



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE PROVENIENTES DE
DIENTES DECIDUOS Y SU APLICACIÓN CLÍNICA.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

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

P R E S E N T A:

MARICELA MARTÍNEZ RAMÍREZ

TUTOR: C.D. VERÓNICA AMÉRICA BARBOSA AGUILAR

ASESORA: Esp. FABIOLA TRUJILLO ESTEVES



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

*A DIOS PRIMERAMENTE POR DARMÉ LA VIDA,
POR SER MI PASTOR Y ESTAR SIEMPRE
CONMIGO, GUIÁNDOME EN CADA PASO DE MI
VIDA, POR LEVANTÁRME EN CADA TROPIEZO Y
DARMÉ LA FUERZA DE SEGUIR ADELANTE,
GRACIAS DIOS POR PERMITIRME TERMINAR
ESTA ETAPA TAN IMPORTANTE.*

*A MIS PADRES POR APOYÁRME SIEMPRE, POR
DARMÉ SU AMOR Y COMPRENSION, PERO SOBRE
TODO POR SU ESFUERZO PARA DEJARME LA
MEJOR HERENCIA QUE ES LA EDUCACION, SE
QUE NUNCA TENDRE COMO AGRADECERLES
TODO LO QUE HAN HECHO POR MI, GRACIAS POR
APOYÁRME HASTA EL TERMINO DE MI
CARRERA PROFESIONAL.*

*MAMI MUCHÍSIMAS GRACIAS SE QUE SIN TI NO
ESTARÍA AQUÍ, ESTO ES TODO TUYO, GRACIAS
POR ESTAR CONMIGO SIEMPRE, POR CUIDÁRME,
PREOCUPARTE, POR TRATÁRME COMO UN SER
INDEPENDIENTE Y DARMÉ ALAS PARA VOLAR,
ERES LA MEJOR MADRE DEL MUNDO Y DOY
GRACIAS A DIOS POR HABERME PUESTO EN
ESTA FAMILIA TE AMO MAMI.*

*PAPA GRACIAS POR QUE SIEMPRE ESTUVISTE
AL PENDIENTE DE MI, POR FIN TERMINAS CON
TU HIJA LA MAS PEQUEÑA PERO RECUERDA
QUE AUN TE QUEDAN 4 NIETAS QUE
NECESITAN DE TU APOYO Y CARIÑO COMO
PADRE Y AUN ESPERAN MUCHO DE TI,
RECUERDA ERES EL PILAR DE LA CASA Y
AHORA DE 7 HIJAS. TE QUIERO PAPA*

*A MI TUTORA VERONICA AMERICA BARBOSA
AGUILAR Y A MI ASESORA FABIOLA TRUJILLO
ESTEVEZ, POR SER EXCELENTES PERSONAS Y
PROFESIONISTAS, AGRADEZCO SU TIEMPO,
PACIENCIA, ATENCION Y DEDICACION, ASI
COMO SU ORIENTACION Y APOYO EN ESTE
TRABAJO MUCHÍSIMAS GRACIAS!*

*A LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA POR EL
APRENDIZAJE Y EXPERIENCIA ADQUIRIDA
GRACIAS POR PERMITIRME REALIZAR COMO
PROFESIONISTA. Y GRACIAS A TODOS LOS
DOCTORES POR BRINDÁRME SU APOYO Y SUS
CONOCIMIENTOS.*

*A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MEXICO POR TENER LA SATISFACCIÓN DE
HABER CONCLUIDO UNA LICENCIATURA EN LA
MEJOR UNIVERSIDAD DE AMÉRICA LATINA.*

*A MIS PACIENTES INCLUIDOS MI FAMILIA Y
MIS AMIGOS, POR QUE SE QUE SIN ELLOS
SIMPLEMENTE NO ESTARÍA AQUÍ, ASI COMO A
TODAS LAS PERSONAS CON LAS QUE COMPARTI
MI ESTANCIA EN LA FACULTAD DE
ODONTOLÓGIA.*

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

*A MIS HERMANAS: MIMI GRACIAS POR CUIDARME DESDE
PEQUEÑA Y PREOCUPARTE POR MI SIEMPRE, VERO
GRACIAS POR QUE A PESAR DE NUESTRAS DIFERENCIAS Y
DISCUSIONES SE QUE SIEMPRE PUEDO CONTAR CONTIGO,
LAS QUIERO HERMANITAS, GRACIAS POR SU APOYO.*

*A MIS SOBRINAS: INGRID, NIÑE, CAMILA Y MELANI
POR ILUMINAR Y ALEGRAR MIS DIAS LAS AMO NENAS.*

*A MIS AMIGOS, LOS CUALES SON UNA PIEZA
FUNDAMENTAL GRACIAS POR COMPARTIR LOS
MEJORES MOMENTOS DURANTE ESTOS 5 AÑOS.*

*ANABEL Y TAFATH GRACIAS POR SER PARTE DE LA
BANDA DE LA ONE, TWO, THREE, POR QUE GRACIAS A
USTEDES LA CARRERA FUE DIVERTIDA POR TANTAS
TONTERIAS QUE SOLO NOSOTRAS HACIAMOS, GRACIAS
POR SUS CONSEJOS, POR REIR, LLORAR, PERO SOBRE
TODO, ESTUDIAR Y APRENDER JUNTAS GRACIAS POR
COMPARTIR MOMENTOS TAN ESPECIALES, OBVIO...
SABEN QUE LAS QUIERO MUCHISIMO Y AUNQUE
NUESTRAS VIDAS TOMEN CAMINOS DIFERENTES
ESPEROS NUNCA SEPARARNOS.*

*A LOS MEJORES DE LOS MEJORES AMIGOS SULUAY,
JORGE Y RENE GRACIAS POR CONTAR CON USTEDES
HASTA EL DIA DE HOY, POR ESAS VACACIONES O
SALIDAS A LOS SUPER TACOS, POR COMPARTIRME EL
CARÑO DE SUS FAMILIAS, POR QUE SE QUE PUEDO
CONFIAR EN USTEDES Y SE QUE SIEMPRE ESTARAN
AHÍ, A PESAR DE QUE HEMOS CAMBIADO, SEGUIMOS
SIENDO LOS MEJORES AMIGOS LOS QUIERO*

*MUCHISIMO Y NO PODIA DEJAR DE MENCIONAR AL
PRIMER SOBRINO DE LOS AMIGOS EMILIANO! LOS
QUIERO MUCHISISIMO.*

*CINTHIA Y LETI GRACIAS POR COMPARTIR EL ULTIMO
AÑO DE LA CARRERA POR IRNOS A COMER
COCHINADAS POR LAS NOCHES Y ACOMPAÑARNOS
DURANTE TODO EL AÑO DE LA PERIFERICA GRACIAS
POR QUE SE QUE AHORA TAMBIEN CUENTO CON
USTEDES.*

*A RUBI, APOCO... POR HACERME REIR TANTO, POR
COMPARTIR UNA AMISTAD MUY ESPECIAL Y SINCERA,
POR QUE SIEMPRE DAS TODO SIN ESPERAR NADA A
CAMBIO NUNCA CAMBIES POR QUE PERSONAS COMO
TU HAY MUY POCAS, GRACIAS POR QUE HASTA HOY
ESTAMOS APRENDIENDO JUNTAS, Y AUN NOS FALTA
MUCHO POR VIVIR..*

*Y FINALMENTE AGRADEZCO POR TENER EL MEJOR
SERVICIO SOCIAL YA QUE AHÍ TUVE LA OPORTUNIDAD
DE CONOCER A PERSONAS QUE AHORA SON MUY
IMPORTANTES Y ESPECIALES, CORAZON (DIANA)
GRACIAS POR DIVERTIRME TANTO TODOS LOS FINES
DE SEMANA POR COMPARTIR 6 MESES*

*PERO ESPECIALMENTE GRACIAS A EMERSON QUE
ANTES DE TERMINAR ESTA ETAPA DIOS LO PUSO EN
MI CAMINO GRACIAS POR ACOMPAÑARME EN EL
SERVICIO Y ESTAR CONMIGO DURANTE EL SEMINARIO
POR ENTENDER LOS BUENOS Y MALOS MOMENTOS
INCLUIDOS LOS 5 MINUTOS, GRACIAS POR ESTOS 8
MESES POR QUE TODO LO QUE ME HAS DADO ME HA
HECHO MUY FELIZ, POR TU AMOR, APOYO,
CONFIANZA PEROSOBRE TODO POR ESTAR TODOS LOS
DIAS A MI LADO Y ESPERO QUE DUREMUCHISIMO
TIEMPO TE AMO MI VIDA!GRACIAS POR ESTAR A MI
LADO*

INDICE

1. Introducción.	7
2. Odontogénesis.	8
2.1. Morfogénesis del órgano dentario.	8
2.1.1. Desarrollo y formación del patrón coronario.	8
2.1.2. Etapa de brote o yema dentario.	10
2.1.3. Etapa de casquete.	11
2.1.4. Etapa de campana.	13
2.1.5. Etapa terminal o de folículo dentario.	15
3. Complejo pulpar.	17
3.1. Componentes estructurales de la pulpa dental.	17
3.2. Poblaciones celulares de la pulpa dental normal.	18
3.3. Sustancia fundamental.	22
4. Células madre.	23
4.1. La revolución del genoma humano-DNA y las nuevas técnicas de investigación científica.	23
4.2. Odontología, células madre y clonación dental: el inicio de una nueva era científica.	24
4.3. Historia de la investigación con células madre.	25
4.4. ¿Qué son las células madre?	27
4.5. Fuentes de células madre.	30
4.6. Tipos de células según el sitio de obtención.	31
4.6.1. Células madre embrionarias.	31
4.6.2. Células madre adultas.	33
4.7. Clasificación según su potencial.	35
4.7.1. Células madre totipotentes.	36
4.7.2. Células madre pluripotentes.	36
4.7.3. Células madre multipotentes.	37

4.7.4. Células madre unipotentes.	37
5. Células madre en odontología.	38
5.1. Células madre en la cavidad bucal.	38
5.1.1. Células madre en pulpa dental de dientes temporales.	40
5.1.2. Células madre en pulpa dental de dientes permanentes.	42
5.1.3. Células madre presentes en espacios periodontales.	44
5.1.4. Células madre de la papila dental.	45
5.1.5. Células madre del folículo dental.	46
5.2. Usos de células madre en odontología.	47
5.3. Científicos recrean dientes a partir de células madre.	48
5.4. Creación del órgano dental.	52
5.4.1. Pulpa dental.	52
5.4.2. Dentina.	53
5.4.3. Esmalte.	54
5.5. Educar para prevenir: el triunfo de la odontopediatría.	55
6. SHED: Células madre de dientes deciduos exfoliados.	56
6.1. Banco de células madre de dientes humanos deciduos exfoliados (SHED).	57
6.2. Tipos de células madre de dientes humanos deciduos exfoliados.	60
6.3. Papel de SHED en el desarrollo de tejidos craneofaciales.	61
6.4. Ventajas de la obtención de SHED.	63
6.5. Aplicaciones clínicas de terapia con células madre de dientes deciduos.	64
6.6. Recolección, aislamiento y preservación.	64
6.6.1. Recolección dental.	65
6.6.2. Aislamiento de células madre.	66

6.6.3. Almacenamiento de células madre.	66
6.6.3.1. Criopreservación.	67
6.6.3.2. Congelación magnética.	69
6.7. Criterios para la elección de órganos dentales.	70
7. Conclusiones.	71
8. Fuentes de información.	72

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la vida, el proceso de envejecimiento y las patologías juegan un papel importante dentro de los cambios que todos los tejidos del cuerpo presentan, afortunadamente existen células que son capaces de regenerarse, y que de no existir esta renovación, se incrementarían los problemas de salud en los seres vivos. La nueva 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.

El término “célula madre” ha tomado gran 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 como principal finalidad 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. Se han realizado reportes a partir de varios tejidos como médula ósea, tejido neural, musculo, piel, retina y folículos pilosos entre otros.

En los últimos años las células madre han sido investigadas en el área odontológica, actualmente se han podido obtener a partir del tejido pulpar, células madre de dientes deciduos exfoliados (SHED), lo que permite, mediante un procedimiento no invasivo, la obtención y procesamiento de estas células, en laboratorio y posteriormente criopreservarlas hasta el momento que sean necesarias. Se ha demostrado que poseen una abundante fuente de células madre, los cuales tienen la capacidad de convertirse en diferentes tejidos, lo cual favorece un gran potencial para el tratamiento terapéutico de muchas enfermedades.

2. ODONTOGÉNESIS

La odontogénesis es el proceso embriológico que dará lugar a la formación del germen dental. En este proceso intervienen fundamentalmente los tejidos embrionarios el ectodermo y mesodermo, separados por una capa de origen epitelial llamada capa basal. Cerca de la sexta semana de desarrollo embrionario, aparecen unas zonas de mayor actividad y engrosamiento en las células más internas del epitelio oral que dará origen a la lámina dental. A partir de este momento comienza a incorporarse en su estructura el mesodermo y ulteriores procesos de proliferación e histodiferenciación conducirán al crecimiento y desarrollo de los gérmenes dentarios.^{1 2}

El proceso de desarrollo dental que conduce a la formación de los elementos dentarios en el seno de los huesos maxilares recibe la denominación de odontogénesis. Durante el desarrollo humano existen dos denticiones: temporal y permanente. Ambas se originan de la misma manera y presentan una estructura histológica similar.

2.1 Morfogénesis del órgano dentario.

El ciclo vital de los órganos dentarios comprende una serie de cambios químicos, morfológicos y funcionales que comienzan en la 6ª semana de vida intrauterina y que continúan a lo largo de toda la vida del diente.

2.1.1 Desarrollo y formación del patrón coronario.

La primera manifestación consiste en la diferenciación de la lámina dental, a partir del ectodermo que tapiza la cavidad bucal primitiva o estomodeo.

