



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE TITULACIÓN POR ALTO PROMEDIO (TAP)

**BIOCOMPATIBILIDAD DE ANDAMIOS DE ÁCIDO
POLILÁCTICO EN 3D.**

T E S I S

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:

AZUL MARIANA GONZÁLEZ GÓMEZ

TUTOR: Dr. MARCO ANTONIO ÁLVAREZ PÉREZ



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.

AGRADECIMIENTOS

Primero agradezco a **Dios** por haberme dado la oportunidad de culminar mi carrera y por todas las bendiciones que me ha dado a lo largo de mi vida.

A **Héctor González** y **Alma Rosa Gómez** por cuidarme, protegerme, amarme y guiarme durante toda mi vida. Por estar ahí siempre que los necesito. Los amo y éste también es su logro.

A **Erick Hernández** por estar a mi lado durante todo éste tiempo, gracias por todo el amor, apoyo y por todas esas palabras de aliento.

A **Santos González** por su tiempo y sabiduría.

A **Sandra Jiménez** y a **Edgardo Guevara** por creer en mí.

Al Dr. **Marco** y al laboratorio de **Bioingeniería de Tejidos** por todo el apoyo, amabilidad y tiempo brindados.

A todos mis pacientes, familiares y amigos que me ayudaron a culminar mi carrera.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por darme el privilegio de estudiar y formarme como profesionalista.

Agradezco el apoyo al proyecto por parte del programa **DGAPA UNAM: PAPIIT IN210815**, por permitir el desarrollo de esta investigación.

ÍNDICE

1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN.....	5
2.1. BIOIMPRESIÓN 3D.....	5
2.2. CÉLULAS TRONCALES.....	6
2.2.1. CLASIFICACIÓN.....	6
2.2.2. CELULAS TRONCALES MESENQUIMALES.....	7
2.3. PERIODONCIA.....	11
2.3.1. REGENERACIÓN TISULAR GUIADA.....	13
2.3.2. CLASIFICACIÓN DE INJERTOS.....	14
2.3.3. MECANISMOS DE ACCIÓN.....	15
3. JUSTIFICACIÓN.....	16
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	18
6. OBJETIVO GENERAL:.....	18
7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	18
8. HIPÓTESIS ALTERNA.....	19
9. HIPÓTESIS NULA.....	19
10. MATERIALES Y MÉTODO.....	20
10.1. BIOIMPRESIÓN 3D DE ANDAMIO DE PLA.....	20
10.2. ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	20
10.3. CULTIVO CELULAR.....	20
10.4. ENSAYO DE VIABILIDAD CELULAR (CITOTOXICIDAD).....	21
11. RESULTADOS.....	22
12. DISCUSIÓN.....	25
13. CONCLUSIONES.....	27
14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

RESUMEN

El diseño de andamios con tridimensionalidad permite obtener características nuevas requeridas en la ingeniería de tejidos. Asimismo el empleo de las células troncales mesenquimales junto con los andamios en 3D es una alternativa novedosa para regenerar al tejido óseo durante una patología, trauma o enfermedad. Sin embargo, dichos andamios 3D aún están en fase de entenderse sus propiedades de biocompatibilidad y de biodegradación por lo cual las investigaciones recientes se han centrado en estudiar y evaluar estos procesos. Por ello, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la biocompatibilidad de las células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental (MSC-PD) al ser sembradas sobre un andamio de PLA en 3D. Primeramente se desarrolló el molde del andamio tridimensional y posteriormente se impresión por medio de capas aditivas por un periodo de 4 minutos totales utilizando el ácido poli-láctico como material base. El andamio fue caracterizado por microscopía electrónica de barrido para visualizar la morfología de la superficie del andamio 3D. La respuesta de biocompatibilidad se llevó a cabo por medio del método de viabilidad celular utilizando el kit CCK-8. Para ello; las células MSC-PD fueron cultivadas a una densidad celular de 1×10^5 células/mL por 1, 3, 5, y 7 días de cultivo. Por los resultados logrados se concluye que las células MSC-PD tienen predilección por los andamios de PLA y que no se observa ningún efecto citotóxico por el procesado del andamio polimérico en capas aditivas, abriendo la posibilidad de utilizarse en un futuro en terapias de regeneración ósea.

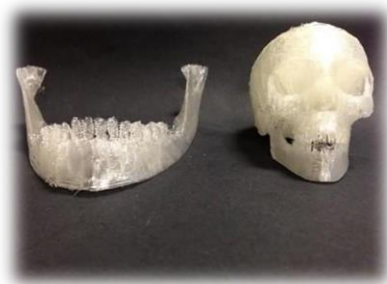
INTRODUCCIÓN

BIOIMPRESIÓN 3D

La **bioimpresión en 3D** es una tecnología que ha tenido gran impacto en las ciencias médicas y farmacéuticas. Se ha comenzado a utilizar para desarrollar e imitar estructuras biológicas.

Se define como un conjunto de biomateriales y células vivas. Estos biomateriales son fabricados capa por capa mediante una computadora especial, teniendo así una estructura compleja y organizada. Esta estructura ofrece gran precisión y confiere el espacio adecuado a las células, proteínas, ADN y factores de crecimiento para una correcta regeneración y formación de tejidos.³³

Actualmente tiene relevancia en diferentes áreas como: medicina regenerativa e ingeniería de tejidos, trasplantes y oncología. Su importancia radica en la posibilidad de implantarlas en seres humanos y así restaurar órganos y/o tejidos dañados debido a que los materiales empleados son biocompatibles y biodegradables¹.



