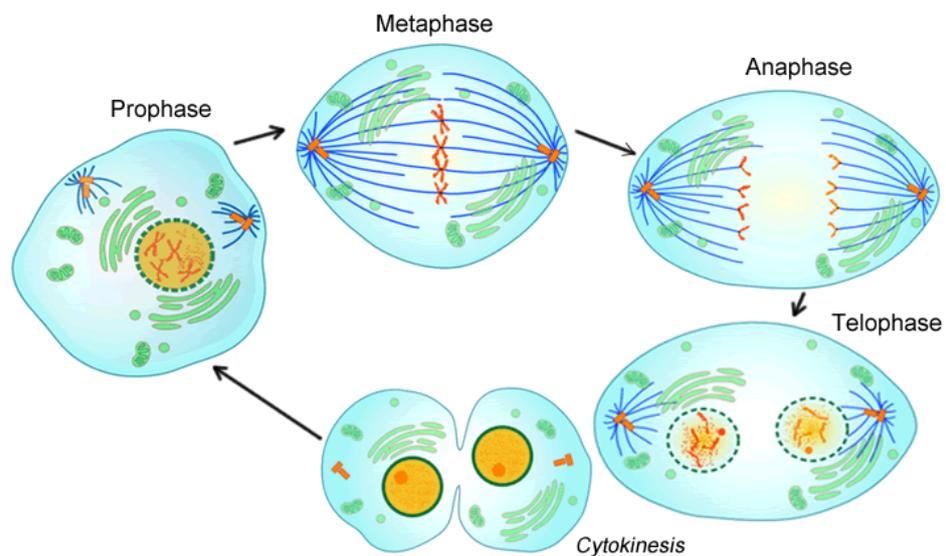


Fig. 8 Mitosis (Tomado de <https://www.biologycorner.com/resources/mitosis-phases.png>)

## MEIOSIS.

La meiosis comprende dos divisiones nucleares secuenciales seguidas por divisiones citoplasmáticas que producen gametos con la mitad de la cantidad de cromosomas y la mitad del contenido de DNA con respecto a las células somáticas. El cigoto (la célula producida por la fusión de un óvulo y un espermatozoide) y todas las células somáticas derivadas de él son



diploides ( $2n$ ) en cuanto a la cantidad de cromosomas; en consecuencia, estas células poseen dos copias de cada cromosoma y de cada gen que hay en estos cromosomas. Estos cromosomas se llaman cromosomas homólogos porque son semejantes, pero no idénticos; un juego de cromosomas es de origen materno, mientras que el otro es de origen paterno. Los gametos, que pudieran sólo un miembro de cada par cromosómico, se describen como haploides ( $1n$ ). Durante la gametogénesis, la reducción de la cantidad de cromosomas hasta el estado haploide (23 cromosomas en los seres humanos) ocurre por medio de la meiosis, un proceso que comprende dos divisiones celulares sucesivas, de las cuales la segunda no está precedida por una fase S (Fig. 9).<sup>16</sup>

Durante la meiosis, los cromosomas se aparean y pueden intercambiar segmentos, con lo que se altera su composición genética. Este intercambio genético, llamado recombinación (crossing-over), y la distribución aleatoria de cada miembro de los pares cromosómicos en los gametos haploides da origen a una diversidad genética infinita.<sup>16</sup>

La meiosis consiste en dos divisiones mitóticas sucesivas sin la fase S que precede a la meiosis, el DNA se duplica y forma cromátidas hermanas (dos moléculas paralelas de DNA) unidas por el centrómero. El contenido de DNA se torna  $4d$ , pero la cantidad de cromosomas permanece sin cambios ( $2n$ ). Las células entonces sufren una división reduccional (meiosis I), y una división ecuacional (meiosis II).<sup>16</sup>

Durante la meiosis I, como lo implica en la apelativa división reduccional, la cantidad de los cromosomas se reduce de diploide ( $2n$ ) a haploide ( $1n$ ), y el contenido de DNA disminuye de  $4d$  a  $2d$ . Durante la profase I, los cromosomas de las moléculas dobles se condensan y los homólogos (normalmente uno heredado de la madre y otro del padre) se aparean a la altura del centrómero. En este momento puede ocurrir la recombinación del material genético entre los pares de cromosomas maternos y paternos.<sup>16</sup>



En la metafase I los cromosomas homólogos con sus centrómeros se alinean a lo largo del ecuador del huso mitótico y en la anafase I se separan y se distribuyen hacia cada polo de la célula para que cada célula hija contenga un miembro de cada par. Esto determina una reducción tanto de la cantidad de cromosomas a  $1n$  como del contenido de DNA a  $2d$ .<sup>16</sup>

La meiosis II no está precedida por duplicación del DNA. La división durante la meiosis II siempre es ecuacional porque la cantidad de los cromosomas no se modifica. Permanece en  $1n$ , aunque el contenido de DNA correspondiente a la cantidad de cromátides se reduce a  $1d$ . Durante la metafase II, cada cromosoma sea línea a lo largo del ecuador del huso mitótico y en la anafase II las cromátidas hermanas se separan unas de otras. Así, cada cromosoma doble se parte en dos cromosomas de moléculas simple que luego se distribuyen a cada célula hija haploide.<sup>16</sup>

Las fases del proceso de la meiosis son semejantes a las fases de mitosis.

### **Profase I.**

La profase de la meiosis I es una fase extendida la que ocurre el apareamiento de los cromosomas homólogos, la sinapsis (asociación estrecha de los cromosomas homólogos) y la recombinación del material genético en los cromosomas homólogos.

