



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**APLICACIONES DE LA INGENIERÍA TISULAR EN
REGENERACIÓN PERIODONTAL.**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

CRISTIAN HUGO LÓPEZ MARTÍNEZ

TUTORA: Esp. IRLANDA BARRÓN GARCÉS

MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO POR DARMÉ LA OPORTUNIDAD Y LA SATISFACCIÓN DE HABER CONCLUIDO UNA LICENCIATURA EN LA MEJOR UNIVERSIDAD DE AMÉRICA LATINA.

A MI TUTORA IRLANDA BARRÓN GARCÉS POR SU TIEMPO, PACIENCIA, ATENCIÓN Y DEDICACIÓN. ASÍ COMO SU ORIENTACIÓN Y APOYO EN ESTE TRABAJO, ADEMÁS DE PERMITIRME SEGUIR APRENDIENDO EN ESTA PROFESIÓN.

A MIS AMIGOS DE LA HGZ 32, EN ESPECIAL A ERIKA DE LA FUENTE Y GABRIEL BUENDÍA, LOS CUALES ME HAN BRINDADO SU APOYO DESDE UN PRINCIPIO. YA TODAS LAS PERSONAS QUE HE CONOCIDO EN ESTE CAMINO, HA TODOS ELLOS GRACIAS.

A MIS PADRES Y A MI HERMANO LOS CUALES DESDE UN PRINCIPIO HE RECIBIDO SU APOYO Y HE CONTADO CON ELLOS EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS, ADEMÁS QUE SON MI INSPIRACIÓN PARA SEGUIR ADELANTE EN LOS PROYECTOS A FUTURO.

A LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA POR EL APRENDIZAJE Y EXPERIENCIA ADQUIRIDA. GRACIAS POR LA OPORTUNIDAD DE PERMITIRME REALIZARME COMO PROFESIONISTA, GRACIAS.

***“POR MI RAZA HABLARA MI
ESPÍRITU”***



INDICE:

1. INTRODUCCIÓN	6
2. OBJETIVO	9
3. PROPÓSITOS	10
4. ANTECEDENTES	11
4.1 Regeneración Periodontal	11
4.1.1 Historia	11
4.1.2 Conceptos	13
4.1.2.1 Re-inserción y nueva inserción	15
4.1.3 Limitaciones de la regeneración	15
4.2 Ingeniería Tisular	16
4.2.1 Historia	16
4.2.2 Conceptos	17
4.2.3 Componentes	18
4.2.3.1 Biomateriales y sustratos	18
4.2.3.1.1 Biogénicos	20
4.2.3.1.2 Sintéticos	20
4.2.3.2 Requisito de diseño para andamios	20
4.2.3.3 Agentes farmacológicos	22
4.2.3.3.1 Citoquinas	22
4.2.3.4 Vasculogénesis	23
4.3 Células Madre	24
4.3.1 Historia	24
4.3.2 Fuentes de células	26
4.3.3. Tipos de células según su obtención	27
4.3.3.1 Células embrionarias	27



4.3.3.2 Células adultas	29
4.3.4 Clasificación según su potencial	30
4.3.4.1 Totipotentes	31
4.3.4.2 Pluripotentes	32
4.3.4.3 Multipotentes	32
4.3.4.4 Unipotentes	32
4.3.5 Moléculas asociadas	33
4.3.5.1 Genes Wingless (Wnt)	34
4.3.5.2 Genes Hedgehog	36
4.3.5.3 Genes Notch	37
4.3.6 Potencial de diferenciación	40
4.3.7 Moléculas asociadas a la diferenciación	40
4.3.7.1 Molécula SCI-Tal-1	40
4.3.7.2 HOXB4	40
4.3.8 Señales externas e internas de las células	42
4.3.8.1 Controles intrínsecos	42
4.3.8.2 Controles extrínsecos	43
4.3.9 Marcadores	43
4.3.9.1 CD34	44
4.3.10 Técnicas para la señalización de marcadores específicos	45
4.3.10.1 Técnica (FACS)	45
4.3.10.2 Técnica (PCR)	46
4.3.10.3 Técnica de fluorescencia no dependiente de marcadores de superficie	46
5. CÉLULAS MADRE EN CAVIDAD BUCAL	46
5.1 Células de la pulpa (DPSC)	49



5.1.1 Células en pulpa de dientes temporales (SHED CELLS)	50
5.1.2 Células en pulpa de dientes permanentes (DPSCs)	51
5.2 Células del ligamento periodontal (PDL)	53
5.3 Células de la papila radicular (SCAP)	55
5. Células del folículo dental	55
5.5 Banco de células madre	56
5.6 Recolección y aislamiento	58
6. APLICACIONES DE LA INGENIERÍA TISULAR	61
6.1 Ingeniería tisular en odontología	61
6.2 Regeneración de dientes	63
6.3 Aplicación en rehabilitación oral	64
6.4 SHED en el desarrollo de tejidos craneofaciales	65
6.5 Aplicación en regeneración periodontal	67
6.5.1 Aplicación en mucosa oral	70
6.5.2 Aplicación en ligamento periodontal	71
6.5.2.1 Células (HPDL)	73
6.5.2.2 Células (3H-TIMIDINA)	74
6.6 Regeneración en dientes funcionales	75
6.7 Creación de un órgano dental y su trasplante	77
7. CONCLUSIONES	80
8. REFERENCIAS	82

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la vida el proceso del envejecimiento y las patologías juegan un papel importante dentro de los cambios que todos los tejidos del cuerpo presentan, existen células que son capaces de regenerarse, de no existir esta renovación, habría un incremento en los problemas de salud en los seres humanos. Un nuevo concepto “medicina regenerativa” propone reparar los tejidos dañados utilizando mecanismos similares a los que de forma natural usa el organismo para la renovación de las poblaciones celulares que van envejeciendo y que deben ser sustituidas por otras que suplen su función.

La Medicina y la Odontología Clínica actualmente experimentan una nueva era, en la cual la ingeniería celular aplica las ciencias de la vida para la obtención de sustitutos biológicos para poder restaurar, mantener o mejorar, dando un nuevo método terapéutico.

El término “célula madre” ha tomado importancia en los últimos años desde que la terapia génica y la clonación son temas de discusión. Actualmente la bioingeniería tisular tiene un importante papel en la medicina regenerativa; tiene la finalidad de regenerar tejidos y órganos para devolver una función dañada o sustituir órganos del paciente gracias a los avances asombrosos en las investigaciones con células madre.

En los últimos años las células madre han sido investigadas en el área odontológica, actualmente se han podido obtener a partir de tejido pulpar, células madre de dientes deciduos exfoliados (SHED), entre otros, lo que nos permite, mediante un procedimiento no invasivo la obtención y procesamiento de estas células en laboratorio y posteriormente criopreservadas hasta el momento que son necesarias. Se ha demostrado que poseen una abundante fuente de células madre las cuales tienen la

capacidad de convertirse en diferentes tejidos, y favorecer un gran potencial para el tratamiento terapéutico de muchas enfermedades.

Las actuales técnicas de regeneración se dirigen al tratamiento de defectos intraóseos y de furcación. La regeneración periodontal requiere de una nueva inserción de la superficie de la raíz, un proceso que implica la regeneración de fibras del ligamento periodontal y la inserción de estas fibras en el cemento recién formado.

La regeneración periodontal depende de cuatro componentes básicos. Las señales adecuadas, las células, el suministro de sangre y los andamios que deben dirigirse al defecto del tejido. Las células proporcionan la maquinaria para el crecimiento de nuevos tejidos y la diferenciación. Los factores de crecimiento constituyen los señaladores que modulan la actividad celular y ofrecen estímulos a las células a diferenciar y producir la matriz hacia el desarrollo de tejidos. Los materiales y las señales se pueden utilizar para proporcionar la instrucción a las células huésped y / o donantes, con el control del crecimiento celular y la diferenciación a través de manipulación exógena (ingeniería del microentorno extracelular) o endógena (ingeniería genética).

Una estrategia común es crear un injerto compuesto, en que las células se siembran en un material degradable (andamio) que puede servir como análogo de la matriz extracelular y apoyo a la adhesión de la célula, proliferación, diferenciación y secreción de una matriz extracelular natural.

Después de la siembra de células, células / andamio se pueden cultivar e implantarlas. Posteriormente las células proliferan y secretan nueva matriz extracelular y los factores necesarios para el crecimiento de tejido *in vitro* y el biomaterial / tejido construido se implanta como nuevo injerto. Una vez



implementado, el andamio también está poblado por las células de los alrededores del tejido huésped.

2. OBJETIVO:

Conocer como interactúa la ingeniería tisular con el aporte de células indiferenciadas o no, las cuales serán colocadas sobre una matriz y se pueden añadir otros componentes como los factores de crecimiento que ayudan a un rápido proceso de proliferación y diferenciación para ser trasplantadas a estructuras dañadas y conseguir una adecuada regeneración. Aunque la utilización de células nos brinda otro beneficio cuando son tratadas en laboratorio, se liberan sustancias beneficiosas para la reparación de tejidos.

3. PROPÓSITOS:

Conocer los componentes necesarios para poder llevar a cabo la regeneración periodontal, desde cómo actúa las células y su proceso de diferenciación, proliferación y desarrollo ya que estas células nos proporcionarían la maquinaria para un adecuado crecimiento y diferenciación de nuevos tejidos.

Reconocer como los factores de crecimiento nos permiten modular la actividad celular y ofrecen estímulos a las células a diferenciar y producir una matriz hacia el desarrollo de los tejidos. Además, cómo funcionan las señales angiogénicas las cuales nos van brindar la base nutricional para el crecimiento del tejido. Y finalmente como los andamios nos proporcionan una guía de estructura que nos ayudará a facilitar los procedimientos anteriores.

APLICACIONES DE LA INGENIERÍA TISULAR EN REGENERACIÓN PERIODONTAL.

4. ANTECEDENTES

4.1 Regeneración Periodontal

4.1.1 Historia

La periodontitis es un proceso inflamatorio de origen bacteriano que afecta a los tejidos del periodonto provocando la destrucción de los tejidos de soporte del diente, como consecuencia de una interacción no adecuada entre la microflora oral y los mecanismos del huésped defensivos.¹

El tratamiento de la enfermedad periodontal ha evolucionado a través de los siglos, desde los babilonios, sumerios y asirios alrededor del año 3000 A.C. quienes llevaban a cabo el tratamiento periodontal mediante masaje gingival combinado con diversas hierbas medicinales. Pasando a la edad media cuando los árabes empezaron a escribir sobre procedimientos de raspado dental, llegando al renacimiento cuando Eustaquio y Paré mencionan el tratamiento y la causa de la enfermedad periodontal.²

En 1912 el Dr. Newman publica un libro el cual se habla de las técnicas de cirugía periodontal con colgajos y la modificación del contorno óseo. Estos tratamientos principalmente reactivos, propiciaban la reparación de tejidos. Después de la segunda guerra mundial, a partir de la década de los 50, Estados Unidos y las naciones escandinavas comenzaron a realizar investigaciones periodontales clínicas y básicas; así mismo se crearon muchos modelos de animales de la enfermedad periodontal investigando el impacto tanto de los factores locales como sistémicos.

Fue hasta 1976 cuando el Dr. Melcher escribió por primera vez sobre el término “compartimentalización” en el cual refiere los tejidos del periodonto. Así mismo realizó la hipótesis en la que afirmó que para obtener una regeneración del periodonto es necesario evitar la migración apical de las células de tejidos gingivales a la zona de la lesión, esto se debe a que las células que pueblan la superficie radicular durante el proceso de cicatrización, definen el tipo de cicatrización tisular, es decir, de esto dependerá que se presente una reparación por medio de la formación de un epitelio de unión largo o una regeneración periodontal por medio de la población de la lesión de las células del ligamento periodontal y del hueso alveolar.³

A partir de este momento se da a conocer el término “regeneración”. Posteriormente esta hipótesis fue probada por los doctores Nyman, Lindhe, Karrin y Gottlow y de esta manera nació la técnica de regeneración tisular guiada (RTG) la cual es acuñada a este último.

Con la regeneración periodontal se supondría una recuperación completa de los tejidos del periodonto en altura y función, es decir, formación de hueso alveolar, una nueva inserción conectiva mediante fibras de colágeno funcionales orientadas sobre un cemento de nueva formación.

La primera aplicación clínica de células humanas en la ingeniería de tejidos, comenzó alrededor de 1980, con la utilización un tejido de piel, utilizando fibroblastos, queratinocitos y un andamio. Un poco más tarde los tejidos del hueso alveolar se trataron de regenerar con la utilización de membranas que asegurarán el mantenimiento del sitio para la regeneración de tejidos mediante la prevención de la invasión de fibroblastos (RTG) y regeneración ósea guiada (ROG). Vacanti y col en 1988 estudio el trasplante de células utilizando polímeros sintéticos bioabsorbibles como

matrices, mientras Wakitani en 1989 informo de la reparación de superficies articulares utilizando condrocitos de aloinjertos. En un artículo de revisión en 1993 con el título de “Ingeniería de tejidos” contribuyo a la promoción de la investigación en ingeniería de tejidos. En 1998 en Estados Unidos, anunció un nuevo término Medicina regenerativa y la creación de células madre embrionarias humanas y germinales embrionarias en 1998.⁴

4.1.2 Conceptos

Las actuales técnicas de regeneración se dirigen al tratamiento de defectos intraóseos y de furcación. Los defectos intraóseos se definen por la posición apical de la base del defecto en relación con la cresta alveolar residual, a diferencia de los defectos supraóseos cuya base se encuentra coronal a la cresta. La regeneración periodontal requiere de una nueva inserción de la superficie de la raíz, un proceso que implica la regeneración de fibras del ligamento periodontal y la inserción de estas fibras en el cemento recién formado.¹

Para que la regeneración periodontal se produzca, las células progenitoras del ligamento periodontal deben migrar a la superficie de la raíz desnuda, adherirse a ella, proliferar, madurar hasta convertirse en un tejido fibroso organizado y funcional e insertarse en el recién formado cemento. Del mismo modo, las células progenitoras óseas también deben migrar, proliferar y madurar junto con la regeneración periodontal. Por lo tanto el concepto de regeneración periodontal se basa en principio que las células sanas y o células en el sitio de la curación, tienen el potencial de promover la regeneración.⁵

A nivel celular la regeneración periodontal es un proceso complejo que requiere la coordinación entre proliferación, diferenciación y desarrollo de varios tipos de células. Se ha demostrado que hay mayores posibilidades de éxito en bolsas periodontales infraóseas, también denominadas defectos verticales o intraóseas.¹

La regeneración periodontal depende de cuatro componentes básicos. Las señales adecuadas, las células, el suministro de sangre y los andamios que deben dirigirse al defecto del tejido. Las células proporcionan la maquinaria para el crecimiento de nuevos tejidos y la diferenciación. Los factores de crecimiento o morfógenos modulan la actividad celular y ofrecen estímulos a las células a diferenciar y producir la matriz hacia el desarrollo de tejidos. Las nuevas redes vasculares promovidas por señales de angiogénicas proporcionan la base nutricional para el crecimiento de tejido y la homeostasis. Y finalmente los andamios que crean una guía de estructura de la plantilla en tres dimensiones para facilitar los procedimientos anteriores para el tejido de regeneración.¹

La regeneración de un diente y de sus estructuras de soporte han sido el foco de muchos esfuerzos en las últimas dos décadas. Algunos grupos se centran en la regeneración de uno o dos dientes para una reparación específica, otros se han enfocado a la regeneración de un diente intacto y el alveolo al mismo tiempo para el reemplazo total.

Tejidos especializados como el periodonto incluyen epitelio-mesenquimal interacciones y complejos de unión (entre el diente y el tejido conectivo). El periodonto incluye hueso alveolar, cemento, epitelio de unión además un vínculo conectivo gingival. Basado en su lugar embrionario, los tejidos periodontales se forman por la interacción de las células mesenquimales y las células del epitelio que responden de manera diferente de estímulos. La

secuencia que se requiere para la regeneración periodontal son procesos independientes pero vinculados: la osteogénesis, cementogénesis y la formación de tejido conectivo.⁵

4.1.2.1 Re-inserción y nueva inserción

Se determina la regeneración periodontal como la nueva inserción que se logra con las técnicas regenerativas. El tratamiento periodontal regenerador comprende procedimientos especialmente destinados a restaurar las partes del aparato de sostén dentario perdido a causa de la periodontitis.

La nueva inserción por lo tanto se define como la formación de un nuevo cemento con inserción de fibras colágenas sobre la superficie radicular déprovista de su ligamento periodontal original, ya sea causado por enfermedad periodontal o desprendimiento mecánico.