¹ Boj J. Catalá m. García C. Mendoza A. Odontopediatría, 1ª ed. Barcelona, (España). Editorial Masson. 2005. Pág. 56

² Barberia E. Boj J. Catalá M. García C. Mendoza A. Odontopediatría, 2ª ed. Barcelona, (España). Editorial Masson. 2002. Pág. 53

El epitelio ectodérmico bucal en este momento está constituido por dos capas: una superficial de células aplanadas y otra basal de células altas, conectadas al tejido conectivo embrionario o mesénquima por medio de la membrana basal, estructura importante para la diferenciación celular y organogénesis dental.

Inducidas por el ectomesenquima subyacente, las células basales de este epitelio bucal proliferan a lo largo del borde libre de los futuros maxilares, dando lugar a dos nuevas estructuras: la lamina vestibular y la lamina dentaria.

- Lamina vestibular: sus células proliferan dentro del ectomesenquima, aumentan rápidamente su volumen, degeneran y forman una hendidura que constituye el surco vestibular entre el carrillo y la zona dentaria.
- Lamina dentaria: realiza una actividad proliferativa intensa y localizada, en la 8ª semana de vida intrauterina, se forman en lugares específicos 10 crecimientos epiteliales dentro del ectomesenquima de cada maxilar, en los sitios correspondientes a los 20 dientes deciduos.

De esta lámina, también se originan los 32 gérmenes de la dentición permanente alrededor del 5º mes de gestación.

Los gérmenes dentarios siguen en su evolución una serie de etapas que, de acuerdo a su morfología se denominan estadio de brote macizo o yema, estadio de casquete, estadio de campana y estadio de folículo dentario, terminal o maduro.³

³ Gómez de Ferraris Mª.E. Campos Muñoz A. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3ª Ed. México: Editorial Panamericana, 2009. Pág. 114

2.1.2 Etapa de brote o yema dentario.

El periodo de iniciación y proliferación es breve y casi a la vez aparecen 10 yemas o brotes en cada maxilar. Estos engrosamientos surgen como resultado de la división mitótica de algunas células de la capa basal del epitelio en las que se asienta el crecimiento potencial del diente. Se trata de una población de células madre que persistirá durante algún tiempo en las siguientes etapas del desarrollo dentario. Los brotes serán los futuros órganos del esmalte que darán lugar al único tejido de naturaleza ectodérmica del diente, el esmalte.^{4,5.}

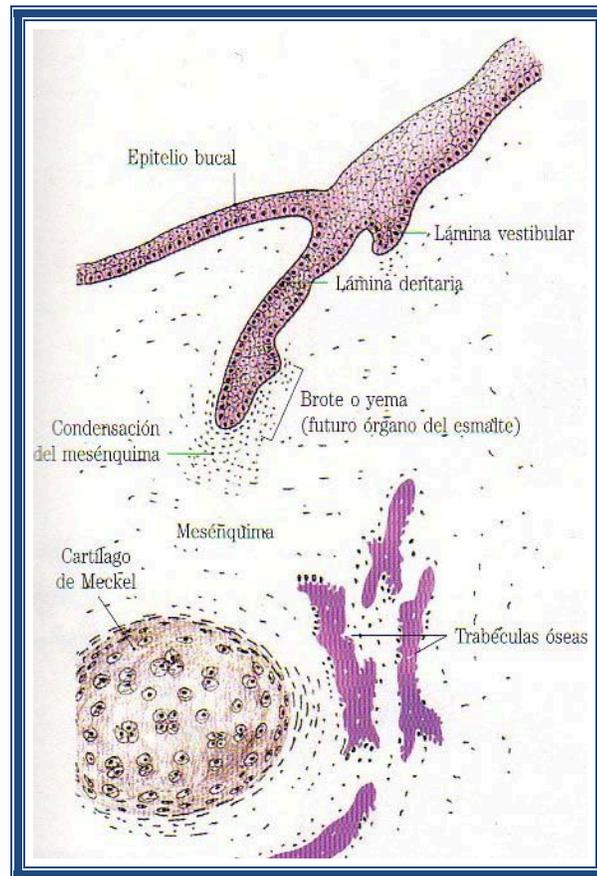


Fig. 1 Esquema de Formación de yema o brote dentario.⁴

⁴ I.d. Pág. 115-116, Fig. 1 Pág. 115

⁵ Boj J. Op. Cit. Pág. 78

2.1.3 Etapa de casquete

La proliferación desigual del brote a expensas de sus caras laterales o bordes determina una concavidad en su cara profunda por lo que adquiere el aspecto de un verdadero casquete. Su concavidad central encierra una pequeña porción del ectomesenquima que lo rodea; es la futura papila dentaria, que dará origen al complejo dentinopulpar.

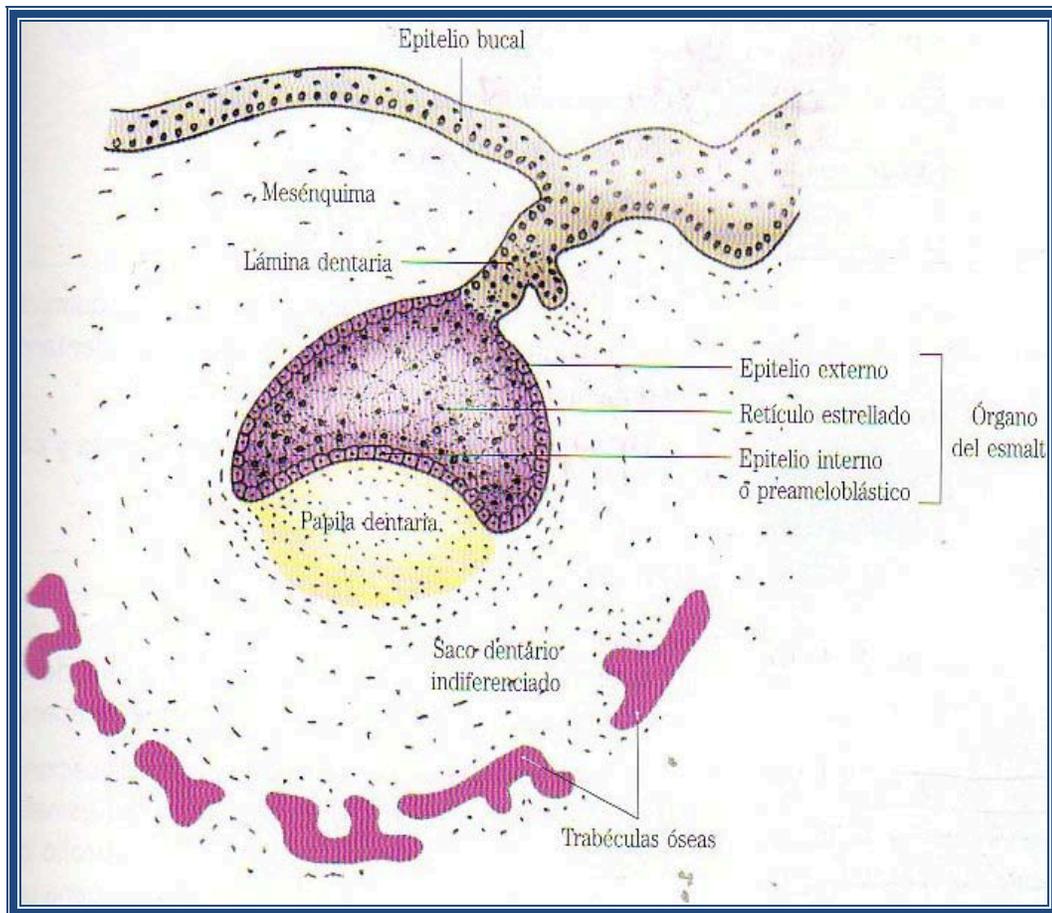


Fig. 2. Esquema del estadio de casquete inicial.⁶

Histológicamente podemos distinguir las siguientes estructuras en el órgano del esmalte u órgano dental:

- Epitelio dental externo: Está constituido por una sola capa de células cuboideas bajas, dispuestas en la convexidad que están unidas a la lamina dental por una porción del epitelio, llamada pedículo epitelial.
- Epitelio dental interno: se encuentra dispuesto en la concavidad y está compuesto inicialmente por un epitelio simple de células cilíndricas. Se diferenciarán en ameloblastos durante la fase de campana, de ahí su nombre de epitelio interno, pre-ameloblastico o epitelio dental interno.
- Retículo estriado: se encuentra constituido por células de aspecto estrellado cuyas prolongaciones se anastomosan formando un retículo. Los espacios intercelulares están ocupados por un líquido de aspecto y consistencia mucoide. La captación del agua conlleva a la separación de las células y a un aumento de espacio extracelular lo que, por ende, hace que las células tomen una forma estriada. A nivel de epitelio externo del esmalte, en su proximidad al epitelio interno, y en el retículo estriado se han localizado los posibles nichos de células madre.

El tejido conectivo embrionario o mesenquima que hay en el interior de la concavidad, por influencia del epitelio proliferativo se condensa por división celular y aparición activa de capilares, dando lugar a la papila dentaria; futura formadora del complejo dentinopulpar.

El tejido mesenquimático que se encuentra inmediatamente por fuera del casquete, también se condensa volviéndose fibrilar y forma el saco dentario primitivo o folículo dental. El órgano del esmalte, la papila y el saco constituyen en conjunto el germen dentario.

En esta etapa hay 3 estructuras embrionarias fundamentales para el desarrollo dentario:

1. Órgano del esmalte.
Origen: ectodermo
 - a) epitelio dental externo
 - b) retículo estrellado
 - c) epitelio dental interno
2. Esbozo de la papila dentaria.
Origen: ectomesénquima.
3. Esbozo de saco o folículo dentario.
Origen: ectomesénquima.

Estas estructuras por cambios morfológicos, químicos y funcionales darán origen a todos los tejidos dentarios y peridentarios.^{6,7.}

2.1.4. Etapa de campana.

Ocurre sobre las 14 a 18 semanas de vida intrauterina. Se acentúa la invaginación del epitelio dental interno adquiriendo el aspecto típico de una campana. En esta etapa es posible observar modificaciones estructurales e histoquímicas en el órgano del esmalte, papila y saco dentario respectivamente. El desarrollo del proceso permite considerar en la etapa de campana una etapa inicial y otra más avanzada, donde se hacen evidentes los procesos de morfo e histodiferenciación.⁸

⁶ Gómez de Ferrarias M^a. E. Op. Cit. Pág. 115-118 Fig. 117.

⁷ Boj J. Op. Cit.. Pág. 80

⁸ Gómez de Ferraris M^a. E.. Op. Cit. Pág. 118-127. Fig. 3. 120.

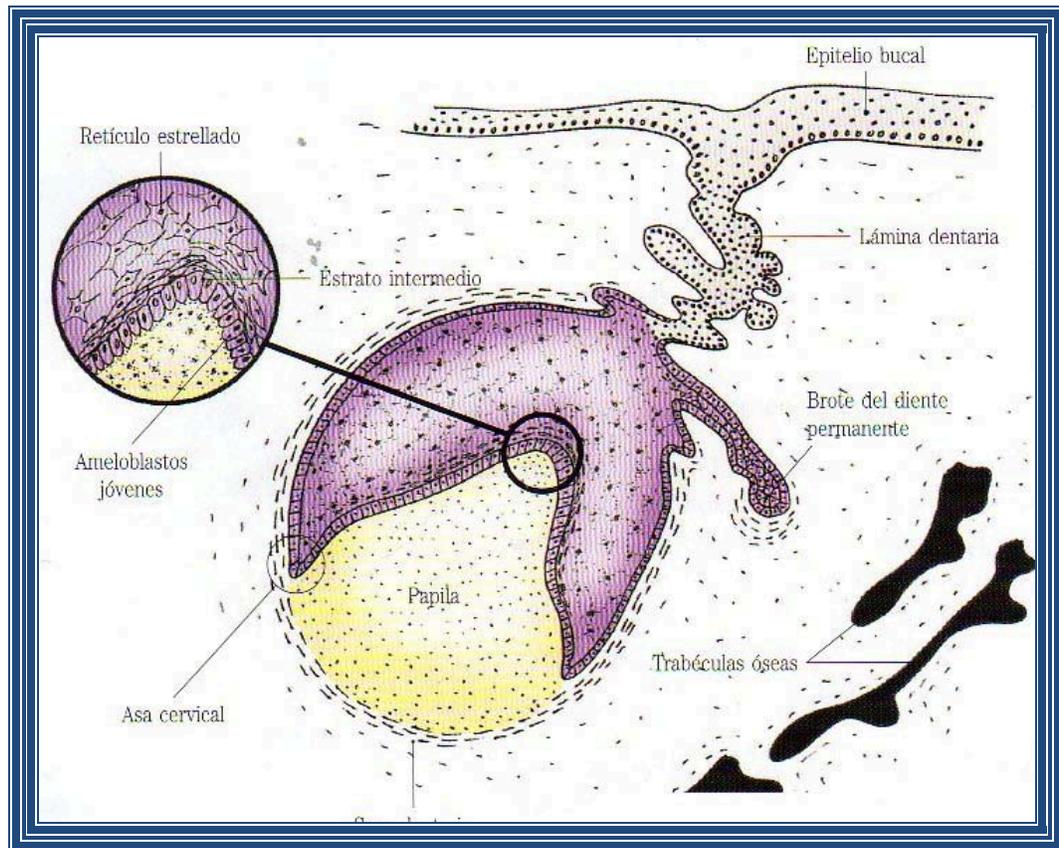


Fig. 3 Estadio de campana inicial.⁸

- Órgano del esmalte: en la etapa inicial, el órgano del esmalte presenta una nueva capa, el estrato intermedio, situada entre el retículo estrellado y el epitelio dental interno.

De manera que en este periodo embrionario el órgano del esmalte está constituido por:

- a) epitelio dental externo.
- b) retículo estriado.
- c) estrato intermedio.
- d) epitelio dental interno.

- **Papila dentaria:** la diferenciación de los odontoblastos se realiza a partir de células ectomesenquimáticas de la papila, situadas frente al epitelio dental interno, que evolucionan transformándose primero en preodontoblastos, luego en odontoblastos jóvenes y por último, en odontoblastos maduros o secretores.