La profase I se subdivide en las cinco etapas siguientes:

- **Leptoteno.** Esta etapa se caracteriza por la condensación de la cromatina y por la aparición de los cromosomas. Las cromátidas hermanas también se condensan y se conectan entre sí por medio de complejos de cohesión específicos de la meiosis (Rec8p). En esta fase se inicia el apareamiento de los cromosomas homólogos de origen materno y paterno. El apareamiento de los homólogos puede describirse como un proceso en el cual los cromosomas se buscan



activamente. Luego de encontrar su pareja, se alinean lado a lado dejando un espacio estrecho entre ambos.

- **Cigoteno.** La sinapsis, o sea la asociación estrecha entre los cromosomas homólogos, comienza en esta etapa y continúa durante todo el paquiteno. Éste proceso comprende la formación de un complejo sinaptonémico, una estructura tripartita que une los cromosomas. Con frecuencia se compara el complejo sinaptonémico con las vías del ferrocarril provistas de un tercer riel adicional ubicado entre los dos. Los durmientes bajo estos rieles corresponden a los filamentos transversos que fijan la armazón cromatínica en ambos cromosomas homólogos.
- **Paquiteno.** En esta etapa se ha completado la sinapsis. La recombinación génica (crossing-over) ocurren en los comienzos de esta fase y comprende la transposición de los segmentos de DNA entre dos cromosomas diferentes.
- **Diploteno.** Al principio de esta etapa, se disuelve el complejo sinaptonémico y los cromosomas siguen condensándose. Los cromosomas homólogos comienzan a separarse y parece que están conectados por uniones nuevas, llamadas quiasmas. Las cromátidas hermanas todavía permanecen en asociación estrecha. Las quiasmas son la expresión morfológica de la recombinación genética.
- **Diacinesis.** Los cromosomas homólogos se condensan y se acortan para alcanzar su espesor máximo, y nucleolo desaparece y le envoltura nuclear se desintegra.<sup>16</sup>

### Metafase I.

La metafase I es semejante a la meta fase de la mitosis, excepto que los cromosomas a pareados se alinean en la placa ecuatorial, con un miembro hacia cada lado. Los cromosomas homólogos todavía están unidos por los quiasmas. Una vez que sea desintegrado la envoltura nuclear. Los microtúbulos del huso comienzan a interactuar con los cromosomas a



través de una estructura proteica trilaminar: el cinetocoro, que suele ubicarse cerca del centrómero. Los cromosomas sufren movimientos para finalmente alinear sus centrómeros a lo largo del ecuador huso.<sup>16</sup>

### **Anafase I y telofase I.**

La anafase I y la telofase I son similares en las mismas fases de la mitosis, excepto que los centros meros no se dividen. Las cromátidas hermanas, sostenidas por los complejos de cohesina y por el centrómero, permanecen juntas. Un miembro materno o paterno de cada par homólogos, ahora con segmentos intercambiados, se mueve hacia cada polo. La segregación o distribución aleatoria ocurre porque los cromosomas maternos y paternos de cada par se alinean al azar en uno u otro lado de la placa y ecuatorial de la metafase, con lo que se contribuye a la diversidad genética. Al final de la meiosis I, se divide el citoplasma. Cada célula hija resultante es haploide en cuanto a su cantidad de cromosomas ( $1n$ ), dado que contiene sólo un miembro de cada par cromosómico, pero todavía es diploide en cuanto a su contenido de DNA ( $2d$ ).<sup>16</sup>

### **Meiosis II.**

Después de la meiosis I, sin pasar por una fase S, la célula rápidamente entra en la meiosis II. La meiosis II es una división ecuacional y se parece a la mitosis. Durante esta fase, una proteinasa (la enzima llamada separasa) rompe los complejos de cohesión entre las cromátidas hermanas. La escisión de los complejos de cohesinas en la región centromérica rompe el vínculo entre ambos centrómeros. Esta escisión permite que las cromátidas hermanas se separen en la anafase II y se muevan hacia los polos opuestos de la célula. Durante la meiosis II, las células atraviesan la profase II, la metafase II, la anafase II y la telofase II. Y estas etapas en esencia son las mismas que las de la mitosis, excepto que comprenden un juego haploide de cromosomas ( $1n$ ) y producen células hijas con sólo el contenido haploide de DNA ( $1d$ ). A diferencia de

las células producidas por la mitosis, que son genéticamente idénticas a la célula progenitora, las células producidas por la meiosis son singulares desde el punto de vista genético.<sup>16</sup>

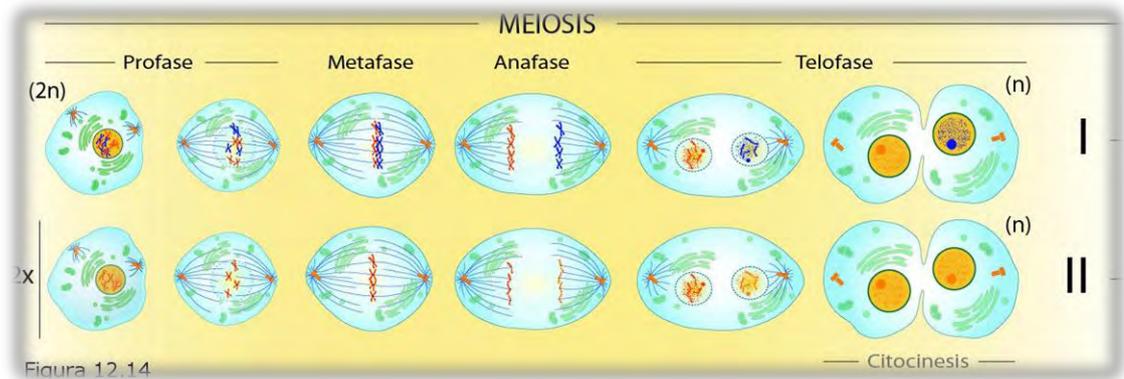


Fig. 9 Meiosis (Tomado de <http://www.bionova.org.es/biocast/documentos/figura/figtem12/figurat1214.jpg>)



