



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**INNOVACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE CONDUCTOS
RADICULARES: REGENERACIÓN DE TEJIDO PULPAR
CON EL USO DE CÉLULAS MADRE.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

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

P R E S E N T A:

FRANCISCO JAVIER GORDILLO NIETO

TUTORA: Esp. BRENDA IVONNE BARRÓN MARTÍNEZ

ASESORA: Esp. ROXANA BERENICE MARTÍNEZ VÁZQUEZ



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.

Índice

	Paginas
1. Introducción	4
2. Propósito	7
3. Objetivos.....	8
4. Antecedentes.....	9
5. Células madre.....	13
5.1. Obtención de las células madre	20
6. Células madre pulpares.....	21
7. Medicina regenerativa y la Endodoncia	26
8. Uso de las células madre dentro de la Endodoncia Regenerativa.....	27
9. Métodos de administración de las células madre	29
9.1. Inyección de las células dentro de los conductos radiculares dentales.....	29
9.2. Implantes pulpares	30
9.3. Andamios pulpares	32
9.4. Andamios Inyectables.....	36
9.5. Impresión celular tridimensional.....	37
10. Morfogénesis.....	39
10.1. Factores de crecimiento.....	40
10.1.1. Factores de Crecimiento Endoteliales Vasculares (VEGF).....	43
10.1.2. Proteínas Morfogénicas Óseas (BMP).....	43
10.1.3. Factores de Crecimiento Transformantes (TGF).....	44
11. Terapias regenerativas alternativas.....	45
11.1. Revascularización de los conductos radiculares a través de la coagulación de la sangre...	45

11.2. Terapia de genes.....	47
12. Conclusiones	50
13. Referencias bibliográficas	53
14. Referencias de imágenes.....	56

1. Introducción

La respuesta pulpar ante los estímulos nocivos como la fractura, la abrasión, los agentes bacterianos, la caries, la irritación por procedimientos operatorios o agentes químicos y físicos externos suele conducir al inflamación del tejido pulpar y a la subsecuente formación de dentina terciaria o irritativa para lograr la protección del tejido pulpar sano, lográndose así una retracción del tejido pulpar gracias a los odontoblastos que se encuentran en la misma y que se encargan de la formación de dentina como forma de defensa; hay que considerar que este sistema de defensa no está diseñado para soportar una agresión masiva como podría ser el calor despedido por los instrumentos rotatorios sin buen filo ni buena irrigación, un proceso bacteriano de rápida evolución o un traumatismo dental que lleve a la exposición pulpar. De ser así podríamos entonces afirmar que la Endodoncia como tal no tendría cabida ni razón dado que la dentina irritativa (mal llamada dentina reparativa) obliteraría y sustituiría todo el tejido pulpar dañado, dando paso a solo dos tipos potenciales de tratamiento, la extracción o la restauración protésica del órgano; por tanto, podemos concluir que la regeneración del tejido pulpar tras una lesión es un proceso lento y difícil de lograr en muchos casos.

El tratamiento de conductos radiculares nos proporciona la opción de mantener la mayor parte del órgano dental en boca tras la eliminación del tejido pulpar que se ha visto comprometido, dando posteriormente la posibilidad de restaurar el órgano dental, devolviéndole así su función en el aparato masticatorio, ayudándonos para la labor de la fonación, manteniendo la propiosepción que brinda el ligamento periodontal y estimulando al mismo evitando la reabsorción ósea producida por la falta del órgano dental.

El papel que juega el complejo dentino pulpar va mas alla de brindar sensibilidad al órgano dentario, recordemos que la pulpa no es como vulgarmente se le dice un nervio, es un complejo tejido formado por

diferentes grupos celulares; entre los que podemos destacar los odontoblastos, fibroblastos, osetoblastos, cementoblastos e incluso células mesenquimáticas indiferenciadas (células madre). El tejido pulpar también posee un complejo sistema vascular y linfático, lo que abastece al tejido de otras células sanguíneas y de defensa como pueden ser los macrófagos y las células dendríticas, dando origen a una respuesta inmune y al mismo tiempo nutriendo no solo al complejo pulpar sino también al complejo dentinal que lo rodea. Y por último pero no menos importante, encontramos al sistema nervioso que nos brinda una inervación sensitiva y autónoma.

Tras esta pequeña explicación podemos concluir que la importancia de la pulpa en el órgano dental es enorme, dadas sus funciones inductoras; observadas durante la amelogénesis, ya que es necesario el depósito de dentina para que se produzca la síntesis y el depósito del esmalte. Sus funciones formativas; como la que llevan los odontoblastos al producir los distintos tipos de dentina (primaria, terciaria e irritativa) dependiendo del momento las necesidades del órgano. Funciones nutritiva; llevada a cabo gracias a las células odontoblásticas y los vasos sanguíneos subyacentes, que se encargan de llevar los nutrientes desde los capilares hasta el líquido intersticial, que viaja hacia la dentina a través de los túbulos dentinarios (creados por los odontoblastos). Su función de defensa y reparación; formando dentina terciaria ante la agresión y también formando dentina peritubular para impedir la entrada de microorganismos a la pulpa. Y claro su función sensitiva; que nos permite reaccionar ante estímulos nocivos al alertarnos con sensaciones dolorosas que ayudan a retirar al agente causal o identificar su origen a través de cuidadosas pruebas.

Valorada pues la presencia de la pulpa y del órgano dental dentro de la cavidad oral, como podría entonces dar la Endodoncia una respuesta a la problemática que existe entre la extracción del órgano dental ante la lesión pulpar, o la eliminación pulpar para la realización del tratamiento de

conductos y con ello la conservación del órgano. La respuesta más lógica sería, el remplazo del tejido pulpar dañado o necrótico, por un nuevo tejido pulpar tras la realización del tratamiento de conductos, de esta manera una vez eliminado el dolor y los factores causales del mismo (bacterianos, mecánicos, químicos, etc.), el espacio ahora vacío producto del trabajo mecánico y la irrigación del conducto, durante la terapia de conductos radiculares, podrá ser llenado con un nuevo tejido pulpar. Entonces la siguiente pregunta sería, de donde se obtendría un tejido con las características, forma y función ideales para reemplazar al tejido perdido. La ingeniería tisular o ingeniería de tejidos trata de brindarnos la respuesta a través de diversas técnicas. Las siguientes páginas se enfocarán de una manera imparcial a la revisión del uso de las células madre para la formación de tejido pulpar, observando que tan viable y útil puede ser su empleo para lograr lo que muchos autores han denominado una Endodoncia Regenerativa.

2. Propósito

A través de la revisión bibliográfica de estudios relacionados con la obtención, cultivo y manejo de las células madre, lograr comprender las terapias que utilizan dichas células y su desarrollo, entendiendo como esperan alcanzar la regeneración del tejido pulpar y esperando demostrar que es probable que en un futuro no muy lejano la ingeniería de tejidos pulpares dentales, usando células madre, será un medio más eficiente, económico y tangible para lograr lo que los científicos han llamado una Endodoncia Regenerativa; logrando visualizar una nueva esperanza de lograr la permanencia de los órganos dentales en el aparato estomatognático, dando pie a una nueva valoración de la Endodoncia sobre los implantes dentales artificiales.

El siguiente trabajo expondrá una revisión de los pros y contras relacionados con el uso de las células madres, las limitantes y barreras que se han superado a lo largo de años de investigación. Se revisarán las técnicas para la manipulación de los diferentes factores que influyen durante la formación de los órganos dentarios y el crecimiento tecnológico que se ha producido desde las últimas décadas y que continua creciendo a un ritmo excepcional, lo cual nos brindan una ventana a la posibilidad de la manipulación y formación de los tejidos humanos pulpares de manera selectiva, dando pie a una nueva era en la Odontología.

Para ilustrar de manera más completa el hecho de que la ingeniería de tejidos utilizando células madre pulpares dentales es la opción más viable hasta la fecha para llevar a cabo la antes mencionada Endodoncia Regenerativa también se contemplarán de manera más tenue otras posibles terapias regenerativas endodóncicas, que han sido planteadas a lo largo de los años.

3. Objetivos

1. Realizar una exhaustiva revisión de artículos y libros relacionados con el uso de las células madres, su función, ubicación y manejo.
2. Comparar los posibles beneficios, riesgos y limitantes de la Endodoncia Regenerativa.
3. Conocer que tan probable es o será el empleo de dichas células para lograr la regeneración de los tejidos.
4. Determinar si la terapia de células madre en la regeneración del tejido pulpar, es una opción viable a futuro o si existen teorías alternativas que presenten una mejor esperanza en cuanto a la formación de un tejido pulpar vital, sano y completamente funcional.
5. Investigar qué ventajas ofrece esta terapia sobre otras terapias que pretenden lograr alcanzar un objetivo similar dando paso a lo que hoy día se conoce como Endodoncia Regenerativa.
6. Entender que por lo reciente de este nuevo campo médico, gran parte de la investigación se encuentra en etapas de prueba o incluso en mera teoría.

4. Antecedentes

Los procesos que han tenido como finalidad la regeneración de los tejidos dentales tiene una larga historia; los antecedentes de las terapias médicas regenerativas comienzan cuando en la década de los 50's comienza a practicarse la técnica para el trasplante de células madre sanguíneas. Para que un trasplante de células madre sea un éxito, el sistema inmune del receptor debe de aceptar las células del donante. Lo que se consigue al asegurarse de que los antígenos HLA de las células madre del donante sean idénticos, o muy similares, a los antígenos de las células del receptor¹.

En materia de la investigación propia de las células madre podemos encontrar que uno de los primeros investigadores de las células madre fue el Dr. John Enders, quien recibió el premio Nobel en medicina en 1954, por cultivar el virus de la polio en células renales embrionarias humanas².

La aplicación de la terapia de células madre postnatales fue puesta en marcha en 1968, cuando se realizó el primer trasplante alogénico de médula ósea con éxito en el tratamiento de la Inmunodeficiencia Combinada Severa según lo reportan Kenny y Hitzing. Desde la década de los 70's, los trasplantes de médula ósea se han utilizado con éxito para tratar la leucemia, el linfoma, varios tipos de anemias y trastornos genéticos³.

En los años 70's, se llevaron a cabo los primeros trasplantes usando donantes HLA compatibles pero que no eran familiares del receptor. Llevándose a cabo uno de los tratamientos más arriesgados en medicina. Ya que entre un 10 y un 40% de las personas que lo reciben no sobreviven al mismo. Por lo que es posible concluir que aún así la posibilidad de éxito es en la mayoría de los casos alentadora¹.

Cuando la médula del enfermo, productora de células malignas, es destruida mediante la administración de dosis altas de medicamentos y

radioterapia, y reemplazada por una médula sana, es a lo que se conoce como trasplante de médula y puede proceder de un donante (trasplante alogénico), o bien del propio enfermo (trasplante autogénico o autólogo). En últimas fechas también es factible el uso de células madres provenientes del cordón umbilical⁴.