En su extremo proximal o libre se diferencia una prolongación citoplasmática única que queda localizada en plena matriz dentaria, llamada prolongación principal, proceso odontoblástico o prolongación odontoblástica. Los odontoblastos, se encuentran formando una hilera de células semejantes a una especie de epitelio cilíndrico simple en la periferia de la papila, están separados por espacios intercelulares que a veces contienen fibras reticulares de von korff e incluso capilares o fibras nerviosas.

- **Saco dentario:** en la etapa de campana es cuando más se pone de manifiesto su estructura. Está formado por dos capas: una interna célula-vascular y otra externa o superficial con abundantes fibras colágenas. Las fibras colágenas y precolágenas se disponen en forma circular envolviendo al germen dentario en desarrollo, de ahí proviene la denominación del saco dentario.

2.1.5. Etapa terminal o de folículo dentario.

Esta etapa comienza cuando se identifica, en la zona de las futuras cúspides o borde incisal, la presencia del depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de la dentina en desarrollo.

El crecimiento aposicional del esmalte y dentina se realiza por el depósito de capas sucesivas de una matriz extracelular en forma regular y rítmica. Se alternan periodos de actividad y reposo a intervalos definidos.

La elaboración de la matriz orgánica, a cargo de los odontoblastos para la dentina y de los ameloblastos para el esmalte, es inmediatamente seguida por las fases iniciales de su mineralización.^{9,10.} (Fig. 4)

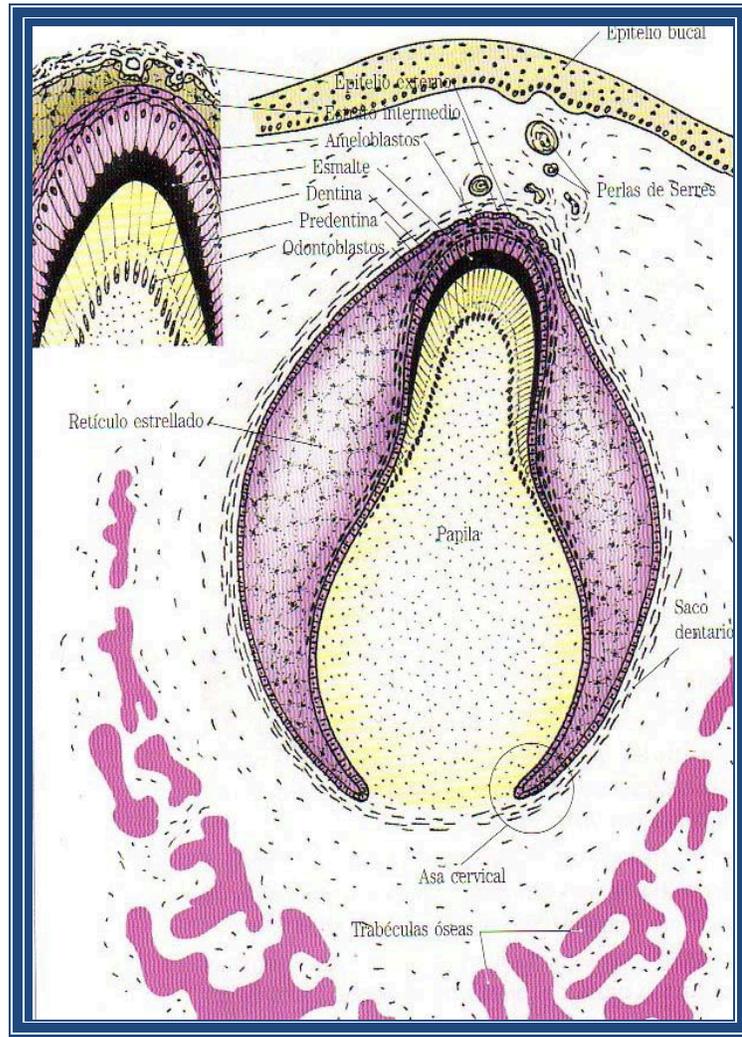


Fig. 4 Esquema del estadio de folículo dentario aposicional.

⁹ Gómez de Ferraris M^a. E. Op. Cit. Pág. 127. Fig. 4. Pág. 128.

¹⁰ Boj J. Op. Cit. Pág. 81.

3. COMPLEJO PULPAR

La pulpa dentaria forma parte del complejo dentino-pulpar, que tiene su origen embriológico en la papila dental. El tejido pulpar y dentinario conforman estructural, embriológica y funcionalmente una verdadera unidad biológica conocida como complejo-pulpar.¹¹

Es similar en muchos aspectos a otros tejidos conectivos del cuerpo, pero sus características merecen especial consideración. Incluso la pulpa dental madura recuerda al tejido conectivo embrionario y, por lo tanto es una fuente relativamente rica en células madre primitivas.

La pulpa dental alberga elementos tisulares, entre los que se incluyen nervios, tejido vascular, fibras del tejido conectivo, sustancia fundamental, fluido intersticial, odontoblastos, fibroblastos, células inmunocompetentes y otros elementos celulares. La pulpa dental es realmente un sistema microcirculatorio y sus mayores componentes vasculares son las arteriolas y las vénulas. No existen verdaderas arterias ni venas que entren o salgan de la pulpa. A diferencia de la mayoría de los tejidos la pulpa carece de un verdadero sistema colateral y depende de las arteriolas que entran a través de los orificios radiculares.¹²

3.1 Componentes estructurales de la pulpa dental.

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo, ricamente vascularizado e innervado. En su periferia se ubican los odontoblastos, que son células especializadas que se encargan de sintetizar los distintos tipos de dentina.

¹¹ Gómez de Ferraris M^ª. E.. Op. Cit. Pág. 232

¹² Cohen S. Vías de la pulpa, 9^a ed. Madrid, España; Editorial Elsevier, 2008. Pág. 469

La pulpa dental está formada por un 75% de agua y un 25% de materia orgánica. Esta última está constituida por células y matriz extracelular representada por fibras y sustancia fundamental.(Fig. 5)

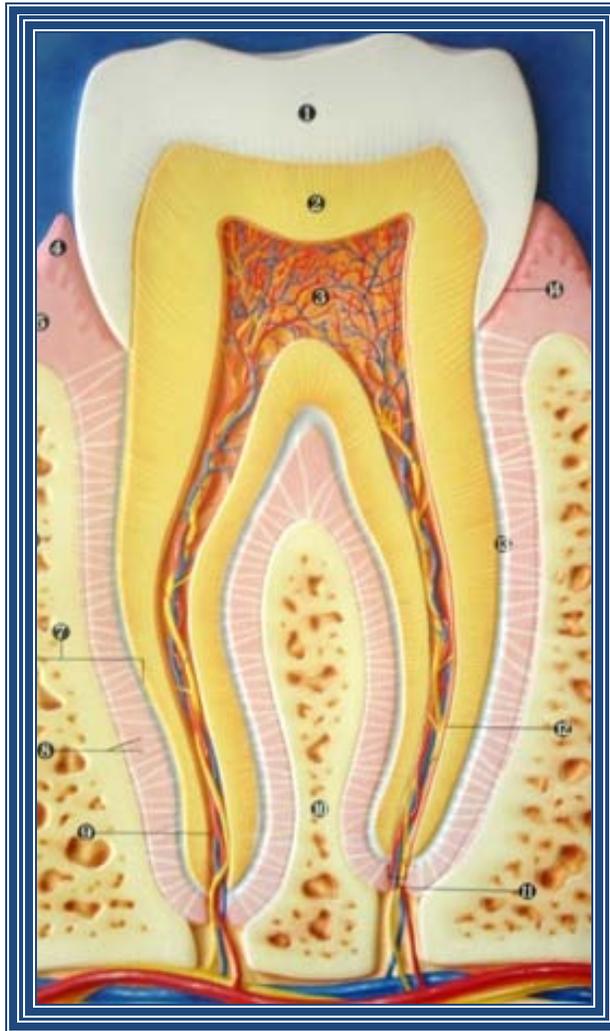


Fig. 5 Pulpa dental.

3.2 Poblaciones celulares de la pulpa dental normal.

En la pulpa dental existe una población celular muy heterogénea, que varía en densidad según las distintas zonas de las mismas.

- Odontoblastos: son las células específicas del tejido pulpar, están situadas en su periferia y adyacentes a la predentina; pertenecen tanto a la pulpa como a la dentina por sus prolongaciones que se alojan en los túbulos de la misma, conforman por su disposición en empalizada la capa odontoblastica, y en la región coronaria alcanzan la cifra aproximada de 45.000 por mm^2 y su número disminuye, sensiblemente, en la zona radicular.

El odontoblasto maduro es una célula muy diferenciada que ha perdido la capacidad de dividirse; esto es, una célula postmitótica. Los nuevos odontoblastos que se originan en los procesos reparativos de la dentina lo hacen a expensas de las células ectomesenquimáticas o células madre de la pulpa dental, aunque algunos autores opinan que podrían derivar de los fibroblastos pulpares; sin embargo, este mecanismo es todavía desconocido. La fibronectina desempeña un papel mediador importante en la diferenciación de las células ectomesenquimales en odontoblastos.

- Fibroblásticos: los fibroblastos activos presentan un contorno fusiforme y un citoplasma basófilo, con gran desarrollo de las organelas que intervienen en la síntesis proteica. El núcleo generalmente, elíptico exhibe uno o dos nucléolos. Son las células principales y más abundantes del tejido pulpar, especialmente en la corona donde forman la capa denominada rica en células. Los fibroblastos secretan los precursores de las fibras colágenas, reticulares y elásticas, así como la sustancia fundamental de la pulpa.

La función de los fibroblastos es formar, mantener y regular el recambio de la matriz extracelular, fibrilar y amorfa.

Son células multifuncionales, pues tienen también la capacidad de degradar el colágeno, en respuesta a distintos estímulos fisiológicos del medio interno.

- Células pulpares de reserva: denominadas también mesenquimáticas indiferenciadas. Las células de la cresta neural migran a diferentes regiones, entre ellas, la cefálica durante la etapa embrionaria. Estas células constituyen la población de reserva pulpar, por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos productores de dentina o en fibroblastos productores de matriz pulpar, según el estímulo que actúe sobre ellas. El factor de crecimiento endotelio-vascular es un poderoso estimulante de la proliferación y diferenciación de las células de la pulpa. Generalmente, se ubican en la región subodontoblastica o en la proximidad de los capilares sanguíneos por lo que suelen llamarse perivasculares o pericitos. Esta variedad celular está estrechamente vinculada a la microvascularización pulpar.

Las células mesenquimáticas indiferenciadas del periápice son las que pueden dar lugar a las distintas líneas celulares: fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos y ocasionalmente odontoblastos, como respuesta biológica ante determinadas situaciones clínicas. Este tejido especializado periapical se diferencia del conectivo periodontal por su gran capacidad reaccional.

Recientemente, se ha identificado la célula madre de la pulpa dental, se trata de la célula DPSC (*dental pulp stem cell*) que ha sido aislada de la pulpa dental postnatal. Las células expresan varios marcadores relacionados con el endotelio y el músculo liso, como VCAM-1 molécula de adhesión celular vascular, CD146 y actina de músculo liso. El nicho o cluster de estas células madre estaría vinculado a las paredes de los

vasos sanguíneos. En la actualidad se están investigando nuevos marcadores útiles para identificar las células madre in situ y para su aislamiento y su purificación ex vivo.

- **Macrófagos:** La forma cambia en función de que estén fijos o libres en el tejido conectivo. Por su capacidad de fagocitosis y por participar en el mecanismo de defensa pertenecen al sistema fagocítico mononuclear y como todas las células de este sistema tienen su origen en los monocitos. Los macrófagos tisulares recién llegados de la sangre son células con gran capacidad de diferenciación, pues deben pasar por distintos estados de activación, para alcanzar su capacidad funcional. En las primeras etapas se asemejan morfológica e histoquímicamente a los monocitos y reciben la denominación de “macrófagos residentes”. Al surgir un estímulo inflamatorio, los macrófagos residentes proliferan y se expanden. Su función consiste en digerir microorganismos, y eliminar bacterias y células muertas. Además de su actividad fagocítica, están en relación con la función inmunológica. A nivel de tejido pulpar, el macrófago estimulado desempeña un papel clave en la respuesta inflamatoria e inmune durante la pulpitis.
- **Células dendríticas:** las células dendríticas de la pulpa, denominadas “verdaderas” se caracterizan por expresar moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, por poseer una morfología ramificada por tres o más prolongaciones citoplásmicas. Su función de las células dendríticas de la pulpa consiste en participar en el proceso de iniciación de la respuesta inmunológica primaria. Las células capturan los antígenos, los procesan y luego migran hacia los ganglios linfáticos. Una vez allí, las células maduran transformándose en potentes células presentadoras de antígenos, que posteriormente, las exponen a las células linfoides tipo T.

- Otras células de tejido pulpar: al examinar los componentes de la pulpa dental normal humana, se pueden identificar otros tipos celulares como linfocitos, células plasmáticas y, en ocasiones, eosinófilos y mastocitos.

La cooperación entre las distintas poblaciones celulares de la pulpa es esencial para el mantenimiento de la homeostasis normal del tejido pulpar. A este respecto es importante para la reparación del tejido que tanto las células que participan como la matriz extracelular, los vasos y los nervios mantengan un equilibrio ambiental.^{13,14}

3.3 Sustancia fundamental.

La sustancia fundamental o matriz extracelular amorfa, está constituida, principalmente, por proteoglucanos y agua. Los proteoglucanos están formados por un núcleo proteico y cadenas laterales de glucosaminoglucanos (GAG).

En la sustancia fundamental de la pulpa se han identificado fibronectina, de origen pulpar y sérico, y proteínas de la matriz fosforiladas - sialoproteína ósea (BSP) y osteopontina (OPN) y no fosforiladas, como la osteonectina, esta última en los gérmenes dentarios. La fibronectina, que es prevalente en la pulpa, es una glucoproteína extracelular, que actúa como mediadora de adhesión celular, uniendo las células entre sí y a los componentes de la matriz.