### 3. CHIPS TISULARES.

Los modelos in vitro de tejidos biológicos, son herramientas indispensables para desentrañar la fisiología humana y la patogénesis. Por lo general, consisten en una sola capa de un solo tipo de células, lo que los hace inadecuado para la investigación en paralelo con otros órganos, y debido a su simplicidad, los modelos in vitro también son menos válido como verdaderos reflejos de los tejidos biológicos complejos del cuerpo humano. A pesar de que el realismo de los modelos se puede aumentar mediante la inclusión de más tipos de células, esto inevitablemente dará lugar a una disminución de la fiabilidad y el rendimiento. El constante de equilibrio entre el realismo y simplicidad ha llevado a un callejón sin salida en el desarrollo de nuevos modelos in vitro.

La tecnología de ingeniería a microescala ofrece oportunidades sin precedentes para crear microambientes de cultivo de células que van más allá de los actuales modelos tridimensionales in vitro<sup>17</sup>

Estas nuevas capacidades que surgieron a partir de la convergencia de Microingeniería con la ciencia de microfluidos y la biología celular han llevado al desarrollo de 'Órganos-en-chips', que reconstituyen un tejido y la complejidad funcional de los órganos utilizando células cultivadas en dispositivos de microfluidos que viven con las señales microambientales pertinentes.

#### DEFINICIÓN.

La finalidad de los órganos-en-chip es crear viviendo secciones histológicas de un ser humano adulto.<sup>18</sup>

Los Órganos en chip, una clase de micromodelos in vitro de tejidos, tiene el potencial de romper esta barrera en los cultivos in vitro. Estos modelos

combinan artificialmente, mediante la ingeniería de tejidos, un microambiente cultivo celular fisiológicamente realista con el potencial para la paralelización y un mayor rendimiento. Ellos son fiables, porque las características, a nivel fisiológico tales como la organización del tejido, geometría, gradientes solubles y estimulación mecánica están bien definidos y controlados. Por otra parte, sus propiedades de microfluidos y sensores integrados abren el camino para estudios de alto rendimiento.<sup>19</sup>

Los dispositivos se denominan 'chips' debido a que los principios de diseño se basan en la tecnología del microchip (Fig. 10), que ofrece múltiples canales paralelos controlables, así como combinar canales, bombas, válvulas y sensores eléctricos y bioquímicos integrados. Los dispositivos se denominan "órganos", porque algunos de los estímulos microambientales se derivan de las funciones de órganos reales.<sup>19</sup>

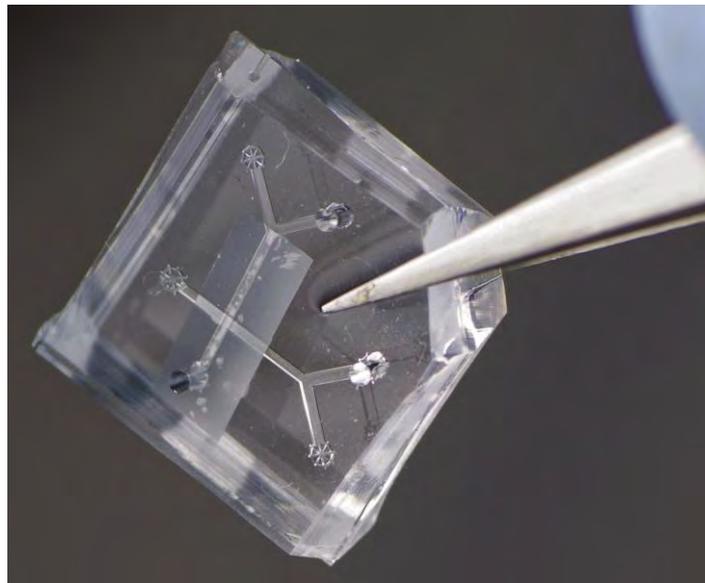


Fig. 10 Órganos en chip, dispositivo (Tomada de Organs-on-chips: breaking the in vitro impasse).<sup>21</sup>

## FUNCIÓN.

Estos "órganos-on-chips" permiten el estudio de la fisiología humana en un contexto específico de cada órgano, permiten el desarrollo de modelos de enfermedad "IN VITRO", y potencialmente podrían servir como sustitutos de los animales utilizados en el desarrollo de fármacos y pruebas de la toxina (Fig. 11).