Así como en la mayoría de los trasplantes, es el huésped el que ataca al injerto cuando se produce el rechazo. En el trasplante de médula ósea se produce una particularidad y es la enfermedad injerto contra huésped. Dicha complicación es la más importante de los trasplantes de células en la actualidad. Las diferencias entre la médula del donante y los tejidos del receptor hacen que con frecuencia las células de la médula del donante reconozcan los tejidos corporales del receptor como extraños. Cuando esto sucede, la médula ósea recientemente trasplantada ataca el cuerpo del receptor del trasplante¹. Por tanto muchos casos, ya sean agudos o crónicos, pueden tratarse con éxito. Aunque algunas veces, el tratamiento de la afección puede llevar a complicaciones severas.

Más tarde en 1998, el Dr. James Thomson, aisló células de la masa celular interna del embrión en su fase temprana y desarrolló las primeras líneas de células madre embrionarias humanas⁵. En este mismo año, el 10 de noviembre, el equipo dirigido por el doctor John Gearhart de la Universidad de Wisconsin, obtuvieron células germinales embrionarias a partir de células en el tejido fetal gonadal (células germinales primordiales). Dichas líneas de células madres pluripotenciales fueron desarrolladas a partir de donaciones de células embrionarias⁶. Fue hasta el año 2001, cuando el presidente en turno de los Estados Unidos de Norte America, George W. Bush, restringió la financiación federal de líneas preexistentes de células embrionarias. De las 78 líneas celulares embrionarias preexistentes, 7 fueron duplicadas, 31 no estaban disponibles, 16 murieron tras ser descongeladas, y 2 fueron o siguen en desarrollo, y las restantes 22 líneas celulares disponibles no han probado ser muy útiles para muchos científicos. Esto limitó a la mayoría de los

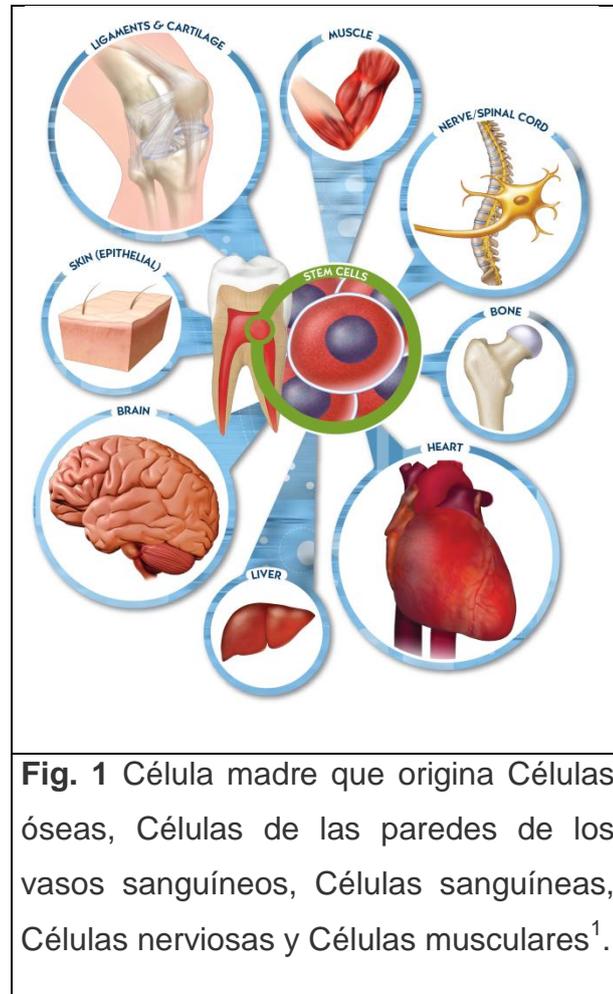
investigadores estado unidenses que basaban su investigación en células madres embrionarias³.

El desarrollo de las terapias regenerativas en el área odontológica comienza alrededor del año 1952 cuando el Dr. BW Hermann en su artículo sobre “la reacción del tejido pulpar dental a la amputación vital y a la colocación de Calxyl”, informó sobre la aplicación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en un caso de pulpotomía. Posteriormente otro gran avance se produjo a mediados de la década de los 70's, cuando los estudios de Melcher en su artículo sobre “la reparación potencial del tejido periodontal”, describió el comportamiento e interrelación de los tejidos dentales durante la cicatrización. Los estudios de Melcher sin embargo pasaron desapercibidos hasta que fueron retomado años más tarde por el grupo de estudio de Gotemburgo encabezado por Lindhe, Nyman y Karring quienes a mediados de los 80's gracias a su artículo “La curación tras el tratamiento quirúrgico y la desmineralización de la raíz en monos con enfermedad periodontal”, dieron origen a las bases de lo que posteriormente se conoció como Regeneración Tisular Guiada (RTG). Posteriormente en 1995 Block en colaboración con Cervini, Chang y Gottsegen en su artículo sobre “el avance anterior del maxilar usando soportes dentales con distracción osteogenica”, nos dieron un nuevo enfoque sobre las terapias de regeneración ósea guiada (ROG) y de osteogénesis por distracción. En 1995 el Dr. Fujimura publica en colaboración con Bessho y Kusumoto los resultados de su estudio en laboratorio utilizando compuestos de colágeno tipo I para lograr la osteoinducción del receptor rhBMP-2, demostrando la regeneración de los tejidos periodontales a partir de la manipulación de diferentes tipos de materiales. Poco después en 1997 Heijil en colaboración con Heden, Svardstrom y Ostgren dan a conocer el Emdogain (que no es sino el uso de los derivados del esmalte) en el tratamiento de defectos periodontales intraóseos. En el 2000 se expone por primera vez en el seguimiento de los casos de Kassolis, Rossen y Reynolds en el tratamiento para elevar la cresta alveolar y el seno, la aplicación del plasma rico en factores de

crecimiento en combinación con aloinjertos óseos liofilizado que tienen como finalidad el aumento óseo. Años después en el 2001 los ensayos preclínicos de Takayama, Murakami y Shimabukuro sobre el uso del factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF2) para la regeneración del tejido periodontal enriqueció aún más las terapias relacionadas con la formación de nuevos tejidos y su mantenimiento³.

5. Células Madre

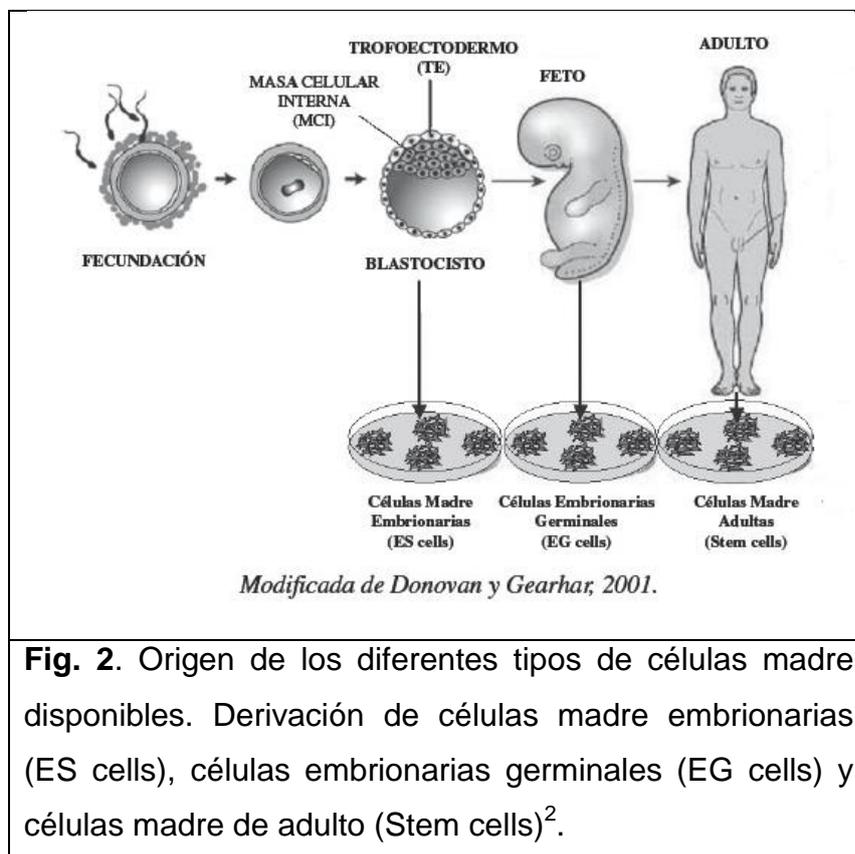
Las células madre son grupos de células primarias indiferenciadas que poseen la capacidad de dividirse y diferenciarse en otro tipo de células (fig. 1).



Dividiéndose en dos Grupos básicos:

- A. Las células madre embrionarias o fetales: que proviene como su nombre lo indica del embrión^{7, 8, 9}. Aunque se ha tratado de realizar la fecundación del óvulo in vitro para evitar los dilemas morales que giran en torno a la fertilización de una mujer, aún existen diferentes problemas morales, éticos y legales que no han logrado una resolución satisfactoria por lo que la opción más viable es la segunda fuentes de células madre³.

B. El segundo grupo es el de las células madre adultas o postnatales: Que son aquellas células que se mantiene indiferenciadas entre las células diferenciadas de un tejido u órgano y en caso de que dicho órgano o tejido lo necesite pueden diferenciarse produciendo los principales grupos celulares del tejido ayudando a su reparación y mantenimiento^{7, 8}. Las células madre postnatales han sido obtenidas a partir del cordón umbilical y la sangre que contiene, la médula ósea, sangre periférica, la grasa corporal y casi todos los tejidos del cuerpo, incluyendo el tejido pulpar de los dientes³ (fig. 2).

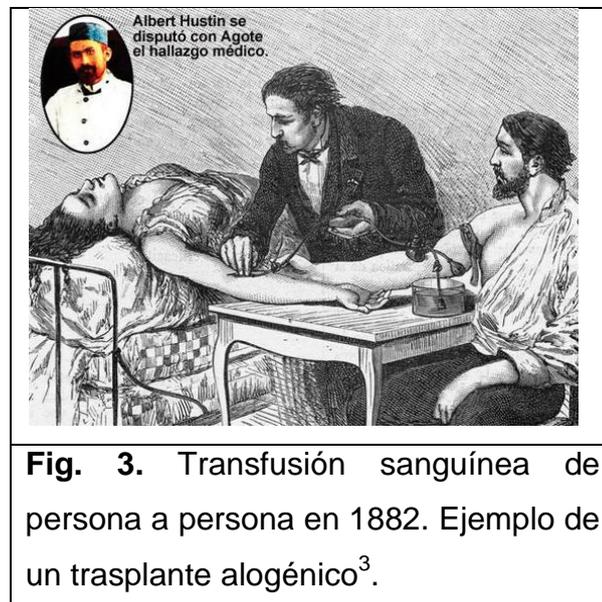


Otra forma en la que pueden dividirse para su estudio las células madre es a través de su origen, las células madre autógenas son aquellas que se obtienen del paciente y se reimplantan en el mismo, teniendo menos problemas de rechazo inmune o de transmisión de patógenos. Este tipo

de células pueden ser obtenidas de la médula ósea, la sangre periférica, grasa extraída por liposucción, el ligamento periodontal, la mucosa oral, o la piel. La recolección de células del propio paciente hace su obtención menos costosa y evita problemas legales y éticos³. Sin embargo, en personas enfermas o de edad avanzada las células donadas pueden no ser viables. Otro de los inconvenientes de este método de recolección es que la operación pueda conducir a secuelas postoperatorias, como la infección de la zona donante. Además de que este método tiene la desventaja que tras la obtención de dichas células madre se deben aislar de los diferentes tejidos y posiblemente aumentar en número antes de ser usadas^{3, 10}. Lo que nos lleva a un periodo de espera largo antes de poder pensar en utilizar los tejidos.