La reinsertión se define como la nueva unión entre los tejidos blandos circundantes y una superficie radicular que conserva el tejido de su ligamento periodontal.⁶

4.1.3 Limitaciones de la regeneración periodontal

El mal control de placa bacteriana por parte del paciente así como el incumplimiento de las visitas del mantenimiento, son factores en los resultados del tratamiento periodontal y por tanto se puede provocar una disminución en la formación de nueva inserción y tejido óseo.

El hábito del tabaco es motivo de exclusión en la regeneración periodontal, ha demostrado que es un factor de riesgo para la progresión de la periodontitis y en los resultados adversos al tratamiento.

Entre los factores locales puede influir el resultado de las terapias regenerativas, la oclusión y la morfología del defecto óseo. La influencia de la movilidad dental sobre la regeneración periodontal permanece no definida, los procedimientos empleados para la estabilización deberán ser poco invasivos y provocar una pérdida mínima de la estructura dental.

Las características morfológicas del defecto óseo es otro factor local de los más estudiados en la regeneración periodontal. La profundidad total del defecto y el ángulo de la pared ósea respecto a la raíz son las variables que se han relacionado con la cantidad de relleno.

Cuanto más estrecho sea un defecto óseo más pequeña será el área a cicatrizar y mejor estabilidad de la herida durante la curación y por tanto mientras más ancho sea, mayor la posibilidad de desplazarse el coagulo y mayor será el riesgo de infección.

4.2 Ingeniería Tisular

4.2.1 Historia

El término de ingeniería tisular fue adjudicado en 1987 durante la reunión de la Fundación Nacional de Ciencias, la idea se forjó con la unión de experiencia agregada en diversos campos, como la biología celular, la bioquímica y la biología molecular y su posterior aplicación a la ingeniería de nuevos tejidos. Los biomateriales empleados deben presentar requisitos como biocompatibilidad, conductividad de unión y proliferación de células comprometidas o sus progenitores además de la producción de MEC, la capacidad de incorporar factores inductores capaces de dirigir y mejorar el crecimiento del tejido nuevo, el apoyo del crecimiento vascular de oxígeno, el transporte de biomoléculas y la integridad mecánica de las cargas de apoyo en el lugar del implante.⁸

Las membranas de celulosa fueron los primeros en biomateriales que se aplicaron como barreras para la cirugía periodontal, seguido de politetrafluoroetileno expandido y una gran variedad de polímeros absorbible. Materiales utilizados actualmente son el ácido poliláctico, ácido poliglicólico, poliglactina son solubles barreras de colágeno.

4.2.2 Conceptos

La ingeniería de tejidos, según el Instituto Nacional de Salud la definió, dentro de un emergente campo multidisciplinado que incluye la biología, la medicina y la ingeniería que revolucionó la forma de mejorar la salud y la calidad de vida. En el tejido periodontal, se refiere específicamente a la reparación de hueso alveolar, dientes, cemento y asociados.⁸

Los tres pilares básicos sobre los cuales se sustenta la ingeniería tisular para desarrollar reemplazos en tejidos son:

- Prevenir una respuesta inmunológica, ya sea inflamación, rechazo o ambas. Idealmente si se pudiera manipular células pluripotenciales, una vez diferenciadas éstas en el medio disminuirán la respuesta inmunológica.
- Será necesario crear el sustrato ideal para la supervivencia, desarrollo y diferenciación celular. La utilización de implantes biocompatibles compuestos por moléculas integrantes de la matriz extracelular sembradas por células autólogas será una estrategia a considerar. El agregado de factores de crecimiento y diferenciación celular incrementará la calidad del tejido a reemplazar.
- Proveer un adecuado medio ambiente para el desarrollo celular y tisular es crucial para mantener la función celular y el desarrollo del tejido neoformado.

La premisa básica de la ingeniería de tejidos es que se controla la manipulación del microambiente extracelular y puede conducir al control de la capacidad de las células para organizar, crecer, diferenciarse de forma funcional en la matriz extracelular (MEC) y en última instancia, la función de los nuevos tejidos. Este control es un proceso complejo que requiere de señales autócrinas, parácrinos y endócrinos. La señal de posición, la matriz de las interacciones celulares, las fuerzas mecánicas y los contactos célula-célula para mediar en la formación de la arquitectura del tejido y la función.⁸

Para diseñar tejidos funcionales, las células (acogidas o donantes) deben contar con una adecuada zonificación y claves temporales para permitir el crecimiento, diferenciación y síntesis de un MEC de un volumen suficiente y una integridad funcional.⁸

4.2.3 Componentes

1. Biomateriales y sustratos
2. Requisito de diseño de andamios
3. Agentes farmacológicos
4. Vasculogénesis

4.2.3.1 Biomateriales y sustratos

Muchas células no se incorporan al tejido receptor por sí mismas y para lograr que permanezcan en su sitio se usan transportadores celulares que permiten a las células subsistir hasta su incorporación con el huésped. Para su desarrollo es necesario que se forme una matriz extracelular para lo cual se necesitan de biomateriales y sustratos que sean capaces de mantener a las células en contacto directo con el segmento del tejido receptor.^{9,10}

La matriz extracelular es un sistema dinámico integrado por diversas moléculas que contribuye a la migración, proliferación y diferenciación celular. La matriz está compuesta por colágeno, glucoproteínas, ácido hialurónico, proteoglicanos, glucosaminoglicanos, elastina, fibrina y factores de crecimiento, (citoquinas y enzimas). La interacción de todas estas moléculas brinda un soporte celular para el desarrollo de células madre implantadas en un tejido.⁹

Los materiales transportadores que la ingeniería tisular utiliza como transportadores celulares deben de tener cierto grado de biocompatibilidad, es decir, que tengan la habilidad de originar una respuesta biológica apropiada para una aplicación específica, para esto depende de interacciones personalizadas entre el material y el medio biológico con el que están en contacto.¹⁰

Los biomateriales deben presentar características como:

1. Una alta porosidad, una superficie de contacto amplia, estructura constante y forma tridimensional.
2. No deben ser tóxicos, ni carcinogénicos.
3. Contar con la posibilidad de esterilización para su manipulación y una estabilidad mecánica intrínseca.
4. Ser conductibles para permitir la migración de las células.
5. Ser inducibles para permitir la proliferación de las células.
6. Ser permeables para permitir el intercambio de nutrientes y metabolitos.
7. Ser adherentes para permitir la adhesión de células y moléculas.

Los biomateriales según su composición pueden ser biogénicos y sintéticos.

4.2.3.1.1 Biogénicos

Tipo de material cuyo origen pueden ser vegetal, animal o humano. Sus principales aplicaciones son en suturas quirúrgicas, agentes hemostáticos y utilizados para sustitución de vasos sanguíneos, válvulas cardíacas, tendones, ligamento y regeneración del cartílago. Un ejemplo son el colágeno, los glucosaminoglucanos y la fibrina.¹⁰

4.2.3.1.2 Sintéticos

Son polímeros, co-polímeros, geles y metales; su función principal es dirigir el crecimiento de la célula, ya sea de los tejidos adyacentes o de las células sembradas en él. El polímero debe proveer una adecuada adhesión celular, favorecer la proliferación, diferenciación en algunos casos la migración celular. La mayoría de los biomateriales sintéticos son biodegradables, propiedad que proporciona sustento celular hasta que las células son capaces de secretar su propia matriz extracelular. Los biomateriales sintéticos más comunes son ácido poliglicólico (PGA), ácido poliláctico (PLA), polietilenglicol (PGE), poliamidas, polifosfatenos, hidrogeles alginatos, dextranos, titanio y silicona. De éstos los más utilizados son el PGA y PLA por tener características de degradación.

4.2.3.2 Requisito de diseño para andamios

El espacio de mantenimiento en el sitio del defecto y la comprensión de que el hueso crezca en un espacio de tejido adyacente para evitar el crecimiento de tejido blando es deseable en cualquier material debe de ser suficiente y tener una adecuada fuerza para permitir la colocación del material en el defecto e impedir el colapso de los tejidos que lo rodean.¹¹

Este principio establece el suficiente espacio de la herida y un medio ambiente adecuado para la regeneración permitiendo la cascada sinérgica de los procesos celulares. Se necesita un material biocompatible con los tejidos regenerados o biodegradables, la incorporación de células así como la maduración de los tejidos durante la regeneración posterior.¹²

Las matrices sirven como estructuras tridimensionales para soportar físicamente y facilitar la regeneración del tejido periodontal cuando se combina con la ingeniería de tejidos de células o base genética.

Un material ideal debe de ser biocompatible con los tejidos regenerados o biodegradables, lo que permite la sustitución progresiva del tejido regenerado. El apego y la incorporación de células, así como la maduración in situ de los tejidos durante la posterior regeneración, el monto de la porosidad y el tamaño de los poros de la estructura de soporte son características importantes y que hay que tener en cuenta al diseñar los andamios.

Se necesita de una bioseguridad ya que estos materiales deben de estar libres de enfermedades contagiosas e inmunológicamente inerte, no deben de inducir una respuesta inflamatoria. Para que el andamio tenga éxito también depende de la reacción del huésped y la salud sistémica del receptor.

Durante las últimas dos décadas, los andamios han sido ampliamente desarrollados, estudiados y utilizados, entre sus requisitos, presentan:

- Proporcionar una estructura tridimensional que soporte un volumen, forma y resistencia mecánica.

- Consisten en una alta porosidad, una superficie con relación o bien interconectado con la estructura del poro abierto para promover una densidad para la siembra y un medio bioactivo de moléculas.
- Biocompatible.
- Una degradación con una velocidad controlada y un patrón que permite una suficiente apoyo hasta que los defectos de los tejidos estén en el defecto.

Los andamios pueden ser diseñados para servir como apoyo, pues llevan a cabo una liberación sostenida de compuestos bioactivos, lo que induce un estímulo para la formación de tejido. El trasplante de células puede ser transportada a través de la ingeniería tisular, que proporciona una adhesión y anclaje para interactuar con las células madre para controlar la presentación del sitio de adhesión, mejorando así la supervivencia de la célula y su participación.

4.2.3.3 Agentes farmacológicos

Son complementos en el medio de cultivo que favorecen la proliferación, diferenciación y migración celular. Los principales agentes son las citoquinas y los factores de crecimiento, que intervienen en las señales pàcrinas.

4.2.3.3.1 Citoquinas

Las citoquinas o citocinas son un grupo de proteínas de bajo peso molecular que actúan mediando interacciones complejas entre células linfoides, células inflamatorias y células hematopoyéticas. Las citoquinas son producidas por múltiples tipos celulares, principalmente del sistema inmune. Se derivan de leucocitos se denominan interleuquinas, aquellas que son secretadas por monocitos/macrófagos se llaman monoquinas.

Sus principales funciones son:

1. Diferenciación y maduración de células del sistema inmunitario.
2. Comunicación entre células del sistema inmunitario.
3. Activación de los mecanismos de inmunidad natural.
4. Intervención en la respuesta celular específica.
5. Intervención en la reacción de inflamación, tanto aguda como crónica.
6. Control de los procesos hematopoyéticos de la médula ósea.
7. Inducción de la curación de las heridas.

Las citoquinas se unen a receptores específicos de la membrana de las células donde van a ejercer su función, iniciando una cascada de transducción intracelular de señales que alteran el patrón de expresión génica de modo que esas células diana producen una respuesta biológica.

Hay diversos tipos de receptores de membrana para citoquinas, entre ellos está la familia de las inmunoglobulinas, familia de receptores de hematopoyéticas, familia de receptores de interferones, receptores de factor de necrosis tumoral rico en cisteínas y familia de receptores de quimioquinas.

Los agentes farmacológicos con los que se completa un cultivo también funcionan como sistemas de liberación controlada para brindar el estímulo celular para la formación de un tejido.

4.2.3.4 Vasculogénesis

El mayor obstáculo en las técnicas de ingeniería tisular, es el rechazo de un implante de células debido a la falta de nutrientes e irrigación de la zona en donde se pretende exista diferenciación celular y crecimiento de un tejido de reparación.

En ingeniería tisular se elabora un sistema microvascular con redes capilares pre-fabricados que brinden vascularización en el tejido vecino hacia el material recién implantado.

4.3 Células Madre

4.3.1 Historia

A mediados de 1800 se descubrió que las células son los componentes básicos de la vida, algunas de ellas tienen la capacidad de producir otras células, sin embargo en 1900 se descubrió que tenían la capacidad de generar células sanguíneas.

En 1968, el trasplante de médula ósea se realizó para el tratamiento de dos hermanos con inmunodeficiencia combinada. En 1978, las células madre fueron descubiertas en la sangre del cordón umbilical humano, pero no fue hasta 1981 donde se produjo la primera línea de células madre in vitro desarrollado a partir de ratones.

En 1995 se realizó la primera línea de células madre embrionarias (derivadas de un primate). En 1998 James Thomson, aisló células del blastocito y desarrolló la primera línea de células madre embrionarias humanas. Del mismo modo, Jhon Gearhart reporta el aislamiento de células madre a partir de células primordiales.

En el año 2000, científicos descubrieron que la manipulación de los tejidos de ratones, podrían producir diferentes tipos de células. Estos descubrimientos fueron interesantes para la investigación de células madre, esperando tener un mayor control científico sobre su diferenciación y proliferación.

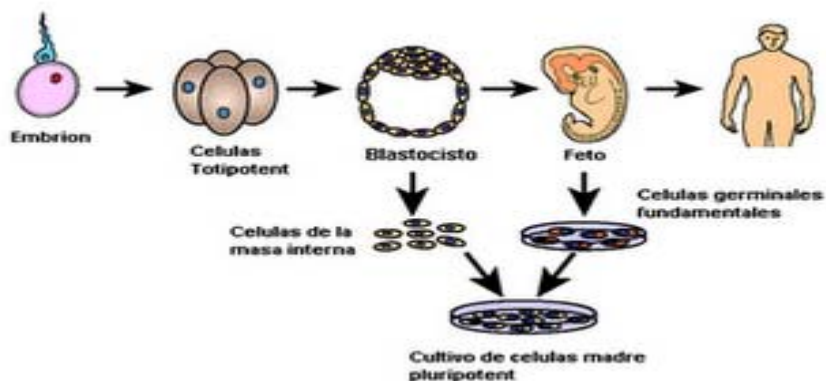
En el 2002 se cultivan células neuronales adultas a partir de células madre embrionarias; aunque en el 2004 se induce la diferenciación de células madre neuronales a partir de células madre del cordón umbilical y células madre hematopoyéticas.

Actualmente la investigación de células madre ha progresado, y existen numerosos estudios de investigación publicados en revistas, aunque aún falta mucho camino para controlar por completo la regulación de las células madre en dientes.¹³

El término de célula madre comúnmente se utiliza para referirse a las células del organismo adulto que renuevan los tejidos. Las células madre embrionarias se diferencian de cualquier tipo de célula madre adulta, solo se encuentran en las primeras etapas del desarrollo embrionario y son totipotenciales, es decir, pueden formar cualquier tipo de célula adulta.

Otro tipo de célula que tiene propiedades similares son las células primordiales del feto en desarrollo, las células madre se agrupan en una sola categoría, aunque no comparten características comunes o las mismas fuentes y es importante distinguirlas en varios tipos de células madre.¹⁴

Fig1 Células madre embrionarias¹⁵



Las células madre son células que después de los primeros periodos de vida tiene el potencial de transformarse en una célula de tipo nerviosa o muscular. El interés en ellas es a considerar ya que pueden reparar órganos dañados, regenerar partes defectuosas e incluso ser transformadas en órganos completos para transplantes.¹⁶

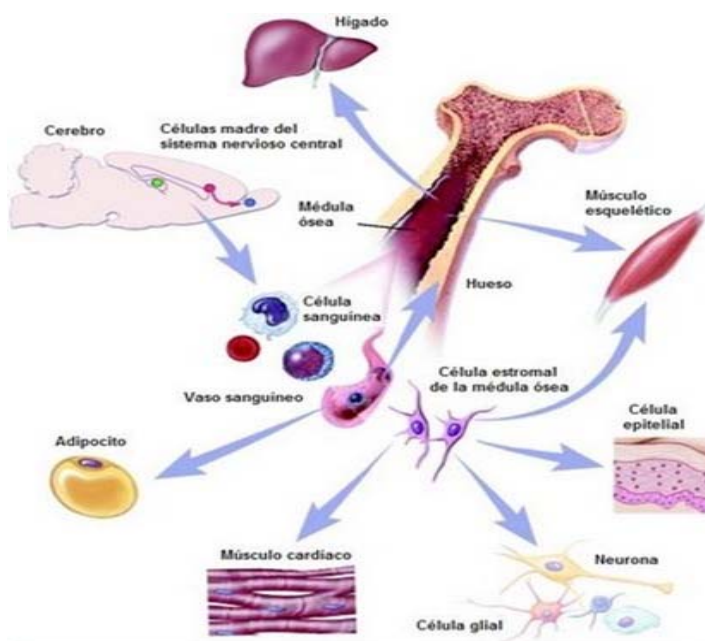
Proviene de dos fuentes:

- De embriones nuevos, cuando aun están destinados a transformarse en diferentes células del cuerpo.
- Y de un adulto en lo que estas células sustituyen a células muertas, para mantener y reparar en tejido.