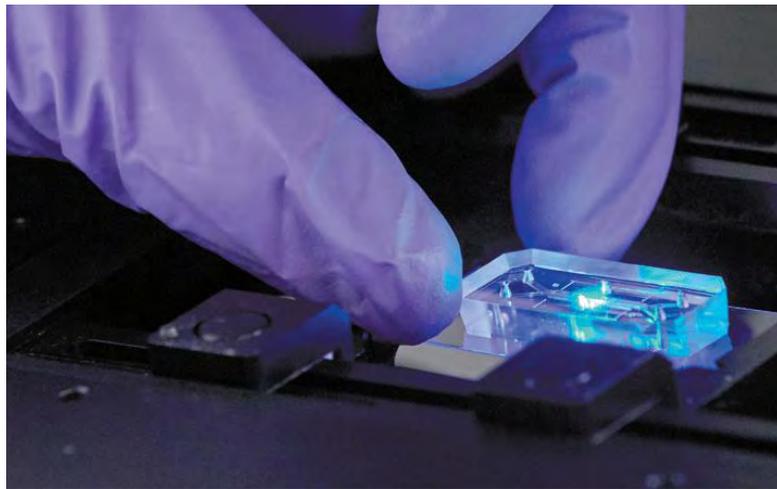


Fig. 11. Desarrollo de órganos en chip (Tomada de Organs-on-chips' go mainstream)<sup>22</sup>

Los sistemas de órganos en chips son útiles para entender completamente cómo se forman y la función de los tejidos, así como su fisiopatología, las propiedades mecánicas, su microambiente y propiedades bioquímicas. Desafortunadamente, la mayoría de los estudios sobre la regulación celular y de tejidos se han basado en el análisis de las células cultivadas en los modelos de cultivo que no puede reconstituir el microambiente celular in vivo; como resultado, estos cultivos comúnmente no mantienen sus funciones diferenciadas. Los esfuerzos para abordar estas limitaciones condujeron al desarrollo de modelos de cultivo de células en 3D en el que se cultivan las células dentro de los geles de matriz extracelular (MEC), integran tecnologías de microfluidos.<sup>20</sup>



## CONDICIONES DE TRABAJO.

Fisiológicamente presentan retos de ingeniería interesantes e importantes, tales como la determinación del tamaño apropiado para cada órgano para asegurar la actividad funcional de cada órgano, densidad celular apropiada, medios de perfusión, detección de la amplitud de las respuestas fisiológicas; mantener el control estable de todo el sistema.<sup>18</sup>

Los órganos en chips utilizan Microfluídicos, la ciencia de la manipulación en pequeñas cantidades (10 - 9 a 10 - 18  $\mu$ L) de los fluidos en los canales microfabricados, es otra tecnología base de los microsistemas que se ha utilizado para generar precisamente y ajustar los flujos evacuados, gradientes de espacio-temporales, así como entregar nutrientes y otras señales químicas a las células de una manera controlada. El flujo en los sistemas de microfluidos es totalmente laminar (sin turbulencia), lo que mantiene gradientes químicos en el microsistema de horas a días para estudiar la motilidad celular en respuesta a los estímulos quimiotácticos.<sup>20</sup>

En condiciones 2D (modelos "IN VITRO" convencionales), se restringen parcialmente la propagación de células. En un estudio se usaron células endoteliales capilares, donde se mostró que extendiéndose estimula su crecimiento, mientras que la prevención total de la extensión celular induce la apoptosis en las células endoteliales adherentes. Con otro estudio, en esta misma técnica de micromodelos, también se han utilizado cardiomiocitos de cultivo en 2D en películas delgadas de elastómeros con proteínas de MEC para generar tejidos del corazón funcionales que generan tensiones comparables a los medidos en vivo. Por otra parte, cuando el polímero se corta libre de sus adhesiones al sustrato plano rígido, el tejido del corazón se contrae de forma espontánea rítmica y crea el tejido en una forma 3D.



Tomados en conjunto, estos resultados hacen hincapié en que el entorno mecánico es crucial para el crecimiento celular y la diferenciación de tejidos, lo que sugiere que la mayor parte de la potencia de sistemas de cultivo 3D reside en la flexibilidad de los geles de MEC que permite las células cambiar su forma. Por ello, se hace hincapié en la importancia de diseñar sistemas de cultivo de células que imitan el microambiente físico de los órganos.<sup>20</sup>



#### **4. COMO IMPLEMENTAR LOS CHIPS EN ODONTOLOGÍA.**

Se hacen enormes esfuerzos en el desarrollo de estrategias novedosas regenerativas, que implican células, factores solubles, biomateriales o combinaciones de los mismos.

El objetivo de la medicina regenerativa es restaurar o establecer la función normal de los tejidos u órganos dañados. Para satisfacer esta necesidad, se hace una evaluación para encontrar la opción biológica más rápida y fiable de rendimiento, no sólo para seleccionar los candidatos potencialmente interesantes, sino también para descartar los menos útiles en una etapa temprana de desarrollo.

La construcción de tejidos bucodentales artificiales por ingeniería tisular ha sido objeto de especial interés en los últimos años, con el objetivo de su utilización en la terapéutica odontológica. En este sentido se ha aplicado la ingeniería tisular por inducción para la regeneración del periodonto y la ingeniería tisular por elaboración de constructos para crear sustitutos de mucosa bucal. En relación con los tejidos duros del diente se han ensayado protocolos diversos de ingeniería tisular basados, fundamentalmente, en la capacidad regenerativa de la pulpa.<sup>4</sup>

La gran mayoría de reconstrucciones de la región maxilofacial se debe a trauma y patologías tumorales, donde el tejido que resulta más afectado es el óseo. La reconstrucción de los maxilares tiene dos propósitos principales: restablecer la función y la estética, lo cual es un procedimiento que requiere el conocimiento de la estructura, el crecimiento y el desarrollo de los lechos óseos a trasplantar.