Las células madre que provienen de un donante de la misma especie también son conocidas como células alogénicas, un ejemplo de este tipo de trasplante celular serían las transfusiones sanguíneas (fig. 3) o la donación de óvulos utilizados para la fertilización in vitro, en este tipo de trasplantes existe la posibilidad de rechazo inmune y de transmisión de patógenos, además de los inconvenientes éticos y legales³. Por otro lado ya que la mayoría de las células donadas se conservan en bancos criogénicos listas para ser utilizadas por los pacientes que los necesiten, el tiempo de espera para recibir el tejido neo formado es menor que el de las células autólogas, por el simple hecho de que estas ya fueron obtenidas y seleccionadas con anterioridad. Sin embargo es bueno recordar que los procesos de criogenia anteriormente sometían a las células donadas a temperaturas por debajo de los -75°C lo que producía en muchos casos la formación de cristales haciendo explotar a las células pero no así a las bacterias (debido a su pared bacteriana) dando como resultado un periodo de conservación del tejido donado de entre uno y dos años. Hoy en día el uso de aditivos bioquímicos en el medio de congelación (para evitar la formación de cristales), la congelación

segmentada por etapas de las muestras (enfriamiento uniforme y constante), la congelación a -135°C (punto en el que la actividad biológica se detiene) y la mejora de los medios de cultivo (previene la muerte y diferenciación celular antes de su crio-preservación) han aumentado el número de años que pueden conservarse con vida y útiles los tejidos donados. Y dado que las células madre comparten mecanismos similares de preservación con los espermatozoides, se estima que su vitalidad es semejante y por tanto mayor a los 50 años en criogenia¹⁰.



El último tipo de células madres es el de células xenogénicas que son aquellas aisladas de individuos de otra especie⁸. El problema obvio de este tipo de trasplante sería los inconvenientes de rechazos inmunes y la transmisión de patógenos. Un ejemplo más claro de este tipo de injertos podría ser el uso de hueso bovino utilizados por los periodoncistas¹¹.

Resumiendo a grandes rasgos las propiedades que definen a las células madre y las vuelven un objeto de estudio tan interesante, nos encontramos con que:

Son células indiferenciadas y se mantienen así hasta que reciben los estímulos o las señales biológicas adecuadas, estas células, también llamadas células madre de reserva se consideran como células en G₀ que pueden reingresar al ciclo celular en respuesta al daño de las poblaciones celulares que las rodean (fig. 4); sin embargo hay que considerar que pese a su gran poder de regeneración, ante una lesión de los tejidos demasiado grave hasta estas células de reserva mueren perdiéndose así la opción de regeneración del tejido¹².

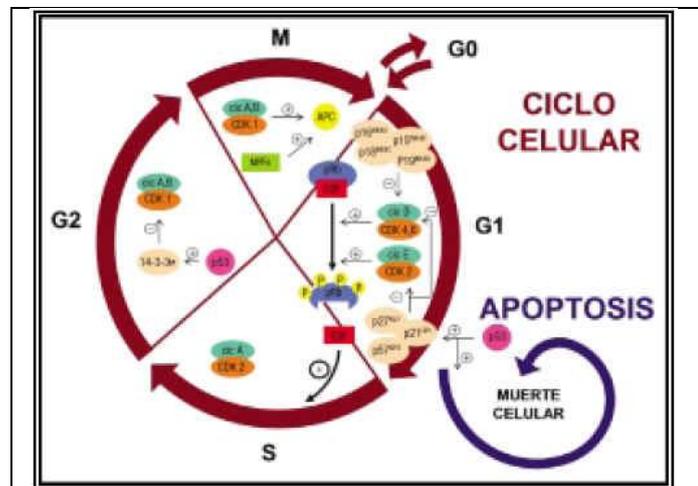


Fig. 4. G₀ representa el camino que sigue una célula que ha dejado de dividirse⁴.

También poseen la capacidad de autorreplicarse por periodos prolongados de tiempo esta característica también llamada plasticidad es la propiedad de las células madre de producir células de diferentes tejidos¹², de acuerdo con su plasticidad se subdividiéndose en las categorías: totipotenciales, aquellas capaces de formar a un nuevo individuo, pluripotenciales que son capaces de convertirse en células de cualquier parte del cuerpo y multipotenciales que poseen una diferenciación limitada¹³ (tabla 1).

Tabla 1. Plasticidad De Las Células Madre		
Tipos de células madre	Plasticidad de las células	Fuente de las células madre
Totipotencial	Cada célula puede convertirse en un nuevo individuo	Células de embriones tempranos (1-3 días)
Pluripotencial	Células capaces de formar cualquier tipo de células (más de 200)	Algunas células del blastocisto (5-14 días)
Multipotencial	Células diferenciadas pero, pueden formar numerosos tejidos diferentes	Los tejidos del feto, la sangre del cordón, y las células madre postnatales, incluyendo las células madre de la pulpa dental

Y aunque se creía que las células madre embrionarias eran mucho más plásticas que las células madre de origen postnatal, algunos estudios recientes han demostrado que la plasticidad de las células postnatales es mayor de la que se había imaginado en principio³.

Otra función importante y distintiva de las células madres es su capacidad para mantener su potencial de diferenciación (plasticidad) a lo largo de la vida del organismo. Las células pluripotenciales que se encuentran en la médula ósea son las más comúnmente utilizadas por su buena supervivencia tras ser implantadas en otros tejidos¹³.

Otra fuente común de obtención de dichas células es la sangre recolectada al momento del parto del cordón umbilical, sin embargo las desventajas de esta fuente son notorias ya que, solo se cuenta con una única oportunidad de obtención (al momento del parto), no es posible hasta el momento lograr su multiplicación en el laboratorio por lo que el número de células puede no ser suficiente para los tratamientos en adultos. Aunque bien es cierto que existe una pequeña cantidad de células madre mesenquimales en la sangre periférica del cordón umbilical, su proporción es menor al 0.001%. Otra razón importante se encuentra al examinar la fisiología y anatomía del cordón umbilical, la gelatina de Wharton cuyo objetivo es proteger y aislar los vasos sanguíneos (fig. 5); al verse expuesta a un cambio brusco de temperatura durante el nacimiento se inflama, causando el colapso de los vasos sanguíneos en su interior, deteniendo el flujo sanguíneo y por tanto limitando aun más el suministro de células madre de dicha fuente¹⁰.



Fig. 5. Anatomía del cordón umbilical observada tras el corte al momento del parto⁵.

En la actualidad se ha empezado a investigar con células madre provenientes de tejidos dentarios, tales como la pulpa, el folículo dental, dientes deciduos y la papila apical de dientes inmaduros¹³.

5.1. Obtención de las células madre

Existen cuatro técnicas comúnmente utilizadas para identificar y aislar las células madre de entre las poblaciones de células mixtas:

- 1) Clasificación de células activadas (anticuerpos) fluorescentes (FACTS): se tiñen las células con marcadores específicos de anticuerpos y se emplea un citómetro de flujo. Estos anticuerpos específicos se unen a antígenos de las células diana y ayudan a dar información de las características específicas de las células examinadas en el citómetro¹⁴.
- 2) Selección celular inmunomagnética (MACS): en esta técnica se mezcla la proteína Anexina con pequeñas esferas magnéticas que permiten reconocer las membranas celulares dañadas, las células pasan a través de un imán y aquellas que tienen una membrana degenerada se quedan retenidas en la columna imantada de filtrado, dejando libres a aquellas sanas y aptas para nuestros tratamientos¹⁵.
- 3) Tinción inmunohistoquímica: que permiten demostrar una variedad de antígenos presentes en las células o tejidos utilizando anticuerpos marcados. Estas técnicas se basan en la capacidad de los anticuerpos de unirse específicamente a los correspondientes antígenos¹⁶.
- 4) Criterios fisiológicos y morfológicos, incluyendo el fenotipo (apariencia), la quimiotaxis, proliferación, diferenciación y mineralización³.

6. Células Madre Pulpares

Según nos lo ilustran algunos autores el tejido pulpar dental contiene células madre, llamadas células madre pulpares o en el caso de dientes inmaduros, células madre de dientes deciduos exfoliados humanos o por sus siglas en inglés SHED (Stem cells from Human Exfoliated Deciduous teeth). Algunos autores nos hacen referencia a las células madres pulpares con el nombre de células odontoblastoides, ya que estas células parecen sintetizar y secretar matriz dentinaria como los odontoblastos, a los que sustituyen^{3, 17, 18, 19, 20}.

Tras un daño pulpar severo o tras la exposición pulpar mecánica o por caries, los odontoblastos por debajo de la zona herida son con frecuencia dañados de manera irreversible. Recordemos que los odontoblastos son células postmitóticas terminales diferenciadas y no pueden proliferar para reemplazar los odontoblastos dañados de manera irreversible. Por esta razón es que se cree que el origen de los odontoblastoides es completamente diferente, que reemplazan a los odontoblastos y secretan puentes de dentina reparativa. Incluso algunos autores plantean la idea de que los odontoblastos primarios al verse comprometidos estimulan la migración de células madre al sitio afectado para que dichas células se diferencien en células con funciones semejantes a los odontoblastos (los llamados odontoblastoides), para comenzar el proceso reparativo y tratar de limitar o contener el daño producido²¹.

Al principio, se sugirió que la sustitución de odontoblastos dañados de manera irreversible era producto de los odontoblastoides y se propuso que por su localización inmediata a los odontoblastos las células dentro de la “capa rica en células subodontoblasticas” o “zona Hohl” eran las responsables de la producción de odontoblastoides al diferenciarse. Sin

embargo, el propósito de estas células parece estar limitada a un papel de apoyo a los odontoblastos y tampoco se observó ninguna actividad proliferativa o regenerativa, descartando dicha teoría³. Los orígenes de estas células pueden estar relacionados con los odontoblastos primarios, debido a que durante el desarrollo del diente, solo las células derivadas de la cresta neural de la papila dental son capaces de dar una respuesta específica a la membrana basal para la diferenciación de odontoblastos mediada por señales inductivas. La capacidad de ambos dientes (jóvenes y adultos) para responder a las lesiones formando dentina reparativa sugiere que puede existir una pequeña cantidad de las células madre pulpaes progenitoras funcionales dentro de la pulpa dental a lo largo de toda la vida. Sin embargo, el debate sobre la naturaleza de las células madre precursoras pulpaes que dan lugar a los odontoblastoides, así como las preguntas concernientes a la heterogeneidad en la población pulpar en dientes adultos, siguen sin resolverse. La información sobre los mecanismos por los cuales estas células son capaces de detectar y responder al daño en los dientes es escasa pero, esta información será de gran valor para el desarrollo en la formación de tejidos y las terapias Endodóncicas Regenerativas^{3, 21}.