CÉLULAS TRONCALES

Las **células troncales** son células indiferenciadas que se renuevan durante largos periodos de tiempo por medio de la división celular y poseen la capacidad de diferenciarse en una célula especializada. Son vitales para el correcto desarrollo, mantenimiento, crecimiento y reparación del ser humano. Se encuentran en él desde el primer hasta el último día de vida.³⁴

La identificación de éstas células ha despertado un enorme interés científico debido a las diversas aplicaciones terapéuticas en el tratamiento de leucemias, linfomas, enfermedades autoinmunes, regeneración de piel, cornea, corazón, Parkinson, entre otras.³⁵

CLASIFICACIÓN

Basándose en su origen:

Las **células troncales embrionarias** se derivan de una etapa temprana embrionaria, se encuentran en la masa celular interna del blastocisto a los 5 días de haber sido fecundado.³⁴

Las **células troncales de adulto**, como su nombre lo indica, se encuentran en diversos tejidos en el adulto, su principal función es mantener y reparar el tejido en el que se encuentran.³⁴

Basándose en su capacidad de diferenciación:

Las **células troncales totipotenciales** dan origen a las células de las tres capas germinales (ectodermo, mesodermo, endodermo) y tejidos extraembrionarios como: saco vitelino, alantoides, amnios y corion.^{2,34} Son capaces de generar un embrión completo.

Las **células troncales pluripotenciales** son capaces de dar origen a todas las células de un individuo (endodermo, mesodermo y ectodermo) pero no a células extraembrionarias^{2, 34}

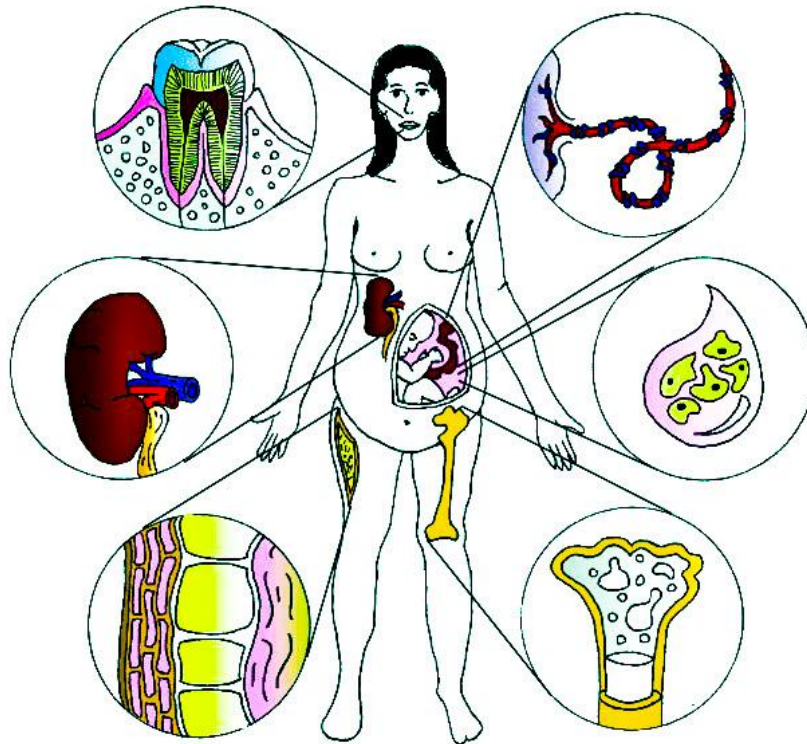
Las **células troncales multipotenciales** dan origen a algunas células diferenciadas, usualmente de la misma capa germinal de la que derivan.^{2,34}

Las **células troncales oligopotentes** tienen la capacidad de diferenciarse en pocos tipos celulares.³⁴

Las **células troncales unipotentes** solamente producen un tipo celular, pero tienen la capacidad de autorrenovación, característica de las células troncales.³⁴

CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES

Las **células troncales mesenquimales** (del inglés *mesenchymal stem cells*, MSC) se consideran hoy día células pluripotentes de forma fibroblastoide, capaces de diferenciarse en células de origen mesodérmico como osteocitos, condrocitos y adipocitos. Sus fuentes de obtención son: médula ósea, pulpa dental, ligamento periodontal, páncreas, tejido adiposo, músculo esquelético, hígado, membrana sinovial, dermis y, sangre de cordón umbilical, entre muchos otros tejidos³.



Existen tres criterios para definir las células troncales mesenquimales de acuerdo a la Sociedad Internacional de Terapia Celular (International Society Cellular Therapy, ISCT) que propuso un estándar de caracterización en el año 2006 y son:

- a. Adherentes en cultivo con morfología fibroblastoide
- b. Expresar los antígenos CD73, CD90 y CD105 en ausencia de antígenos hematopoyéticos como CD34, CD45, marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos B
- c. Capaces de diferenciarse *in vitro* hacia linajes del tipo osteoblasticos, adipocíticos y condrocíticos bajo condiciones estándar de cultivo celular con los factores específicos de cada linaje³.