Aunque las neoplasias que tienen su origen en los maxilares no son usuales, el conocimiento de estas entidades, así como su tratamiento, tiene



**MICROCHIPS TISULARES COMO UNA ALTERNATIVA EN LA  
REGENERACIÓN DE TEJIDOS EN ODONTOLOGÍA**

---

---



gran importancia para el odontólogo de práctica general, a causa de las deformidades, disfunciones y riesgos que representan para el paciente.



## **5. REGENERACIÓN TISULAR EN ODONTOLOGÍA Y APLICACIÓN DE LOS CHIPS.**

El problema más importante que surge tras la extirpación de un tumor maxilar, consiste en la reconstrucción de una parte importante del mismo. Algunas de estas técnicas de reconstrucción incluyen injertos óseos no vascularizados, injertos óseos vascularizados, y materiales que no tienen origen en seres vivos. El uso de varios tipos de injertos para la reconstrucción de defectos óseos en la región maxilofacial es un procedimiento frecuente en la práctica quirúrgica, y se debe tener en cuenta que existen diferentes tipos de injertos.

Las técnicas para reconstrucción con injertos óseos han sido utilizadas por mucho tiempo y se usan rutinariamente para corregir los defectos que se presentan como resultado de lesiones traumáticas o neoplásicas. Es aquí donde se pretende introducir los chips de regeneración tisular, como una nueva alternativa en la reconstrucción ósea.

Para introducir estas nuevas técnicas en el campo odontológico, es necesario conocer los conceptos y principios básicos de los injertos óseos, así como las técnicas y métodos reconstructivos empleados de manera más habitual.

Así mismo, es importante describir los mecanismos biológicos básicos que participan en la formación de nuevo hueso, para poder juzgar un injerto como confiable para la reconstrucción de defectos óseos en la región maxilofacial.

### **NUEVAS ALTERNATIVAS DE REGENERACIÓN TISULAR.**

Los diferentes métodos que se emplean en la actualidad para la regeneración ósea, salvo en el caso de los autoinjertos, dicho proceso de



regeneración se lleva a cabo casi exclusivamente en virtud de la osteoconducción del material empleado. No hay osteogénesis ni osteoinducción por parte del mismo, sino que estos procesos recaen de forma directa en el propio organismo. Sin embargo, en la síntesis realizada del mecanismo natural de regeneración ósea, son precisamente estos dos procesos, activos biológicamente, los que aseguran en último término una adecuada reparación de la lesión, supuesta la existencia de una matriz sobre la que tener lugar.<sup>21</sup>

Debido a ello se ha venido realizando un gran esfuerzo donde no se trata ya tanto de “reparar” en el sentido clásico del término, sino de estimular. Estimular todos aquellos procesos naturales que conducen de forma espontánea a la autorregeneración ósea, de forma que sea posible mediante dicho estímulo el tratamiento de defectos óseo de un tamaño superior al crítico, sin necesidad de tratamientos quirúrgicos sustitutorios.<sup>21</sup>

Así, tenemos técnicas basadas en la estimulación de los procesos osteoinductivos. A su vez podemos diferenciar dentro de esta clase dos grandes grupos de técnicas: las basadas en potenciar los mecanismos moleculares presentes en la etapa 1 de la regeneración ósea, mediante el uso de plasma enriquecido en plaquetas (PRP), y aquellas otras donde lo que se potencia son los procesos de diferenciación celular y remodelación existentes en las etapas 2 y 3 de la regeneración ósea, fundamentalmente mediante la incorporación en el biomaterial de proteínas morfogenéticas óseas (BMP-2 y BMP-7, también conocida como OP-1).<sup>21</sup>

### **PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP).**

Se trata de una técnica relativamente fácil de realizar por el clínico y dado que el material a utilizar proviene del propio paciente, sin riesgo de la presencia de una respuesta inmune por parte del mismo. Estas



circunstancias, junto con los aceptables resultados que produce, hacen que su empleo se esté extendiendo con gran rapidez.<sup>21</sup>

La racionalidad de esta técnica se basa en potenciar en gran medida los efectos producidos por las plaquetas en la fase I de la regeneración ósea, mezclando para ello una fracción del plasma del propio sujeto, enriquecida en plaquetas mediante un proceso de centrifugación diferencial, con el material de relleno a usar por el clínico. De esta forma, el número de plaquetas presentes inicialmente en el coágulo sanguíneo de esta fase será mucho mayor.<sup>21</sup>

Con este procedimiento se conseguirá, pues, que la liberación de las señales quimiotácticas, que permiten que el reclutamiento y proliferación de células madre esté tremendamente aumentado con respecto a la situación normal, mejorándose de esta forma en gran manera las posibilidades de éxito en la regeneración ósea. Los resultados descritos con el uso del PRP indican que su empleo aumenta entre un 15 y un 30% la densidad ósea y que disminuye el tiempo necesario para dicha regeneración.<sup>21</sup>

### **PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS ÓSEAS.**

La segunda de las aproximaciones usadas para el estímulo de la regeneración ósea radica en el uso de las llamadas proteínas morfogenéticas óseas (BMP) que, como se ha indicado con anterioridad, desempeñan un papel muy activo en la fase II de la misma.<sup>21</sup>

Este tipo de proteínas se aisló por vez primera de extractos óseos y fueron identificadas como las responsables de las propiedades de inducción ectópica de hueso por parte de la matriz ósea desmineralizada.<sup>21</sup>