Desde que se descubrieron las células madre dentales se ha tratado de dar diversos usos dentro de las aplicaciones clínicas regenerativas (fig. 6), sin embargo un gran obstáculo a superar es el hecho de que estas células gradualmente pierden sus propiedades multipotenciales y regenerativas en su expansión ex vivo (Afuera del cuerpo viviente. Se refiere a un procedimiento médico mediante el cual se extirpa un órgano, células o tejidos de un cuerpo viviente para un tratamiento o procedimiento, y luego se devuelven al cuerpo viviente)¹³.

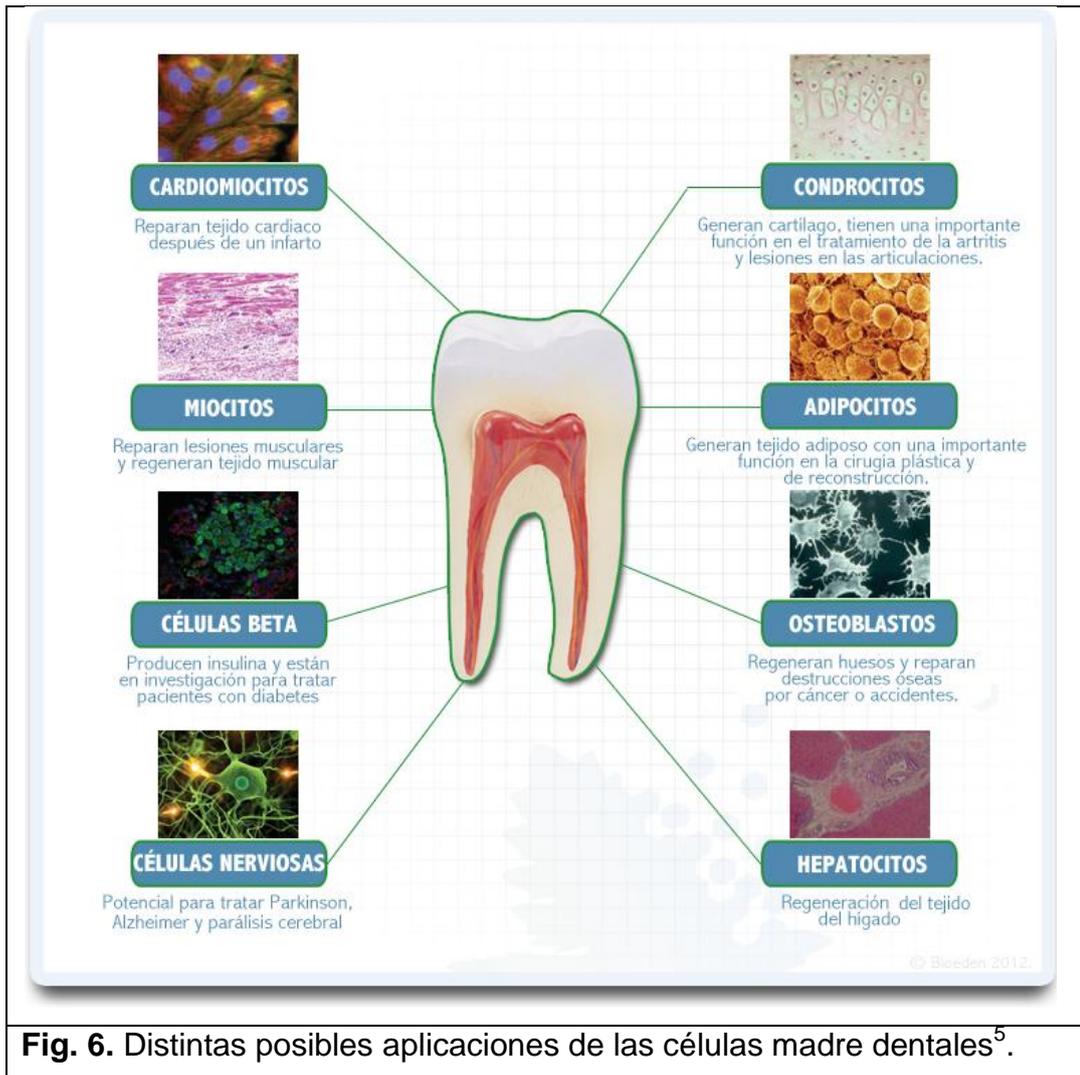


Fig. 6. Distintas posibles aplicaciones de las células madre dentales⁵.

Uno de los obstáculos más importantes a vencer en la creación de tejido pulpar de remplazo para la Endodoncia Regenerativa es la obtención de células pulpares progenitoras que se dividan continuamente y produzcan células o tejidos pulpares que puedan ser implantados en el sistema de conductos radiculares. Posiblemente a través del desarrollo de una línea de células madre pulpares autogénicas humanas que se encuentren libres de enfermedades y patógenos, y/o el desarrollo de una técnica de trasplante de tejido biopsiado usando por ejemplo, células de la mucosa oral¹³.

El uso de líneas de células madres pulpares tiene la ventaja de que los pacientes no tienen la necesidad de proporcionarnos sus células a través de la biopsia y que los reemplazos del tejido pulpar diseñados por la ingeniería de tejidos pueden ser prefabricados para la implantación rápida cuando se le necesite. Si el paciente nos provee de sus tejidos para la creación de un constructo de tejido pulpar, es posible que el paciente deba esperar algún tiempo hasta que las células hayan sido purificadas y/o aumentadas en número. Este último punto se basa en las investigaciones de Poulsom, Alison y Forbes quienes en su estudio sobre la plasticidad de las células madre demostraron que de hecho en muchos tejidos adultos solo se contienen entre un 1 y 4% de células madre, por lo que la purificación es necesaria y el aumento en el número celular que permita la recolección a través de pequeñas biopsias de tejido^{3, 13}.

Para lograr el incremento en el número de células in vitro, las células deben ser colocadas en un medio de cultivo adecuado, para que ellas mismas empiecen a reproducirse de manera natural, mientras se evita la diferenciación celular, lo que necesita el aislamiento del cultivo de factores de estrés que puedan inducir la diferenciación, como son el ph, cambios de temperatura, choques físicos, factores de crecimiento¹⁰.

Otro aspecto a considerar es el expuesto en 2005 dentro de los trabajos sobre “las fallas en los trasplantes de médula ósea para la reconstrucción de epitelio pulmonar”, hechos por Kotton y Mulligan en los que se demuestra que la fracción de células madre multipotentes en la pulpa dental es reducida y la ubicación de estas células no se conoce claramente pero, su fenotipo sugiere su presencia en nichos perivasculares³.

Tanto células madre dentales pulpares de los dientes permanentes o por sus siglas en inglés DPSC (Dental Pulp Stem Cell) y las SHED se originan a partir de la pulpa dental, parecen presentar diferencias significativas. Por ejemplo, durante la diferenciación osteogénica, las células madre de los dientes deciduos exfoliados presentan mayores niveles de actividad de la fosfatasa alcalina, una mayor producción de osteocalcina y una mayor tasa proliferativa que las células madre dentales pulpares de los dientes permanentes²¹.

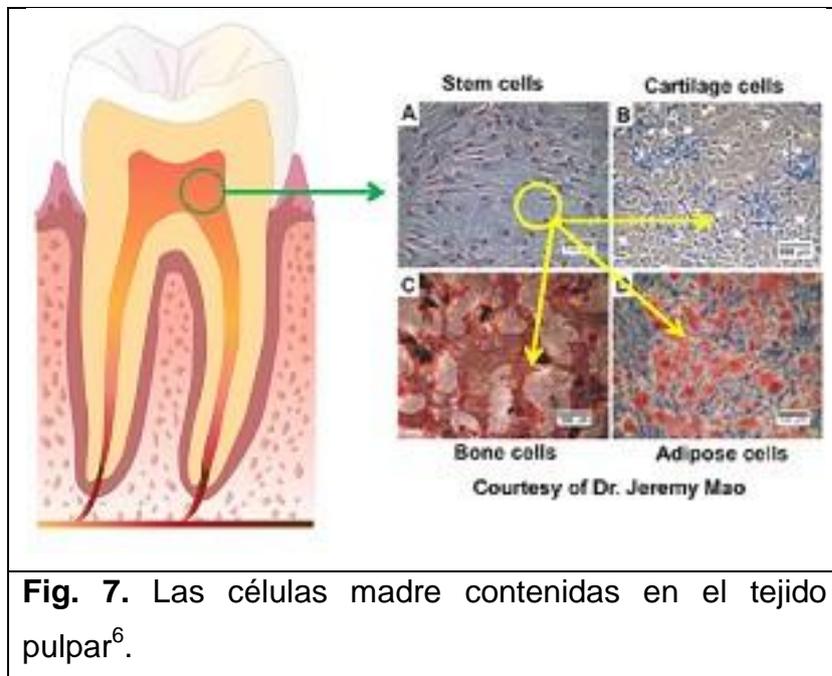


Fig. 7. Las células madre contenidas en el tejido pulpar⁶.

Otra probable fuente para la obtención de las células madre pulpares es la obtención de dichas células de los terceros molares no erupcionados o de los dientes jóvenes extraídos por razones ortodoncias (fig. 7), suponiendo que dicho tejido se encuentre libre de contaminación bacteriana^{13, 20}.

7. Medicina Regenerativa y La Endodoncia

La Medicina Regenerativa tiene como propósito la restauración de los tejidos y órganos dañados por una enfermedad, un trauma, cáncer, o una deformidad congénita. Para conseguir dicho avance esta rama de la medicina emplea una combinación de células, materiales de formación y factores biomédicos, en su búsqueda por reemplazar o mejorar las funciones biológicas alteradas o perdidas de algún órgano. Una de las primeras definiciones registradas de la ingeniería de tejidos es la proporcionada en 1993 por Langer y Vacanti en su artículo sobre la ingeniería de tejidos (fig. 8), quienes afirman que la ingeniería de tejidos es “un campo interdisciplinario que aplica los principios de ingeniería y ciencias de la vida hacia el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función del tejido.” Otra definición muy aceptada fue la de MacArthur y Oreffo en 2005, quienes plantearon a la ingeniería de tejidos como “la comprensión de los principios de crecimiento de los tejidos, y la aplicación de esta para producir tejidos funcionales de reemplazo para el uso clínico”³.