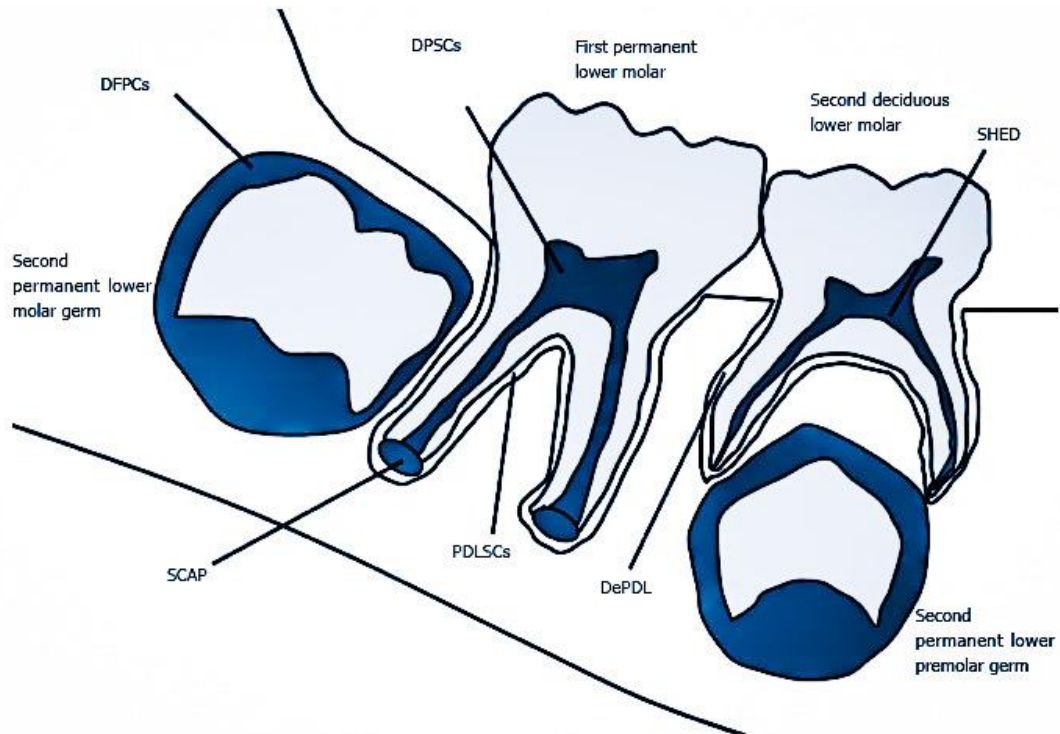
Además, se deben tomar en cuenta otros criterios para poder definir a estas células³:

- d. Deben realizar procesos de autorrenovación es decir mantener la troncalidad.
- e. Tener la capacidad de diferenciarse hacia tejidos de diferentes capas embrionarias.

Su importancia radica en la regeneración de tejidos y tratamiento de diferentes enfermedades como: el Alzheimer⁴ y Parkinson⁵, problemas oculares⁶ y dentales⁷, distrofia muscular⁸, etc. Así mismo, juegan un papel muy importante contra algunas enfermedades inflamatorias⁷.

Los dientes son una fuente accesible de células troncales mesenquimales y tienen ventajas sobre otros órganos como fuente de células troncales mesenquimales, ya que su obtención es relativamente fácil y el riesgo para el paciente es mínimo ⁷.

A su vez, las células troncales derivadas de tejidos dentales tienen marcadores específicos que nos permiten identificarlas⁹; sin embargo, no son completamente aceptadas por la ISTC.



MSC	Localización	Marcadores
DPSC	Pulpa (diente permanente)	CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146, STRO-1, Oct-3/4, Sox-2, nanog
PDLSC	Ligamento periodontal (diente permanente)	CD44, CD90, CD105, CD166, CD146, STRO-1, Oct-3/4, Sox-2, nanog, nestin
SHED	Pulpa (diente deciduo)	CD29, CD105, CD146, STRO-1
DePDL	Ligamento periodontal (diente deciduo)	CD105, CD166, STRO-1, Oct-4

SCAP	Papila apical de diente en desarrollo	CD24, CD29, CD31, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146, CD166, STRO-1, Oct-3/4, Sox-2, nanog, survivin
DFPC	Folículo dental de diente en desarrollo	CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, nestin

Para su obtención, se necesitan extraer las piezas dentarias y se toma la región requerida, se dejan crecer en cajas de cultivo en presencia de un medio con la temperatura, atmósfera, CO2 y humedad adecuados. El medio se debe de cambiar constantemente. ¹⁰

PERIODONCIA

La periodoncia es la rama de la odontología que estudia el diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades y condiciones que afectan al periodonto para el mantenimiento de la salud, función y estética de los dientes y sus tejidos adyacentes.

El periodonto está constituido por:

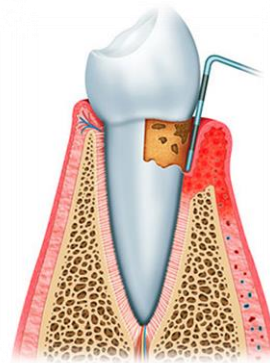
- a) encía
- b) ligamento periodontal
- c) cemento radicular
- d) hueso alveolar

Su función principal consiste en unir el diente al tejido óseo de los maxilares y en mantener la integridad en la superficie de la mucosa masticatoria de la cavidad bucal. ¹⁵

Sin embargo, debido a factores internos y externos, el estado de salud del periodonto se ve afectado y es necesario implementar un tratamiento periodontal para restituir la salud, de no ser así, provocara la destrucción de los tejidos de soporte del diente.

Los objetivos del tratamiento periodontal son: ¹¹

- Erradicar inflamación y hemorragia gingival
- Reducir bolsas periodontales
- Detener la destrucción de tejido blando y óseo
- Reducir la movilidad dental anormal, entre otras.



El tratamiento periodontal se divide en quirúrgico y no quirúrgico. En la fase no quirúrgica se eliminan los factores etiológicos que contribuyen a la enfermedad periodontal, por medio de ¹²:

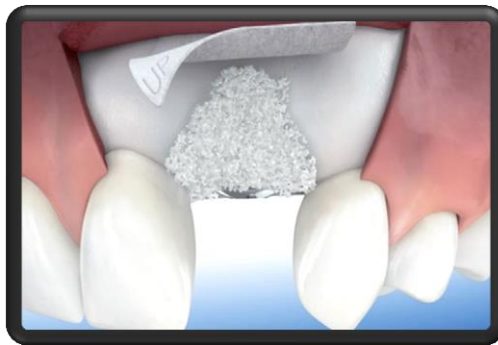
- técnica de limpieza
- eliminación de cálculo supragingival
- obturación de lesiones cariosas
- raspados y alisados

Los objetivos de la fase quirúrgica son: mejorar el pronóstico de los dientes y sus reemplazos, así como mejorar la estética¹³.