La sustancia fundamental se comporta como un verdadero medio interno, a través del cual las células reciben los nutrientes provenientes de la sangre arterial; igualmente, los productos de desecho son eliminados en él para ser transportados hasta la circulación eferente.¹⁵

¹³ Gómez de Ferraris M^a. E. Op. Cit. Pág. 234-240.

¹⁴ Cohen S. Op. Cit. Pág. 480-487.

¹⁵ Gómez de Ferraris M^a. E. Op. Cit. Pág. 241

4. CÉLULAS MADRE

4.1. La revolución del genoma humano-DNA y las nuevas técnicas de investigación científica.

El ADN es una molécula presente en todas las células de nuestro cuerpo, que contiene toda la información genética necesaria para hacer que nuestro cuerpo funcione. Se encuentra en el núcleo de cada célula, en una estructura condensada conocida como cromosoma. Su estructura fue desarrollada por dos científicos, Francis Crick Y James Jakson en 1953. Ellos descubrieron que el ADN está compuesto por dos cadenas largas complementarias en la famosa helice doble. Cada una de esas cadenas cuenta con cuatro componentes llamados base. Ellos son: adenina, guanina, timina y citocina.

Millones de esas bases están ubicadas a lo largo de la cadena, y es exactamente la disposición específica de esas bases lo que revela el código de cada componente que se presenta en cada célula. Los genes son una subunidad del ADN. Existen entre 30,000 y 40,000 genes y cada uno cuenta con las instrucciones de cómo hacer una única proteína que represente el bloque estructural básico de cada organismo. Los genes son leídos gracias a una sustancia que se encuentra en la célula llamada mARN que actúa como el mensajero que lleva las instrucciones para hacer una proteína del ADN para la fábrica de proteínas de una célula. Al llegar a la fábrica, este código se descodifica y se elabora su proteína.

Dependiendo del papel de la proteína en el cuerpo, esta permanecerá dentro de la célula o será transportada donde pueda desarrollar su función. Todas las proteínas elaboradas por la célula interactúan de forma compleja

para asegurar que nuestro organismo funcione. Para que nuestras células se dividan, el ADN tiene que ser duplicado.¹⁶ (Fig. 6)



Fig. 6 ADN ¹⁷

4.2. Odontología, células madre y clonación dental: ¿El inicio de una nueva era científica?

En un primer momento de la vida intrauterina, somos un conglomerado de células madre, que tienen la capacidad de diferenciarse en los tejidos que constituyen los órganos que nos forman. Las células madre, por lo tanto, poseen la capacidad de dar origen a diversos tejidos. Pueden ser adquiridas en fase embrionaria o adulta.

Su uso en la odontología fue objeto de estudios en los más avanzados centros de investigación del mundo. Cabe destacar el énfasis dado por Melcher, desde 1976, a la función formadora del ligamento periodontal y a la importancia de las células mesenquimales no diferenciadas, presentes en

¹⁶ Elias R. Odontología para pacientes con necesidades especiales, Una visión clínica, 1ª ed. Madrid; Editorial Ripano S.A., DL. 2008. P.p. 81-82.

¹⁷ Imagen tomada en: <http://dna-power.over-blog.com/article-celulas-madre-48791928.html>

esta estructura. Particularmente, la periodoncia emprendió los estudios pioneros en el tema y también otros trabajos sobre la regeneración tisular guiada, que fueron perfeccionados a partir de 1987.

En la actualidad, se buscan células no diferenciadas capaces de generar tejidos mineralizados, incluso aunque no exista una metodología para la manipulación y utilización de esos elementos fuera de los centros de investigación. No obstante, ya se consiguió la formación de elementos dentales, en ratones, a través del desarrollo de células madre adultas obtenidas de la pulpa dental.

Se prevé que, en aproximadamente una década, será posible la obtención de elementos dentales completos, que contengan esmalte, cemento, pulpa, ligamento periodontal y con una perfecta inserción en el hueso. Inglaterra, Alemania, Finlandia, Suecia, Dinamarca, Noruega y los Estados Unidos presentaron literatura promisorio en este aspecto, anticipando que será necesario un tiempo promedio de aproximadamente 4 meses para la formación del diente completo.

Existen indicios de que, una vez obtenido el germen dentario, éste puede ser implantado en el organismo: por lo tanto, se tratará de un cuerpo orgánico que se desarrolla y erupciona en el sitio deseado. El próximo organismo intervendría, a través de un mecanismo biointeractivo con la matriz originaria de las células madre, en la formación del elemento dentario más próximo a la necesidad funcional en ese lugar.¹⁸

4.3. Historia de la investigación con células madre

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

¹⁸ Elias R. Op. Cit. Pág. 98-99

células, hasta el año de 1900, se descubrió que tenían la capacidad de generar las células sanguíneas.

Se hicieron intentos para fertilizar los óvulos de los mamíferos fuera del cuerpo humano y en el año de 1900, se descubrió que algunas células tenían la capacidad de generar las células sanguíneas.

En 1968, el trasplante de medula ósea primero se realizó para tratar con éxito a dos hermanos con inmunodeficiencia combinada grave. Otros eventos clave en la investigación con células madre son:

- 1978: Las células madre fueron descubiertas en la sangre del cordón umbilical humano.
- 1981: Primera línea de células madre in vitro desarrollado a partir de ratones.
- 1988: Líneas de células madre embrionarias creadas a partir de un hámster.
- 1995: Primeras células madre embrionarias. (línea celular derivada de un primate,)
- 1997: Oveja clonada a partir de células madre.
- 1997: Se encuentran células madre hematopoyéticas, lo que indica posible tratamiento en Leucemia.
- En 1998 James Thomson de la Universidad de Wisconsin, aisló células del blastocito y desarrollo la primera línea de células madres embriónicas humanas. Al mismo tiempo, John Gearhart (Johns Hopkins University) reporta el aislamiento de células madres a partir de células primordiales
- En enero de 1999, el equipo de Angelo Vescovi, (Instituto Nacional de Neurobiología de Milán), publica en la revista Science la descripción del cultivo y diferenciación de células madres nerviosas de ratas adultas en células hematopoyéticas.

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

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

En el año 2006 se aíslan células madre embrionarias humanas derivadas de blastómeros únicos y en enero del 2007 también del líquido amniótico en humanos y ratones.

En el 2008, Chung y cols., informaron los aislamientos exitosos de células madre embrionarias a partir del blastocito, sin producir la destrucción embrionaria.

Hoy en día: la investigación con células madre ha progresado, ya que existen estudios de investigación publicados cada año en revistas científicas. Los investigadores aún tienen un largo camino por recorrer antes de que se controlen por completo la regulación de las células madre en dientes.^{19,20}

4.4. ¿Qué son las células madre?

Las células madre se definen como células pluripotentes, capaces de diferenciarse en múltiples tipos de células. Hay muchos tipos de células madre en el cuerpo humano, aunque algunos son más diferenciados a una

¹⁹ Tomado de <http://www.explorestemcells.co.uk/HistoryStemCellResearch.html>

²⁰ Céspedes-Martínez DI, Perona-Miguel de Priego G. Futuro de la odontología restauradora. Rev Estomatol Herediana. 2010; 20(1):44-45.

función especial que otros. El término de célula madre "comúnmente se usa para referirse a las células en el organismo adulto que renuevan los tejidos." Aislado por primera vez en 1997 por investigadores de la Johns Hopkins Medical Institution; las células madre embrionarias son una adición bastante reciente a células madre. Las células madre embrionarias se diferencian de cualquier célula madre adulta, sólo se encuentran en las primeras etapas del desarrollo embrionario y son totipotentes, es decir, pueden formar cualquier tipo de célula adulta. Otro tipo de célula madre que tiene propiedades similares a las embrionarias son las células germinales embrionarias, derivadas de las células primordiales reproductivas del feto en desarrollo, las células madre se agrupan en una sola categoría, sin embargo, todas las células madre no comparten características comunes o las mismas fuentes y es importante distinguir entre varios tipos de células madre.²¹ (Fig. 7)

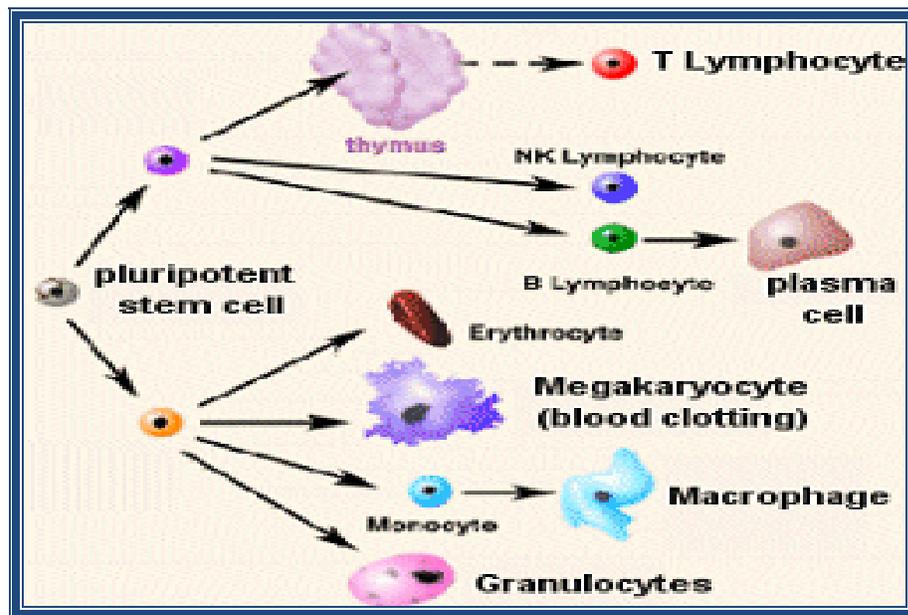


Fig. 7 ²²

²¹ Bishop AE, Butteri LDK, Polak JM. Embryonic stem cells. J Pathol (internet) 2002; 197:424-9.

²² Imagen tomada de http://ciencia.nasa.gov/media/medialibrary/2004/08/19/19aug_blood_resources/stemcells1_med2.

Estudios en células madre: Las células madres son células que después de los primeros períodos de vida tienen el potencial de transformarse en una célula de tipo nerviosa o muscular. Existe mucho interés en relación con estas células, ya que ellas podrán ser usadas para reparar órganos dañados, regenerar partes defectuosas del cerebro y de la espina dorsal, e incluso ser transformadas en órganos completos para trasplantes.²³

Las células madre provienen de dos fuentes:

- 1) de embriones nuevos, cuando aún están destinados a transformarse en diferentes células del cuerpo.
- 2) Y de un adulto en los que estas células sustituyen a células muertas, para mantener y reparar el tejido.

Definición de células madre:

Llamamos células madre o célula troncal, a un tipo especial de célula indiferenciada que tiene la capacidad de generar uno o más tipos celulares diferenciados sin perder sus propiedades. Una célula madre es capaz de autorrenovarse mediante divisiones mitóticas o bien de continuar la vía de diferenciación para la que está programada y, por tanto, producir uno o más tejidos maduros, funcionales y plenamente diferenciados en función de su grado de multipotencialidad.

La mayoría de los tejidos de un individuo adulto poseen una población específica propia de células madre que permiten su renovación periódica o su regeneración cuando se produce algún daño tisular. Algunas células madre son capaces de diferenciarse en más de un tipo celular, otras se cree

²³ Smucker B. *Investigación de células madre: Antecedentes, historia, política actual, y los aspectos éticos (Internet)*. Última visita 2011/03/23 disponible en: <http://www.goshen.edu/bio/Biol410/BSSpapers99/bensmucker.html>

que son precursoras directas de las células del tejido en el que se encuentran, como las células madre de la piel o las células madre germinales y también hay otras que habitualmente no se dividen, pero en condiciones particulares pueden proliferar y regenerar un tejido pues artificialmente tienen la capacidad de reproducirse y generar otros tejidos.²⁴

4.5. Fuentes de células madre.

Actualmente las fuentes de células madres son: Carcinoma embrionario, medula ósea, sangre periférica, blastómeros, masa celular interna, cresta germinal interna, pulpa dentaria, sangre del cordón umbilical, piel y retina.²⁵ (Fig. 8)²⁶

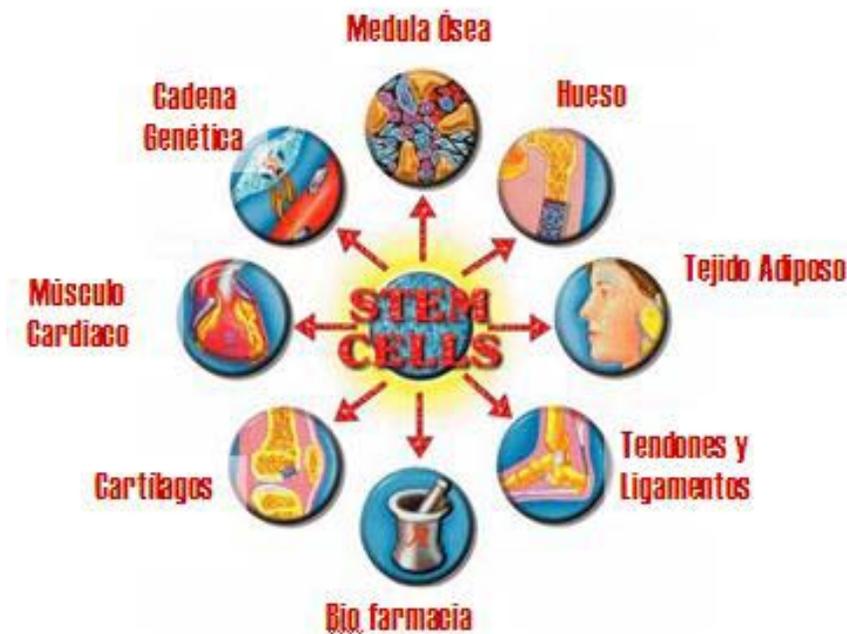


Fig. 8 Diferentes fuentes de células madre.