4.3.2 Fuentes de células

Actualmente las fuentes de células madre son: Medula ósea, sangre periférica, blastómeros, masa celular interna, cresta germinal interna, pulpa dentaria, sangre del cordón umbilical, piel y retina.

Fig2 Diferentes fuentes de células¹⁷



4.3.3 Tipos de células según su obtención

En los seres humanos, están divididas las células madre en dos grupos, las células madre embrionarias y las células madre adultas.

4.3.3.1 Células embrionarias

Estas células son capaces de diferenciarse a más tipos de tejidos que las células madre adultas. Originadas en la masa interna del embrión en la etapa del blastocito, estructura en la cual se forman las tres capas que darán lugar a todos los tejidos del cuerpo humano. Son células pluripotentes y pueden generar todas las células del feto y la parte embrionaria de la placenta. Tienen múltiples aplicaciones en la obtención de nuevos medicamentos y en la terapia celular para regeneración tisular. Sirven de fuente para obtener células germinales (espermatozoide y óvulo); son aisladas de la cresta germinal, para después ser utilizadas en cultivos para lograr fertilidad.¹⁸

Cuando el óvulo es fecundado adquiere la condición de cigoto, durante su recorrido por la trompa de Falopio se van produciendo distintos periodos de división celular que aumenta el número de sus células, las cuales reciben el nombre de blastómeros, aproximadamente a los 3 días, el embrión contiene de 12 a 16 blastómeros. Alrededor de los 4 días llegan a la cavidad uterina, sobre los 5 días, comienzan a introducirse líquido en su interior para formar una cavidad el (blastocelo). En esta etapa el cigoto se llama blastocito y posee uno de sus polos una agrupación celular que recibe el nombre de masa celular interna o embrioblasto. Las células que la integran dan origen a todos los tipos celulares, sistemas, tejidos y órganos del individuo en formación. Un aspecto que hay que tomar en cuenta es que las células de la masa interna no mantienen indefinidamente in vivo su capacidad para generación de cualquier tipo celular, pues estas se van

diferenciando progresivamente en los diversos tipos celulares durante la fase intrauterina del desarrollo. Sin embargo cuando se extraen de su ambiente embrionario natural y cultivarlas in vitro, son capaces de proliferar ilimitadamente y a su vez mantener su potencial de generar células capaces de diferenciarse en cualquiera de los tejidos del organismo. En este estado se clasifican como células madre embrionarias.

Las células germinales no inician la diferenciación sexual hasta la mitad de la gestación; se conoce que hasta ese momento mantienen la capacidad de diferenciación hacia las diferentes líneas celulares. Las células madre germinales se han aislado a partir de esas células germinales primordiales embrionarias y fetales, y tal como ocurre con las células madre embrionarias, estas poseen una gran capacidad proliferativa que se hace evidente cuando se somete a un cultivo.

En 1981, se empleo el término célula madre embrionaria, para distinguir las células embrionarias procedentes de la masa celular interna, de aquellas teratocarcinomas y que también poseen la capacidad de diferenciarse en distintos tipos celulares.

Para que las células madre puedan crecer indefinidamente y mantener su estado indiferenciado, se utiliza en los cultivos una capa alimentadora formada por fibroblastos embrionarios y un suplemento del factor inhibidor de leucemia (LIF, del ingles leucemia inhibitory factor) para aprovechar su actividad bloqueadora de la diferenciación.

Cuando las células embrionarias se extraen en estas condiciones comienzan a diferenciarse espontáneamente.

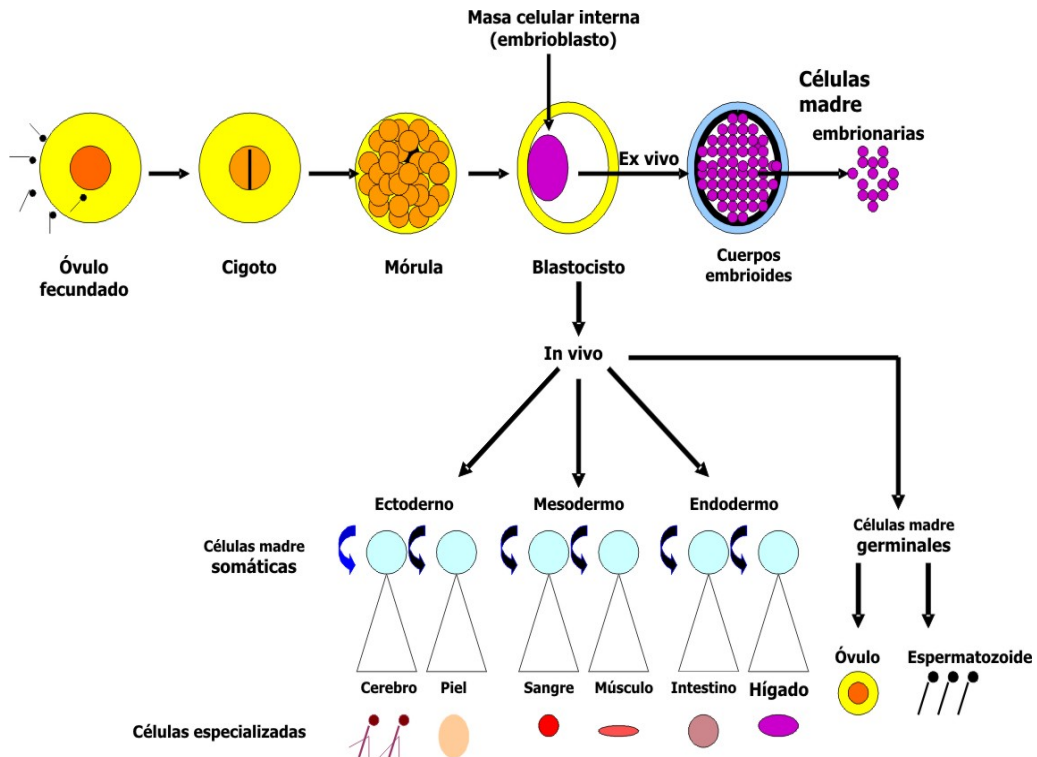


Fig3 Esquema de la generación de células madre embrionarias y somáticas¹⁹

4.3.3.2 Células adultas

En un individuo adulto se conocen hasta ahora como alrededor de 20 tipos distintos de células madre, son células indiferenciadas con propiedades de auto renovación de tejidos en continuo desgaste (piel y sangre), o dañados (hígado). Las células madre adultas tiene un gran potencial de diferenciación y quizá más facilidades que las células embrionarias puesto que su obtención es del mismo individuo adulto con la misma carga genética y sin someterse a los problemas éticos de manipular y destruir embriones, además de cumplir con ser clonogénicas y ser capaces de dividirse

asimétrica, son capaces de tomar localización, forma y función adecuados para diferentes ambientes celulares.

Se han clasificado y definido como una célula especializada dentro de la organización de las células de un tejido específico de un organismo ya formado, que está restringida en su capacidad de diferenciación y es capaz únicamente de generar células del tejido que representa, a las que debe recambiar de forma natural.

En los últimos años se han hecho estudios que sugieren que la potencialidad de algunos tipos de células madre adultas es mayor a lo esperado, ya que han demostrado en determinadas condiciones capacidad para diferenciarse en células de diferentes linajes.

Se han planteado criterios para definir una célula madre adulta, son difíciles de comprobar experimentalmente, sin embargo se ha señalado que la mayor parte de los criterios que cumplen con las células madre embrionarias los satisfacen también la célula madre hematopoyética, pues tiene divisiones auto-renovadoras, puede dar lugar a todas las células sanguíneas, reconstruir la médula ósea cuando se trasplanta en receptores irradiados letalmente o aplasiados mediante quimioterapia y se ha observado su implantación en tejidos sanos.¹⁸

4.3.4 Clasificación según su potencial

La potencialidad representa la capacidad y posibilidades de diferenciación de las células, y se manifiesta en el ámbito natural de acuerdo al orden de desarrollo. Las células madre se han clasificado en: totipotenciales, pluripotentes, multipotentes y unipotentes.¹⁸

4.3.4.1 Totipotentes

Del latín totus: que significa completo, hace referencia al potencial que tienen estas células de generar un embrión completo. El cigoto puede dar origen a los componentes embrionarios, como los extraembrionarios.

Durante las primeras divisiones del cigoto va formando una esfera llamada mórula, en la que todas las células son totipotenciales, hasta este momento es posible generar un individuo con todos sus tejidos.

Estas células en condiciones apropiadas son capaces de formar un individuo, pues pueden producir tejido embrionario y extraembrionario. Así en el ciclo evolutivo posfecundación, el cigoto u óvulo fertilizado se considera una célula totipotente, capaz de dar origen a todo el organismo.

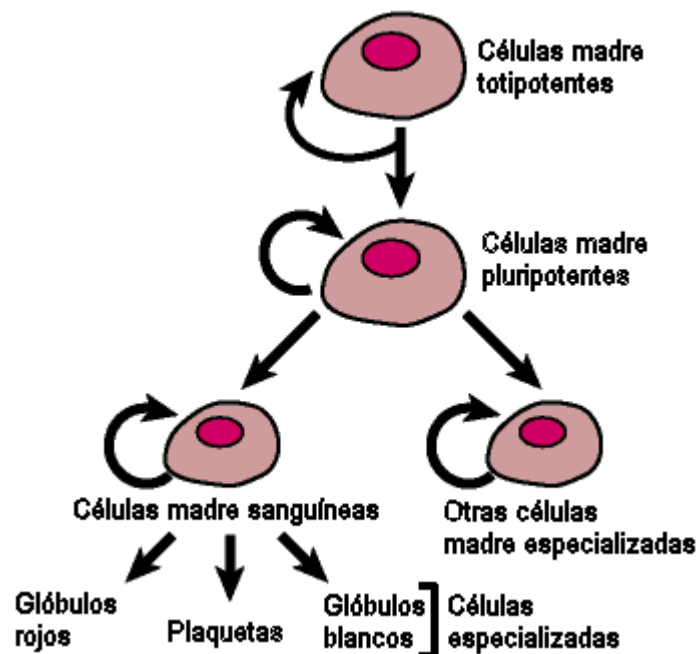


Fig4 Esquema de las células madre totipotentes²⁰

4.3.4.2 Pluripotentes

Del latín plures que significa muchos o varios; es decir, que puede dar origen a progenitores que forman cualquiera de las tres capas germinales. Una célula pluripotente no puede formar un organismo completo, pero puede formar cualquier célula proveniente de los tres linajes embrionarios por su gran potencial de diferenciación y su pluripotencia le permite cultivarse tanto in vivo, que es incorporar células madre directo en la zona a regenerar, como in vitro en los cultivos de laboratorio.

4.3.4.3 Multipotentes

Son aquellas que solo pueden generar células de su propia capa o linaje embrionario (ejemplo: célula madre mesenquimal de médula ósea, al tener naturaleza mesodérmica, dará origen a células de esa capa como miocitos, adipocitos u osteocitos, entre otras). Se consideran órgano-específicas y se localizan en tejidos embrionarios y fetales, así como en tejidos completamente formados de los organismos en adultos.

4.3.4.4 Unipotentes

Del latín unus, que significa uno. Es una célula que puede formar otras células hijas que se diferencian a lo largo de una única línea celular.²³

Fig5 Tipo de célula²²



4.3.5 Moléculas asociadas

Las vías de señalización corresponden a sistemas constituidos por una serie de proteínas que actúan en respuesta a estímulos extracelulares o intracelulares cuya activación o inhibición puede ser de manera sucesiva. El estímulo puede ser de naturaleza química o física; cuando es química recibe el nombre de ligando que codifica el mensaje para que sea captado por receptores moleculares en tres regiones (extracelular, transmembranal e intracelular). . Las líneas de comunicación son establecidas por interacciones paracrinas, en las cuales las proteínas sintetizadas por una célula se difunden por cortas distancias para interactuar con otras células, o por interacciones yuxtacrinas, que no involucran proteínas difusibles.

Las proteínas difusibles encargadas de la señalización paracrina se denomina factores paracrinicos o factores de crecimiento y diferenciación (GDF). Estos factores se agrupan en cuatro familias cuya función es regular el desarrollo de los órganos en el reino animal. Estos grupos de GDF incluyen a las familias del factor de crecimiento fibroblástico, Wnt, Hedgehog y factor de crecimiento transformador beta.

Los factores paracrinicos actúan por medio de vías de transducción de la señal compuesto por una molécula de señalización (ligando) y un receptor. Este receptor atraviesa la membrana celular y tiene un dominio extracelular (región de unión al ligando), un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático.

Cuando el ligando se une al receptor, induce un cambio en el receptor y éste a su vez activa el dominio citoplasmático y como resultado de ésta activación se da una actividad enzimática al receptor, y más a menudo se otorga una actividad cinasa que puede fosforilar y activar a las proteínas para

fosfolisar otras proteínas y formar una cascada de señalización que activa un factor de transcripción que como resultado final activa o inhibe la expresión génica; y ésta vía es conocida señalización paracrina. Como ejemplo de estas vías son Wnt y Hedgehog.

La señalización yuxtacrina también es mediada por una vía de transducción de señal pero no involucra a factores difusibles, en su lugar utiliza proteínas de superficie celular que interactúa con un receptor sobre unas células adyacentes en un proceso análogo a la señalización paracrina, como ejemplo la vía de Notch.

4.3.5.1 Genes Wingless (Wnt)

Por lo menos se encuentran 15 proteínas Wnt diferentes que están involucradas en las vías de desarrollo, contienen aminoácidos como la cisteína que contiene palmitato que les da propiedades hidrofóbicas y generalmente están glicosiladas en su extremo amino-terminal. Estas proteínas intervienen en la regulación del establecimiento del patrón de la extremidad, el desarrollo del mesencéfalo y en algunos aspectos de la diferenciación de los somitas y urogenital, entre otras acciones.²³

Las proteínas Wnt forman la vía Wnt utilizada en el estudio del desarrollo animal y hasta hace unos años utilizado en inmunología, debido a que varios estudios indican que la proliferación y diferenciación de la mayoría de las células progenitoras está regulada in vitro por moléculas de señalización que tienen un papel durante el desarrollo embrionario. Se han propuesto tres vías de señalización intracelular para las proteínas Wnt, pero para el sistema hematopoyético la más importante es la vía canónica de la B-catenina y el factor de transcripción nuclear de la B-catenina y su unión física y activación de los factores de transcripción.

Las proteínas Wnt son secretadas al medio extracelular y actúan como ligandos uniéndose a receptores de la membrana celular para determinar el destino celular y otros parámetros de diferenciación.