Una consecuencia de la enfermedad periodontal es la destrucción ósea¹⁴. La cirugía periodontal reconstructiva abarca procedimientos que buscan restaurar los elementos perdidos del periodonto por causa de la enfermedad periodontal¹⁵.

REGENERACIÓN TISULAR GUIADA

La regeneración tisular guiada es un método reconstructivo que excluye a las células epiteliales y células conectivas gingivales del área de cicatrización mediante una barrera física permitiendo a las células del ligamento periodontal repoblar el área de cicatrización, ya que éstas tienen potencial regenerativo¹⁶. La asociación de membranas e injertos óseos hacen que este procedimiento tenga éxito¹⁷.



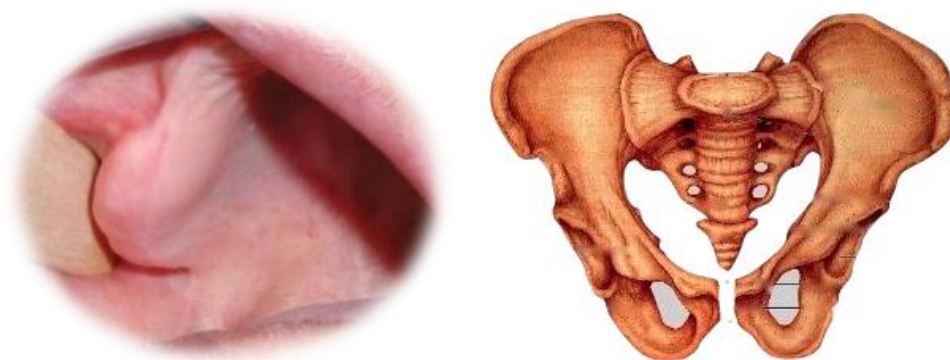
Indicaciones: ¹⁷

- a) Defectos óseos
- b) Cavidades óseas como resultado de quistes u otras lesiones periapicales
- c) Recesiones periodontales
- d) Lesiones de furcaciones.
- e) Dehiscencias.

CLASIFICACIÓN DE INJERTOS

Autoinjertos

Son un tipo de injertos que se toman del mismo paciente. La principal ventaja es que no transmiten enfermedades y no hay porcentaje de rechazo ya que proviene del mismo individuo¹⁹. En las desventajas podemos encontrar: doble procedimiento quirúrgico para su obtención, cantidad de hueso limitada, y debemos valorar detalladamente al paciente ya que no todos son candidatos debido al doble riesgo quirúrgico. Los lugares intraorales de elección son: zonas edéntulas de maxilares, sitios de extracciones cicatrizantes, tuberosidades bucales, área retromandibular mandibular. El sitio extrabucal de elección es la cresta iliaca¹⁸⁻²⁰



Alloinjertos

Son injertos que provienen de la misma especie, no están relacionados con el mismo individuo. Existen 3 tipos de alloinjertos óseos: congelados, desecados (liofilizados) y desmineralizados¹⁹. Entre sus ventajas podemos mencionar que no necesitamos doble procedimiento quirúrgico y podemos obtener una mayor cantidad de hueso. Entre sus desventajas encontramos la existencia de transmisión de enfermedades y antigenicidad^{18, 19}.

Xenoinjertos

Este tipo de injertos provienen de animales. Se utilizan injerto bovino y carbonato cálcico coralino¹⁸. Su desventaja radica en su antigenicidad^{18, 19}. En las ventajas, no se necesita un procedimiento quirúrgico adicional y podemos obtener una mayor cantidad de hueso.



Aloplásticos

Son sustitutos sintéticos, inertes, inorgánicos, biocompatibles que promueven la cicatrización mediante la osteoconducción. En esta categoría se encuentran la hidroxiapatita, fosfato tricálcico y polímero HTR¹⁸⁻²⁰.

MECANISMOS DE ACCIÓN

Existen 3 mecanismos de acción de los injertos, los cuales se exponen a continuación.^{21,11}

- a. Osteogénesis: Es la formación de hueso por medio de células óseas neoformadoras presentes en el injerto.
- b. Osteoinducción: Contiene sustancias inductoras de hueso. Las células mesenquimales indiferenciadas se transforman en células osteoformadoras¹⁹.
- c. Osteoconducción: La matriz del injerto forma un andamio que facilita que las células externas penetren y formen hueso nuevo.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente, en el área de biomateriales destinados a la integración y regeneración ósea, existe un interés creciente en el desarrollo de materiales funcionales capaces de estimular la respuesta biológica necesaria para restablecer las funciones que el tejido perdido por un trauma o enfermedad.

En este trabajo de investigación se pretende implementar la técnica de bioimpresión 3D de polímeros biocompatibles como una propuesta novel al campo de la regeneración de tejidos óseos. Si bien es cierto que los materiales a evaluar que se están imprimiendo son de polímeros aprobados por la FDA, no se conoce la respuesta celular y el comportamiento de las células troncales mesenquimales sobre los andamios. Por ello, en esta propuesta se sintetizaron y evaluaron los procesos de biocompatibilidad celular sobre un andamio 3D de PLA al cultivar células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los grandes retos y objetivos de las Ciencias Odontológicas actuales es encontrar estrategias que permitan regenerar en su totalidad el hueso alveolar. Una cresta alveolar deficiente no provee suficiente retención para los dientes, prótesis, dentaduras e implantes. Por tal motivo, hoy día las estrategias regenerativas aún están lejos de lograr dicho objetivo. En la actualidad se considera que la ingeniería de tejido óseo tiene un gran potencial para regenerar defectos alveolares²⁴. La combinación de andamios, células y moléculas biológicamente activas con el fin de crear tejidos funcionales ha comenzado a llevar a un entendimiento de la regeneración del tejido óseo.