La cantidad en que están presentes estas proteínas de forma natural en el hueso es muy pequeña, en el orden de  $\mu\text{g}$  de proteína por kg de hueso, cantidades que son a su vez varios órdenes de magnitud inferiores a las que tienen otras proteínas presentes en la matriz ósea como el TGF-B. Debido a ello, el esfuerzo que se realizó para obtener material de pureza y cantidad suficientes para permitir una secuenciación parcial de las mismas fue enorme (concentraciones del orden de más de 300.000 veces las cantidades iniciales). La secuenciación parcial y las tecnologías de ADN permitieron la obtención nucleótida que codificaba a alguna de estas proteínas, y su posterior clonación y expresión en células eucarióticas (células CHO).<sup>21</sup>

Desde la clonación de las primeras BMP, la BMP-1 , la BMP-2 y la de hoy en día conocida como BMP.4, hasta la fecha, ha aumentado extraordinariamente el número de estas proteínas, conociéndose hoy en día de más de 15 BMP diferentes.<sup>21</sup>

No todas las diferentes BMP son capaces de inducir la formación de hueso en sitios ectópicos. Este fenómeno sólo está bien establecido de hecho para la BMP-2, BMP-4, BMP-5, BMP-6 y BMP-7. De todas ellas hay sólo dos proteínas que están implicadas en la actualidad en ensayos clínicos, y sobre las que se han centrado la inmensa mayoría de las pruebas preclínicas publicadas, BMP-2 y la BMP-7.<sup>21</sup>

La osificación producida por estas proteínas recombinantes sigue en principio los mismos pasos que se producen con el uso de la BMP no recombinante, natural, purificada de extracto óseo, aunque esta última probablemente sea una mezcla de más de un factor de crecimiento. Se produce primero un intermedio cartilaginoso que posteriormente hipertrofia y mineraliza, es decir, sigue un proceso endocondral.<sup>21</sup>



Sin embargo, está descrito que el uso de altas dosis de estas proteínas, concretamente de la BMP-2, puede producir asimismo osificación intramembranosa, es decir, formación directa de hueso del mesénquima sin ninguna fase cartilaginosa intermedia.<sup>21</sup>

La cuestión de la dosis a emplear para la consecución del efecto de regeneración ósea es algo que no está plenamente contestado, pues la respuesta está ligada a cuál es el soporte empleado para la administración y liberación de estas proteínas recombinantes, pues este proceso depende a su vez de la velocidad de biodegradación del mismo, así como del flujo sanguíneo existente en el lugar de implantación.<sup>21</sup>

Esta vía de estímulo de la regeneración ósea guiada ofrece una muy buena perspectiva para su desarrollo futuro. Quedan, sin embargo, numerosas líneas de actuación que deben ser exploradas para poder explotar todas las posibilidades que estas proteínas osteoinductoras ofrecen.<sup>21</sup>

### **CÉLULAS MADRE.**

La última de las aproximaciones utilizadas experimentalmente para la reparación de lesiones óseas radica, no en el estímulo de las propiedades osteoinductoras, sino en el de las propiedades osteogénicas.

Los resultados iniciales con esta metodología son muy prometedores. Se basa en la obtención de células madre del propio individuo experimental. Estas células, bajo la influencia de los factores osteogénicos producidos de forma natural, evolucionarán hacia líneas osteoblásticas, produciéndose de forma natural la regeneración ósea. Hay varios experimentos de este tipo con buenos resultados experimentales *in vivo*.<sup>21</sup>

La línea de actuación propuesta, dada la tecnología actual que permite el estímulo, aislamiento y crecimiento “*IN VITRO*” de estas células, será



posiblemente alcanzar en el laboratorio la densidad adecuada de células madre para la siembra del soporte a implantar.<sup>21</sup>

Si antes se señalaban las grandes posibilidades de éxito que pueden suponer el uso conjunto de PRP y BMP, estas se incrementarían, notablemente si cabe, con la inclusión en el sistema de células madre indiferenciadas.

## REGENERACIÓN CON LOS ÓRGANOS EN CHIP.

La medicina regenerativa plantea retos adicionales como la complejidad de los órganos o tejidos que necesitan ser regenerados. Se requiere una variedad de modelos de investigación en el campo, que difieren no sólo en el tipo de tejido u órgano a ser regenerado, sino también en la causa de la disfunción o daño. Así mismo, las estrategias de regeneración son múltiples, y para aplicarlas se necesita identificar: (I) la célula / tejido / tipo de órgano, (II) la causa de los daños y (III) la estrategia de regeneración. Es por esto que en un inicio, se necesitan modelos fiables que se asemejan a la situación “*IN VITRO*” tan estrechamente como sea posible.<sup>22</sup>

Los órganos-en-chip presentan un alto nivel de confinamiento, que se asemeja a la experiencia de las células en un entorno en vivo. En comparación con micropocillos abiertos clásicos, están confinados, cerrados y permiten acumulación local de sustancias secretadas por las células, lo que ofrece un mayor nivel de control sobre varios parámetros físicos, tales como concentraciones de temperatura o de gas en solución (por ejemplo, el oxígeno).<sup>22</sup>