Sus receptores son miembros de proteínas frizzled, estas están relacionadas con las proteínas FRPs; que son proteínas estructuralmente relacionadas con el dominio en cisteína de las Fizzleds y actúan como antagonistas de Wnt juega un papel importante en la regulación de la auto renovación de las células madre hematopoyéticas y en la activación o inactivación de programas genéticos de determinación celular. Mutaciones de los genes Wnt o su expresión inapropiada conducen a cambios de linaje celular por una expresión génica alterada.²³

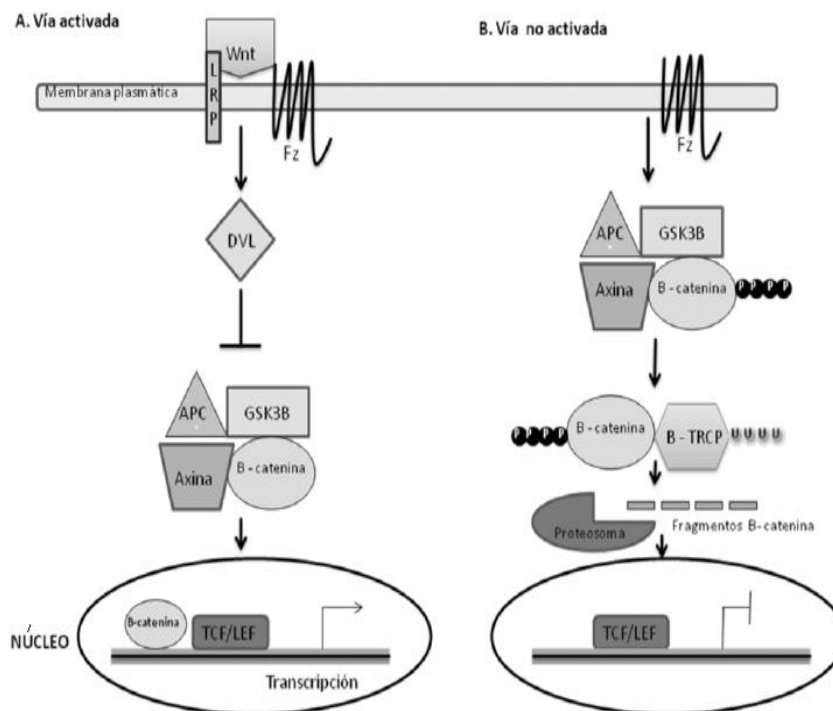


Fig6 Vía de señalización Wnt²⁴

4.3.5.2 Genes Hedgehog

Hay tres genes hedgehog, desert, indian y sonic hedgehog. Sonic hedgehog pueden dirigir la diferenciación celular hacia diversos tejidos por medio de umbrales de concentración específicos así participan en gran número de acontecimientos del desarrollo, como el establecimiento del patrón de la extremidad, inducción y establecimiento del patrón del tubo neural, la diferenciación de los somitas, la regionalización del intestino y otros. Los tres genes forman la vía Hedgehog, ésta vía de señalización se relaciona con la activación de la proliferación celular y con la inducción de patrones morfogénicos para la estimulación de la auto renovación. La vía de señalización Hedgehog está compuesta por proteínas codificadas por los genes hedgehog que contienen colesterol; éstas proteínas son secretadas y pueden mediar la señalización de dos maneras diferentes: a través del contacto célula-célula entre células adyacentes y de manera alterna produciendo un ligando soluble capaz de difundirse a través del microambiente para interactuar con células distantes. La señal o ligando es captada por receptores de proteínas supresoras de tumos Patched.

El receptor funcional para la señal Hedgehog está compuesto por dos proteínas transmembranales independientes, la proteína supresora de tumor de Patched y el proto-oncogen Smoothed. Patched inhibe la activación de Smoothed en ausencia de su ligando Hedgehog, es decir, en células que no han sido estimuladas por Hedgehog. Smoothed es un componente de la vía de señalización Hedgehog que se activa cuando las proteínas Hh se unen al receptor Patched, ocasiona un cambio en la estructura del complejo liberando a Smoothed de la influencia represora Patched para dar inicio a la activación de la vía transmitiendo el mensaje al interior de la célula, para luego ser recibido en el citoplasma por las proteínas quinasas que forman un

complejo citoplásmico de alto peso molecular que está anclado a estructuras del citoesqueleto celular llamadas microtúbulos en donde el factor de transcripción Ci155 es fosforilado por la proteína quinasa para después activar la expresión de los genes blanco Hedgehog tales como Decapentaplegic, Wingless y el propio Hedgehog, produciendo finalmente una respuesta.

Sonic Hedgehog, Patched y Smoothed se expresan en células humanas primitivas CD34 + CDD38, células mieloides maduras (CD33+), linfocitos B (CD19+) y T (CD3+), células de la estroma de médula ósea y células endoteliales de la vena umbilical.^{23,25}

4.3.5.3 Genes Notch

Las proteínas Notch son grandes polipéptidos transmembranales con diferentes regiones o dominios estructurales, estas proteínas forman la vía de señalización Notch, y está constituida principalmente por cuatro genes: Notch 1, Notch 2, Notch 3 y Notch 4, que se expresan ampliamente durante la embriogénesis y en el adulto, la expresión persiste en los tejidos regenerativos de ovarios y testículos. Ésta vía se ha asociado con los procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular en casi todos los estadios de desarrollo, en general la activación de Notch conduce a la supresión transcripcional de los genes específicos de linaje celular. Sus tres efectos principales son:

- El mantenimiento de las células madre o precursoras en un estadio diferenciado.
- Decidir el destino celular
- Influencia en la diferenciación y la progresión del ciclo celular.

El dominio extracelular de Notch contiene un número variable de repeticiones que además de atravesar la membrana celular son importantes para el ligando se una al receptor y active la vía, una vez formado el complejo ligando-receptor, se produce un cambio estructural que favorece la activación y liberación del dominio intracelular del receptor Notch liberado en el citoplasma y activa la molécula efectora CSI, ésta interactúa físicamente con Notch y media la transducción de señal del citoplasma al núcleo, donde el complejo se une a secuencias de ADN específicas cuya función es regular la expresión de genes blanco como Hairy para un efecto final de represión de la transcripción de los genes lo cual funciona como regulador negativo en la expresión de linaje celular. El dominio intracelular contiene una región que favorece las interacciones proteína-proteína, necesarias para continuar con la transmisión del mensaje. Las proteínas Notch no tienen actividad enzimática, transmite las señales a través de interacciones moleculares directas. Notch 1,2 y 3 en mamíferos, contiene señales de localización nuclear y secuenciadas OPA que constituyen un dominio en glutamina, con función de transactivador de la transcripción; tiene también el dominio RAM, el cual se une a los efectores o potencializadores de la actividad de la vía.²⁶

La vía de señalización Notch es un regulador de la auto renovación de las células madre hematopoyéticas por inhibición de la diferenciación; tiene un papel primordial en la diferenciación de la epidermis pues estimula la expresión de los marcadores para la proliferación de queratinocitos. Notch 1 presenta patrones de expresión en estirpes celulares no diferenciados y proliferativos del desarrollo de órganos como cerebro, ojos y el tubo neural, se expresa además en tejidos en el epitelio estratificado de la epidermis y en capas suprabasales intermedias de la mucosa de la cavidad bucal, esófago y vagina; Notch 2 tiene un papel en la morfogénesis dental; Notch 3 está

implicado en la neurogénesis, adipogénesis y Notch 4 participa en el desarrollo vascular, renal y hepático.

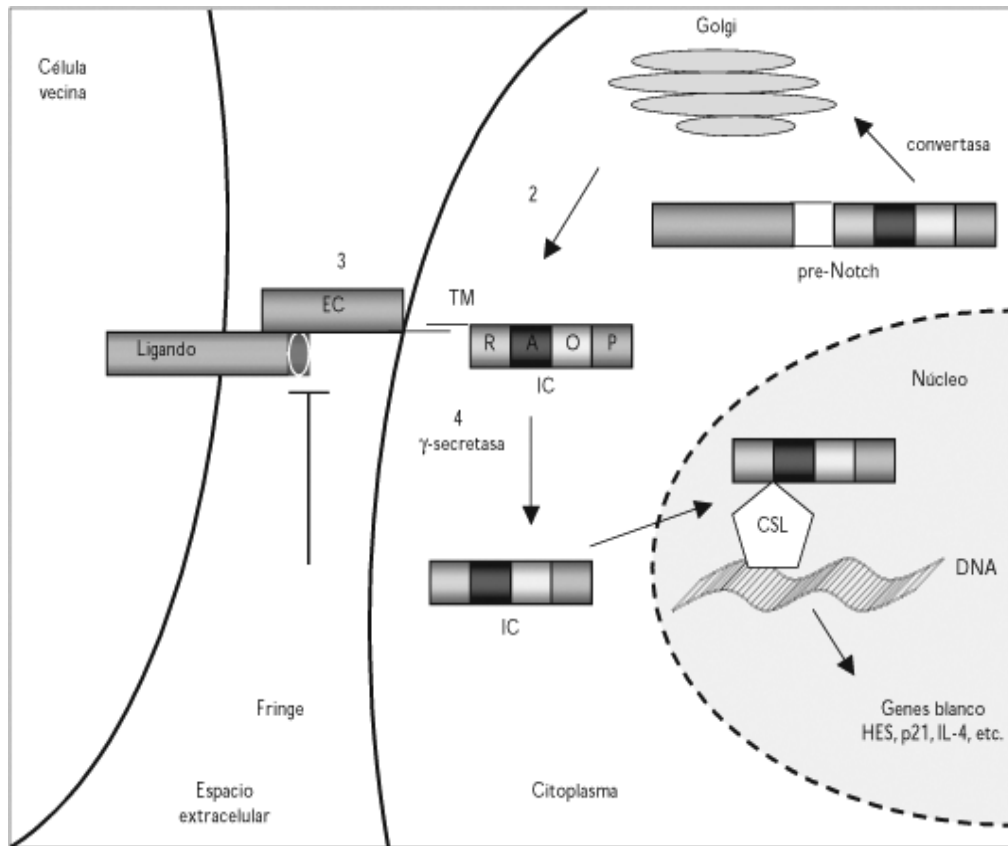


Fig7 Vía de señalización Notch²⁶

4.3.6 Potencial de diferenciación

Se le conoce como la capacidad de una célula para diferenciarse en múltiples linajes; es el potencial para modificar el fenotipo de la célula de origen en distintos tipos celulares al tejido de origen y al menos en un tipo celular diferente al tejido de origen.

4.3.7 Moléculas asociadas a la diferenciación

Durante el proceso de diferenciación de las células madre se activan factores de transcripción que van a realizar interacciones con otros factores derivados de las células del nicho, así como hay factores que son capaces de controlar la auto-renovación también pueden controlar la diferenciación celular. Existen moléculas que participan en este proceso.

4.3.7.1 Molécula SCI-Tal-1

Factores encargados en la formación de todos los linajes celulares de la hematopoyesis.²⁵

4.3.7.2 HOXB4

Miembros de la familia de genes homeobox hox, fueron los primeros implicados en la regulación de la especificación de linaje y el desarrollo de las células madre en varios tejidos incluyendo el sistema hematopoyético. El factor de transcripción HOXB4 es el que más se ha estudiado, sus niveles de expresión se encuentran elevados en células de médula ósea que contienen gran cantidad de células iniciadoras de cultivo a largo plazo. Participa en la diferenciación de los linajes eritroide y granulocítico. Un descenso de los niveles de HOXB4 inhibe la formación de colonias de crecimiento para éstos linajes.²⁵

El nicho es un mecanismo mediante el cual se regula la división y la diferenciación celular. Cuando un linaje prevalece las células madre se dividen y una de las células hijas mantiene la conexión con el nicho, mientras que la otra llega sola y comienza a diferenciarse; cuando prevalece el mecanismo de una población la división puede ser simétrica o asimétrica según lo determinen los factores locales y la matriz extracelular del nicho. Las células madre aparecen cuando el nicho adquiere la capacidad de preservar y controlar las células indiferenciadas. El nicho posee propiedades reguladoras y vías de señalización importantes para definir el destino celular.

Estos nichos se pueden encontrar en diferentes tejidos específicos en donde las células madre son reconocidas por marcadores dependiendo del linaje. Cada una de estas células, es localizada por vías de señalización intramolecular por medio de dos mecanismos:

Un linaje específico, en donde hay divisiones de células madre específicas, y orienta su división para asegurar que su célula hija herede sus características y se fije al microambiente.

Al continuar la división celular una nueva célula hija adquiere información sobre su herencia y se relocaliza, para poder diferenciarse.

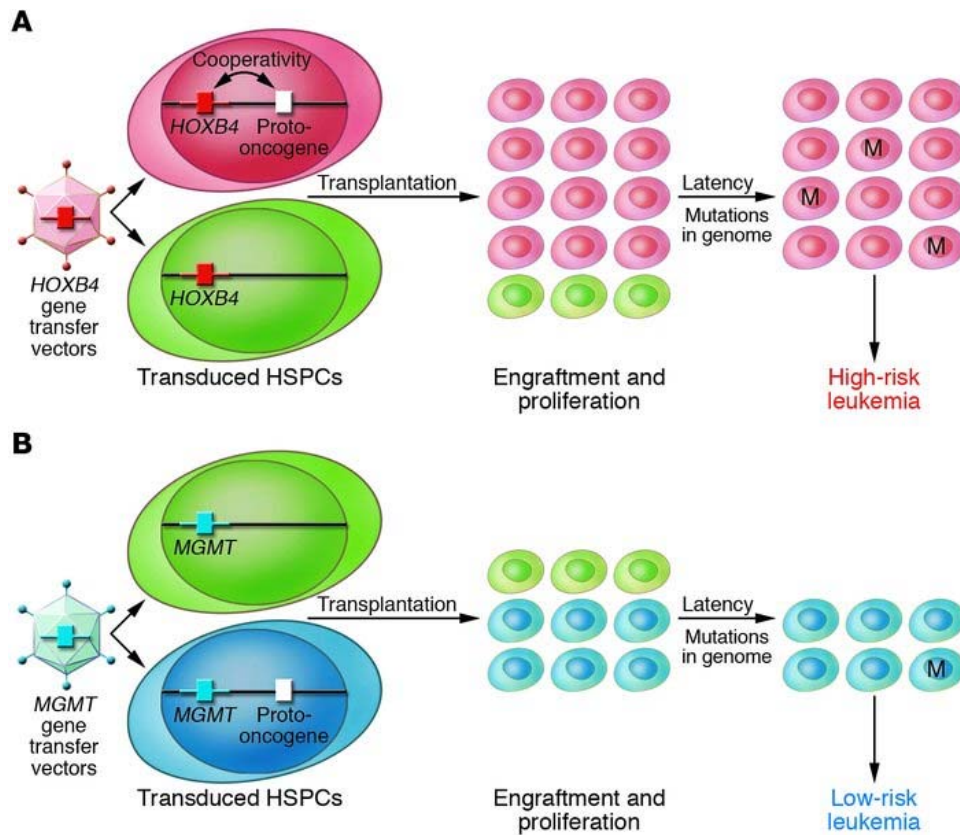


Fig8 Genes HOXB4²⁷

4.3.8 Señales externas e internas de las células

Son múltiples mecanismos de retroalimentación y de interacciones recíprocas entre células, dentro del nicho que ocupan en el organismo, son mensajes del exterior que ponen en marcha una serie de factores de transcripción para activar los genes, cuyos productos ejercen una serie de efectos de activación e inhibición de diferenciación celular.²⁸

4.3.8.1 Controles intrínsecos

Son los relojes internos que de alguna manera les indican a las células el número de veces que deben dividirse antes de diferenciarse totalmente; para

esto se ayudan de proteínas motoras e inhibitoras del ciclo celular que van acortando la longitud del telómero conforme la célula se especializa.

4.3.8.2 Controles extrínsecos

Un complejo juego de señales de corto y largo alcance entre células madre, sus hijas y las células vecinas. En muchos casos la señal externa que llega al receptor de membrana se remite al interior mediante una cascada de reacciones bioquímicas con abundantes fosforilaciones y desfosforilaciones de proteínas, para originarse una orden para activar o desactivar grupos de genes que participan en los procesos de auto renovación y diferenciación celular. Éstos controles externos funcionan en medio de factores secretados como las citoquinas que dirigen la maduración, proliferación y diferenciación a los linajes mieloides y linfoides; también sirven de las interacciones célula-célula a través de proteínas integrales de membrana y de interacciones célula-matriz extracelular del tejido, por medio de receptores de membrana.²⁸

4.3.9 Marcadores

Una célula madre se puede encontrar en la circulación de la sangre, además que morfológicamente son indiferenciadas; proporcionando los marcadores una forma más sencilla de investigación para la detección de las mismas. Los tipos de marcadores son específicos de cada célula y se encuentran en la superficie celular.

Los marcadores, in vivo codifican proteínas especializadas que actúan como receptores y tienen la capacidad de señalización o adhesión. Hay diversos marcadores ya que difieren en estructura y afinidad, normalmente las células usan los receptores como vía de señalización con otras células y responden a señales extrínsecas y éstos receptores actúan como marcadores. Para identificar los marcadores de la célula madre se usan

nombres cortos basados en moléculas que están unidas a los receptores de la superficie celular y para identificar un tipo de célula se utiliza la combinación de varios marcadores celulares que pueden ser positivos y negativos.²⁹

4.3.9.1 CD34

Side Population, éste es expresado en la pregastrulación del embrión, además es un receptor de la célula madre. Es una proteína de peso molecular entre 110 y 120 kilodalton con una región amino terminal extracelular que contiene un dominio proximal de 66 aminoácidos conformado por seis residuos de cisteína en forma globular. Éste marcador se expresa en células madre hematopoyéticas y en células endoteliales de vasos pequeños y en fibroblastos embrionarios. El antígeno CD34 es codificado por un gen ubicado en el cromosoma 1q32, región que contiene varios genes codificadores para moléculas de adhesión celular.

Se ha establecido que juega un papel en la adhesión intercelular y en la adhesión de célula-matriz extracelular, induciendo la polimerización de actina, el Cd34 está implicado en la regulación y mantenimiento de la actividad hematopoyética gracias a la inhibición de la proliferación de células progenitoras.