Una de las nuevas estrategias para abordar estos problemas es el desarrollo de las matrices poliméricas por medio de la bioimpresión 3D que ha comenzado a tomar relevancia en el área Odontológica primero porque podría permitir imitar las estructuras complejas del órgano dentario y en segundo lugar ser capaz de proporcionar una matriz biodegradable, que permita la neoformación de tejido óseo. Por tal motivo, en este trabajo proponemos la caracterización de un andamio sintetizado por bioimpresión 3D de ácido poliláctico (PLA) que es un polímero sintético frecuentemente utilizado en el campo de la medicina regenerativa debido a que es altamente biocompatible, posee niveles bajos de inmunogenicidad y toxicidad y ha sido aprobado por Food and Drug Administration (FDA) para uso humano²⁶. Cabe destacar que la bioimpresión 3D de este trabajo permitirá sentar las bases para el diseño más complejo de estructuras que puedan ser aplicadas al campo de las Ciencias Odontológicas con miras a la regeneración de tejidos mineralizados.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existirá una mejora en la respuesta de biocompatibilidad de células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental ante la exposición a un andamio de PLA construido a partir de la técnica de bioimpresión 3D?

OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar la respuesta de biocompatibilidad de células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental cultivados sobre andamios de ácido poliláctico en 3D.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Sintetizar por medio de la bioimpresión 3D andamios poliméricos de PLA
- 2) Caracterizar por microscopía electrónica de barrido (SEM) los andamios 3D de PLA
- 3) Evaluar la respuesta de viabilidad celular de células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental.

HIPÓTESIS ALTERNA

Los andamios impresos en 3D de PLA aumentaran la respuesta de biocompatibilidad de las células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental

HIPÓTESIS NULA

Los andamios impresos en 3D de PLA no aumentaran la respuesta de biocompatibilidad de las células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental.

MATERIALES Y MÉTODO

Bioimpresión 3D de andamio de PLA

Para imprimir el andamio 3D se diseñó una plantilla a manera de cuadros concéntricos que permitirá el desarrollo de la tridimensionalidad por adición aditiva de las capas poliméricas de PLA. Se utilizó el programa PRONTERFACE para desarrollar el molde de andamio 3D y posteriormente se convirtió en un archivo de código G para la bioimpresora por medio de utilizar en programa CURA versión 6.6. En los programas se detallaron las alturas de 4 cm y el ancho de 4cm por lado para que se lograra la síntesis correcta y no se colapsara el andamio. El PLA se extruyó a una temperatura de 204°C y se procedió a la bioimpresión por 4 minutos totales para garantizar una buena formación del andamio.

Análisis por microscopía electrónica de Barrido

Una vez que se obtuvieron los andamios 3D de PLA; éstos fueron recubiertos con una capa de oro/paladio para ser sometidos a observación en un microscopio electrónico de barrido (SEM, JEOL JSM-7600F Field Emission Scanning Electron Microscope, USA).

Cultivo Celular

Para la caracterización biológica se emplearon cultivos de células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental (MSC-PD) que se encuentran expandidas en el laboratorio de Bioingeniería de Tejidos de la DEPEl de la Facultad de Odontología, UNAM. Las células MSC-PD fueron cultivadas y expandidas en medio de cultivo alpha-MEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB), una solución de antibióticos (penicilina (100 UI/ml), estreptomycin (100 µg/ml) y fungisona (0.3 µg/ml) y 100mM de glutamina. Los cultivos se mantuvieron a una

temperatura de 37°C y en una atmósfera de 95% de aire y 5% de CO₂ en un ambiente con 100% de humedad.

Ensayo de Viabilidad Celular (Citotoxicidad)

La viabilidad celular de los andamios impresos 3D de PLA al sembrar las células MSC-PD se llevó a cabo por el ensayo CCK-8 (DOJINDO); este método se basa en la reducción de una sal de tetrazolio por medio de la enzima deshidrogenasa dejando un producto naranja en el medio de cultivo. Para ello; las células MSC-PD fueron cultivadas a una densidad celular de 1×10^5 células/mL en medio alpha-MEM a una temperatura de 37°C y en una atmósfera de 95% de aire y 5% de CO₂ en un ambiente con 100% de humedad por triplicado por 1, 3, 5, y 7 días de cultivo.

Después de cada período experimental, las células fueron incubadas con 10 µL de la solución del CCK-8 a 37°C por 4 horas. Pasado este tiempo, se tomaron 200µL que se colocaron en pozos de una placa de 96 pozos para ensayos de ELISA, se llevó a un lector de placas para obtener la densidad óptica a una longitud de onda de 450 nm. Debido a que la generación del producto anaranjado es (directamente) proporcional a la actividad oxidativa de la enzima deshidrogenasa, una disminución en los valores que se obtengan en la absorbancia indicaría una medida de la viabilidad celular. Los experimentos se realizaron por triplicado repitiéndose tres veces.

RESULTADOS

En la figura 1 se puede apreciar la estructura del diseño por medio del programa PRONTERFACE y posteriormente del cambio de código (G) que reconoce la impresora para generar el andamio en 3D; se puede apreciar cuando se forma el andamio por el proceso de capas aditivas de polímero de PLA para lograr obtener la tridimensionalidad del andamio. Asimismo se puede observar las características de la temperatura (204°C) para la impresión y las cordenadas que presenta el andamio en los ejes X, Y y Z.