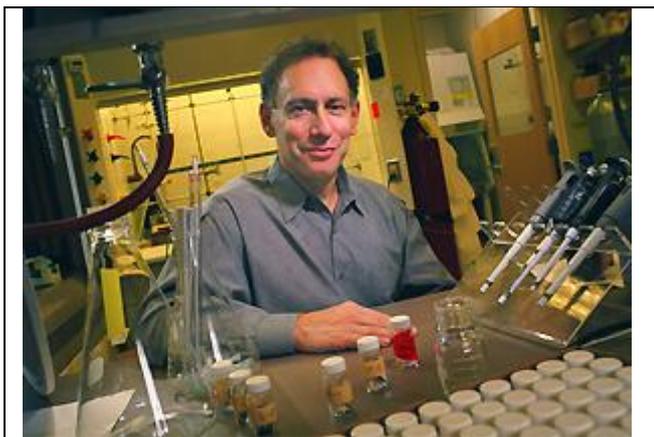


Fig. 8. El Dr. Robert S. Langer. Pionero en la ingeniería de tejidos⁷.

Dichos principios de la medicina regenerativa pueden ser aplicados a la ingeniería de tejidos endodóncicos. Por lo que podemos concluir que la ingeniería de tejidos abarca la investigación y experimentación de las técnicas en células madre adultas, factores de crecimiento, cultivo de órganos y tejidos, los materiales de ingeniería (formación) de tejidos y a menudo combina dichas disciplinas para conseguir una respuesta más clara a las necesidades planteadas por los pacientes^{3, 7, 21}.

8. Uso De Las Células Madre Dentro De La Endodoncia Regenerativa

La terapia con células madre es una de las áreas más promisorias de la ingeniería de tejidos, porque el trasplante de los materiales que contienen células madres de la pulpa cultivadas en el laboratorio proporciona los medios inductivos para regenerar nuevos tejidos⁷.

Las células madre postnatales pueden proceder de diferentes tejidos como son la piel, la mucosa bucal, la grasa y los huesos. Es importante reconocer la dificultad para encontrar células madre capaces de diferenciarse en las diferentes poblaciones celulares que conforman a la pulpa dental adulta (fibroblastos, células endoteliales, odontoblastos, odontoclastos, etc.); un posible enfoque para la resolución de este problema podría ser el uso de las células madre dentales pulpares autólogas (del propio paciente) obtenidas mediante la biopsia de la mucosa bucal, o las células madre que han sido almacenadas criogénicamente tras el alumbramiento. También existe la opción de la obtención de células madres dentales pulpares provenientes de los dientes permanentes (como pueden ser los terceros molares o los órganos dentales extraídos por razones ortodóncicas) aunque los dientes de la primera dentición se han convertido en una fuente aun más atractiva de células madre mesenquimales post natales^{3, 10, 18}(fig. 9).

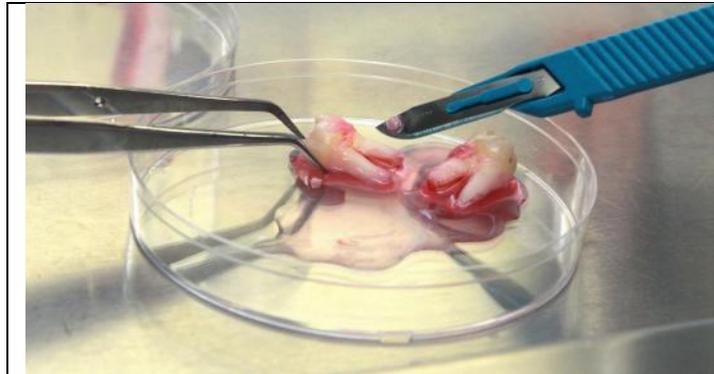


Fig.9. Durante la extracción de órganos dentales por indicaciones ortodóncicas, se recomienda la obtención de células madre pulpares⁶.

Para lograr la obtención de las células madre post natales es posible utilizar el FACTS junto con los marcadores proteínicos CD34 ya que las células madre ubicadas en la sangre periférica, la sangre del cordón umbilical y los cultivos celulares expresan CD34³.

Afortunadamente las células madres dentales más estudiadas son las de la pulpa dental, por lo que se conoce que las células madres pulpares humanas expresan el factor von Willebrand CD146, actina alfa del músculo liso y proteína 3G5. Las células madre pulpares humanas también tienen fibroblastos fenotípicos, con actividad proliferativa específica, diferenciación y patrones de mineralización^{3, 21}. Gracias a toda esta información se nos verá facilitada la difícil tarea de encontrar su localización y por consiguiente su recolección.

9. Métodos De Administración De Las Células Madre

9.1.1. *Inyección de las células dentro de los conductos radiculares dentales*

Esta técnica ya se ha utilizado en otras aplicaciones médicas regenerativas como son el reemplazo de la médula ósea debido a que el cultivo de las células madre post natales es realmente fácil y dado que su colocación puede llevarse a cabo a través de la inyección de las células madre directamente en los sistemas de conductos radiculares previamente tratados y desinfectados (fig. 10). Dejando abiertos los ápices para permitir la mayor vascularización posible^{3, 21}.



Fig. 10. Ejemplo de colocación de células madre a través del método de inyección en tratamientos de columna⁸.

Sin embargo, también existen varios inconvenientes relacionados con este método de administración:

- Las tasas de supervivencia celulares asociadas a este método son realmente bajas debido a que el suministro de nutrientes provenientes

de la circulación no logran llegar a las zonas más retiradas del conducto radicular³.

- La posible migración de las células madre a diferentes lugares del organismo al ingresar al torrente sanguíneo gracias a la permeabilidad de los vasos con los que están en contacto puede dar lugar a patrones aberrantes de la mineralización, causando tumores a distancia de la zona en la que las células fueron inyectadas^{3, 21}.

9.2. *Implantes pulpares*

Es una técnica con un enfoque totalmente diferente al de la inyección directa de las células en los conductos. Dado que las láminas sobre las que se cultivan las células son mucho más estables que la administración de las células disociadas inyectadas en el sistema de conductos radiculares vacíos³.

En este método el proceso de la ingeniería de tejidos se realiza antes de la implantación. Al colocar células progenitoras (células madre) sobre matrices reabsorbibles modificadas. Las células crecen fuera del cuerpo, se convierten en tejidos diferenciados e imitan a los tejidos desarrollados de manera natural. Otro abordaje es cuando la ingeniería de tejidos se lleva a cabo tras la implantación in situ. Lo que involucra el uso de biomateriales en forma de polvos, soluciones o micropartículas para estimular el aislamiento de células madre locales. Las moléculas de la matriz extracelular también pueden imitar el ambiente extracelular y brindar una superficie adhesiva multifuncional para las células²² (fig. 11).

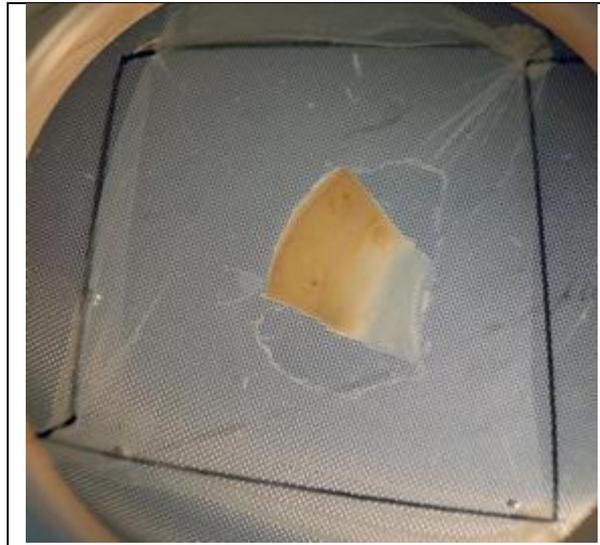


Fig.11. Crecimiento de tejido bidimensional sobre una membrana amniótica, a partir de células madre, para obtener tejido de cornea⁹.

Este método adquiere mucho peso debido al hecho que desde hace varias décadas el cultivo de células en filtros ha sido utilizado para evaluar la citotoxicidad de diversos materiales. Ya que en estos casos las células se cultivan solo de manera bidimensional, para lograr obtener tejidos pulpares tridimensionales (en teoría), el cultivo de estas células debe llevarse a cabo en filtros de membrana biodegradables, dichos filtros al ser enrollados juntos crearán un tejido tridimensional. Hoy en día sabemos gracias a la investigación de Huang y Sonoyama sobre los métodos de aislamiento y cultivo de células madre pulpares que hasta ahora, el crecimiento de células pulpares dentales en colágeno I y III no han demostrado ser exitosos. Por lo que podemos descartar estos dos materiales como sustrato para la proliferación celular pulpar en láminas³.

Los problemas que la técnica de implantación pulpar a través de láminas presenta son:

- Dado que las láminas son muy delgadas y frágiles es necesario desarrollar técnicas e instrumentos que permitan llevar dichas láminas a los conductos trabajados y desinfectados sin fracturarse o romperse³.
- Las láminas carecen de vascularización, por lo que las células localizadas a más de 200µm de distancia del punto de difusión máxima de oxígeno (suministro de sangre capilar) corren el riesgo de que la parte de los tejidos más distante sufran anoxia y necrosis^{3, 21}.

9.3. Andamios pulpaes

Pensando en lo dicho anteriormente, se desarrolló un enfoque más práctico, a través del uso de estructuras tridimensionales que pueden sustentar la organización y vascularización celular (andamios). Estos objetivos parecen alcanzables gracias al uso de polímeros porosos que servirán para cultivar las células madre³ (tabla 2).

Tabla 2. Los materiales de la matriz de los andamios pueden ser divididos en⁷:

Natural

Colágeno

Glicoaminoglicanos

Sintético

Polímeros sintéticos

Ácido poliláctico (PLA)

Ácido poliglicólico (PGA)

Ácido poliláctico coglicólico (PLGA)

Hidrogeles sintéticos

Polímeros basados en polietilenglicol (PEG)

Hidrogeles sintéticos modificados con los péptidos de adhesión de la superficie celular

Arginina

Glicina

Ácido aspártico (RGD)

Compuestos inorgánicos

Hidroxiapatita

Fosfato de calcio

El-Backly Rania en colaboración con Massound Ahmed en el año 2008 experimentaron en conejos utilizando matrices de ácido polilactico-co-glicólico (PLG), con lo que ellos afirmaron que el diámetro apropiado de los poros del andamio oscila entre 100 y 350 micras (fig.12). Proponen variar el tamaño del poro según el área que se desea regenerar. Deduciendo que poros más grandes son los más adecuados para regenerar tejidos mineralizados, mientras que poros más pequeños son mejores para el desarrollo de estructuras más organizadas¹³.