²⁴ Tomada de Tesina Soláis N. Células Madre adultas. 2009. Pág. 5-6

²⁵ Martínez C. Op. Cit. Pág. 45.

²⁶ Imagen tomada de <http://celulas%2Bmadre.jpg&imgrefurl=http://temas-biologia.blogspot.com/2009/04/celulas-madre.html&usq>

4.6. Tipos de células según el sitio de obtención.

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

4.6.1. Células madre embrionarias

Estas células son capaces de diferenciarse a más tipos de tejidos que las células madre adultas. Originadas de la masa celular interna del embrión en etapa de blastocito estructura a partir del cual se originarán las tres capas que darán origen 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 terapia celular para regeneración tisular. Sirven de fuente para obtener células germinales (espermatozoide y óvulo); y son aisladas directamente de la cresta germinal, para después ser utilizadas en cultivos para lograr fertilidad.²⁷

Cuando un óvulo es fecundado adquiere la condición de cigoto, y durante su recorrido por la trompa de Falopio se van produciendo distintos períodos de división celular que aumentan rápidamente 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 llega a la cavidad uterina, y sobre los 5 días, comienza a introducirse líquido en su interior para formar una cavidad: el blastocelo. En esta etapa, el cigoto se llama blastocisto y posee en uno de sus polos una agrupación celular que recibe el nombre de masa celular interna o

²⁷ Eugenia. M. células madre un nuevo concepto de medicina regenerativa. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/end/vol15_2_04/end07204.htm

embrioblasto. Las células que la integran dan origen a todos los tipos celulares, sistemas, tejidos y órganos del individuo en formación. Un aspecto que debe quedar bien esclarecido es que las células de la masa interna no mantienen indefinidamente *in vivo* su capacidad de 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 se cultivan *in vitro*, sí 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 es que se califican 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 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 someten a cultivo. Históricamente, el término de célula madre embrionaria se introdujo en 1981 para distinguir las células embrionarias procedentes de la masa celular interna, de aquellas derivadas de teratocarcinomas y que también poseen la capacidad de diferenciarse en distintos tipos celulares.

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

Cuando las células embrionarias se extraen en estas condiciones comienzan a diferenciarse espontáneamente.²⁸

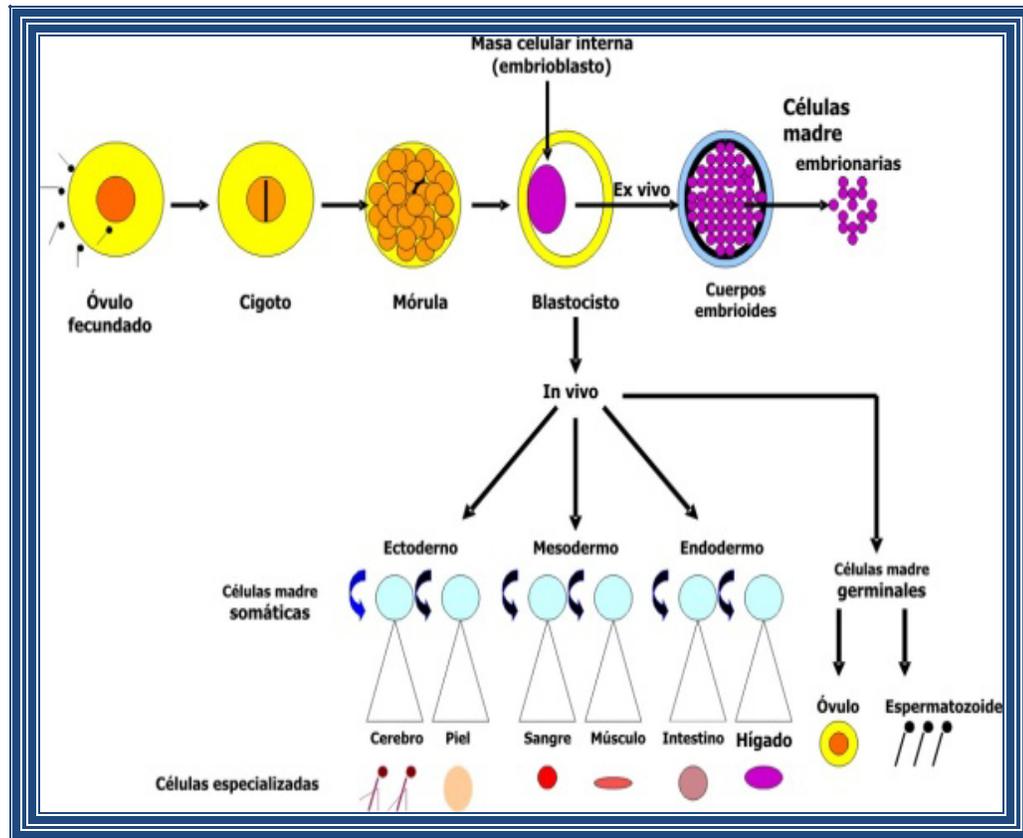


Fig. 9. Esquema simplificado de la generación de células madre embrionarias y somáticas.²⁹

4.6.2. Células madre Adultas

En un individuo adulto se conocen hasta ahora alrededor de 20 tipos distintos de células madre, son células indiferenciados con propiedades de auto renovación de tejidos en continuo desgaste (como piel y sangre), o dañados (como el hígado). Las células madre adultas tienen un gran potencial de diferenciación y quizá más facilidades que las células

²⁸ Hernández P. Dorticós E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. Revista cubana hematología. 2004. 20 (3) Pág. 2-4.

²⁹ Hernández P. Op. Cite. Pág. 3

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 división asimétrica, son capaces de tomar localización, forma y función adecuados para diferentes ambientes celulares. Se ha señalado la existencia de células madre adultas en varios sitios del organismo, que incluyen: médula ósea, sangre periférica, sangre del cordón umbilical, cerebro, médula espinal, grasa, pulpa dentaria, vasos sanguíneos, músculo esquelético, piel, tejido conjuntivo, córnea, retina, hígado, conductos pancreáticos, folículo piloso, tejido gastrointestinal y pulmón. Pero se piensa que aun son desconocidas todas las áreas donde existirían células madre.

Clásicamente se ha 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. Se ha señalado que en su evolución el organismo sitúa en los tejidos células madre somáticas como parte de los mecanismos que emplea para su renovación en condiciones fisiológicas o ante un daño hístico.

Sin embargo, en los últimos años, se han realizado varios estudios que han aportado resultados sorprendentes, pues sugieren que la potencialidad de algunos tipos de células madre adultas es mayor de lo esperado, ya que han mostrado en determinadas condiciones capacidad para diferenciarse en células de diferentes linajes. El caso más destacado es el de las células madre hematopoyéticas capaces de diferenciarse en diversos tejidos, entre ellos endotelio, músculo cardíaco, músculo estriado, hepatocitos, neuronas, piel e intestino.

Aunque se ha planteado que los criterios establecidos para definir a una célula madre adulta son difíciles de comprobar experimentalmente, se ha señalado que la mayor parte de los criterios que cumplen las células madre embrionarias los satisfacen también la célula madre hematopoyética, pues esta puede tener 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 además se ha observado su implantación en tejidos sanos.

Recientemente, estos criterios se han aplicado también para identificar otras células madre adultas, como es el caso de la célula madre del tejido nervioso. Todos estos hallazgos han ampliado los conocimientos sobre las células madre adultas, y particularmente los relacionados con el mayor potencial generativo de algunos de sus tipos que lo acercan al de las células embrionarias.

Esto ha creado nuevas perspectivas para el tratamiento de diferentes enfermedades con células madre adultas, lo que inicialmente se pensaba solo podía hacerse con células madre embrionarias.³⁰

4.7. 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 con el orden de su desarrollo. De acuerdo con su potencial de diferenciación las células madre se han clasificado en: totipotentes, pluripotentes, multipotentes, y unipotentes.³¹

³⁰ Eugenia M. Op. Cit. Pág. 4

³¹ Hernández P. Op. Cit. Pág. 3-5

4.7.1. Células Madre Totipotentes

Del latín totus; que significa completo, hace referencia al potencial que tienen estas células de generar un embrión completo.

El cigoto, es capaz de dar origen a los componentes embrionarios, como los extraembrionarios.

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

Estas células en condiciones apropiadas son capaces de formar un individuo completo, 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.

4.7.2. Células Madre 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.

Aunque estas células por sí solas no pueden producir un individuo, ya que necesitan el trofoblasto; sí originan todos los tipos de células y tejidos del organismo.

4.7.3. Células Madre Multipotentes

Son aquellas que solo pueden generar células de su propia capa o linaje embrionario de origen (por ejemplo: una 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 adultos.

4.7.4. Células Madre 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.^{32,33}

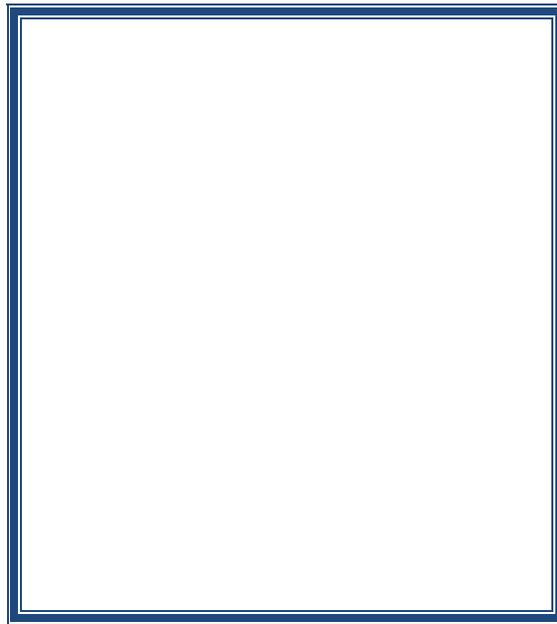


Fig. 10 Tipos de células.³⁴

³² Hernández P. Op. Cit. Pág. 3-4.

³³ Solais N. Op. Cit. Pág. 6-8.

³⁴ Imagen tomada de http://www.babycellspain.es/IMGS/generalidades_2.jpg

5. CELULAS MADRE EN ODONTOLOGÍA

Las células madre están presentes desde la vida embrionaria hasta la vida adulta, son las responsables de la formación del embrión y, también, del mantenimiento de los tejidos durante toda la vida. Estas células son virtualmente totipotentes, o sea, presentan la capacidad de generar cualquier tejido del organismo.

5.1. Células madre en la cavidad bucal.

Se han identificado 5 grupos principales de células madre en la cavidad bucal, de tejidos específicos.

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

Los trabajos publicados en 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 pueden ser usados en la bioingeniería, para recrear la totalidad de la corona dental formada por esmalte, dentina y tejido pulpar, todo esto con una correcta anatomía. Según Sloan y col. la identificación y aislamiento de una población progenitora odontogénica en la pulpa dental adulta se reportó primero por

Gronthos et al., en el año 2000. Estos autores describieron la identificación de las células madre pulpares en virtud a sus habilidades clonogénicas, tasas proliferativas rápidas y capacidad de formar tejidos mineralizados ambos in vivo e in vitro.^{35,36}



Tipos de células en cavidad bucal.³⁷

³⁵ Cruañas. A. Estomatología Regenerativa. De las células madres a la Ingeniería Tisular. (Internet) disponible en: www.16deabril.sld.cu/rev/230/articulo7.html

³⁶ K. Iohara, M. Nakashima, M. Ito, M. Ishikawa, A. Nakasima, and A. Akamine Dentin Regeneration by Dental Pulp Stem Cell Therapy with Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 2 J. Dent. Res, 2004; 83(8): 590 - 595.

³⁷ Tabla tomada de <http://www.gacetadental.com/imagenes/cienluis04.jpg>

5.1.1. Células madre en pulpas de dientes temporales (SHED CELLS):

El odontopediatra Songtao Shi, del Instituto Nacional Dental de Investigaciones Craneofaciales de Bethesda, Maryland en sus experimentos iniciales utilizó un diente de su hija: “Una vez que se le cayó comenzamos a mirarlo cuidadosamente”, dijo Shi. Al observar en este tejido de color rojo, lo extrajo y lo examinó en el laboratorio, y 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.³⁸

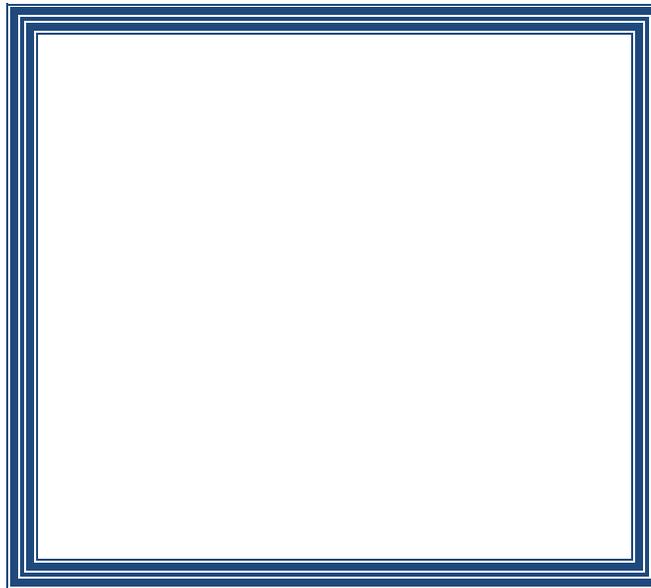


Fig. 11 Odontopediatra Songtao Shi.³⁹

Los dientes deciduos y los permanentes tienen importantes diferencias en cuanto a su función, proceso de desarrollo y estructura tisular, y al

³⁸ M. Miura, S. Gronthos, M. Zhao, B. Lu, L. W. Fisher, P. G. Robey, and S. Shi SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth PNAS, May 13, 2003; 100(10): 5807 - 5812.