La expresión del antígeno CD34 se expresa sólo entre el 1 y 4% de las células nucleadas presentes en la médula ósea humana de individuos sanos. Las células CD34+ purificadas son capaces de reconstituir la hematopoyesis multilineaje y además presentan un potencial de implantación lo que asegura el éxito en injertos autólogos.^{25,29}

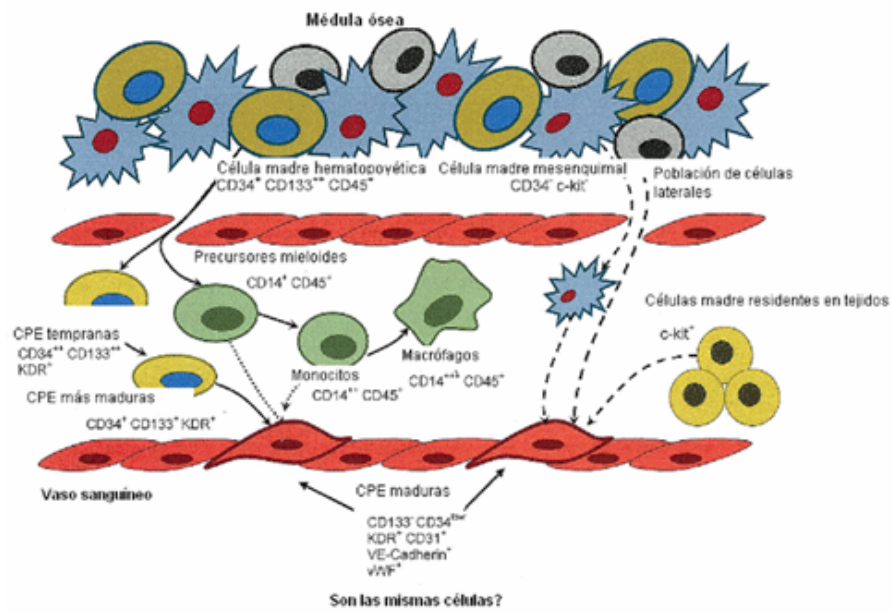


Fig9 Antígeno CD34³⁰

4.3.10 Técnicas para la señalización de marcadores específicos

Son técnicas que se basan en detectar el marcador específico.

4.3.10.1 Técnica (FACS)

Técnica que detecta el marcador por medio de un componente fluorescente que es activado en presencia de un haz de luz ultra violeta. FACS (fluorescent activate cells sorting), ésta utiliza un instrumento que permite la suspensión de miles de células marcadas en donde se hacen pasar por una aguja pequeña célula por célula; luego son atravesadas por una luz láser que excita las moléculas fluorescentes, unidas a los marcadores específicos, produciendo una señal eléctrica que es procesada

por un software generando una grafica en donde se identifica la población de células detectadas dependiendo de su carga eléctrica.

4.3.10.2 Técnica (PCR)

Técnica que realiza la identificación de genes y factores de transcripción, por medio de una reacción en cadena de polimerasa que detecta la presencia de genes activos y juegan un papel en la especialización de la célula.

4.3.10.3 Técnica de fluorescencia no dependiente de marcadores de superficie

Ésta técnica permite ver el camino de la célula madre a una célula diferenciada o especializada; ésta técnica consiste en insertar un gen llamado “reportero” (GFP) 2 o proteína fluorescente verde. Éste gen sólo es activado cuando las células son indiferenciadas y comienzan a especializarse, al ser activado éste gen emite un color verde.²⁹

5. CÉLULAS MADRE EN LA CAVIDAD BUCAL

Su uso en odontología fue objeto de estudios avanzados. En la actualidad se busca células no diferenciadas capaces de generar tejidos mineralizados, incluso aunque no haya un proceso en la manipulación y utilización de estos elementos fuera de los centros de investigación. Aunque se han hecho muchos experimentos en ratones donde se ha conseguido la formación de elementos dentales, a través del desarrollo de células madre adultas obtenidas de la pulpa dental. Existen indicios de que, una vez obtenido el germen dentario, éste pueda ser implementado en el organismo; por tanto, se trata de un cuerpo orgánico que se desarrolla y erupciona en el sitio empleado. El próximo organismo tendrá intervención, a través de un

mecanismo biointeractivo con la matriz originaria de las células madre, en la formación con la matriz orgánica de las células madre, en la formación del elemento dentario más próximo a la necesidad funcional en ese lugar.³¹

Se han identificado 5 grupos de células madre en la cavidad bucal, de tejidos específicos como: pulpa en dientes temporales y permanentes, ligamento periodontal, papila radicular y folículo dental

Las células madre de la pulpa dental de los dientes deciduos y dientes permanentes así como el ligamento periodontal son más proliferativos que la célula madre de la médula ósea. El Dr. Songtao Shi, ha creado suficiente raíz y estructura del ligamento periodontal para apoyar la restauración de la corona en un modelo animal. La restauración resultante de un diente se asemejó al diente original en su funcionalidad y fortaleza. La técnica se basa en obtener células madre de la papila apical de la raíz, que es responsable del desarrollo de la raíz de los dientes y de ligamento periodontal.

Los trabajos que se han publicado de la pulpa de los dientes temporales y permanentes pueden ser usados para generar dentina y hueso alveolar, mientras que los presentes en el diente en la etapa de brote de la corona dental formada por esmalte, dentina y tejido pulpar, con una correcta anatomía. Embriológicamente los dientes son órganos del ectodermo, se forman de las interacciones entre las células epiteliales y de la cresta neural derivados de las células mesenquimales.³²

Varias poblaciones de células madre se han aislado de diferentes partes del diente (células de la pulpa de dientes exfoliados (niños) y adultos, el ligamento periodontal que une la raíz del diente con el hueso desde la punta de desarrollo de las raíces y tejidos (folículo dental) que rodea al diente no erupcionado), y de los derivados de la cresta neural.

Las células del esmalte es el tejido mas altamente mineralizado y cuando está totalmente maduro contiene 4% de materia orgánica. La unidad básica estructural del esmalte es el prisma del esmalte. Estas barreras son secretadas por derivados de ameloblastos epiteliales.

A diferencia del esmalte la superficie interna es la dentina recubierta por odontoblastos que secretan una matriz y proporcionan un nivel de formación de dentina terciaria que reacciona durante toda la vida, estos odontoblastos de derivan de células madre de la pulpa (DPSC).

La ingeniería de dientes en su conjunto mantiene una dependencia absoluta de células madre autólogas debido a una falta de comprensión de la señalización que se requieren para la especificación de la forma, la interfaz del tejido y de la erupción. La regeneración completa del diente se complica más, con el hecho de que el crecimiento se desea en un sitio donde un diente ya no existe.

Se han desarrollado estrategias que no involucran a las células madre para la regeneración y la reparación de los tejidos dentales solo como la pulpa, dentina, cemento y esmalte. Se hacen esfuerzos para generar órganos e interfaces funcionales entre los tejidos dentales.

Los tejidos dentales son clínicamente más accesibles en la práctica clínica, como la extracción del diente, posiblemente proporcionando una fuente disponible de células madre. Estas células pueden ser una fuente ideal y disponible de células madre, sin embargo poco se sabe de sus características, además se presenta una complicación para identificar un vástago dental de células específicas que permita la selección de una población pura de células dentales.³³

La constitución celular del tejido conectivo gingival y el hueso alveolar son fibroblastos, macrófagos, mastocitos, osteoblastos, cementoblastos, osteoclastos y odontoclastos, una variedad de células inflamatorias y las células que forman los canales vasculares y los nervios.

5.1 Células de la pulpa (DPSC)

Las células madre mesenquimales de la pulpa dental penetra en el esmalte, dentina y la pulpa estimula un proceso limitado de reparación por lo cual se forman odontoblastos que producen dentina nueva.³²

Estas células DPSC fueron aisladas de los terceros molares, exhibieron una alta proliferación de células y formación de nódulos calcificados, además de la capacidad de diferenciarse en otras células mesenquimales.

Cada vez hay más evidencia que la regeneración del cemento es fundamental para el establecimiento de células del ligamento periodontal funcional, por ejemplo el cemento infectado con endotoxinas bacterianas o una inadecuada formación, debido a trastornos metabólicos no permite una adecuada inserción del ligamento periodontal en la raíz del diente. Las células DPSC tienen la capacidad de diferenciarse en células como odontoblastos, fibroblastos pulpaes, adipocitos. Presentan un potencial para la regeneración de la dentina y la reparación de dientes, aunque presenta una limitada comprensión de mecanismos moleculares que afectan para la capacidad de ocuparlos para la ingeniería de tejidos en clínica.

Con el descubrimiento de esta población DPSC, puede ser posible la regeneración de odontoblastos, capaces de regenerar dentina cariada. El control de odontoblastos y su diferenciación se ha demostrado que puede ser regulado por proteínas morfogenéticas y glicoproteínas.

5.1.1 Células en pulpa de dientes temporales (SHED CELLS)

Songtao Shi, del Instituto Dental de Investigaciones Craneofaciales de Bethesda, en sus experimentos iniciales utilizó un diente de su hija: “Una vez que se le cayó comenzamos a mirarlo y al observar en este tejido rojo, lo extrajo, examinó en laboratorio, de allí logró extraer células madre vivas. Aisló células madre adultas en dientes temporales de niños de 7 u 8 años de edad. Previamente había aislado células madre en dientes permanentes y amplió el estudio a los deciduos.”³³



Fig10 Células madre en dientes deciduos exfoliados³⁴

Los dientes deciduos y permanentes tienen importantes diferencias en cuanto a función, proceso de desarrollo y estructura tisular, al comparar las SHED con las DPSC, se encontró una mayor velocidad de proliferación y mayor capacidad de especialización: Estas células fueron denominadas SHED (células madre de dientes humanos deciduos exfoliados).

Un revelador ejemplo es el de la existencia, hasta ahora ignorada, de células epiteliales en la pulpa de estos dientes. Aisladas de manera exitosa

(Hyun Nam, Gene Lee 2009), se estudia la posibilidad de que jueguen un papel importante en la composición epitelial para la reparación o regeneración del diente, ya que sus características morfológicas se correspondían con el fenotipo de células madre epiteliales, pudiendo llegar a expresar marcadores epiteliales.³⁵

Las células madre, se sometieron a factores tisulares de crecimiento diferenciado en cultivos logrando la diferenciación en células nerviosas, adipocitos y odontogénicas, identificadas en clínica e inmunofenotípicamente.

Se ha probado el potencial de las SHED para diferenciarse en células angiogénicas, cuya capacidad de inducción se considera fundamental para cualquier tipo de regeneración con tejido conjuntivo. Es necesario el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) para que las SHED se diferencien hacia células endoteliales.³⁶

Se ha comprobado que su capacidad osteoinductora, pueden reparar la formación ósea. Así, los dientes deciduos no solo favorecerían la guía eruptiva de los dientes permanentes, también pueden estar involucrados en la inducción ósea durante la erupción del permanente.³⁷

5.1.2 Células en pulpa de dientes permanentes (DPSCs)

Fueron las primeras células madre dentarias que se aislaron (Gronthos 2000). Por analogía con las células madre de la médula, se consideró que había una comunidad de células multipotenciales en el tejido pulpar de dientes maduros. En otros estudios se les empezó a relacionar con características endoteliales y vasculares, pero no ha sido hasta años después cuando se aislaron y determinaron sus características.

El origen y localización exacta de estas células sigue siendo incierto. La producción de DPSC es muy pequeña (1 por 100 de todas las células) y según aumenta la edad del individuo, la disponibilidad de esta célula se ve reducida. De cara a un uso terapéutico ha de tenerse en cuenta su interacción con biomateriales. Las células madre de la pulpa dental (DPSCCs) pueden resolver estas cuestiones; el acceso al lugar donde se encuentran estas células es fácil y de escasa morbilidad, su extracción es altamente eficiente, tienen una gran capacidad de diferenciación, y su demostrada interacción con biomateriales las hace ideales para la regeneración tisular.

La principal fuente de células madre adultas de dientes permanentes son los terceros molares, extraíbles entre los 19 y 29 años de edad. Estas células madre tienen la ventaja de ser autógenas y de baja inmunogenicidad. Las DPSCs, incluso pueden experimentar adipogénesis, a pesar de que en la pulpa dental estos elementos tisulares no se presentan.

La capacidad de diferenciación de las DPSC quedó demostrada en estudios experimentales en ratas, donde se pudo experimentar su potencial terapéutico para la reparación de un infarto de miocardio inducido tras ligadura de las arterias coronarias. Siete días después estas células fueron inyectadas intramiocárdicamente en animales y a las 4 semanas, las ratas sometidas a este tratamiento celular mostraron una mejora en su función cardíaca.

Con las mismas capacidades que las células DPSC, se puede hablar de un subtipo: las DPSC procedentes de dientes neonatales, las hNDPSC (human Natal Dental Pulp Sem Cells), que ofrecían una mayor capacidad de proliferación que las propias células de la médula ósea, aunque sin grandes diferencias.

Las SBP-DPSCs, son otra subpoblación de DPSCs capaces de diferenciarse hacia osteoblastos, sintetizando chips de tejido óseo tridimensionales in vitro que se pueden diferenciar en osteoblastos y en endotelioцитos. Su asombrosa capacidad de diferenciación les permite dar lugar in vivo a hueso adulto con canales de Havers y la apropiada vascularización.³⁸

5.2 Células del ligamento periodontal (PDL)

Las células del ligamento periodontal es un tejido conectivo fibroso que tiene células especializadas entre el cemento y la pared interior del hueso alveolar que son las que actúan como amortiguador, que identificó en estas células (PDLSC) son capaces de producir cementoblastos, adipocitos y tejido conectivo rico en colágeno tipo 1.

Son fundamentales en la señalización y la remodelación de los mecanismos responsables del mantenimiento de la enfermedad periodontal y la integridad de los tejidos: estas células pueden servir de almacén de minerales que forman cementoblastos u osteoblastos asociados a la formación de hueso.

Se ha postulado que las células pueden diferenciarse en osteoblastos, como las células durante la regeneración periodontal y pueden contribuir a la formación de hueso alveolar, debido a su probado potencial de diferenciación osteogénico. Para su cosecha de estas células se necesita de la extracción del diente.

Pueden ser capaces del crecimiento hacia la prevención de la célula epitelial y la reabsorción radicular, además producir un patrón en la cicatrización periodontal compuesta por la adaptación del tejido conectivo. La combinación de las células del ligamento periodontal y las DPSC han

demostrado que presentan un mayor potencial de crecimiento que las células estromales de la médula ósea.

Los fibroblastos del ligamento periodontal juegan un papel importante en la amplificación de las señales inflamatorias, es probable que los procesos destructivos asociados a la periodontitis sea debido a la patología de los cambios de estas células. Se ha demostrado diferencias en la expresión génica en comparación con los fibroblastos gingivales y los osteoblastos.

Pueden servir de almacén de minerales que forman cementoblastos u osteoblastos formadores de hueso. En la regeneración periodontal son capaces del crecimiento de la célula epitelial y la reabsorción radicular y producir un patrón de cicatrización periodontal, compuesta por la adaptación del tejido conectivo caracterizada por haces de colágeno paralelos que descansan sobre la raíz.

Los análisis in vivo con PDLSC realizados en ratones inmunocomprometidos, sugirieron la participación de estas células en la regeneración de hueso alveolar al propiciar la formación de una fina capa de tejido muy similar al cemento, que además de contar entre sus componentes con fibras de colágenas, se asociaron íntimamente al hueso alveolar próximo al periodonto regenerado.

Las fibras colágenas generadas in vivo en humanos, fueron capaces de unirse con la nueva estructura formada por cemento, imitando así la unión fisiológica de las fibras de Sharpey. De estos estudios y análisis se podría decir que las PDLSC podrían contener un subgrupo de células capaces de diferenciarse hacia cementoblastos / cementocitos así como hacia células formadoras de colágeno.

Una prometedora investigación con PDLSCs es la que se vincula con la hipoplasia congénita radicular, una enfermedad caracterizada por ser un desorden evolutivo fisiológico de la raíz que cursa con displasia ectodérmica, movilidad dentaria, anatomía masticatoria y exfoliación prematura.

Se sabe que el gen ADAM28 se expresa en el germen dentario, las células de la papila dental y las células del folículo dental, y se supuso que estaría involucrado en el proceso morfogénico tanto de la corona como de la raíz. Se estudio la influencia en la proliferación, apoptosis y diferenciación de las PDLSCs en terceros molares impactados.

5.3 Células de la papila radicular (SCAP)

Se encuentran en las puntas de las raíces de los dientes en crecimiento. El tejido de la papila apical solo está presente durante el desarrollo de las raíces, antes de la erupción del diente, pueden diferenciarse en odontoblastos y adipocitos.³⁹

Estas células pueden ser utilizadas para crear una raíz biológica que puede ser utilizada como un implante de metal con un recubrimiento de una corona artificial. Las raíces se desarrollan después del nacimiento, la papila apical de la raíz se puede acceder en la práctica dental en la extracción de los terceros molares.