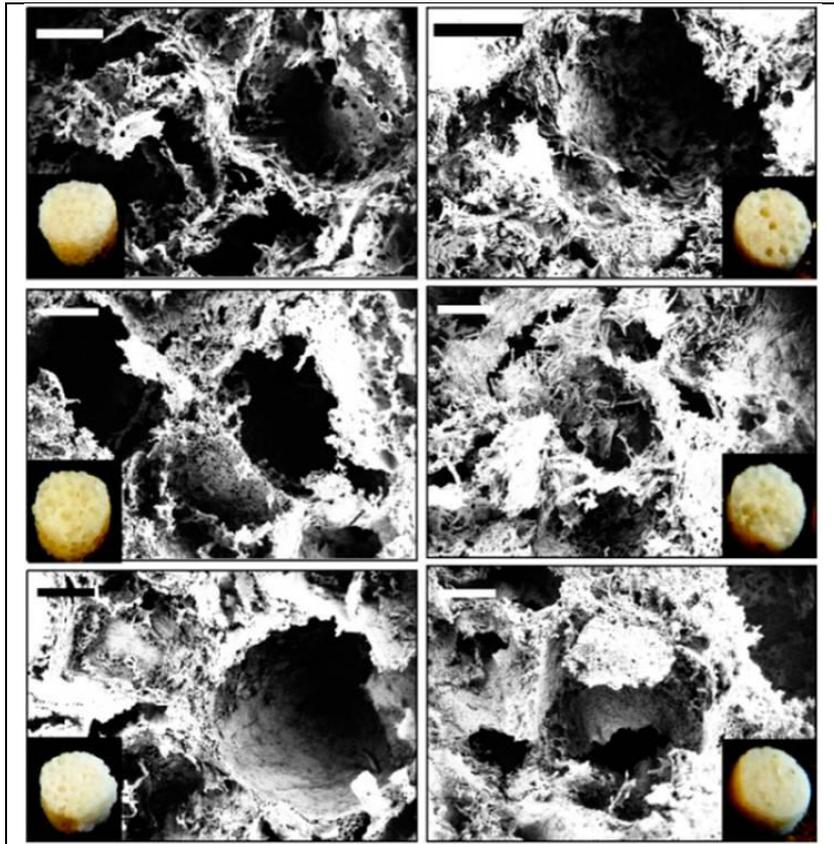


Fig. 12. Imagen por microscopia electrónica de barrido de los andamios de seda donde se puede observar la rugosidad y los poros¹⁰.

Dicha matriz debería promover la adhesión y la migración de las células, actuando como un portador para las células involucradas en la morfogénesis dentro de la terapia celular. Los andamios biodegradables pueden ser utilizados como matrices de relleno para el desarrollo del tejido y como barreras a la migración de células epiteliales en abordajes conductivos de tejido^{3, 22} resolviendo el problema de la migración celular presente en las técnicas de inyección.

Los andamios inductivos involucran el suministro sostenido de factores bioactivos, como los factores de crecimiento de proteína y ADN plásmatico, para alterar la función celular en regiones localizadas. Dichos

factores pueden ser liberados de andamios altamente porosos, permitiendo el suministro de factores y al mismo tiempo el desarrollo tisular^{3, 22}.

Dichos andamios también pueden contener nutrientes que promuevan la supervivencia y el crecimiento celular; en 2005 Tabata, propuso la colocación de fármacos antimicrobianos en los andamios, con la finalidad de prevenir los crecimientos bacterianos dentro de los sistemas de conductos radiculares. Gracias a las investigaciones realizadas por Mjor, Dahl y Cox sobre la exposición pulpar, hoy día sabemos que los fragmentos de dentina pueden proporcionar una matriz para la fijación de las células madre pulpares y que también pueden servir como un depósito para los factores de crecimiento, proporcionando así cierto apoyo a los andamios durante la regeneración del complejo dentino-pulpar gracias a la respuesta natural reparativa de las células madre ante los fragmentos dentinarios³ (tabla 3).

Tabla 3. Dependiendo de su tiempo de vida los andamios pueden clasificarse en²³:

Andamios de larga duración: hidroxiapatita cerámica porosa.

Andamios de duración intermedia: Colágeno y citosan.

Andamios de corta duración: ácido poliglicólico-poli-L-láctico, ácido poliláctico-co-glicólico y ácido poliglicólico poliláctico.

Para ser tomados en cuenta dentro de la terapia Endodóncica Regenerativa los andamios deben cumplir con ciertos requisitos³:

- Biodegradabilidad: ya que necesitan ser absorbidos por los tejidos circundantes evitando la necesidad de la remoción quirúrgica.

- Una alta porosidad y un tamaño de poro adecuado en el andamio es necesario para facilitar el cultivo celular y lograr una buena difusión celular y de nutrientes a lo largo del mismo.
- La velocidad a la que se produzca la degeneración del andamio debe coincidir tanto como sea posible con la tasa de formación del nuevo tejido. Dejando al recién formado tejido pulpar poco a poco la tarea de soportar la tabla mecánica.

Los inconvenientes que presenta esta técnica pueden ser³:

- La dificultad para obtener andamios con una alta porosidad y un tamaño de poro regular.
- Las posibles reacciones inmunes por parte del cuerpo ante su exposición a ciertos materiales.

9.4. Andamios Inyectables

A pesar de que la estructura rígida de los andamios proporciona soporte físico a los cultivos celulares, dentro del sistema de conductos radiculares el soporte brindado por los andamios es innecesario. Dando la posibilidad a que un polímero hidrogel inyectable sea utilizado como andamio³ (fig.13).



Figura 13. Injerto artificial de hueso inyectable. Ejemplo de un andamio inyectable¹¹.

Presenta la ventaja de ser un material no invasivo y ser de fácil administración dentro de los conductos radiculares, al llevar a cabo su proceso de endurecimiento (cross-linking) in situ. Por lo que teóricamente el hidrogel puede promover la regeneración pulpar proporcionando un sustrato para la proliferación y diferenciación celular en una estructura de tejido organizado sin importar la forma anatómica de los conductos radiculares^{3, 24}. Sin embargo los hidrogeles se encuentran en una etapa temprana de investigación, por lo que hasta este momento la formación y desarrollo de tejidos se ve limitada.

9.5. Impresión celular tridimensional

El último enfoque para la creación de tejidos de reemplazo pulpares puede ser el de crearlos utilizando la técnica de impresión celular tridimensional. En teoría, un dispositivo parecido a una impresora de

inyección de tinta se utiliza para dispensar capas de células suspendidas en un hidrogel para volver a crear la estructura del tejido de pulpa dental. La técnica de impresión celular tridimensional puede ser utilizada para colocar de una manera precisa las células y este método tiene el potencial de crear tejidos que imiten la estructura del tejido pulpar dental natural. El posicionamiento ideal de las células en un constructo de ingeniería de tejidos debería incluir la colocación de las células odontoblastoides alrededor de la periferia para mantener y reparar la dentina, con los fibroblastos en el núcleo de la pulpa sustentando una red de células vasculares y nerviosas. Teóricamente, la desventaja del uso de la técnica de impresión celular tridimensional es hacer que la orientación del constructo de tejido pulpar concuerde con su forma irregular tanto apical y coronalmente necesariamente durante la colocación en los sistemas de conductos radiculares previamente limpiados y conformados³.

Un grupo de investigadores encabezados por el profesor James Yoo, del Institute of Regenerative Medicine de la Universidad de Wake Forest, y con la participación de científicos de la Universidad de Cornell, ha desarrollado una impresora que podría reproducir tejido humano, así como estructuras celulares e incluso órganos completos. Esta bioimpresora funciona a partir de un escáner de láser que analiza el área y la profundidad de una herida. Posteriormente la imagen escaneada se traduce en una imagen digital 3D para calcular la cantidad de capas de células dérmicas que se necesitan imprimir para restablecer la condición original del tejido (figura 14). Para demostrar el funcionamiento de este prometedor dispositivo, que sin duda podría revolucionar el futuro próximo de las cirugías y la regeneración del cuerpo²⁵. Aun se encuentra en estado experimental y solo se ha aplicado a ratones y vacas, han logrado la creación de tejidos como piel, cartílagos (orejas principalmente) y hueso. Sin embargo la investigación aún se encuentra en etapas muy tempranas y los resultados experimentales y las probables afecciones que

puedan producir, aún no han sido estudiados detalladamente, por lo que esta terapia se encontrará disponible para los seres humanos en un futuro distante^{3, 25}.



Figura 14. Fotografías de prototipos de bioimpresoras en 3D, de la Universidad de Cornell¹².

10. Morfogénesis

Llamamos morfogénesis al proceso por el cual se desarrollan las estructuras biológicas, este proceso se lleva a cabo gracias a la señalización y diferenciación de las células madre. Hasta el momento se han identificado cuatro familias de proteínas de señalización que se encargan de dirigir la configuración y la morfogénesis celular⁷:

1. Factores de crecimiento de fibroblastos
2. Proteínas Hedgehog
3. Proteínas morfogenéticas óseas
4. Proteínas Wntless e int- relacionadas (Wnts)

10.1. Factores De Crecimiento

Son proteínas que se unen a receptores de la célula e inducen la proliferación celular y/o su diferenciación. Muchos factores de crecimiento son muy versátiles, estimulando la división celular o diferenciación de numerosos tipos de células, mientras que otros son más específicos. Es bueno resaltar que el nombre de los factores de crecimiento a menudo tiene poco que ver con sus funciones más importantes y les fueron otorgados debido a las circunstancias históricas en que se descubrieron. Se han identificado una variedad de factores de crecimiento, con funciones específicas que pueden ser utilizadas para controlar la actividad de las células madre, tales como el aumento de la tasa de proliferación, o lograr la diferenciación de las células madre en tejidos u órganos específicos. La tabla 4 resume el origen, la actividad y la utilidad de algunos de los factores de crecimiento que son de interés para el desarrollo de la terapia Endodóncica Regenerativa^{3, 20}.

Tabla 4. El origen, la actividad y utilidad de los factores de crecimiento comunes.

Abreviatura	Factor	Fuente Principal	Actividad	Utilidad
BMP	Proteína Morfogénica Ósea	Matriz ósea	BMP induce la diferenciación de los osteoblastos y la mineralización de los huesos	BMP se utiliza para hacer que las células madre sinteticen y secreten matriz mineral

CSF	Factor de estimulación de colonias	Una amplia gama de células	ASFs son citocinas que estimulan la proliferación de las células madre pluripotenciales específicas del hueso	CSF puede ser utilizado para aumentar el número de células madre
EGF	Factor de crecimiento epidérmico	Las glándulas submaxilares	EGF promueve la proliferación de las células mesenquimatosas, gliales y epiteliales	EGF puede ser utilizado para aumentar el número de células madre
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico	Una amplia gama de células	FGF promueve la proliferación de muchas células	FGF puede ser utilizado para aumentar el número de células madre
IGF	Factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I y II	I - hígado II-variedad de células	IGF promueve la proliferación de muchas células	IGF puede ser utilizado para aumentar el número de células madre
IL	Interleucinas IL 1 a IL 13	Leucocitos	IL son citocinas que estimulan la respuesta inmune humoral y celular	Promueve la actividad de células inflamatorias
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas	Las plaquetas, células endoteliales, la placenta	PDGF promueve la proliferación del tejido conectivo, células del músculo liso y gliales	PDGF puede ser utilizado para aumentar el número de células madre

TGF-α	Factor de crecimiento transformante alfa	Los macrófagos, células cerebrales, y los queratinocitos	TGF- α puede ser importante para la curación normal de las heridas	Induce el desarrollo del epitelio y los tejidos
TGF-β	Factor de crecimiento transformante beta	La matriz dentinaria, células activadas por TH1 (T helper) y células asesinas naturales (NK) (linfocitos).	TGF- β es anti-inflamatorio, promueve la curación de heridas, inhibe la proliferación de macrófagos y linfocitos	TGF- β está presente en la dentina de la matriz y se ha utilizado para promover la mineralización del tejido pulpar
NGF	Factor de crecimiento nervioso	Una proteína secretada por el tejido diana de la neurona	NGF es crítico para la supervivencia y mantenimiento de las neuronas simpáticas sensoriales.	Promueve el crecimiento neuronal y la supervivencia de las células neuronales

10.1.1. Factores de Crecimiento Endoteliales Vasculares (VEGF)

Son un potente inductor de la diferenciación y supervivencia de células endoteliales y es el factor angiogénico (relativo a la formación de vasos sanguíneos) más eficaz caracterizado hasta la fecha²⁰.