³⁹ Imagen tomada de www.solociencia.com

comparar las SHED con las DPSC, se encontró una mayor velocidad de proliferación y una 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.⁴⁰

Las células madre, se sometieron a factores tisulares de crecimiento diferenciado en cultivos y se logró la diferenciación en células nerviosas, adipocitos y odontogénicas, identificadas clínica e inmunofenotípicamente. Estas células, fueron trasplantadas a tejido cerebral y dérmico en ratas inmunocomprometidas y desarrollaron características nerviosas, muy replicables y viables.⁴¹

También 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.⁴²

⁴⁰ 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.

⁴¹ Miura M. *Op. Cit.* Pág. 5807-5812.

⁴² Zhao Z, Wang Y, Wang D, Liu H. The Regulatory Role of A Disintegrin and Metalloproteinase 28 on the Biologic Property of Human Periodontal Ligament Stem Cells. *J Periodontol*. 2010; 81:934-944.

En cuanto a la capacidad osteoinductora, se ha comprobado, en ratones, que las SHED pueden reparar defectos de formación ósea. Así, los dientes deciduos no sólo favorecerían la guía eruptiva de los dientes permanentes, también pueden estar involucrados en la inducción ósea durante la erupción del permanente.⁴³

Una investigación ultraestructural con microscopio electrónico del tejido y la estructura pulpares implantados dentro de dientes tratados endodónticamente, concluyó que es posible implantar dichas estructuras pulpares creadas gracias a la ingeniería tisular dentro de los dientes tras su limpieza y conformación.⁴⁴

Así, estas células, presentes en todos los individuos, resultan una fuente segura de un material replicable para producir dentina y tejido neurológico autogénico.^{45,46}

5.1.2. Células madre en pulpas 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 estudios posteriores, se las empezó a relacionar con características endoteliales y vasculares, pero no ha sido hasta años después cuando se aislaron, determinando sus características.

⁴³ Miura. M. Op. Cit.

⁴⁴ Gotlieb EL, Murray PE, Namerow KN, Kuttler S, García-Godoy F. An Ultrastructural Investigation Of Tissue-Engineered Pulp Constructs Implanted Within Endodontically Treated Teeth. J Am Dent Assoc. 2008; 139:457-465.

⁴⁵ Cruañas. A Op. Cit.

⁴⁶ Disponible en <http://www.gacetadental.com/noticia/8337/CIENCIA/investigaci%C3%B3n-c%C3%A9lulas-madre-origen-dentario-actualizaci%C3%B3n.html>

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 estas células 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 (DPSCs) han demostrado que pueden resolver todas 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 por diferentes razones. 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 observar 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 los animales y a las 4 semanas, las ratas sometidas a este tratamiento celular mostraron una mejora en su función cardíaca.

Con las mismas capacidades prácticamente que las DPSC, se puede hablar de un subtipo: las DPSC procedentes de dientes neonatales, las hNDPSC (human Natal Dental Pulp Stem Cells) ofrecían una mayor

capacidad de proliferación que las propias células de la médula ósea, aunque sin grandes diferencias al compararlas con las DPSC.

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.⁴⁷

5.1.3. Células Madre presentes en espacios periodontales (PDLSCs):

Varios estudios afirman que el ligamento periodontal tiene poblaciones de células que pueden diferenciarse tanto hacia cementoblastos como hacia osteoblastos. La presencia de múltiples tipos de células en el periodonto sugiere que este tejido contiene C.M. llamadas PDLSC (Periodontal Ligament Stem Cells) que mantienen la homeostasis y la regeneración del tejido periodontal.

Estas células aparecen en racimos en la vecindad de los vasos sanguíneos periodontales y presentan características semejantes a las células madre embrionarias.

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

⁴⁷ D'Aquino R, Papaccio G, Laino G, Graziano A. Dental Pulp Stem Cells: A Promising Tool For Bone Regeneration. Stem Cell Rev. 2008; 4:21-26.

con fibras 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 de 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.⁴⁸

Una de las más prometedoras investigaciones con PDLSCs es la que las vincula a la hipoplasia congénita radicular, una enfermedad caracterizada por ser un desorden evolutivo fisiológico de la raíz que cursa con displasia ectodérmica, movilidad dentaria, atonía 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 estudió la influencia del gen ADAM28 en la proliferación, apoptosis y diferenciación de las PDLSCs en terceros molares impactados.⁴⁹

Los resultados obtenidos parecían mostrar que este gen, tiene una regulación efectiva en la proliferación de PDLSCs, así como su apoptosis durante la morfogénesis dentaria, lo que podría ser el principio de un tratamiento efectivo, hasta ahora inexistente, de la hipoplasia congénita radicular⁵⁰

⁴⁸ Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal Stem Cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in Regenerative Medicine. J Dent Res 2009; 88(9):792-806.

⁴⁹ B.-M. Seo, M. Miura, W. Sonoyama, C. Coppe, R. Stanyon, and S. Shi Recovery of Stem Cells from Cryopreserved Periodontal Ligament J. Dent. Res., October 1, 2005; 84(10): 907 – 912.

⁵⁰ Cruangas. A. Op. Cit.

5.1.4. Células Madre de la Papila Dental (SCAP).

La papila apical hace referencia al tejido blando situado en los ápices del diente permanente que se está formando. Existe una zona muy rica en células entre la papila apical y la pulpa. Es interesante destacar que, sin estimulación neurológica, las SCAP se muestran positivas para varios marcadores neurológicos, pero cuando se someten a estimulación neurológica, el número de marcadores aumenta notablemente.

Parece que las SCAP son las precursoras de los odontoblastos primarios, responsables de la formación de la dentina radicular, mientras que las células madre de la pulpa (DPSC) son, probablemente, las precursoras de los odontoblastos que forman la dentina reparativa. Además, éstas últimas, contienen un mayor componente vascular y celular que las SCAP. Se utilizaron las SCAP para conseguir raíces mediante ingeniería tisular utilizando cerdos como modelo experimental y así probar que son una fuente prometedora para las futuras aplicaciones clínicas.^{51,52.}

5.1.5. Células madre del folículo dental (DFPC).

El folículo dental es un tejido ectomesenquimal que rodea el órgano del esmalte y la papila dental del germen del diente permanente en formación. Este tejido contiene C.M., que son las que acabarán formando el periodonto, constituido por cemento, ligamento, hueso alveolar y encía. Las DFPC han sido aisladas de los folículos dentales de los terceros molares impactados. Son semejantes al resto de células madre de origen dental pero constituyen colonias clonogénicas en menor número que los demás tipos.

⁵¹ Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S et al. Characterization of Apical Papilla and its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth –A Pilot Study. J Endod. 2008; 34(2):166-171.

⁵² Cruangas. A. Op Cit

In vitro, estas células muestran una morfología típica de fibroblastos. Después de inducción, se ha demostrado 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 reducido recuento celular en los cultivos.⁵³

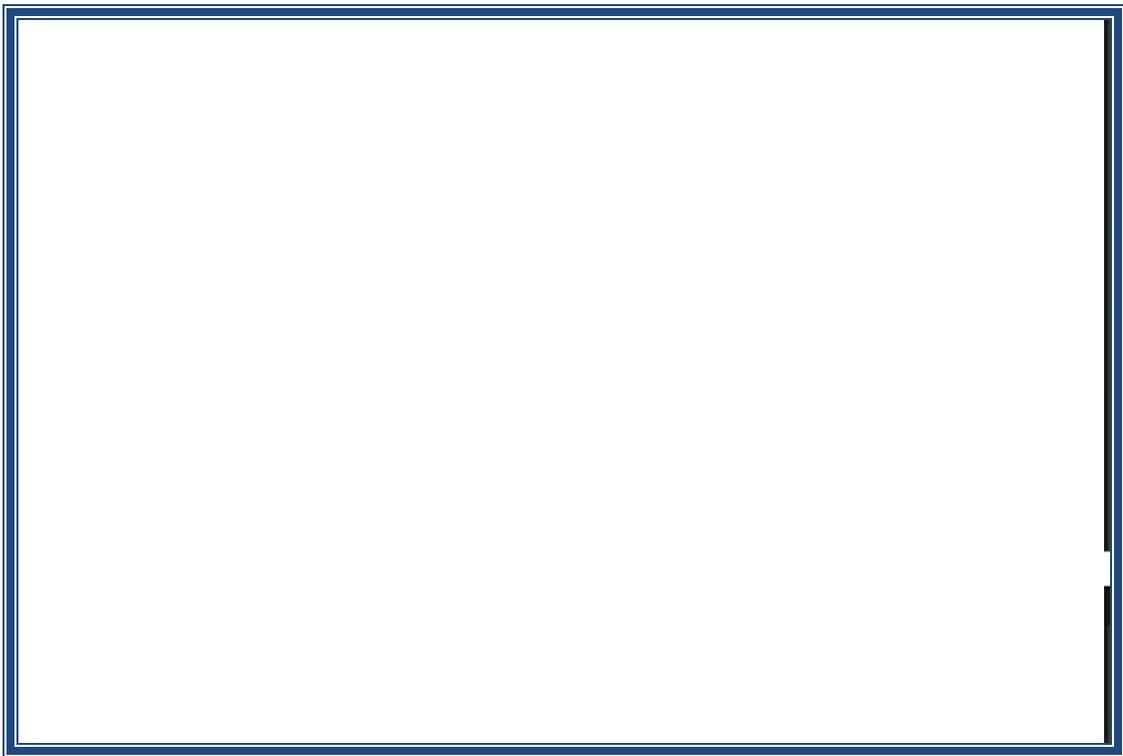


Fig. 12

⁵³ Huang GTJ, Op. Cit. Pág. 792-806.

5.2. Uso de células madre en odontología.

Desde la antigüedad el hombre ha tratado de hacer frente a los problemas dentales, adaptando y creando materiales que le devuelvan la funcionalidad y estética perdida por la ausencia de piezas dentarias. No obstante ahora en el mercado podemos encontrar infinidad de materiales para lograr este propósito. Si nos dieran dos opciones: Restaurar nuestros dientes con el mismo material del que fueron hechos o restaurar nuestros dientes con un material que se asemeja mucho, seguramente elegiríamos la primera opción, ya que: ¿a quién no le gustaría que le restauraran su diente con una lesión de caries dental, fractura, etc., con el mismo material natural de este y que no necesite cambiarlo?

Hoy en día hay estudios que han comprobado que podemos reconstruir un diente y sus partes, no perfectamente en 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 fijas o implantes.⁵⁴

La ingeniería tisular basada en C.M.D 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 encuentran todo tipo de células madre dentarias; sin embargo, para reparar parte de algún tejido dentario (dentina, pulpa, ligamento periodontal), aislado, podrían ser necesarios uno o dos tipos de células madre.⁵⁵

⁵⁴ Martínez C. Op. Cit. Pág. 45-46

⁵⁵ Huang GTJ. Op. Cit. Pág. 792-806.

5.3. Científicos recrean dientes a partir de células madre.

Algunos grupos de investigadores creen que, en este momento, la odontología presenta unos de los desarrollos más promisorios en el área de la bioingeniería. Paul Sharpe, director de desarrollo craneofacial en el King's college de Londres, afirma que “El objetivo es que, 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 y, con eso, surgió la posibilidad de crear órganos desde cero”. Los dientes son un objetivo atractivo para los bioingenieros. 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 puede simplemente extraerlo y comenzar de nuevo, algo mucho menos arriesgado que implantar un hígado creado por ingeniería genética y que éste deje de funcionar.

El inmenso mercado estadounidense de la odontología estética testimonia el anhelo de que haya, por lo menos, un país con sonrisa perfecta. Los fundadores de la Dentígenix, una empresa estadounidense creada en noviembre del 2005, planean adquirir licencias para utilizar técnicas desarrolladas por otros investigadores que trabajan con restauraciones dentarias y regeneración de dientes integrales.

Existen innumerables motivos para creer que la regeneración de dientes es viable, según Mary MacDougall, directora asociada de la escuela de odontología de la Universidad de Texas. Muchos de los vertebrados inferiores desarrollan constantemente nuevos dientes y algunas especies de tiburones producen miles de dientes durante su vida.

Aunque los mamíferos hayan perdido esa capacidad hace mucho tiempo, las personas con ciertas enfermedades genéticas, de hecho, generan dientes adicionales.

La postura de los optimistas fué estimulada por la confirmación de que existen células madre dentales. Las células madre tienen capacidad increíblemente valiosa de desarrollarse en forma de diferentes tipos de tejido. En el pasado se consideraba que estaban presentes exclusivamente en embriones, ahora se sabe que ellas, de hecho, persisten en muchos tejidos. Hace dos años, Songtau Shi, y cols. del Instituto Nacional de la salud de Estados Unidos, descubrierón 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 soluciones de Petri. La mayor parte de las células murió, pero algunas continuaron creciendo y dividiéndose, una clara señal de que se trataba 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 próximo 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 nerviosas y sanguíneas, desarrollará cemento y ligamento propios. Según el odontólogo Humberto Cerruti Filho, la utilización de la investigación en odontología en relación con las células madre es, hoy escasa. “Tal vez en un futuro sea mayor”. Actualmente la célula madre puede ayudar en injertos óseos y en intentos de restauración de ligamento periodontal.⁵⁶

Células madre aplicadas a la rehabilitación oral

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

La investigación, publicada en la edición de julio del importante periódico de odontología, 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 de rechazo, contrariamente a las tentativas hechas con células embrionarias, en la etapa inicial de desarrollo.

⁵⁶ Elias. R. Op.Cit. Pág. 94-95

Los investigadores retiraron células de gérmenes dentales que fueron cultivadas en laboratorio y después agregadas a matrices hechas de polímero biodegradable. Estas matrices fueron implantadas 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 bajos ingresos. Según el presidente de la asociación brasileña de odontología, Norberto Francisco Lubiano, en su opinión la ciencia produjo medios para comprender los factores que llevan a la destrucción de los dientes.⁵⁷

5.4. Creación del órgano dental.

Una estrategia que refieren los autores son 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 (scaffold) células de odontoblastos, ameloblastos y de ligamento periodontal para la creación de una nueva pieza dentaria. Se inoculó células madre de incisivos y molares dentales en la capa sub-renal de ratones de laboratorios con bioingeniería, 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.^{58,59}

⁵⁷ Elias. R. Op. Cit. Pág. 90-91

⁵⁸ Martinez C. Op. Cit. Pág. 48

⁵⁹ Nakahara T, Ide Y. Tooth regeneration: implications for the use of bioengineered organs in first-wave organ replacement. Hum Cell. 2007; 20(3):63-70.