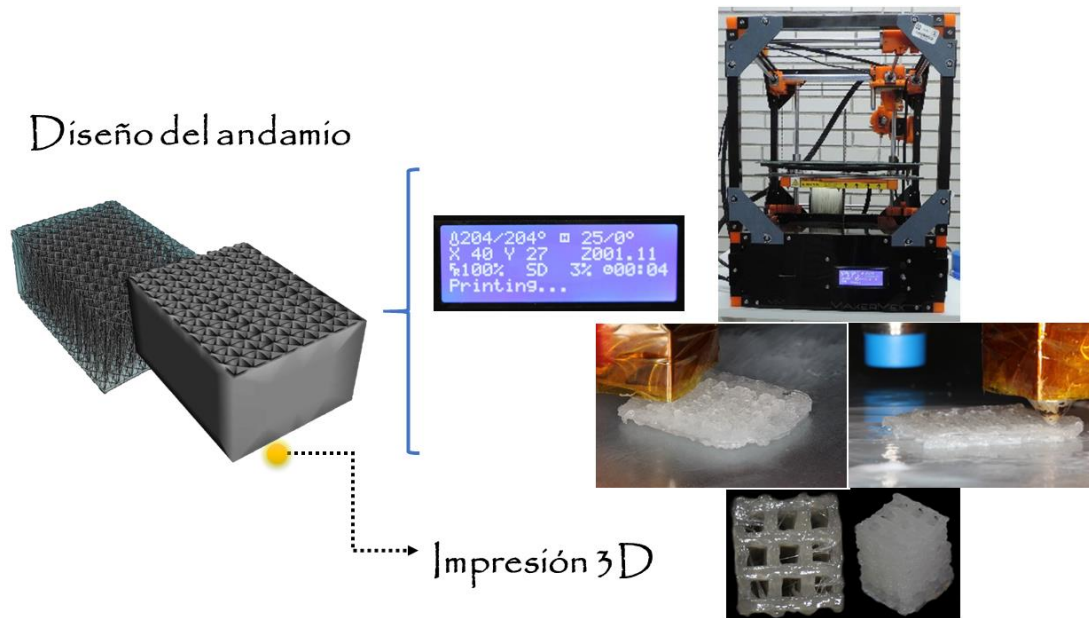


Figura 1. Diseño e impresión del andamio 3D de PLA

Una vez que hemos logrado la impresión aditiva del andamio 3D de PLA, este fue caracterizado por medio de microscopía electrónica de barrido para visualizar la morfología que se logra del proceso de impresión. En la figura 2, se puede observar la caracterización de las distintas capas que conforman el andamio, el parte superior, lateral e interna, en la cual se puede apreciar la interconexión porosa del andamio impreso de PLA en 3D.

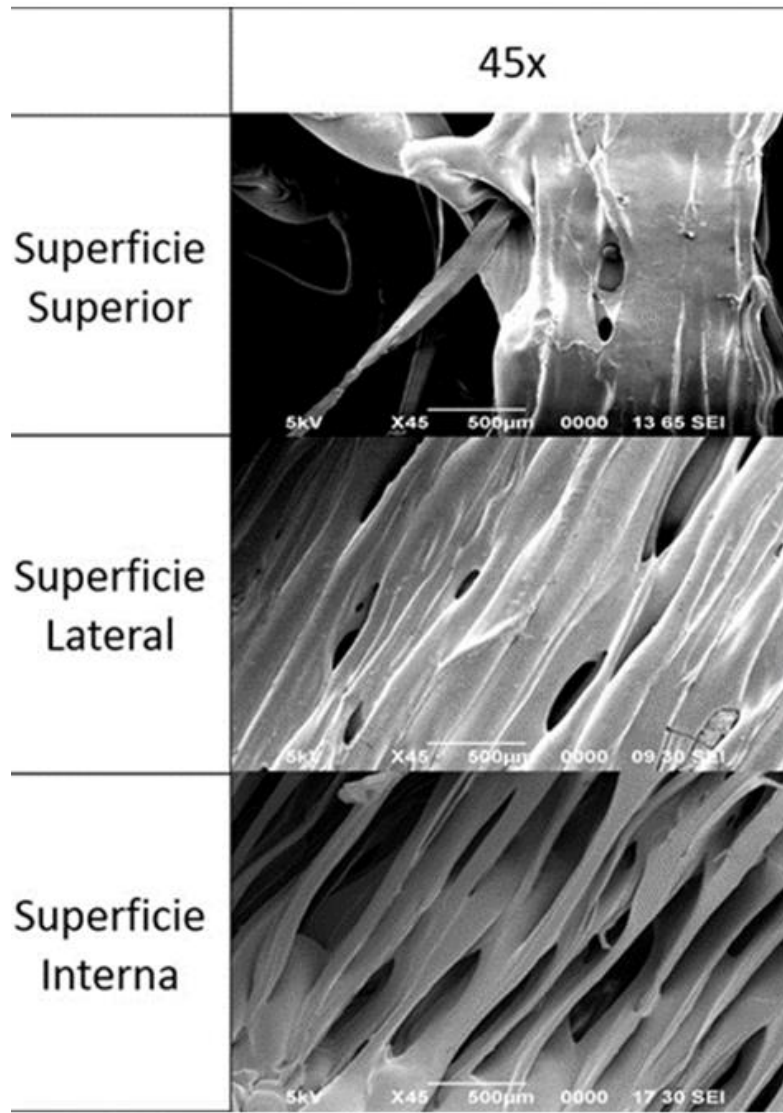


Figura 2. Imagen de SEM del andamio impreso en 3D de PLA

En la figura 3, se puede apreciar la respuesta de biocompatibilidad celular. Los valores que se registraron al día 1 del estudio se pueden considerar como un proceso inicial de adhesión celular, en la cual podemos visualizar que existe buena respuesta de adhesión celular, lo cual es un indicativo que el material no afecta biológicamente a las MSC-PD. Si consideramos al plato de cultivo celular como el 100%, nuestros valores de absorbancia de nuestros andamios 3D de PLA nos arrojan valores de 150% lo cual nos indica que las células MSC-PD tienen una predilección por la superficie del andamio 3D poroso. Además del tercer al séptimo

día de cultivo celular se puede observar una mejor respuesta de viabilidad mostrando una mayor viabilidad celular. Sin embargo, al día 7 de cultivo celular se encontró la respuesta biológica aumentada, esto es posible explicarlo ya que se la interconexión de poros del andamio 3D permite una mejor biocompatibilidad cuando se compara con el control.