“*IN VIVO*”, las señales químicas se encuentran principalmente en forma de gradientes, que provocan muy diferentes respuestas de las células. El carácter laminar de los flujos en estos microdispositivos, facilita la generación de gradientes continuos, estables y precisos. Esto que ocurre a



menudo a través de una barrera con una alta resistencia de fluidos, tales como una serie de canales con una sección transversal. Esta capacidad para generar gradientes ha permitido hasta ahora la determinación de las condiciones óptimas de cultivo mediante la variación de la concentración de factores específicos en medio de crecimiento.<sup>17</sup>

Mediante la combinación de los sistemas celulares con estructuras microfabricadas, ha sido posible crear modelos sofisticados que imitan la arquitectura del órgano (Fig. 12). La ventaja más importante de los órganos-en-chip para acelerar el avance de la investigación de la medicina regenerativa es su alto nivel de integración. Esto se puede ver en los ensayos para la aplicación de una serie de etapas sucesivas en una única plataforma, lo que permite la detección de una gran variedad de factores de crecimiento y sus concentraciones, y la evaluación de su influencia sobre el crecimiento celular.<sup>17</sup>

En estas plataformas de microfluidos también se incluye la aplicación de las capacidades inteligentes o sensores microelectromecánicos (MEMS) para controlar con precisión en tiempo real y de manera no invasiva el microambiente celular y la actividad de las células, una característica que es también de gran importancia. De particular interés en este contexto para el campo de la medicina regenerativa, son sensores: (I) de oxígeno para regular la tensión de oxígeno en la célula que rodea o para seguir la actividad respiratoria celular; (II) sensores generales para controlar los parámetros físicos (por ejemplo, dióxido de carbono, temperatura, pH en el medio de cultivo celular; (III) los sensores para medir el nivel de estrés celular y la producción de especies reactivas de oxígeno; (IV) los sensores para determinar el metabolismo celular; (V) los sensores para determinar de una manera no invasiva el estado de diferenciación de las células madre mediante la detección de marcadores específicos de diferenciación tal como la fosfatasa alcalina.<sup>23</sup>



Fig. 12 Esquema de la combinación de sistemas celulares en un mismo dispositivo.  
(Tomada de Cells, tissues, and organs on chips: challenges and opportunities for the cancer tumor  
microenvironment).<sup>24</sup>

Los resultados experimentales de los órganos-on-chip son, sin duda, útiles para obtener información fundamental sobre las interacciones o respuesta de las células, modelos para estudiar los procesos fisiológicos fundamentales y de los efectos de drogas/toxicidad, pero la pregunta sigue siendo si son lo suficientemente sofisticados como para probar y desarrollar estrategias regenerativas. Esta pregunta es muy importante teniendo en cuenta que incluso en el caso de una lesión relativamente simple como herida en la piel, el daño es mucho más que una monocapa y un tipo de célula. Otros tejidos como el hueso, son aún más complejos debido a su estructura 3D bien definida, y también por pasos que conducen a completar la regeneración del tejido óseo, incluyendo, por ejemplo formación de callo y la mineralización.

Por estas razones, los modelos que combinan la complejidad geométrica 3D y la heterogeneidad celular, se aparecen como el camino a seguir con



el fin de convertirse en una herramienta estándar en la investigación de medicina regenerativa. Los órganos-on-chips, desarrollados como modelos in vitro con el objetivo de imitar los aspectos clave de la fisiología humana con respecto a un determinado tejido u órgano, y la combinación biológica realista, la simplicidad, bajo coste, alto rendimiento y reproducibilidad, podrían llegar a provocar un gran impacto en la investigación de medicina regenerativa.<sup>22</sup>

Estos microdispositivos de cultivo de diferentes células, posiblemente podrían posicionarse de tal manera que se asemejan más a la tridimensionalidad del tejido. Al hacerlo, se crearía un entorno en el que las células pueden ser cultivadas durante períodos de tiempo más largos, clínicamente relevantes para permitir el estudio de todos los procesos que conducen a la regeneración exitosa.<sup>22</sup>



## 6. CONCLUSIONES.

La ingeniería de tejidos se enfrenta a grandes desafíos, que de ser superados, le permitirán posicionarse como la opción más viable para reparar, mantener y sustituir tejidos dañados. Si bien es importante que los profesionales de la salud tengan amplio conocimiento acerca de las enfermedades y problemas de salud que aquejan cada vez con mayor frecuencia a la población para su diagnóstico y tratamiento; también es importante innovar en estos procesos terapéuticos con la intención de elevar el pronóstico y la calidad de vida en los pacientes. A pesar de que existen distintos métodos y técnicas para la evaluación, diagnóstico y tratamiento de dichas enfermedades, muchos de estos son altamente costosos, invasivos y poco dirigidos provocando así el daño a otras estructuras

La ingeniería de tejidos busca fomentar el restablecimiento de la forma tridimensional y la función de los tejidos a través de la manipulación del microentorno celular con el uso de andamios, células, factores biológicos y la estimulación tanto biomecánica como bioquímica para ayudar en la regeneración. Conocer las propiedades mecánicas del tejidos óseo, resulta esencial para la reconstrucción de la forma compleja de la región cráneo maxilofacial.

Por lo tanto, es fundamental consolidar una base apropiada de conocimientos acerca de la ingeniería de tejidos que permita encontrar una combinación adecuada de matriz, células y moléculas de señalización para cada caso clínico; asegurar una angiogénesis oportuna; crear fuentes seguras de células osteogénicas; desarrollar sistemas de fabricación avanzados mediante los cuales se puedan producir matrices tridimensionales complejas con distribución espacial controlada de materiales, microestructuras, factores de crecimiento y células; comprender la distribución espacial y temporal de las células y de los factores de crecimiento requeridos para el tratamiento particular de la enfermedad.