Estos factores juegan un papel crítico en el control de la permeabilidad vascular durante los eventos fisiológicos y patológicos. Dichos factores son expresados fuertemente por odontoblastos y en la capa subodontoblástica in vivo^{3, 20}.

Entre sus receptores, los VEDFR2 parecen ser los más íntimamente asociados con el potencial angiogénico de las células endoteliales. Estos receptores se expresan en el tejido pulpar de los órganos dentales de la primera y la segunda dentición, lo cual es consistente con la capacidad de las células de la pulpa de responder a las señalizaciones de VEGF²⁰.

10.1.2. Proteínas Morfogénicas Óseas (BMP)

Implicadas en la regulación de la odontogénesis y la regeneración de la dentina. La capacidad de las Proteínas Morfogénicas Oseas de los mamíferos para iniciar un curso programado que resulte en la inducción ósea, puede ser un proceso funcionalmente utilizado en el desarrollo embriológico, sintetizado en la osteogénesis postfetal y puede ser promisorio para la iniciación terapéutica de la formación ósea^{20, 26}.

Se ha observado que la dentina derivada de PMO-2 es necesaria para la diferenciación odontoblastica de las células madre de origen embrionario²⁰.

Ha sido difícil la identificación de proteínas osteogénicas en la matriz ósea debido a que pequeñas cantidades de ellas se adhieren fuertemente a componentes orgánicos e inorgánicos de la matriz ósea extracelular²⁶.

Sin embargo ya que la dentina sirve como un reservorio de moléculas bioactivas que están claramente implicadas en la respuesta a los estímulos de la pulpa dental, por lo que dichas moléculas pueden ser aisladas de la propia dentina²⁰.

10.1.3. Factores de Crecimiento Transformantes (TGF)

Estos factores de crecimiento son secretados por odontoblastos y depositados dentro de la matriz de la dentina, donde permanecen protegidos en una forma activa mediante la interacción con otros componentes de la matriz de la dentina²⁰. Los factores de crecimiento transformantes que más nos interesan dentro de la terapia Endodóncica Regenerativa son los Factores de Crecimiento transformantes de la familia β (TGF- β por sus siglas en ingles Transforming growth factor beta), esta familia de proteínas que incluye al TGF- β , activinas y a la proteína morfogénica de hueso (BMP, por sus siglas en inglés) y citocinas. Los miembros de la familia del TGF- β regulan diferentes funciones celulares como proliferación, apoptosis, diferenciación, migración, y tienen un papel clave en el desarrollo del organismo. El TGF- β está implicado en varias patologías humanas, incluyendo desórdenes autoinmunes y vasculares,

así como enfermedades fibróticas y cáncer. La activación del receptor del TGF- β propicia su fosforilación en residuos de serina/treonina y dispara la fosforilación de proteínas efectoras intracelulares (SMAD), que una vez activas se translocan al núcleo para inducir la transcripción de genes blanco, y así regular procesos y funciones celulares²⁷.

Ya que estos factores de crecimiento se alojan de manera activa en la dentina, la síntesis y administración de factores de crecimiento transformantes β se vuelve innecesaria dentro del campo de la Endodoncia Regenerativa, incluso peligroso, dado que dichos factores también se encuentran involucrados en varios aspectos patológicos^{20, 27}.

11. TERAPIAS REGENERATIVAS ALTERNATIVAS

La terapia de regenerativa de células madre no son la única opción de tratamiento para lograr la regeneración pulpar, existen otras terapias que afirman poder conseguir el mismo objetivo que la terapia regenerativa de células madre, a continuación se expondrán de manera breve algunas de estas terapias.

11.1. Revascularización de los conductos radiculares a través de la coagulación de la sangre

Esta técnica sugiere que tras la realización de la conformación y desinfección de los conductos radiculares debe producirse una hemorragia en el sistema de conductos a través de la sobreinstrumentación³.

Un aspecto crucial de esta técnica es el uso de irrigantes intraconducto (NaOCl y chlorhexdina) con la colocación de antibióticos (por ejemplo, una mezcla de ciprofloxacina, metronidazol, y la pasta de minociclina) durante varias semanas, con la finalidad de desinfectar el sistema de conductos radiculares de manera efectiva y buscando también aumenta la revascularización de los dientes avulsionados y necróticos^{3, 20}.

Un aspecto a considerar es que la mayoría de los informes de casos clínicos usando esta técnica se realizaron en dientes con cierre apical incompleto y dado que se ha observado que la reimplantación de dientes avulsionados con una abertura apical de aproximadamente 1,1 mm muestran una mayor probabilidad de revascularización, se cree que la revascularización de la pulpa necrótica en dientes con apices totalmente formados o cerrados, puede requerir una instrumentación del ápice del diente de aproximadamente 1 a 2 mm de diámetro apical para permitir el sangrado sistémico en los sistemas de conductos radiculares³.

Este método asume que el espacio de los conductos radiculares ha sido desinfectado y que la formación de un coágulo de sangre produjo una matriz (por ejemplo, de fibrina) que atrapa células capaces de iniciar la formación de nuevo tejido. No está claro si el fenotipo del tejido regenerado se asemejará a la pulpa dental, bien podría ser solo tejido de granulación^{3, 20} (tabla 5).

Tabla 5. Ventajas que ofrece la técnica de revascularización

Es técnicamente sencilla y se puede completar utilizando instrumentos comúnmente disponibles y medicamentos sin la cara biotecnología.

La regeneración del tejido en los sistemas de conductos radiculares al utilizar las células sanguíneas del paciente evita la posibilidad de rechazo inmunológico y la transmisión de patógenos por parte del tejido construido por la ingeniería para reemplazar la pulpa.

Uno de los principales problemas que enfrenta esta técnica es que la fuente de la reparación de los tejidos no ha sido identificada. Además de que la concentración y la composición de las células atrapadas en el coágulo de fibrina formado por el coágulo son impredecibles³.

11.2. Terapia de genes

En el año 2003, a 50 años del descubrimiento de la estructura de doble hélice del ADN por Watson y Crick, se declaró completo el proyecto del genoma humano. De esta forma, comenzó el conocimiento y la comprensión de la estructura y funciones del ADN hacia la segunda mitad del siglo XX, desarrollándose el concepto de ácido nucleico como macromolécula básica que contiene la información genética o interviene en su decodificación y describiéndose dos clases, el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN). Estos avances permitieron a los científicos, en la década de los setenta, el desarrollo de técnicas capaces de combinar segmentos y transferir porciones de ADN de un organismo a otro, dando lugar a la Genética Molecular. Esta ciencia abarca desde la replicación del ADN, pasando por la transcripción, o copia del ADN a ARN, hasta la traducción o síntesis de proteínas que son en realidad las efectoras de la función codificada en el ADN. El

perfeccionamiento de estas técnicas ha permitido conocer que el origen de numerosas enfermedades es el resultado de alteraciones en la expresión y funcionalidad de proteínas, por lo que hoy día se utilizan para el diagnóstico de enfermedades que presentan desórdenes genéticos.

La transducción de genes extraños en organismos vivos comenzó con la observación de que el ADN aislado podía ser introducido en células en cultivo y éste se integraba al genoma y sintetizaba la proteína correspondiente en la célula receptora. La terapia génica presenta tres componentes indisociables y necesarios: el primero, un gen de interés del cual se espera que la expresión en una célula normal se acompañe de un efecto terapéutico. El segundo lo constituye la célula diana, sobre la cual hay que realizar la modificación y el tercero es el vector, que es el vehículo por el que transporta el material genético y que permite la transferencia de un gen exógeno al interior de la célula diana. Ya que los vectores facilitan la entrada y biodisponibilidad intracelular del material genético a transducir y por consiguiente, su funcionamiento correcto. Se ha utilizado una gran variedad de vectores con fines experimentales y de forma genérica los podemos clasificar en: vectores no virales y vectores virales^{3, 7, 28}.

Las nuevas técnicas que involucran vectores virales y no virales pueden brindarnos genes de factores de crecimiento, morfógenos (sustancias segregadas por las células que rigen el patrón de desarrollo tisular), factores de transcripción y moléculas de la matriz extracelular en las poblaciones de células diana, tales como las glándulas salivales. Los vectores virales se modifican para evitar la posibilidad de causar la enfermedad, pero todavía conservan la capacidad de infección (capacidad de colonizar y reproducirse dentro de un organismo, sin necesariamente afectar las funciones o enfermar al huésped). Varios virus han sido modificados genéticamente para introducir genes, incluyendo los retrovirus, adenovirus, virus adenoasociados, virus del herpes simple, y lentivirus. Sistemas de suministro de genes no virales incluyen plásmidos,

péptidos, pistolas de genes, complejos ligados al ADN, electroporación, sonoporación y liposomas catiónicos. La elección del sistema de administración de genes depende de las características de accesibilidad y fisiológicas de la población de células diana^{3, 28}.

Una revisión reciente discutió el uso de la administración de genes en la Endodoncia Regenerativa. Para introducir genes mineralizantes en el tejido pulpar para promover la mineralización de los tejidos. Sin embargo, una búsqueda en la literatura indica que ha habido poca o ninguna investigación en este campo, exceptuando el trabajo de Rutherford del 2001 sobre la transferencia de genes BMP-7 a la pulpa dental inflamada de hurones. Donde no se produjo una respuesta reparadora, lo que sugiere que se necesita más investigación para optimizar el potencial de la terapia génica pulpar. Por otra parte los riesgos potencialmente graves a la salud existen al utilizar la terapia génica; los cuales se derivan de la utilización del sistema de vectores (transferencia de genes), en lugar de los genes expresados. La administración de comidas y drogas o por sus siglas en inglés F.D.A. (Food and Drug Administration) aprobó la investigación en terapia genética con seres humanos con enfermedades terminales, pero la aprobación fue retirada en 2003 después de que se encontró que un niño de 9 años de edad, que estaba recibiendo la terapia génica había desarrollado tumores en diferentes partes de su cuerpo. Los investigadores deben aprender a controlar de forma precisa la terapia génica y hacerla muy celularmente específica para desarrollar una terapia genética que sea segura para ser utilizada clínicamente³.