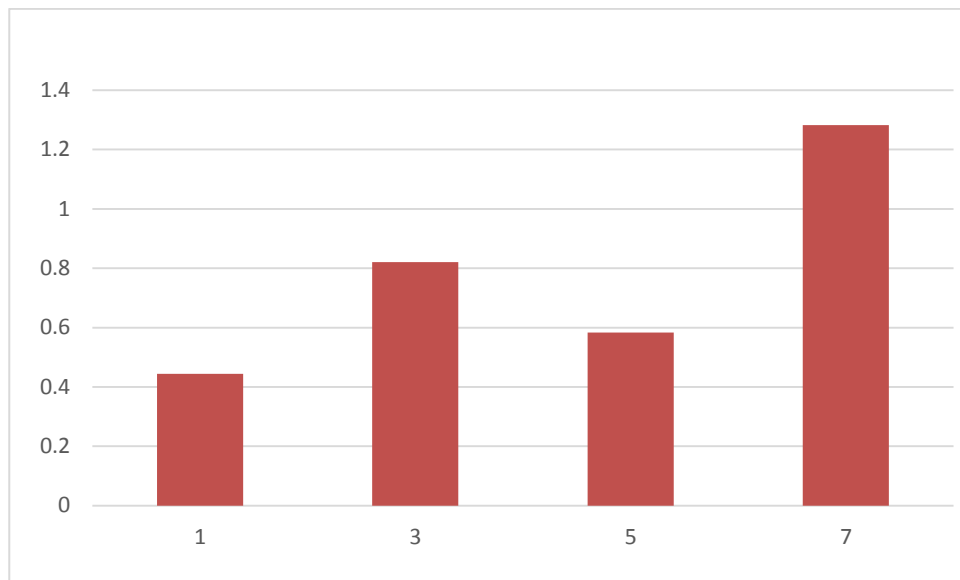


Figura 3. Respuesta de viabilidad celular de las células MSC-PD cultivados sobre los andamios 3D de PLA.

DISCUSIÓN

Los andamios utilizados en la ingeniería de tejidos deben tener las siguientes características:²⁷

- Poseer fuerza mecánica suficiente para soportar la prótesis
- Ser degradable
- Tener la capacidad de inducir un microambiente en 3D compatible con las células
- Permitir la adhesión y proliferación celular, así como la formación de tejido
- Permitir el intercambio de nutrientes y desechos

Actualmente, el ácido poliláctico tiene numerosas aplicaciones en las ciencias biomédicas tales como: ortopedia, cardiología, cirugía plástica, odontología, ginecología, radiología y oncología.²⁶

La gran ventaja de los andamios PLA es que no se requiere una segunda intervención para removerlo ya que es degradado en productos compatibles con el ser humano.³⁰⁻³¹

La impresora en 3D tiene la capacidad de obtener un polímero con la dimensión, grosor, tamaño y porosidad requeridos para cada caso en particular y en la actualidad es uno de los métodos de fabricación más avanzados y prometedores.³²

Existen investigaciones con células troncales mesenquimales cultivadas en andamios, pero específicamente derivadas de pulpa dental, la literatura es bastante reducida.

De acuerdo a los resultados, existe una gran afinidad entre las células troncales mesenquimales derivadas de pulpa dental y los andamios PLA en 3D.

La estructura porosa del andamio mimetiza la matriz extracelular y facilita los procesos de proliferación y adhesión celular, así como el intercambio de nutrientes y desechos. Se crean señales e induce a las células troncales a convertirse en

células osteoformadoras y así crear su propia matriz y formar nuevo tejido. El andamio gradualmente se va degradando y es reemplazado por tejido formado por las células troncales mesenquimales.²⁹⁻³¹

Esta propuesta posee mayores beneficios al ser comparada con técnicas como hilado, salt-leaching, extrusión y películas delgadas. Los beneficios se enumeran a continuación; el PLA es biocompatible y muestra una alta afinidad con las MSC; promueve la adhesión celular; las posibilidades de rechazo o transmisión de enfermedades son escasas, ya que las MSC provienen del mismo paciente y el PLA es un polímero biocompatible; solamente se necesita una intervención quirúrgica debido a que el PLA se degrada gradualmente y es reemplazado por tejido óseo; se obtiene un andamio con las medidas y precisión exactas; el costo es mínimo si es comparado con el costo de un xenoinjerto o aloinjerto.

A pesar de las recientes investigaciones científicas, aun no se sabe con certeza la dosis, manejo, desventajas, indicaciones, contraindicaciones, y pronóstico de esta técnica de impresión en los campos biomédicos y de regeneración tisular. Con este trabajo se demostró que es una propuesta prometedora, sin embargo, se necesitan realizar pruebas de osteoactividad y ensayos clínicos en modelos animales; todo esto con el fin de poder brindarle al paciente la mejor solución y devolverle la salud.