5.4 Células del folículo dental

El folículo dental se deriva del ectomesenquima derivado del saco de tejido conectivo que rodea al esmalte y la papila dental del germen dental en desarrollo antes de la erupción. Se cree que pueden dar células como cementoblastos, ligamento periodontal y osteoblastos.

El reto para estas células es la consideración para la regeneración de tejidos del diente dañados como dentina, ligamento periodontal y pulpa; además de un periodonto funcional.

Un enfoque de regeneración periodontal humano (HPDL) consiste en ingeniería de células en hojas para facilitar las células del ligamento periodontal aislado de terceros molares cultivados en poli(nisopropylacryamida).

In vitro, estas células muestran una morfología típica de fibroblastos. Después de inducción, se ha mostrado diferenciación osteogénica. In vivo se ha identificado el antígeno STRO-1 en los folículos dentales. El trasplante de estas células genera una estructura constituida de tejido fibroso rígido. No se ha observado ni dentina, ni cemento, ni formación ósea en el trasplante in vivo. Distintos autores han explicado la posibilidad de que sea debido al residuo recuento celular en los cultivos.⁴⁰

5.5 Banco de células madre

Los avances médicos para el tratamiento de enfermedades usando células madre aún están siendo descubiertos aunque falta mucho por estudiar. Mientras que las células madre se pueden encontrar en la mayoría de los tejidos, estas están usualmente incluidas, son pocas en número y son similares en apariencia a las células circundantes. Hasta hace poco, recolectar células madre de la sangre del cordón umbilical, era la única opción de almacenamiento contra futuras enfermedades o lesiones.

En 2003 el doctor Songtao Shi documentó que los dientes deciduos son una fuente accesible y disponible de células madre la cual puede ser fácilmente conservada y utilizada para futuras curas de enfermedades. Las SHED son células inmaduras e inespecializadas en el diente que son

capaces de crecer y especializarse mediante un proceso conocido como “diferenciación”. Aparecen en la 6ta semana de desarrollo embrionario. Además se multiplican y crecen más rápidamente, lo que sugiere que están menos maduras, así que tienen el potencial de convertirse en una gran variedad de tejidos.

Shi S (2005) realizó un estudio de células madre en la pulpa de dientes permanentes (DPSC), dientes temporales (SHED) y de ligamento periodontal (PDLSC) por su capacidad de generar y clonar grupos de células en cultivo. Ex vivo las poblaciones de DPSC, SHED y PDLSC expresaron una heterogénea variedad de marcadores asociados con células madre mesenquimatosas, dentina, hueso, musculo liso, tejido neural y endotelio.

Llegaron a la conclusión de que la presencia de distintas poblaciones de células madre asociadas con las estructuras dentales tenía el potencial de regenerar tejidos humanos dentales in vivo.

Hasta la fecha las investigaciones se limitan principalmente a los modelos de animales y todavía los ensayos en humanos son necesarios para documentar los mismos resultados. Otra cuestión principal a considerar es la dificultad para identificar, aislar, purificar y cultivar estas células en laboratorio debido a que estas células se requieren en grandes números para ser usadas terapéuticamente. El rechazo inmunológico es un tema que requiere una consideración cuidadosa. Por último estas son comparativamente menos potentes que las células madre de embriones.

Dependiendo el caso las SHED pueden ser utilizadas para su familia inmediata y parientes consanguíneas. Es por esto que la clave de la terapia con células madre recae sobre la posibilidad de cultivar estas células en el

punto exacto de su desarrollo guardarlas con seguridad hasta que un accidente o enfermedad requieran su uso.

Lo cual requiere que su almacenamiento puede ser por décadas y el costo y dificultades técnicas de hacer esto correctamente hace que la terapia con células madre sean una apuesta incierta. Hasta la fecha el almacenamiento de dientes no es muy popular pero esta tendencia está ganando terreno.

En los EE.UU, BioEden (Austin, Texas), tienen laboratorios internacionales, en el Reino Unido (al servicio de Europa) y Tailandia (que sirve al Sureste de Asia), con planes de expansión de Rusia.

5.6 Recolección y aislamiento

El diente deciduo deberá tener pulpa de color rojo, indicando que la pulpa recibió sangre hasta el momento que fue removido, si la pulpa presenta color gris, es probable que las células madre se encuentren necróticas y la obtención de las mismas ya no sea viable. Un diente con movilidad ya sea por trauma o por enfermedad a menudo presentan un suministro de sangre limitado y no son candidatos para la recolección de células.

Es preferible que la recolección de células madre de dientes deciduos después de una extracción que sea cuando el diente este con movilidad clase 3. Las células madre de la pulpa no deben de ser recolectas de dientes con abscesos apicales, tumores o quistes.

El dentista debe de inspeccionar y visualizar el diente recién extraído para confirmar la presencia de tejido pulpar sano y después el diente será transferido a un contenedor con una solución salina de fosfato hipotónico, el

cual le va a proveer de nutrientes y ayuda a prevenir que el tejido se seque durante su transporte. Se coloca el diente con solución en un termo a temperatura baja la cual induce hipotermia. Este procedimiento se describe como sustentación.

La viabilidad de las células madre requiere de tiempo y temperatura y se requiere la atención cuidadosa para que la muestra siga viable. El tiempo entre la recolección de las células y su llegada a la instalación de almacenamiento no debe de exceder de 40 hrs.⁴¹

Cuando se recibe la muestra se sigue el siguiente protocolo:

- La superficie dental se limpia y se lava 3 veces con solución salina fosfatada de dubecco sin Ca. Ni Mg. (PBSA)
- La desinfección se realiza con Yodo y lavada nuevamente con PBSA
- Se aísla el tejido de la cámara pulpar con pequeños fórceps y con excavador estériles. Las células madre pueden ser lavadas con solución salina

El tejido pulpar contaminado es colocado dentro de una caja de petri estéril, el cual fue lavado 3 veces con PBSA. El tejido es procesado con colágeno tipo I y disipada por una hora a 37°C. También puede ser utilizado Trypsin-EDTA.

Las células aisladas se pasan a través de un filtro para obtener células simples en una suspensión.

Después son cultivadas en un medio de células madre mesenquimatosas (MSC). Este medio consiste en células esenciales con 2mM de glutamina y es suplementado con 15% de suero bovino fetal (FBS), 0.1Mm de ácido L

ascórbico fosfatada, 100u/ml de penicilina y 100ug/ml de estreptomina a 37°C y 5% de CO₂ en aire. Se puede obtener diferentes líneas celulares, como células odontogénicas, células adipogénicas y células neuronales haciendo cambios en las MSC.⁴¹

Hasta el momento existen dos formas de almacenamiento. La primera es la criopreservación, que es el proceso de preservación de células o tejidos enteros por enfriamiento a temperatura bajo 0. Con esta temperatura la actividad biológica se detiene, como en todos los procesos celulares que conducen a la célula a la muerte. La muestra se divide en cuatro crio-tubos y cada parte se almacena en un lugar separado en el sistema de criogenia de modo que en el caso improbable de que surja un problema con las unidades de almacenamiento, habrá otra muestra disponible para su uso.

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

El segundo método de almacenamiento es la congelación magnética. Esta tecnología es llamada CAS y explota el fenómeno poco conocido en el campo magnético débil de agua en los tejidos o células bajara el punto de congelación de ese órgano hasta 06.07°C. La idea es enfriar completamente el objeto a temperaturas bajo cero sin congelarse en el momento, por lo tanto garantiza, la temperatura baja distribuida sin que la pared celular tenga daños causados por la expansión de hielo, ni drenaje de nutrientes debido a la acción de capilaridad.

Una vez que el objeto esta uniformemente frio, el campo magnético se apaga y el objeto se congela al momento. La compañía de la universidad de Hiroshima es la primera expresión de esta tecnología. Usando este método la universidad de Hiroshima afirma que se puede incrementar la supervivencia de las células de un diente hasta de un 83%.

6. APLICACIÓN DE LA INGENIERÍA TISULAR

6.1 Ingeniería tisular en odontología

En la actualidad se pueden encontrar en el mercado infinidad de materiales para lograr la funcionalidad y estética perdida por la ausencia de piezas dentales. Si se dieran dos opciones: Restaurar nuestros dientes con el mismo material del que fueron hechos o restaurar nuestros dientes con un material que se asemeje mucho, seguramente se elegiría la primera opción,

Estudios en la actualidad han comprobado reconstruir un diente y sus partes, no perfectamente su apariencia pero si en sus partes internas ya definidas; esto significa que en un futuro no lejano podremos tener dientes en las partes edéntulas de la boca sin necesidad del uso de prótesis removible, prótesis fija o implantes.¹³

La ingeniería tisular tiene un futuro prometedor dentro de las ciencias sanitarias. Se ha determinado por ejemplo, que para regenerar un diente entero, la fuente de las células tiene que corresponder a un germen dentario, donde se encuentra todo tipo de célula madre dentarias; sin embargo, para reparar parte del tejido dentario (dentina, pulpa, ligamento periodontal), aislado, podrían ser necesarios uno o dos tipos de células madre.⁴⁰

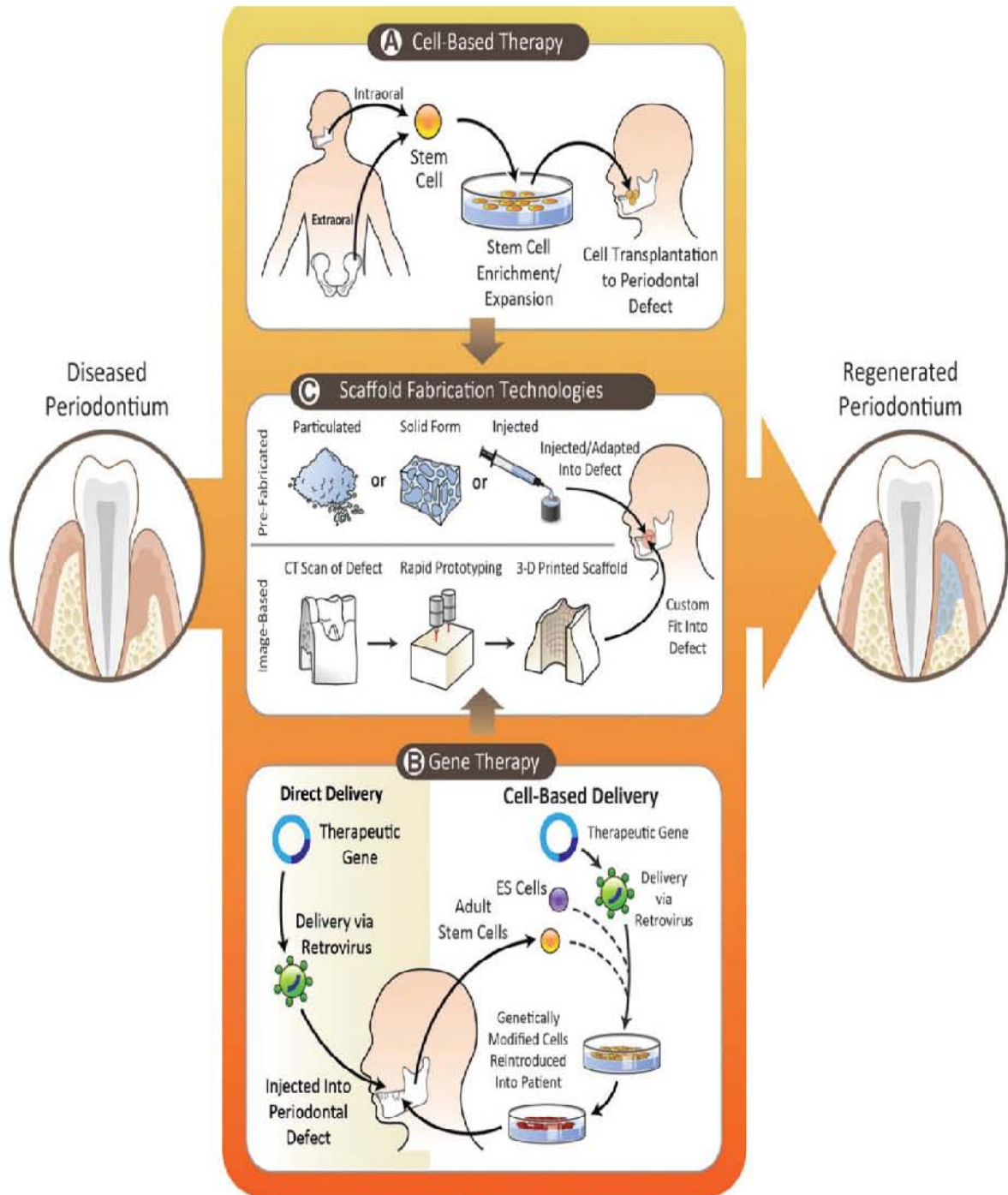


Fig11 Utilización de matrices de andamios para la ingeniería de tejidos periodontales⁴²

6.2 Regeneración de dientes

Algunos investigadores creen que, la odontología presenta uno de los desarrollos más promisorios en el área de la bioingeniería. Paul Sharpe en Londres, afirma que “El objetivo es, cuando uno va al consultorio del odontólogo, se le extraigan células y se les trate mediante ingeniería genética”. Después, las insertamos en el lugar donde se necesita un diente y se desarrolla uno nuevo. “La bioingeniería avanzó bastante en los últimos años así, surgió la posibilidad de crear órganos desde cero”.

Los dientes son un objeto atractivo para los bio ingenieros. No depende de los dientes que una persona permanezca o no con vida, como el hígado o el corazón, de modo que si un diente no creciera de manera correcta, el odontólogo simplemente debe extraerlo y comenzar de nuevo, algo mucho menos arriesgado que implantar un hígado creado por ingeniería genética y que éste deje de funcionar.

Existen innumerables motivos para creer que la regeneración de dientes es viable, según Mary MacDougall, directora de la universidad de Texas. Hace dos años Songtau Shi, descubrieron células capaces de convertirse en odontoblastos productores de dentina. Los investigadores usaron pulpa dental extraída de terceros molares de seres humanos, las dividieron con enzimas y procedieron a la incubación en solución de Petri. La mayor parte de las células murió, pero algunas continuaron creciendo y dividiéndose, una clara señal que se trataban de células madre.

Los investigadores calcularon que de los millones de células de una cámara de pulpa dental, cerca de 80 son células madre. El siguiente desafío era descubrir si se podría estimular a esas células para que se desarrollaran en forma de odontoblastos. El equipo de Shi mezcló las células madre de la

pulpa dental con hidroxapatita, la parte mineral de la dentina, y las implantó bajo la piel de ratones, para simular su posición normal debajo de las células epiteliales de la encía. Dos meses más tarde, algunas de las células se habían transformado en odontoblastos y habían comenzado a excretar dentina, con su reveladora estructura cristalina. Algunas habían formado una sustancia semejante a la pulpa, que contenía vasos sanguíneos y tejido nervioso.

En Londres, después de muchos años de trabajo con células madre embrionarias, Sharpe usa células madre adultas, aunque no revela cuales. Cultivó dientes en soluciones de cultivo y de no cultivo, en el interior de animales. Al descubrir las moléculas señalizadoras correctas, el hizo que diversos tipos de células madre de ratones adultos se desarrollaran como células progenitoras de dientes y como dientes inmaduros. Sharpe considera que el brote dentario en desarrollo atraerá sus propias conexiones nervosas y sanguíneas, desarrollará cemento y ligamentos propios. Según el odontólogo Humberto Cerruti Filho, la utilización de la investigación en odontología en relación con las células madre es, hoy escasa. Actualmente la célula madre puede ayudar en injertos óseos y en intentos de restauración de ligamento periodontal.³¹

6.3 Aplicación en rehabilitación oral

Una investigación del área odontológica, realizada por dos investigadores de la universidad federal paulista, en asociación del instituto Forsyth, se refiere al desarrollo de una tercera dentición mediante el uso de células madre adultas.

La investigación publicada en el periódico, Journal of dental Research, utilizó células madre adultas retiradas de la estructura dentaria de ratones

para desarrollar una tercera dentición. Las células de un animal donante fueron implantadas en otro individuo, lo que resultó de bajo riesgo el rechazo, contrariamente a las tentativas hechas con células embrionarias, en la etapa inicial de desarrollo.