12. Conclusiones

Las células madre son una fuente prometedora para lograr alcanzar la Endodoncia Regenerativa, gracias a su alto potencial de plasticidad y gran capacidad de replicación (multiplicación). Y aunque es un hecho que las células obtenidas del embrión (células madre de origen embrionario) poseen un potencial de plasticidad y replicación mayor al de las células madre adultas, los problemas éticos y legales que presenta su obtención, dificultan su uso de manera notoria, obligándonos a descartarlas y enfocar nuestra atención en las células madre de origen post natal.

Las diferentes fuentes de obtención de las células madre nos dan una gran cantidad de opciones de donde elegir para llevar a cabo las terapias regenerativas como son la grasa, los músculos, la médula ósea e incluso la sangre; sin embargo no todas las células madre adultas poseen la misma plasticidad ni capacidades de replicación, sin contar con que ciertos sitios cuentan con poblaciones de células madre en proporciones tan minúsculas que se ha vuelto ridículo verlas como una fuente probable de células para realizar la ingeniería de tejidos, este es el caso de la sangre periférica del cordón umbilical.

Afortunadamente contamos con uno de los sitios de mayor interés para la recolección de células madre dentro de la terapia de formación de tejidos justamente dentro de la cavidad bucal, por supuesto nos referimos a los órganos dentales. La obtención de células madre pulpaes dentales ha mostrado tener una gran aceptación, no solo por su facilidad, sino también gracias a que estas células cuentan con una plasticidad y capacidad de replicación ligeramente inferior al que poseen las células madre proveniente de la médula ósea y al ser su obtención un proceso más seguro y menos laborioso, convierte a estas células en un objeto perfecto para la ingeniería de tejidos.

La obtención de las células madre de origen pulpar puede llevarse a cabo durante la extracción de los órganos dentales deciduos o durante su exfoliación, o puede llevarse a cabo durante la extracción de los terceros molares o bien de órganos dentales de la segunda dentición, extraídos por razones ortodóncicas.

Así como el ubicar la fuente de obtención de las células madre (que son la materia prima en la ingeniería de tejidos) es de suma importancia, su correcto manejo y almacenamiento también son parte vital del proceso que nos llevará a la regeneración del tejido y la reimplantación del mismo.

Entendamos que las células madre son la materia prima para la regeneración de los tejidos pulpares, sin embargo por si solas es muy difícil contemplar la idea de la creación de un tejido funcional, la ingeniería de tejidos apoya la capacidad proliferativa y la diferenciación de estas células brindándoles nutrientes y factores de crecimiento que se encargarán de programar a las células de manera que los tejidos que originen cumplan con las características que deseamos y reemplacen la función de los tejidos perdidos o dañados tanto como sea posible.

Para suministrar dichos factores y nutrientes la ingeniería de tejidos a desarrollado andamios que brindan no solo estos apoyos a las células madre sino que también brindan una estructura de soporte que se encargará de dar forma a los tejidos formados y gracias a su porosidad permitirá la replicación celular y la degradación gradual del andamio al mismo tiempo que el tejido neo formado prolifera y ocupa el lugar que el andamio solía tener.

Terapias alternativas que esperan conseguir la regeneración de los tejidos pulpares como son la revascularización por coagulación tienen una menor aceptación debido a que no poseen un sustento teórico bien definido y gracias a esto es difícil pensar en usarlas como primera opción. Sin

embargo estas terapias aportaron algo importante a la terapia Regenerativa Endodóncica la idea de que para que esta terapia tenga éxito el engrosamiento del ápice debe llevarse a cabo, ya que de esta manera la vascularización se verá aumentada y los nutrientes que el organismo proporcionará a las células también.

La terapia de genes por otro lado es una teoría radical que presenta el inconveniente de que a la fecha los estudios efectuados en pacientes causaron la aparición de tumores en algunos de los sujetos que la emplearon, deteniendo su investigación en humanos.

Es bueno recordar que las células madre tiene la capacidad de formar teratomas por lo que el estudio de los genes para aislar y modificar las secuencias genéticas que producen este efecto podría hacer la diferencia clave que lleve el estudio regenerativo de las células madre de la teoría a la práctica en humanos.

Aún falta un largo camino por recorrer antes de lograr utilizar exitosamente las células madre en pacientes tras el tratamiento y desinfección de los conductos radiculares formando un tejido pulpar de reemplazo, sin embargo los crecientes avances en la ingeniería biomédica y la comprensión a nivel genético de las células madre. Nos brindan una esperanza de que en un futuro no muy lejano la regeneración del tejido pulpar por esta técnica será una opción no solo buena de terapia, sino que también será económica y sin problemas éticos de por medio, por lo que los pacientes la preferirán por sobre los implantes pulpares.

13. Referencias Bibliográficas

1. Dufour C D. Historia de la Transfusión Sanguínea, BioCells. Hallado en: <http://biocells.wordpress.com/2011/08/12/historia-de-la-transfusion-sanguinea/>.
2. Boston Children's Hospital / Harvard Medical School. Hallado en: <http://childrenshospital.org/about/Site1394/mainpageS1394P2.html>
3. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. J Endod. 2007; 33(4):377-90.
4. Guyton A., Hall J. Tratado de Fisiología Médica, 11ª. ed. Cd. Madrid: Elsevier Saunders, 2006. Pp.455-456.
5. Bellis M. James Thomson - Stem Cell Pioneer, About.com Guide. Hallado en: <http://inventors.about.com/od/tstartinventors/p/JamesThomson.htm>.
6. John Gearhart Biography. Academy of achievement. Sep 07, 2010 hallado en: <http://www.achievement.org/autodoc/page/gea0bio-1>.
7. Rao R. N. Endodoncia Avanzada, 2ª. ed. Cd. Caracas: Amolca, 2011. Pp. 337-340.
8. Arias ME y Felmer R. Biología de las células madre embrionarias (ES cells) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. Arch. Med. Vet., 2009; 41, no.3, Pp.185-195.
9. Thekkeparambil C S, Rosnah B Z, Sabri M. et. al. The promise of human induced pluripotent stem cells in dental Research. Stem Cells Int. 2012; 2012: 1-10.
10. Células madre, BioEDEN México, Hallado en: http://www.bioeden.mx/celulas_dentales/.
11. Wolf H. F., Rateitschak K.H., et al. Atlas en color de Odontología. Periodoncia, 3ª. ed. España: Masson, 2005. Pp. 332-333.
12. Ross M. H., Pawlina W., Kaye G. Texto/Atlas de Histología. 5ª. ed. Cd. Argentina: Médica Panamericana, 2006. Pp. 91.

13. Sanguino D, Carrión B J. Regeneración de tejidos orales mediante células madre, Gac. Dent: Ind. y Prof. 2011; 1135-2949, N°. 231. Pp. 94-114 .
14. Bastiaan O R, Kenneth D B, Fluorescencia de células activadas por la clasificación de los protoplastos de la planta. J. Vis. Exp. 2012. 10: 3791-1673.
15. La nueva técnica MACS de Ginefiv elimina los espermatozoides dañados, mejorando la tasa de fecundación en un 13%. Farmanews.com. Hallado en: http://www.farmanews.com/notas_de_prensa/N3158.html.
16. Técnicas de diagnóstico en histología Inmunohistoquímica. Manual de Patología General. Universidad Católica de Chile. Hallado en: http://escuela.med.puc.cl/publ/patologiageneral/Patol_125.html.
17. Volponi A A, Pang Y, Sharpe P T. Stem Cell-based biological tooth repair and regeneration, Trends Cell Biol, 2010; Volume 20, Issue 12, Pp. 715–722.
18. Dias T P, Andrade M A, Thiemy V S, Nör JE, Pulp tissue from primary teeth: new source of stem cells. J. Appl. Oral Sci. 2011; vol.19, n.3: 1678-7757.
19. Jamal M, Sami C, Harold G, Sherif M K. Dental Stem Cells and Their Potential Role in Regenerative Medicine. J. Med. Scien. 2011 ; Vol 4, No 2: 53-61.
20. Rosa V, Botero T M, Nör J E. Regenerative endodontics in light of the stem cell paradigm, Int. Dent. J. 2011; 61 (Suppl.1): 23–28.
21. Inanc, B. y Elcin, Y.M. Stem cells in tooth tissue regeneration- challenges and limitations, Stem Cell Rev. 2011; 21: 683-92.
22. Andreasen, J. O., Andreasen, F.M. y Andersson, L. Texto y Atlas a Color de Lesiones Traumáticas a las Estructuras Dentales. 4ª. ed. Cd. Madrid: Médica Panamericana, 2009. Pp. 114-131.
23. Romero J G, Aldape B B. Bioingeniería dental, ¿el futuro de la terapia en odontología? Rev. ADM. 2011; 48, No.4. Pp: 169-174.

24. Alvarez B J. Regeneración ósea a través de la ingeniería de tejidos: una introducción. Rev. de Est. Transdis. 2009, vol. 1 no..2: Pp.89-109.
25. Khatiwala C, Law R, Shepherd B, Dorfman S and Csete M. 3D Cell Bioprinting For Regenerative Medicine Research And Therapies. Gene Therapy and Regulation. 2012; Vol7. No1.Pp.1-19.
26. Medina Ardalia, Bases teóricas y aplicación clínica de las proteínas morfogenéticas óseas en cirugía maxilofacial, Rev Esp Cir Oral Maxilofac 2009; Vol.31,No.3: Pp.151-156.
27. Gálvez G F J, Sandoval R A S, Armendáriz J B. Transforming growth factor- β as a therapeutic target, Salud pública Méx. 2004; vol.46 no.4;
28. Rozalén J, Ceña V y Jordán J. Terapia génica. Vectores de expresión, Offarm. 2003; vol22: Pp.142-145.

14. Referencias de Imágenes

1. <http://stemsaveblog.com/?p=764>
2. Arias, ME y Felmer, R. Biología de las células madre embrionarias (ES cells) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. Arch. med. vet., 2009, vol.41, no.3, p.185-195. ISSN 0301-732X.
3. <http://www.quo.es/ciencia/inventos/transfusiondesangre>
4. Burgués Gasió J.P., Pontones Moreno J.L. Mecanismos del ciclo celular y la apoptosis implicados en las resistencias a los fármacos de uso intravesical en el cáncer superficial de vejiga. Actas Urol Esp v.29 n.9 Madrid oct. 2005.
5. http://www.bioeden.mx/celulas_dentales/
6. <http://stemcelltreatments.org/stem-cell-research/dental-pulp-stem-cells/>
7. <http://www.heinzawards.net>
8. <http://www.stemcellsforhope.com/Stem%20Cell%20Therapy.htm>
9. http://www.bajo-segura.com/noticias_2010/comunitat_celulas_011010.htm
10. <http://blog.uchceu.es/odontologia/reparacion-osea-mediante-andamios-de-seda-de-alta-resistencia/>
11. <http://xenophilus.wordpress.com/2008/12/16/injectable-artificial-bone-developed/>
12. <http://www.kurzweilai.net/3d-bio-printers-to-print-skin-and-body-parts>