CONCLUSIONES

1. La impresora polimérica permite lograr estructuras complejas que podrían tener gran aplicación en la ingeniería de tejidos.
2. El andamio impreso en 3D de PLA presenta una superficie porosa que aumenta la respuesta de biocompatibilidad.
3. El andamio 3D de PLA promueve la adhesión celular de las MSC-PD
4. El andamio no es citotóxico para las células MSC-PD
5. El andamio 3D de PLA es biocompatible con potencial uso como implante en ingeniería de tejido óseo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Arraéz JL, Arraéz ME. Aplicaciones de las impresoras 3D en medicina. *Reduca (Recursos Educativos) Serie Congresos Alumnos*. 6 1: 317-322
- 2) Anzaldúa S, Juárez M, Villaseñor H, Ríos M, Cornejo M, Meraz MA. ¿Qué son las células troncales o “células madre”? *Veterinaria México* 2007; 38:1 81-104
- 3) Arévalo J, Páez D, Rodríguez V. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *NOVA - PUBLICACIÓN CIENTÍFICA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS* 2007; 5: 8, 177-184.
- 4) Nermeen B, Masashi M, Yujiro H, and Misako N. Therapeutic Potential of Dental Pulp Stem Cell Secretome for Alzheimer’s Disease Treatment: An In Vitro Study. *Stem Cells International* 2016; 2016:1-11
- 5) Zhang J, Wang X, Li J, Huang, Yu X, Dong C, Liu P, Zhang F, Hu J, Qi Y, Zhang J, Li Q, Yan B., The Preclinical Research Progress of Stem Cells Therapy in Parkinson’s Disease. *BioMed Research International*. 2016: 1-6
- 6) Hin- Fai G, Swee-Lim G, Singal S, Goh B, Mehta JS. Dental stem cells: a future asset of ocular cell therapy. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 17: e20: 1-13
- 7) Volponi A, Sharpe P. The Tooth- a treasure chest of stem cells. *British Dental Journal* 2013; 215: 7 :353-358
- 8) Berry S. Concise Review: Mesoangioblast and Mesenchymal Stem Cell Therapy for Muscular Dystrophy: Progress, Challenges, and Future Directions. *Stem Cells Translational Medicine* 2015; 4:91–98

- 9) Taketomi M., Gonzales K., Zaffalon M., Sallum E., Nociti F. Tooth-derived stem cells: Update and perspectives. *World Journal of Stem Cells* 2015; 7:2 :399-407
- 10) Magallanes M, Carmona B, Álvarez MA. Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. *Revista Odontológica Mexicana* 2010; 14:1:15-20.
- 11) Carranza FA, Newman MG, Takei HH. Periodontología clínica. 10ª ed. México: Editorial McGraw-Hill Interamericana, 2007. p. 630
- 12) Ib. p. 722
- 13) Ib. p. 881
- 14) Ib. p. 950
- 15) Lindhe J, Karring T, Lang N. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 3ª ed. Editorial Panamericana, 2000. p. 604
- 16) Ib. p. 623
- 17) Calzada A, Calzada A, Mora C. Terapia periodontal regenerativa: antecedentes y perspectivas Regenerative Periodontal Therapy: History and Prospects. *Medisur* 2013; 11: 5 :518-526.
- 18) Lindhe J., Karring T., Lang N. op. cit., pp. 607-610
- 19) Góngora S, Taxis MG. Injertos óseos. Una alternativa efectiva y actual para la reconstrucción del complejo cráneo-facial. Universidad FES Zaragoza, México.
- 20) Romero JF, Reyes JO. Injertos óseos: revisión bibliográfica. *Medicina Oral* 2000; 2:4: 114-118.
- 21) Lindhe J., Karring T., Lang N. op. cit., p. 607

- 22) Medina CE, Pontigo AP, Pérez E, Hernández P, Ávila L, Mendoza M, Maupomé G. Edentulism and other variables associated with self-reported health status in Mexican adults. *Medical Science Monitor* 2014; 20 :843-852
- 23) SINAVE/DGE/SALUD/Perfil epidemiológico de la salud bucal en México 2010
- 24) Hea H, Yub J, Caoa J, Ea L, Wanga D, Zhanga H, Liu H. Biocompatibility and Osteogenic Capacity of Periodontal Ligament Stem Cells on nHAC/PLA and HA/TCP Scaffolds. *Journal of Biomaterials Science* 2011:179-194
- 25) Rezwan K, Chen QZ, Blaker JJ , Boccaccini AR. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2006 : 3413-3431
- 26) B. Tyler,etal., Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications, *Adv Drug Deliv.Rev.*(2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.018>
- 27) O'Brien, etal., Three-Dimensional Printing of Nanomaterial Scaffolds for Complex Tissue Regeneration. *Tissue Engineering: Part B* 2014:1-12
- 28) Zhou, T, Ahmed H. Bhaduri, Sarit B. Fabrication of novel PLA/CDHA bionanocomposite fibers for tissue engineering applications via electrospinning. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2011; 22:5:1183-1193
- 29) Venugopal J, Low S, Tar Choon A ,S. Ramakrishna S., Interaction of Cells and Nanofiber Scaffolds in Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2008; 84B: 34–48
- 30) Kai D, Shy Liowa S, Jun Loh X., Biodegradable polymers for electrospinning: Towards biomedical applications. *Materials Science and Engineering C* 45 2014: 659–670

- 31) Amrollahi P , Shah B , Seifi A , Tayebi L., Recent advancements in regenerative dentistry: A review. *Materials Science and Engineering C* 69 2016; 1383–1390
- 32) Mandrycky C, Wang Z, Kimb K, Kim Deok-Ho., 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnology Advances* 34 2016; 422–434
- 33) Ozbolat I, Peng W, Ozbolat V., Application areas of 3D bioprinting. *Drug Discovery Today* 2016; 21:8:1257-1271
- 34) Kalra K, Tomar PC., Stem Cell: Basics, Classification and Applications. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* 2014; 2:7: 919-930
- 35) Ramos S., Células madre: potencial asombroso, desafiante demanda. *Vox Juris* 2014; 28:2: 189- 223