5.4.1. Creación de pulpa dental.

¿Dónde se encuentran las células madre en la pulpa dental?.

Según Bluteau et al., refieren que en el año 2008 se encontraron dos sitios diversos de células madres sugeridos: pulpa propiamente dicha (Harada et al. en el año 1999, Mitsiadis et al. en el año 2007) y zona rica en células (Shi y Gronthos, en el año 2003). Según Sloan et al., refieren que en el año 2009 se encontraron en las siguientes capas: zona pobre en células (Zona basal de Weil), zona rica en células, pulpa propiamente dicha.

¿Cómo se crea la pulpa dental?.

Se utilizan células madre de la pulpa dental adulta o células madre de dientes deciduos, junto con células endoteliales microvasculares humanas (para diseñar vasos sanguíneos funcionales) que son inoculadas en un depósito hecho de colágeno, un material reabsorbible y luego son implantadas en el tejido subcutáneo de ratones inmunodeficientes. Después de un periodo de 14 a 28 días, los autores observaron que el tejido pulpar diseñado se asemejaba a la pulpa dental normal. Cuando hay piezas con ápice incompleto y sufren un trauma, son piezas dentales muy frágiles, lo ideal en estos casos es hacer una inducción del cierre apical y su posterior tratamiento endodóntico convencional.

Con la bioingeniería podríamos dar lugar a la creación de nuevo tejido pulpar que permitiría la finalización del desarrollo radicular y prevenir perdidas prematura de piezas dentales.^{60,61}

⁶⁰ Martínez. C. Op. Cit.

⁶¹ Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. Eur Cell Mater. 2008; 16:1-9.

5.4.2. Creación de dentina

La creación de la dentina tiene mucho que ver con la creación de la pulpa ya que a partir de células madre de la pulpa esta genera dentina reparativa y a su vez propiamente dentina. Gronthos et al; en el año 2000 encontró que las células madre pulpares son trasplantadas con hidroxapatita más fosfato tricálcico en ratones inmunocomprometidos, estas células generan estructuras similares a la dentina, con fibras colágenas perpendiculares a la superficie mineralizada, tal como ocurre normalmente in vivo, en presencia de la sialoproteína dentinal. Lohara et al, en el año 2004, demostraron que la dentina desmineralizada puede inducir la diferenciación de las células madre pulpares en odontoblastos, lo cual resulta en formación de dentina.

Los odontoblastos pueden sobrevivir a lesiones leve, tales como atrición o caries de aparición temprana y secretan una matriz de dentina reparativa, sin embargo un trauma mayor como una caries avanzada o procedimientos restauradores pueden conducir a la muerte de los odontoblastos. Numévar-Nino et al., refieren que Gronthos y col. caracterizaron estas células por medio de marcadores específicos y observaron su capacidad de autorregeneración, diferenciación a múltiples linajes y su capacidad clonogénica, hallando células madres pulpares capaces de formar dentina asociada con tejido pulpar in vivo. Cuando se aplica directamente a las áreas de la exposición pulpar, la dentina desmineralizada induce a la formación local de tejidos mineralizados. Se usaron depósitos hechos de colágeno con la dentina desmineralizada y ésta se colocó en lugares con exposición pulpar, dando lugar a la producción de dentina reparativa en un período de 2 a 4 meses.^{62,63}

⁶² Martínez C. Op Cit. Pág. 47,48.

⁶³ Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. Oper Dent. 2006; 31(6):633-42.

5.4.3. Creación del esmalte.

Es considerado el material más duro y resistente del mundo biológico y a diferencia del hueso, el esmalte dental de un organismo adulto no contiene células por lo que no es capaz de regenerarse y cualquier deterioro que sufre resulta irreversible. El esmalte está formado principalmente por material inorgánico 96% y solo 4% de material orgánico y agua. Actualmente, se ha diseñado un esmalte sintético que imita la formación de estos prismas dando la apariencia de un esmalte natural pero estos prismas ya no son compuestos de hidroxiapatita sino por la bioingeniería, éstos prismas diseñados se llaman nanoapatitas. Las células que forman el esmalte (los ameloblastos), experimentan apoptosis en cuanto elaboran la matriz de esmalte, de manera que no quedan ameloblastos una vez que ha terminado el proceso de amelogénesis. Por lo tanto, la formación de esmalte no es posible en dientes ya erupcionados, porque las células progenitoras ya no están presentes. Los nanobastones de hidroxiapatita resultan ser similares en tamaño y composición a los cristales del esmalte natural. Estos nanobastones tienen un fuerte potencial a servir como una plataforma para el desarrollo de materiales restaurativos fluidos diseñados para restaurar el esmalte perdido. La creación de esmalte sintético a base de nanopartículas llamadas nano hidroxiapatitas presentan el siguiente proceso: se coloca las nanohidroxiapatitas en un contenedor con agua y solvente, se espera un tiempo y a su vez el agua se va evaporando, las nanohidroxiapatitas van transformándose en prismas que se asemejan a los primas de hidroxiapatita; el esmalte sintético es similar al esmalte natural y solo hay una diferencia: es más resistente y contiene flúor.^{64,65}

⁶⁴ Martínez C. Op. Cit. Pág. 46-48

⁶⁵ Jiménez San Juan I, Abella A, Manzanares M. Avances en regeneración celular en odontología: perspectivas de futuro, DENTUM 2007;7(3):124-130.

5.5. Educar para prevenir: el triunfo de la odontopediatría.

El reciente descubrimiento de la presencia de células madre en la pulpa de dientes exfoliados se considera un importante paso para la inducción de la formación de estructuras dentarias a partir de la ingeniería de tejidos. Al ser expandidas en cultivo, estas células demostraron tener potencial para diferenciarse en odontoblastos, neuronas y células adiposas. Al ser implantadas, fueron capaces de organizar tejidos dentales in vivo.⁶⁶

Fig. 13

⁶⁶ Elias R. Op. Cit. Pág. 96-97.

6. SHED: Células madre de dientes deciduos exfoliados.

La obtención de células madre a partir de dientes deciduos está basada en la firme creencia de que la medicina personalizada es la vía más prometedora para el tratamiento de enfermedades complicadas y lesiones que podrían ocurrir a lo largo de toda la vida. La terapia de células madre ha sido usada en todo el mundo para tratar estas condiciones, y la promesa del tratamiento con este tipo de células ha sido poco revelada hasta el momento.

Existe una abundante fuente de células madre adultas en los dientes humanos deciduos exfoliados (SHED). Estudios recientes han demostrado que las SHED poseen la capacidad de convertirse en más tipos de tejidos que otra clase de células madre.



Fig. 11 Células madre en dientes deciduos exfoliados.⁶⁷

⁶⁷ Imagen tomada de <http://www.dentistasenqueretaro.com/www.dentistasenqueretaro.com/Fotografias/CELULA-MADRE->

Investigadores han descubierto que la pulpa dental de 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, y ALS (esclerosis lateral amiotrófica o enfermedad de Lou Gehrig); enfermedades crónicas del corazón como insuficiencia cardíaca y cardiopatía isquémica crónica; enfermedades periodontales o hasta desarrollar dientes y tejido óseo.⁶⁸

Aún queda mucho por investigar sobre este tema, pero actualmente se ha demostrado que los dientes temporales son una mejor fuente de 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.⁶⁹

6.1. Banco de células madre de dientes humanos deciduos exfoliados (SHED)

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.

⁶⁸ Abbas, Diakonov I., Sharpe P. Neural Crest Origin of Dental Stem Cells. Pan European Federation of the International Association for Dental Research (PEF IADR). Seq #96 - Oral Stem Cells: Abs, 0917, 2008

⁶⁹ Arora. V., Arora. P., Munshi AK. Banking Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED): Saving for the future. 2009. 33 (4): 290

En 2003 el doctor Songtao Shi documento 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 del 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. y col. (2005) realizaron 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 heterogenea 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.

No hay duda de que las células madre de origen dental tienen múltiples aplicaciones, aunque también existen ciertas limitaciones. El potencial de estas células está aún por determinarse en estudios clínicos.

Hasta la fecha la investigación se limita principalmente a los modelos 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 también 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 consanguíneos. 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 quiere decir 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 Sudeste de Asia), con planes de expansión de Rusia, Australia, la India y el Medio Oriente. StemSave (EE.UU.) y la Store-A-Tooth, (EE.UU.) también son empresas que participan en el almacenamiento de células madre de dientes que expanden sus horizontes a otros países.

En Japón, el primer banco de células dentales se estableció en La Universidad de Hiroshima y la compañía fue nombrada como "Three Brackets" (Suri Buraketto) en 2005. La Universidad de Nagoya (Kyodo, Japón) también tiene un banco de dientes. En 2007, La Universidad de Medicina Taipei (MTE), en colaboración con la Universidad de Hiroshima abrió el primer banco nacional de células dentales en septiembre de 2008 con el objetivo de almacenar dientes para

futuros implantes naturales y proveer la potencial alternativa de cultivar y congelar células madre incluyendo SHED.

El Banco de células dentales Noruego, creado en 2008 actualmente recolecta dientes primarios exfoliados de 100.000 niños.⁷⁰

6.2. Tipos de células madre de dientes humanos deciduos exfoliados.

Según el doctor Saadia, explica que dentro de las células madre dentales, existen cuatro tipos de células que tienen un uso particular, estos son:

Adipositos: Tienen la capacidad de reparar tejido dañado después de un ataque cardíaco o infarto. Hay algunos datos preliminares que muestran que estas células pueden tratar condiciones cardiovasculares, problemas ortopédicos y de columna vertebral, insuficiencia cardíaca congestiva, la enfermedad de crohn y utilizarlas en cirugía plástica.⁷¹

Condrocitos: son células que tienen la habilidad de generar cartílago, por lo que tienen una función importante en el tratamiento de artritis y lesiones en articulaciones.

Osteoblastos: estos pueden generar hueso o reparar destrucciones óseas. Tanto los condrocitos como los osteoblastos han sido usados exitosamente para desarrollar hueso y cartílago adecuados para trasplantes. También han sido usados para desarrollar dientes intactos en animales.

Células mesenquimatosas: Han sido usadas exitosamente para reparar daños en la medula espinal y restaurar la sensibilidad y movimiento en pacientes humanos con parálisis. Desde que pueden formar grupos

⁷⁰ Arora. V. Op Cit. Pág. 293.

⁷¹ Revista padres e Hijos XXXI, núm 3ª Ed. Televisa, 28 marzo, año 2010.

neuronales, las células madre mesenquimatosas también tienen el potencial de tratar desordenes degenerativos como la enfermedad Alzheimer y Parkinson, parálisis cerebral, así como otros desordenes del huésped. Las células madre mesenquimatosas tienen más potencial terapéutico que cualquier otro tipo de células madre adultas.⁷²

6.3. Papel de SHED en el desarrollo de tejidos craneofaciales.

Las SHED según investigaciones, 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 regenerar 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 los implantes biológicos y los implantes dentales tradicionales.

Las SHED son capaces de proliferarse y diferenciarse, lo cual las hace un importante recurso de células madre para 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 regenerar neuronas después de algún daño a la medula espinal.⁷³

Estas SHED pueden ser implantadas directamente dentro de la cámara pulpar severamente dañada para regenerar la pulpa del diente dañado,

⁷² Arora V. Op Cit. Pág. 290.

⁷³ Jeremy J. Mao. Stem Cells and the Future of Dental Care. New York State Dental Journal, 74(2): 21–24, 2008.

previniendo la necesidad de tratamiento endodónico. Cordeiro (2008) evaluó las características morfológicas de tejidos formados cuando SHED se siembran en cultivos biodegradables preparados sin laminas de dientes humanos los cuales fueron trasplantados en ratones inmunosuprimidos. Observaron que el tejido resultante presentó arquitectura y celularidad parecida a la pulpa fisiológica.

Los tejidos óseos para injertos han sido útiles para los practicantes en todas las especialidades dentales. Futuras aplicaciones podrían incluir defectos y suturas craneales, lo cual sería especialmente útil para cirugías craneofaciales y maxilofaciales. Recientemente en un estudio, De Mendoca Costa A et al. (2008) evaluó la capacidad de las células madre de pulpa dental humana (hDPSC) aisladas de dientes temporales, para reconstruir grandes defectos de hueso craneal en ratas inmunosuprimidas (NIS).⁷⁴

Encontraron que hDPSC son un recurso adicional de células para la corrección de grandes daños craneales en ratas y constituye un modelo prometedor para la reconstrucción de grandes defectos craneales en una de estas cirugías craneofaciales.

En una revisión, Mao JJ et al (2006) discutieron, que las células madre adultas, han sido aisladas de pulpa dental, dientes deciduos y de periodonto; las estructuras craneofaciales como el cóndilo mandibular, la calota, sutura craneal y tejidos subcutáneos adiposos han sido creados genéticamente de células madre mesenquimatosas. Afirmaron que el tejido craneofacial creado

⁷⁴ Mao JJ, Giannobile WV, Helms JA, Hollister SJ, Krebsbach PH, Longaker MT, Shi S. Craniofacial tissue engineering by stem cells. *J Dent Res*, 85(11): 966–79, 2006.

genéticamente presenta en el futuro una gran oportunidad para la odontología.⁷⁵

6.4. Ventajas de la obtención de SHED.

- Proporciona un donante compatible garantizado (auto trasplante) de vida. Hay muchas ventajas de trasplante autólogo incluyendo; no reacciones autoinmunes y rechazo del tejido de las células, no es necesaria la terapia inmunosupresora, y reduce significativamente el riesgo de transmisión de enfermedades.
- Salva células antes de su desgaste natural
- Simple y sin dolor para el niño y los padres
- A menos de un tercio del costo de la obtención de células madre del cordón umbilical
- Las SHED son bancos de células adultas y no son objeto de las mismas preocupaciones éticas de las células madre embrionarias
- Las SHED son células madre complementarias del cordón umbilical. Mientras estas células proveen valiosas células sanguíneas de regeneración, las SHED son capaces de regenerar diferentes tejidos sólidos, que las células del cordón umbilical no pueden, así como potencialmente reparadoras de tejido conectivo, tejidos dentales, tejidos neuronales y hueso.
- Las SHED también pueden ser útiles para ciertos casos de donadores como abuelos, padres, tíos y hermanos.⁷⁶

⁷⁵ Arora. V. Op. Cit. 290-291.