Para alcanzar esto se requerirán herramientas experimentales sofisticadas para el análisis, incluyendo modelos “*in vitro*” más realistas, mejores formas de adquisición e imágenes no invasivas “*in vivo*”, así como modelos computacionales que sean capaces de procesar esa gran cantidad de información, transformarla y desarrollar dispositivos.

Actualmente comienzan a estar disponibles gran variedad de aproximaciones biológicas naturales como terapéutica de la regeneración tisular, mismas que permitirán, en un futuro no muy lejano, abordar el problema de reconstrucciones celulares y tisulares; que hoy en día son impensables.<sup>21</sup>

Si bien se identificaron a los biólogos, toxicólogos y la industria farmacéutica como los usuarios de estos sistemas avanzados de órganos en chip, se ha incrementado el interés en los científicos que desarrollan estrategias regenerativas, así como médicos y odontólogos.

En odontología la construcción de tejidos bucodentales artificiales por ingeniería tisular y su empleo terapéutico son altamente importantes pues han desarrollado técnicas que se han empleado en el tratamiento regenerativo.

El desarrollo y aplicación de dispositivos como órganos-en-chip permitirá regenerar, reparar, mantener y sustituir tejidos dañados de la pulpa, periodonto y de la región maxilofacial que son aquejadas por distintos procesos como son la enfermedad periodontal, traumatismos y neoplasias; con el principal interés que es restablecer la función y a la vez recuperar en algunos casos la apariencia física del sujeto y con ello elevar su estima.



## REFERENCIAS.

1. Schumann P, von See C, Kampmann A, Lindhorst D, Tavassol F, Kokemüller H, et al. Comparably accelerated vascularization by preincorporation of aortic fragments and mesenchymal stem cells in implanted tissue engineering constructs. *J Biomed Mater Res A*. 2011;97(4):383-94.
2. Rai R, Raval R. Tissue Engineering: Step Ahead in Maxillofacial Reconstruction. *J Int Oral Health*. 2015 Sep;7(9):138-42.
3. MS Zafar, Z Khurshid, K Almas, Oral tissue engineering progress and challenges. *Tissue Eng Regen Med* 2015;12(6):387-397.
4. Gómez M, Campos A. *Histología y embriología bucodental*. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2009.
5. Ikeda E, Morita R, Nakao K, Ishida K, Nakamura T, Takano-Yamamoto T, et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *PNAS*. 2009;106(32):13475-80.
6. Andries D. van der Meer and Albert van den Berg. Organs-on-chips: breaking the in vitro impasse, *Integr. Biol.*, 2012, 4, 461–470.
7. Scheller EL, Krebsbach PH, Kohn DH. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J Oral Rehabil*. 2009;36(5):368-89.
8. CJ Damien, JR Parsons. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *Journal of Applied Biomaterials* Volume 2, Issue 3: AUG 2004.
9. Gupta, Priya Verma. *Diccionario ilustrado de odontología*. México. Editorial Trillas. 2014.
10. Lindhe J, Karring T. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 3era Edición. 2000.
11. Ryan G, Majno G. Inflammation the healing phase. En: *Inflammation*. U.S.A. Upjohn. 1977.



12. Garrett S. Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol* 1996.
13. Robbins S, Cotran R, Kumar V, Collins T. *Patología estructural y funcional*. México. McGraw-Hill Interamericana. 6ta Edición. 2000.
14. Hupp J. Wound repair. En: Peterson L, Ellis E, Hupp J, Tucker M, editores. *Contemporary oral and maxillofacial surgery*. St. Louis. Mosby. 3era Edición. 1998: 57-68.
15. Ponce B.S. *Fundamentos de biología celular y del desarrollo humano*. Edit. Médica panamericana, México, 2015.
16. Ross, M. H., W. Pawlina *Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular*. Ed. Panamericana, 6ª ed., 2013.
17. Huh D, Torisawa YS, Hamilton GA, Kim HJ, Ingber DE. Microengineered physiological biomimicry: organs-on-chips. *Lab Chip*. 2012 Jun 21;12(12):2156-64.
18. John P. Wikswo, et. al. Engineering Challenges for Instrumenting and Controlling Integrated Organ-on-Chip Systems. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2013 Mar; 60(3): 682–690.
19. Van der Meer AD, van den Berg A., *Organs-on-chips: breaking the in vitro impasse*, *IntegrBiol (Camb)*. 2012 May;4(5):461-70.
20. Huh D, Hamilton GA, Ingber DE., *From 3D cell culture to organs-on-chips*. *Trends Cell Biol*. 2011 Dec;21(12):745-54.
21. Navarro Vila Carlos: *Cirugía Oral*. España; Editorial Arán. 2008.
22. Harink B, Le Gac S, Truckenmüller R, van Blitterswijk C, Habibovic P. *Regeneration-on-a-chip? The perspectives on use of microfluidics in regenerative medicine*. *Lab Chip*. 2013 Sep 21;13(18):3512-28.
23. Borenstein JT., *Organs-on-Chips: How Microsystems Technology Can Transform the Drug Development Process*. *IEEE Pulse*. 2016 Mar-Apr;7(2):22-6.



24. Young EW, Cells, tissues, and organs on chips: challenges and opportunities for the cancer tumor microenvironment. IntegrBiol (Camb). 2013 Sep;5(9):1096-109.