Los investigadores retiraron células de gérmenes dentales que fueron cultivadas en laboratorio y después agregadas a matrices hechas de polímero biodegradable. Estas matrices fueron implementadas en el abdomen de los ratones, pues esta región es altamente vascularizada y permite nutrir al implante. Doce semanas después, la matriz había sido absorbida por el organismo y se habían transformado los dientes. El estudio podrá abrir un abanico de alternativas clínicas a la prótesis, pero contrasta con la precariedad de los recursos odontológicos disponibles para la población de bajo ingresos.³¹

6.4 SHED en el desarrollo de tejidos craneofaciales

Investigadores han descubierto que la pulpa de los dientes deciduos exfoliados contiene condrocitos, osteoblastos, adipocitos y células mesenquimatosas. Estos tipos de células tienen un enorme potencial para el tratamiento terapéutico de enfermedades degenerativas neuronales como Alzheimer, Parkinson; enfermedades periodontales o hasta desarrollar dientes y tejido óseo.⁴³

Aún queda por investigar en este tema, pero se ha demostrado que los dientes temporales son una mejor terapia de células madre que los terceros molares o los dientes extraídos. Este concepto ha llevado a la creación de bancos de células obtenidas a partir de dientes deciduos exfoliados.⁴¹

Estas células ya pueden ser usadas, para regenerar hueso y corregir defectos craneofaciales, ambos estudios *in vitro* e *in vivo* de modelos

animales han mostrado que células madre derivadas de dientes pueden ser usadas para generar raíces dentales con la presencia de los adecuados factores de crecimiento biológicamente compatible. La terapia regenerativa es menos invasiva que un implante quirúrgico y recientes estudios en animales sugieren resultados comparables en fuerza y función entre implantes biológicos y los implantes dentales tradicionales.

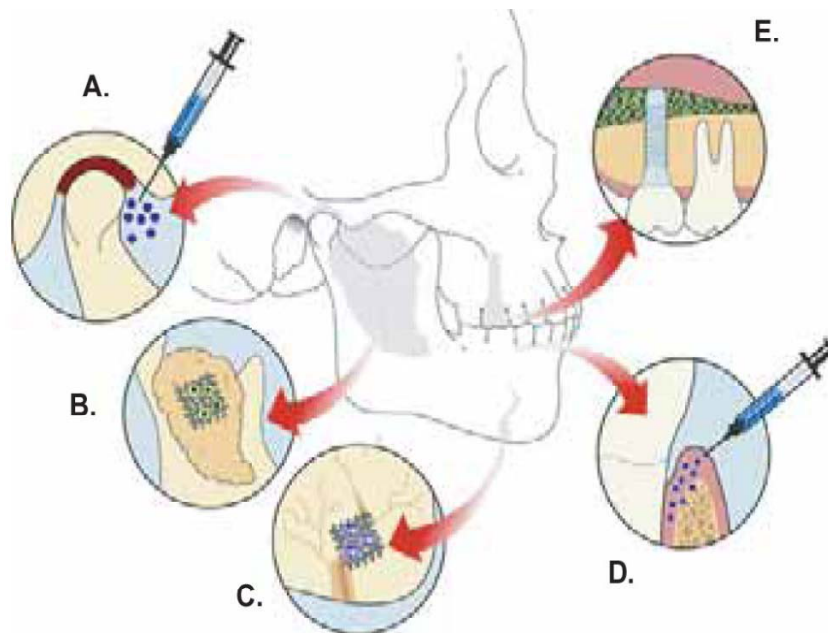


Fig12 Ejemplos de diferentes estrategias aplicadas a tejidos craneofaciales⁴⁴

Las Shed son capaces de proliferarse y diferenciarse, lo cual las hace un recurso importante de células madre para la regeneración y reparación de defectos craneofaciales. Las células madre de terceros molares liberan químicos que pueden permitir que los nervios restantes de una lesión sobrevivan. Futuros estudios investigaran si usando células madre

provenientes de dientes podrán ser usadas para generar neuronas después de algún daño a la medula espinal.⁴⁵

Los tejidos óseos para injertos han sido útiles para los practicantes en todas las especialidades dentales. Futuras aplicaciones podrían incluir defectos y suturas craneales.

Las terapias basadas en células madre están siendo investigadas para el tratamiento de muchas condiciones, incluyendo, diabetes y desordenes musculo-esquelético.

Actualmente hay pacientes que están siendo tratados en fracturas óseas, cáncer, trasplante de medula ósea. Estas nuevas terapias con este método están siendo tratadas bajo revisión. Existe un numero impresionante de desordenes degenerativos, por ende se requieren de nuevas alternativas para estos desordenes. Esta lista de enfermedades y condiciones actuales será tratada usando células madre incluyendo desordenes de células madre, leucemias agudas y crónicas, anomalías hereditarias de eritrocitos, anormalidades hereditarias en plaquetas, desordenes de células plasmáticas y tumores malignos.⁴¹

6.5 Aplicación en regeneración periodontal

Actualmente se ha demostrado que existe un nicho de células madre (procedentes de la cresta neural) a nivel del ligamento periodontal, ya que se han encontrado células madre con potenciales mesodérmicos y neurales. Estos resultados sugieren que el ligamento periodontal humano puede ser una fuente de células madre o progenitores multipotenciales con características de la cresta neural.

La existencia de células multipotenciales se utiliza para regenerar cemento y ligamento periodontal *in vivo*. Se demuestra una población de células madre postnatales, multipotenciales. Por tanto, a base de células madre del ligamento periodontal humano, se pueden regenerar tejidos para el tratamiento de enfermedades periodontales. Además se observan fibras colágenas muy parecidas a las fibras de Sharpey, conectándose a un tejido muy similar al cemento, sugiriendo los potenciales regenerativos de la unión periodontal. Es importante mencionar que esto se demuestra en defectos óseos pequeños. Por tanto, sería útil un estudio similar, en defectos de mayor tamaño, para evidenciar si efectivamente se pueden regenerar estos tejidos con estas células madre.

En los defectos óseos se coloca un andamiaje de colágeno (previamente plantados las células madre extraídas de la médula ósea). Las células madre procedentes de la médula ósea, antes de ser colocadas en las fenestraciones, se verifica si, tras la criopreservación, estaban alteradas demostrando que existe cierto cambio en la estructura superficial de las células, sin embargo, tras varios días de ser cultivadas, las capacidades de adhesión se recuperaron y no se comprobaron cambios, en comparación con células que no fueron criopreservadas, además se mantienen las habilidades osteogénicas de las células.

La regeneración ósea es algo imprescindible, especialmente en la actualidad, en donde la implantología es una práctica habitual. El empleo de células madre para la regeneración ósea es una opción válida y, por tanto, una alternativa. La aplicación clínica de células madre pulpares también fue utilizada para mejorar la regeneración ósea tras las extracciones de terceros molares impactados.

Generalmente, existe una pérdida de la cortical alveolar, dejando el área sin paredes y generando a largo plazo la extracción de los segundos molares. Como consecuencia, se colocan células madre pulpares (en matrices o andamios de colágeno) de los mismos terceros molares. En 7 días se comprueba cómo en el lado con la matriz de células madre existía mayor densidad ósea. En los 3 meses siguiente se demuestra una arquitectura adecuada, vascularizada y organizada.⁴⁶

En lugar de regenerar un diente completo, las células de la papila apical (SCAP) y las del ligamento (PDLSC) se han utilizado para generar una raíz biológica, junto con el tejido periodontal adyacente. En 3 meses se observa la formación de una raíz en la mandíbula que posteriormente se somete a la inserción de una corona de porcelana. El tejido periodontal rodeo a la raíz, y aparentemente tenía una relación natural y biológica con el hueso que lo rodeaba. Sin embargo, la fuerza mecánica que poseía esta raíz, era un tercio menor que aquellas raíces naturales, debido a la presencia de hidroxiapatita residual, ya que no se generó el mismo tipo de dentina que la formada en un diente natural.

Además se ha demostrado la capacidad de las DPSC para realizar una regeneración tisular en pacientes que presentan una reabsorción bilateral de la cresta alveolar distal al segundo molar mandibular (defecto de al menos 1.5cm), secundaria a la impactación del tercer molar en la lámina cortical del alveolo.

A partir de DPSC procedentes de los terceros molares superiores extraídos previamente y de un andamiaje a base de colágeno, se crea un biocomplejo que restaura los defectos mandibulares. La óptima regeneración ósea fue evidente tras un año del injerto. Resultados similares se obtiene con

las células (SHED) llegando a reparar el defecto óseo mandibular de manera completa a los 6 meses de la reconstrucción postquirúrgica

Existen marcadores celulares comunes (STRO-1), tanto para las células madre dentarias como para las procedentes de la médula ósea, y esto podría implicar un origen y camino molecular común para regular la formación de la dentina, el cemento y el hueso alveolar. El conocimiento del entorno y el comportamiento de estas células en él, están aún por estudiar.

6.5.1 Aplicación en mucosa oral

Se han cultivado células que constituyen la mucosa oral, los fibroblastos. Estas células se establecen en pequeñas biopsias extraídas con anestesia local y utilizadas en diferentes ensayos farmacológicos, genético y toxicológico así como para la ingeniería tisular. Se muestra una elevada tasa de proliferación y un rápido crecimiento en medios de cultivos exentos de factores de crecimiento.

En los cultivos de células epiteliales de la mucosa oral se demuestra un alto grado de proliferación de células a utilizar en la construcción de un modelo de mucosa oral artificial, utilizando un soporte estromal compuesto de fibrina. En relación con los soportes, diversos autores han destacado ciertos materiales como los geles de quitosán, agarosa, colágeno y fibrina, mostrando un nivel muy bajo de resistencia mecánica.

Se utilizó un soporte mixto compuesto por una mezcla de fibrina y de agarosa, la cual generó sustitutos dérmicos con elevados índices de consistencia. La utilización de fibrina tiene una ventaja adicional, ya que al proceder del plasma sanguíneo, incorpora numerosas citoquinas y factores

de crecimiento que facilitan la generación de un micromedioambiente que potencia la proliferación y el desarrollo de las células a utilizar. Demostrando que la mucosa oral obtenida presenta numerosas similitudes, en el epitelio y en el estroma, con la mucosa oral humana normal. Hay una progresiva formación y maduración del epitelio, uniones celulares, membrana basal y matriz extracelular.⁴⁷

6.5.2.1 Aplicación en ligamento periodontal

El objetivo último de la terapia de regeneración periodontal es restaurar previsiblemente tejidos periodontales como consecuencia de la enfermedad periodontal. La regeneración de estos tejidos tiene que ser programado, precisamente para establecer la función del periodonto y evitar la fusión del hueso circundante a la raíz del diente. Cada vez hay más evidencia de que la regeneración del cemento es fundamental para el establecimiento de una región PDL funcional. Por ejemplo, el cemento contaminado con endotoxinas bacterianas y / o falta de adecuada formación, debido a los trastornos metabólicos no permite la inserción de PDL en la raíz del diente

El evento clave para una regeneración periodontal es la formación de un nuevo complejo de ligamento periodontal y cemento, que ancla al diente en el alvéolo. Recientemente se ha intentado regenerar el aparato de inserción periodontal basado en una capa células. El uso de células trasplantadas que separado de su sustrato mediante un tratamiento con enzimas proteolíticas como la tripsina y / o dispasa.

Sin embargo, el desprendimiento con enzimas induce degradación de la matriz extracelular y de las uniones célula-célula. Por lo tanto, para evitar la degradación enzimática, una superficie de cultivo nuevo se inventó con el uso de poli (N-isopropylacrylamide; PIPAAm), que está completamente

hidratado en temperaturas de $<32^{\circ}\text{C}$, pero es ampliamente deshidratado y compactado a una temperatura de $32 \pm^{\circ}\text{C}$.

Esta capa celular continúa conservando una matriz extracelular intacta con funciones de las células normales. Ya que la ingeniería de células puede producir una hoja de capa funcional de células, los distintos tipos de capa celular trasplantados sin andamios se han realizado, con resultados promisorios. Estas células ya han sido probadas en ensayos clínicos como la reconstrucción de córnea; la mejora de la función ventricular izquierda en pacientes con miocardiopatía dilatada e isquémica. Estos resultados ofrecen la posibilidad de aplicar los principios de la ingeniería celular para la regeneración mediante una hoja de células de una amplia gama de tejidos y órganos. Estas células están comercialmente disponibles bajo el nombre de (CellSeed), (Tokio, Japón).

La regeneración periodontal con el uso de hojas de células de ligamento periodontal derivado de células humanas se han creado con éxito a una temperatura adecuada. Estas células vienen acompañadas de una abundante matriz extracelular, como colágeno tipo I, la integrina beta1 y fibronectina. Las hojas de células del ligamento periodontal han sido trasplantadas en un modelo de dehiscencia mesial en ratas. Formando las fibras inmaduras que oblicuamente están ancladas en superficies de la dentina 4 semanas después de la cirugía. Histológicamente se observa que la regeneración periodontal con la formación reciente de hueso alveolar, el cemento y la formación del ligamento periodontal se encuentra en los defectos.

Las capas de células humanas en hojas del ligamento periodontal construidos con gel de fibrina y trasplantadas, con un bloque de dentina humana, 6 semanas después del trasplante, las células-dentina en bloque construyen un nuevo cemento, las fibras de colágeno se insertan

perpendicularmente al recién formado cemento con una orientación que se asemeja a las fibras de Sharpey.

Las células cultivadas con diferenciación osteogénica podrían contribuir a la simultánea regeneración del cemento y el ligamento periodontal. Estos resultados sugieren que periodontalmente las células del ligamento tienen diferenciación múltiple, dándole capacidad de regenerarse los tejidos periodontales, que comprende los tejidos duros y blandos.⁴⁸

6.5.2.2 Células (HPDL)

Uno de los objetivos de la investigación actual es utilizar las diferentes poblaciones de células madre dentales para replicar los eventos clave en periodontal desarrollo temporal y espacialmente, de modo que la curación puede ocurrir de una manera secuencial para regenerar el periodonto.

La cuestión pendiente con estos métodos es el grado en que cualquier periodonto reconstituido puede mantener la integridad y la función durante la masticación durante largos períodos de tiempo.

Los tratamientos actuales para la periodontitis severa son pobres, sin embargo, a pesar de sus defectos, cualquier nuevo tratamiento dental con células madre tiende a ser objeto de intensa investigación clínica en el futuro cercano.

El objetivo final de la odontología es tener un método para reemplazar biológicamente el diente perdido, en esencia, un implante a base de células en lugar de uno de metal. El requisito mínimo para un reemplazo biológico es la de formar los componentes esenciales necesarios para el funcionamiento dental, incluyendo las raíces, el ligamento periodontal, la inervación. Paradójicamente, la parte visible del diente, como lo es la corona es menos

importante porque, aunque esencial para la función, las coronas dentales sintéticas funcionan bien, y pueden ser perfectamente adaptadas en tamaño, la forma y el color. El reto, por lo tanto, para reemplazar los dientes biológicos es en última instancia, la formación de una raíz biológica.

En la actualidad, los principales retos en la regeneración de los dientes son la identificación de las fuentes de células no embrionarias con las mismas propiedades que las células germinales del diente además el desarrollo de sistemas de cultivo que pueden ampliar las células que mantener el potencial de formación de los dientes. Esto es aún más desafiante cuando se considera el hecho de que el desarrollo dental requiere de dos tipos de células, epiteliales y mesenquimales.

La inducción del potencial odontogénico se encuentra en el epitelio dental. El epitelio dental en la etapa de pre-brote puede inducir la formación de los dientes cuando se combina con células mesénquimales no odontogénicos, siempre y cuando las células mesenquimales tengan las células madre como propiedades en común con las células de la cresta neural.

6.6.2 Células (3H-TIMIDINA)

Las células progenitoras responsables de la formación de los osteoblastos no han sido identificadas. Estudios de las células marcadoras de 3H-timidina muestran que las células osteoprogenitoras pueden ser reclutados de tejido conectivo circundante hacia el periostio en la superficie del hueso. También que las células osteoprogenitoras continuamente migraban del estroma de la médula ósea y se sometían a una diferenciación osteogénica. Un derivado de células endoteliales pueden diferenciarse en osteoblastos y pericitos que participan en la regeneración del hueso. Además, las células con fenotipo ontogénico fueron cultivadas a partir de células gingivales y el ligamento

periodontal humano (HPDL). Las células del ligamento periodontal consisten en varias subpoblaciones, como la fosfatasa alcalina, una enzima que participa en la mineralización.

Los fibroblastos del ligamento periodontal se han mostrado con potencial osteogénico. Las células del ligamento periodontal cultivadas muestran la formación de minerales como nódulos debajo de algunos fibroblastos y sometidas a tensión cíclica muestra aumento alcalino, actividad de la fosfatasa y el aumento del gen de la osteocalcina.

Esta investigación colocó una capa de células endoteliales HMVEC en la parte superior de una capa de colágeno, colocados en el fondo de las placas. Fibroblastos dérmicos humanos se colocaron en suspensión en una capa de colágeno entre los dos tipos de células para establecer in vitro la angiogénesis, como esta relacionada con la osteogénesis, se propuso estudiar la transformación osteogénico.⁴⁹

6.6 Regeneración de dientes funcionales

Para la regeneración de un diente, folículo piloso o las glándulas salivares. Se ha propuesto un nuevo concepto donde el órgano se desarrolla a partir del germen del órgano mediante el proceso de desarrollo durante la organogénesis. Los órganos para trasplante se espera sean viables a largo plazo y lograr la producción de varias células funcionales y sus células progenitoras tan eficientes como el órgano natural.

En el tratamiento dental se provee el trasplante de una unidad dental que comprende un diente maduro, ligamento periodontal y hueso alveolar en la región de la pérdida del diente a través de la integración ósea.

Se ha generado una unidad dental controlado por la longitud y la forma de un reemplazo dental, seguido de la integración ósea y la restauración de dientes fisiológicos funcionales como la masticación, la función del ligamento periodontal y la respuesta a los estímulos nocivos. El germen puede desarrollarse exitosamente por medio de capsulas subrenales, que pueden restaurar un diente maduro, incluyendo tejido periodontal y hueso alveolar. Sin embargo hay malos resultados por la presión de la membrana externa y la longitud de las raíces presentó elongación.

Una unidad (diente), que tiene los tejidos necesarios para restaurar las funciones de los dientes. Como el germen del molar fue desarrollado a una etapa equivalente a la fase folicular temprana, durante un periodo de 5 a 7 días in vitro, se cree que gradualmente acumulará tejido duro, extensión de su raíz y aumento en el volumen de hueso alveolar.⁵⁰

Antes de la erupción de un diente nuevo, una tercera población de células madre en el germen primitivo del diente es capaz de proporcionar las instrucciones necesarias para el crecimiento de un diente completo. Por tanto es razonable suponer que las células podrían regenerar un diente nuevo.

Para la formación de las coronas de los dientes en vivo, se han utilizado células madre mostrando una formación pobre de la raíz del diente. Parece que las células trasplantadas no tienen la capacidad o las instrucciones necesarias para formar la dentina radicular y el cemento es necesario para guiar la erupción. Es posible que estas señales se deriven desde el ligamento periodontal apoyado del hueso alveolar durante el desarrollo.⁵⁰

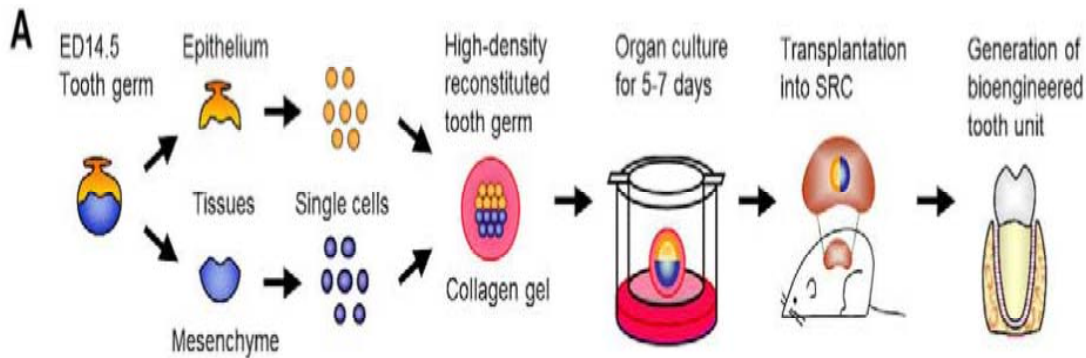


Fig12 Germen del molar desarrollado⁵¹

6.7 Creación de un órgano dental y su trasplante

Estrategia que refiere el uso del método de agregación celular o desarrollo biológico que consiste en la unión de células mesenquimales y células epiteliales para formar una pieza dentaria e ingeniería tisular (bioingeniería) que consiste en cultivar en depósitos de colágeno (andamio) células de odontoblastos, ameloblastos y de ligamento periodontal para la creación de una nueva pieza dentaria. Se han inoculado células madre de incisivos y molares dentales, llegando a la conclusión que un incisivo siendo una pieza uni-radicular es más fácil de recrear que una pieza multi-radicular como un molar.⁵⁰

Los dientes de bioingeniería pueden ser injertados en las regiones de la pérdida de dientes a través de la integración ósea, que consiste en la reabsorción del hueso alveolar de la unidad dental a través de la remodelación ósea natural.

Los resultados sugieren que el diente de bioingeniería en la unidad de un diente aislado, tiene el potencial para reducir el foramen apical después del trasplante por vía oral y tiene la capacidad fisiológica para recapitular la tensión mecánica por oclusión. El potencial es esencial para el funcionamiento adecuado de los dientes.⁵⁰

Una unidad implantada de un diente maduro también puede restaurar las funciones fisiológicas de los dientes en vivo, tales como respuesta a la tensión mecánica y la posibilidad de percepciones de estímulos nocivos.

La respuesta del ligamento periodontal a los esfuerzos mecánicos, tales movimientos de ortodoncia, induce la remodelación de hueso alveolar, que es indicado por la localización de la fosfatasa acida, los osteoclastos y la osteocalcina. Con esto se demostró que el ligamento periodontal media la remodelación ósea a través de la correcta localización de los osteoclastos y los osteoblastos en respuesta a la tensión mecánica. El trasplante de una unidad dental por medio de ingeniería tisular regenera el diente y también el hueso alveolar que lo rodea.

Cuando se trasplantan una unidad dental en un defecto óseo, la formación de hueso vertical fue observada a los 14 días después del trasplante, aunque la altura y el volumen que rodea al diente trasplantado no se recuperan completamente. Esto indica que el trasplante de una unidad dental puede restaurar un defecto grave.

Para que esta unidad tenga éxito se apoya la conexión entre la raíz del cemento y el hueso alveolar a través del ligamento periodontal, que tiene un papel esencial en el sostén del diente, resorción y la reparación de la raíz del cemento y la remodelación alveolar ósea. La pérdida de dientes ocasiona una reabsorción alveolar ósea que esta mediada por el ligamento

periodontal, en las dimensiones vertical y horizontal, la pérdida de este hueso conduce a problemas funcionales y estéticos, aunque es difícil corregir este tipo de problemas.

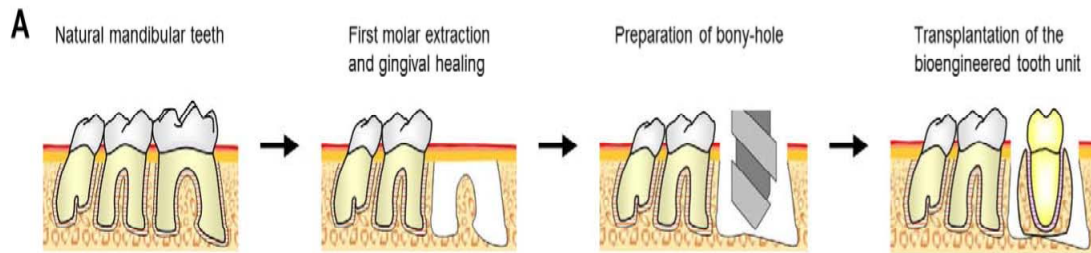


Fig14 Unidad dental injertado a través de la integración de hueso alveolar y la del receptor⁵²

7. CONCLUSIONES

La ingeniería tisular es un tema que ha generado gran interés debido a que se puede aplicar en diferentes enfermedades y lesiones, con un amplio rango de beneficios. Es un tema que ha abierto una brecha considerable a investigar ya que es posible prever el trasplante sin donadores, ni problemas de rechazo.

Es un tema relativamente nuevo, el cual se espera grandes avances y nos brinde nuevos tratamientos, actualmente ya se ha usado con éxito para reparar y reconstruir tejidos complejos como la tráquea, el esófago y músculo esquelético en modelos de animales y seres humanos

En odontología es un tema que ha llamado la atención de varias instituciones que han realizado diversos ensayos que han tenido éxito, aunque se han enfocado mas en regenerar un diente y los tejidos de su alrededor (periodonto), buscando una funcionalidad y armonía, presentando aun ciertas limitantes.

Se busca que en un futuro se pueda regenerar un diente completo utilizando las células provenientes del germen dentario, sin embargo para reparar parte del tejido dentario (dentina, pulpa, ligamento periodontal), aislados, podrían ser necesario uno o dos tipos de células madre. Actualmente la célula madre puede ayudar en injertos óseos y en intentos de restauración de ligamento periodontal.

Aún queda por investigar en este tema, se ha demostrado que los dientes temporales son una mejor terapia de células madre que los terceros molares o los dientes extraídos. Este concepto ha llevado a la creación de bancos de células obtenidas a partir de dientes deciduos exfoliados. Aunque hay ciertas limitantes como la dificultad para identificar, aislar, purificar y

cultivar estas células en laboratorio debido a que estas células se requieren en grandes números para ser usadas terapéuticamente. El rechazo inmunológico es un tema que requiere una consideración cuidadosa.

Se cree que en un tiempo no muy lejano se pueda implementar células en donde sean requeridas ya sea en maxilar o mandíbula con ayuda de los factores de crecimiento que inducirán al organismo a crear un órgano dental y sus tejidos que lo rodean. Será un avance que cambiará a la odontología ya que los tratamientos serán mejores y con mejor pronóstico. Más estudios podrán abrir un abanico de alternativas clínicas, pero contrasta con la precariedad de los recursos odontológicos disponibles para la población de bajo ingresos

8. REFERENCIAS

1. Alpiste M, Buitrago P, Cabanilles. Regeneración periodontal en la práctica clínica, *Odontología clínica*, 2006: 1-11.
2. Carranza F, Newman M& Taker H. *Periodontología Clínica*, 9^a ed, Editorial McGraw Hill, 2004: p. 1-14.
3. Melcher AH. On the repair potential of peridontal tissues, *L Periodontal*, 1976; 256-260.
4. Yoshito Ikada. Changes in tissue engineering, *Journal Interface*, 2006; 3: 589-601.
5. Ivanoski. Periodontal regeneration, *Australian Dental Journal*, 2009; 54: 118-128.
6. Lindhe Jan. Niklaus P. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*, 5^a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2009, 816p
7. Bradley S. McAllisten. Gonshor A. Histologic Evaluation of a Stem Cell-Based Sinus-Augmentation Procedure. *J Periodontol* 2009; 80: 679-686.
8. German F. Falke. Anthony A. Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando ingeniería tisular. Laboratory for tissue engennering and celular therapeutics, Department of Urology Childrens Hospital, Harvard Medical School. Argentina, 2000.
9. Cultivos e Ingenieria celular. *Ingenieria celular*. 2006.
10. Céspedes Martínez DI. Perona-Miguel de Prego G. Futuro de la odontología restauradora. *Rev. Estomatol Herediana* 2010; 20 (1): 44-45.
11. Darby I. Periodontal materials, *Australian Dental Journal*, 2011; 56: 107-118.
12. Bartold M, Yin Xiao. Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration, *Periodontology* 2000, 2006; 41: 123-135.
13. Scheller EL. Krebsbach PH. Kohn. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *Journal of Oral Rehabilitation* 2009; 36: 368-389.
14. Bishop AE, Butteri LDK. Embrionic stem cells. *J Pathol* 2002; 197: 424-429.
15. Fig 1. <http://www.prontosalud.blogspot.mx>

16. Smucker B. Investigación de las células madre. Antecedentes, historia, política actual y los aspectos éticos (internet) <http://www.goshen.edu/bio/Biol410/BSSpapers99/bensmucker.html>
17. Fig2. <http://meteorodeperu.wordpress.com/celulas.madre>
18. Eugenia M. Células madre un nuevo concepto de medicina regenerativa HTTP://bus.slu.se/revistas/end/vlo15_2_04/end07204.htm
19. Fig3. <http://fuentes.celulas.madre&um.htm>
20. Fig 4 <http://fuentes.celulas.madre&um.htm>
21. Hernandez P. Dorticós. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. Revista cubana hematología. 2004; 20(3): 2-5
22. Fig5. http://www.babycellsspain.es/IMGS/generalidades_2.jpg
23. Lagman, Embriología Médica con orientación clínica, 10ª edición Buenos Aires, 2007. Editorial Panamericana
24. Fig6. <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html>
25. Leticia Santos, MC. Vía de señalización Notch, nuevas estrategias para tratamiento de cáncer. División de Biología Molecular. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. A.C. Volumen 48, N° 2.
26. Fig7. www.scielo.org.mx
27. Fig8. www.jci.org/articles/view/33326
28. www.urg.es/~eianez/biotecnología/clonembrion.htm. Células madre: conceptos básicos.
29. Munéver J. Biología de las Células Stem. Instituto Unidad de investigación Básica Oral. Aceptado 09-05-2005.
30. Fig9 Tomado de Shantsila E, Watson, Lip GY, Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. J Am Cardiol 2007; 49: 741-52.
31. Elias R. Odontología para pacientes con necesidades especiales. Una visión clínica, Madrid; Editorial Ripano S.A, DL. 2008
32. Angelova A, Yvonne Y, Paul T. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration, 2010; 20-206: 715-722.
33. Hwan Su, Sung Y, Yeon Su, Hwa K, Gene expression profile in mesenchymal stem cell derived from dental tissue and bone marrow. J Periodontal Implant, 2011; 41: 192-200.
34. Fig 10. www.solociencia.com
35. Nam H. Lee G. Identification of novel epithelial stem cell-like cells in human deciduous dental pulp Biochem Biophys Res Commun, 2009; 386: 135-139.

36. Zhao Z. Wang D. Liu H. The regulatory Role of a Desintegrin and Matalloproteinase 28 on the Biologic Property of human Periodontal Ligament Stem cells. *J Periodontol*, 2010: 934-944.
37. Gottieb EL. Murray PE. An structural Investigation of Tissue-Engineered Pulp constructs Implanted Within Endodontically Treated Teeth. *J Am Dent Assoc*. 2008; 139: 457-465.
38. D´Aquino R. Papaccio G. Dental Pulp Stem Cells: A Promising Tool For Bone Regeneration *Stem Cell. Rev*. 2008; 4: 21-26.
39. Miura M. Gronthos S. Shi S. SHED: Stem Cells From human exfoliated deciduos teeth, *PNAS*, 2003; 100(10); 5807-5812.
40. Huang GTJ, Gronthos S. Shi S. Mesenchymal Stem Cells derived form dental tissue vs those from other sources: their biology and role in Regenerative Medicine. *J Dent Res*, 2009; 88(9): 792-806.
41. Arora V, Munshi AK. Banking Stem Cells from Human Exfoliated deciduos Teeth (SHED) saving of the future. 2004; 33(4): 290.
42. Fig 11. Yoshito Ikada. Changes in tissue engineering, *Journal Interface*, 2006; 3: 589-601.
43. Abbas. Piakonov I. Neural crest Origin of Dental Stem Cells. Pan European Federation of the International Association for Dental Research (PEF/ADR). Seq#96 Oral Stem Cells: Abs, 0917, 2008.
44. Fig 12. Nakahara T. Ide Y. Tooth regeneration implication for the use of bioengineered organs in first-wane organ replacement *Hum Cell*. 2007; 20(3): 63-74.
45. Jeremy J. Mao. Stem Cell and the future of dental Care *New York State Dental. Journal*, 2008; 74 (2): 21-24.
46. Yamada, Ueda M, Naiki T, Nagasaka T. Tissue engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. *Clin Oral Impl Res*. 2004: 15: 589-597.
47. Izumi K. Song J. Development and characterization of a tissue-engineered human oral mucosa equivalent produced in a serum free cultura system. *J Dent Res* 2000; 79: 798-805.
48. Yuichi I. Akira A. Yoichi Yamada. Current and future periodontal tissue engineering. *Periodontology* 2000, Vol. 56, 2011, 166-187.
49. Wendell W. Neeley II. David L. Osteogenesis in an In Vitro Coculture of Human Periodontal Ligament Fibroblasts and Human Microvascular Endothelial Cell. *J Periodontol* 2010; 81: 139-149

-
50. Nakahara T. Ide Y. Tooth regeneration implication for the use of bioengineered organs in first-wane organ replacement Hum Cell. 2007; 20(3): 63-74.
 51. Fig 13. Nakahara T. Ide Y. Tooth regeneration implication for the use of bioengineered organs in first-wane organ replacement Hum Cell. 2007; 20(3): 63-74.
 52. Fig 14. Nakahara T. Ide Y. Tooth regeneration implication for the use of bioengineered organs in first-wane organ replacement Hum Cell. 2007; 20(3): 63-74.