⁷⁶ Arthur A, Rychkov G, Shi S, Koblar SA, Gronthos S. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. *Stem Cells*, 26(7): 1787–95, 2008.

6.5. Aplicaciones clínicas de terapia con células madre de dientes deciduos.

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

En la actualidad los pacientes están siendo tratados en fracturas Oseas, cáncer, (trasplante de medula ósea) y cirugía de fusión espinal con células madre. Nuevas terapias con este método están continuamente bajo revisión, y algunos ya cuentan con la aprobación de la U.S Food and Drug Administration. Como el número de personas afectadas por los desordenes degenerativos sigue en crecimiento, habrá una gran necesidad por nuevas opciones de tratamiento para el aumento cada vez mayor de la población. La recolección y ahorro de SHED ahora asegurara su disponibilidad en el futuro cuando sean más requeridas.

Esta lista integral de enfermedades y condiciones actuales será tratada, usando células madre incluyendo desordenes de células madre, leucemias agudas y crónicas, desordenes mieloproliferativos, síndromes mielosisplasicos, desordenes linfoproliferativos, anomalías hereditarias de eritrocitos, desordenes de depósitos liposomales, desordenes en histiocitos, fagocitos, congénitos del sistema inmune, anormalidades hereditarias en plaquetas, desordenes de células plasmáticas y tumores malignos.⁷⁷

6.6. Recolección, aislamiento y preservación de SHED

La técnica es simple y no invasiva.

⁷⁷ Arora. V. Op. Cit. Pág. 191.

6.6.1. Recolección dental

Puesto que, la recolección de SHED es una decisión proactiva hecha por los padres, el primer paso es informarles el procedimiento que se llevará a cabo, desde que el diente será puesto bajo ciertos criterios en solución estéril salina, se mandara al banco dental y esperaremos los resultados del mismo.

El diente deciduo deberá tener pulpa de color rojo, indicando que la pulpa recibió sangre hasta el momento en que fue removido, lo cual indica viabilidad celular. Si la pulpa es de color gris, es probable que el flujo sanguíneo a la pulpa ha sido comprometido, y por eso es probable que las células madre estén necróticas y la obtención de las mismas ya no sea viable. Un diente con movilidad ya sea por trauma o enfermedad a menudo tiene un suministro de sangre limitado y no son candidatos para la recolección de células madre.

Por esto es que es preferible la recolección de células madre de dientes deciduos después de una extracción que sea cuando este “esta colgando de un hilo” con movilidad. Las células madre de la pulpa no deberán ser recolectadas de dientes con abscesos apicales, tumores o quistes.

En el caso de un evento en un procedimiento regular, el dentista visualiza e inspecciona el diente recién extraído para confirmar la presencia de tejido pulpar sano y posteriormente el diente será transferido a un contenedor con una solución salina de fosfato hipotónico. El cual provee nutrientes y ayuda a prevenir que el tejido se seque durante su transporte. Se coloca el diente dentro de esta solución en un termo a temperatura baja la cual induce hipotermia. La solución es después cuidadosamente sellada y así mantiene la muestra en este estado mientras se transporta. El procedimiento se describe como sustentación.

“Diente a salvo”, actualmente los consultorios o empresas, involucradas con el banco dental usan esta solución para su transformación, como avulsión para transportar las células madre al laboratorio.

La viabilidad de las células madre requiere de tiempo y temperatura y es requerida la atención cuidadosa para que la muestra siga viable. El tiempo entre la recolección de las células y su llegada a la instalación del almacenamiento no debe exceder las 40hrs. Son usados los mismos pasos para la atención en un banco de dientes, al procedimiento que no está planeado para la extracción y colección del prototipo.⁷⁸

6.6.2. Aislamiento de células madre

Cuando el banco dental recibe la muestra, se realiza el siguiente protocolo.

- a) La superficie dental se limpia y se lava 3 veces con solución salina fosfatada de dulbecco sin Ca. ni Mg. (PBSA)
- b) La desinfección es realizada con Yodo y lavada nuevamente con PBSA
- c) Se aísla el tejido de la cámara pulpar con pequeños fórceps y un excavador estériles. Las células madre del tejido pulpar también pueden ser lavadas con solución salina.
- d) El tejido pulpar contaminado es colocado dentro de una caja de petri esteril, el cual fue lavado las últimas tres veces con PBSA.
- e) El tejido es entonces procesado con colágena tipo I y disipada por una hora a 37°C. También puede ser utilizado Trypsin-EDTA.
- f) Las células aisladas se pasan a través de un filtro para obtener células simples en una suspensión.

⁷⁸ Arora. V. Op Cit. Pág. 192

- g) Después las células 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 fosfatado, 100u/ml de penicilina y 100ug/ml de estreptomina a 37°C y 5% de CO₂ en aire. Normalmente las colonias aisladas son visibles después de 24 horas.
- h) Se pueden obtener diferentes líneas celulares, como células odontogénicas, células adipogénicas y células neurales haciendo cambios en las MSC.
- i) Si los cultivos son obtenidos con preparaciones no seleccionadas, pueden ser establecidas colonias de células con una morfología parecida a la de células epiteliales o células endoteliales.

Confirmando el estado de salud y la viabilidad de estas células son dadas a los padres del donador.⁷⁹

6.6.3. Almacenamiento de células madre.

Hasta ahora según la investigación actual, existen dos métodos que se utilizan para el almacenamiento de células madre.

6.6.3.1. Criopreservación

La criopreservación, es el proceso de preservación de células o tejidos enteros por enfriamiento a temperaturas bajo 0. Con esta temperatura de congelación, la actividad biológica se detiene, como en todos los procesos celulares que conducen a la célula a la muerte. Las SHED puede ser almacenadas con éxito a largo plazo con la criopreservación y seguir siendo viables para su uso.

⁷⁹ Arora. V. Op Cit. Pág. 192.

Las células recolectadas cerca del final de la fase de crecimiento (aproximadamente 80-90% confluencia) son las mejores para la criopreservación. 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 incluso en el caso improbable de 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 potencia. Un bajo o alto número de células podría decrecer la tasa de recuperación.

Suchanek j et al (2007) establecieron un protocolo de células madre de pulpa dental (DPSCs) de aislamiento y cultivo de dpscs ya sea de adultos o de dientes exfoliados, comparan estas células con cultivos de células progenitoras mesenquimatosas (MPCs). En comparación con células de la médula ósea MPCs, dpscs comparten características biológicas similares y propiedades de células madre. Los resultados demostraron que las DPSCs y las MPCs fueron altamente proliferativas, células clonadas genéticamente que pueden ser expandidas más allá de los límites de Hayflicks y mantenerse citogenéticamente estables.⁸⁰

Zhang et al (2006) evaluaron el potencial de diferenciación de células madre criopreservadas de pulpa humana de terceros molares y concluyó que el tejido pulpar de los terceros molares podrá servir como un recurso adecuado de células madre multipotenciales para la creación genética de tejidos en el futuro y terapias basadas en células madre, incluso después de la criopreservación.

⁸⁰ Arora. V. Op. Cit. Pág. 992-993

Papaccio g et al (2006) estudiaron la diferenciación y propiedades morfo-funcionales de las células derivadas de las células madre después de la congelación a largo plazo para evaluar el potencial de almacenamiento a largo plazo con miras a posteriores usos en terapia. Llegaron a la conclusión de que las células madre de la pulpa dental y sus células derivadas de los osteoblastos, pueden ser a largo plazo criopreservados y pueden llegar a ser atractivas para aplicaciones clínicas.⁸¹

6.6.3.2. Congelación magnética.

La universidad de Hiroshima utiliza la congelación magnética en lugar de la criogenia. Esta tecnología es llamada CAS y explota el fenómeno poco conocido en el que un campo magnético débil de agua en los tejidos o células bajara el punto de congelación de ese órgano hasta en 06.07°C. La idea de CAS es enfriar completamente un 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 del hielo, ni drenaje de nutrientes debido a la acción de capilaridad, como normalmente ocurre con la manera convencional de métodos de congelamiento.

Una vez que el objeto esta uniformemente frío, 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 CAS, la universidad de Hiroshima afirma que puede incrementar la supervivencia de las células de un diente hasta de un 83%.

⁸¹ Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D, De Rosa A, Carinci F, Laino G. Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair. *J Cell Physiol*, 208(2): 319–25, 2006.

Esto comparado con el 63% del nitrógeno líquido (-196°C), 45% del congelamiento ultra frío (-80°C) y solo 21.5% del congelador doméstico (-20 °C). Manteniendo al sistema CAS más barato que la criogenia y más confiable también.

6.7. Criterios de elección para los dientes SHED.

No todos los dientes tienen el mismo potencial, los dientes incisivos y caninos temporales sin patología, por lo menos con la tercera parte de la raíz contiene este tipo único de células en suficiente número. Los molares temporales tienen una raíz más amplia y por lo tanto se mantienen en la boca por un periodo de tiempo más largo que los dientes anteriores. La erupción posterior de los dientes permanentes generalmente toma una cantidad de tiempo para reabsorber las raíces de los molares primarios, lo cual podría resultar en una obliteración de la cámara pulpar y que no contenga pulpa y por lo tanto no tenga células madre.⁸²

⁸² Jay B. Reznick. Continuing Education: Stem Cells: Emerging Medical and Dental Therapies for the Dental Professional. Dentaltown magazine, Oct: 42–53, 2008.

7. CONCLUSIONES

La terapia con células madre es un coadyuvante para el tratamiento de enfermedades y lesiones, con un amplio rango de beneficios médicos. Lo cual es de suma importancia para la población.

Aunque es un tema aparentemente nuevo en el área odontológica es conveniente que el odontólogo general tenga conocimientos de los temas actuales como éste, para posteriormente poder aplicarlo dentro de su práctica clínica. Este tipo de terapia requiere mayor investigación para una vez concluida la fase experimental, llevarse a cabo en la fase clínica.

Actualmente se están realizando con éxito ensayos de laboratorio que permitirán en un tiempo no muy lejano poder implantar estas células en donde sean necesarias ya sea maxilar o mandíbula con los llamados factores de crecimiento que inducirán al organismo a crear un órgano dental donde este ya se había perdido, esto sin duda cambiará la odontología ya que ofrecerá mejores tratamientos y un buen pronóstico tanto funcional como estético.

8. FUENTES DE INFORMACIÓN

- Arora. V., Arora. P., Munshi AK. Banking Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED): Saving for the future. 2009. 33 (4): 290
- Arthur A, Rychkov G, Shi S, Koblar SA, Gronthos S. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. *Stem Cells*, 26(7): 1787–95, 2008.
- B.-M. Seo, M. Miura, W. Sonoyama, C. Coppe, R. Stanyon, and S. Shi Recovery of Stem Cells from Cryopreserved Periodontal Ligament *J. Dent. Res.*, October 1, 2005; 84(10): 907 – 912.
- Barberia E. Boj J. Catalá m. García C. Mendoza A. *Odontopediatría*, 2ª ed. Barcelona, (España). Editorial Masson. 2002.
- Boj J. Catalá m. García C. Mendoza A. *Odontopediatría*, 1ª ed. Barcelona, (España). Editorial Masson. 2005.
- Céspedes-Martínez DI, Perona-Miguel de Priego G. Futuro de la odontología restauradora. *Rev Estomatol Herediana*. 2010; 20(1):44-49.
- Cohen S. *Vías de la pulpa*, 9ª ed. Madrid, España; Editorial Elsevier, 2008.
- Cruañas. A. *Estomatología Regenerativa. De las células madres a la Ingeniería Tisular*. (Internet) disponible en:
www.16deabril.sld.cu/rev/230/articulo7.html
- D'Aquino R, Papaccio G, Laino G, Graziano A. Dental Pulp Stem Cells: A Promising Tool For Bone Regeneration. *Stem Cell Rev*. 2008; 4:21-26.
- Disponible en
<http://www.gacetadental.com/noticia/8337/CIENCIA/investigaci%C3%B3n-c%C3%A9lulas-madre-origen-dentario-actualizaci%C3%B3n.html>
- Elias R. *Odontología para pacientes con necesidades especiales, Una visión clínica*, 1ª ed. Madrid; Editorial Ripano S.A., DL. 2008. P.p.

- Eugenia. M. células madre un nuevo concepto de medicina regenerativa.
disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/end/vol15_2_04/end07204.htm
- Geneser, Finn. Histología. 3ª ed. 5ª reimpresión- Buenos Aires; Editorial Medica panamericana, 2005.
- Gómez de Ferraris M.E. Campos Muñoz A. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental.3ª Ed. México: Editorial Panamericana, 2009.
- Gotlieb EL, Murray PE, Namerow KN, Kuttler S, García-Godoy F. An Ultrastructural Investigation Of Tissue-Engineered Pulp Constructs Implanted Within Endodontically Treated Teeth. J Am Dent Assoc. 2008; 139:457-465.
- Hernández P. Dorticós E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. Revista cubana hematología. 2004. 20 (3)
- Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal Stem Cells derived form dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in Regenerative Medicine. J Dent Res 2009; 88(9):792-806.
- Imagen tomada de <http://celulas%2Bmadre.jpg&imgrefurl=http://temas-biologia.blogspot.com/2009/04/celulas-madre.html&usq>
- Imagen Tomada de http://ciencia.nasa.gov/media/medialibrary/2004/08/19/19aug_blood_resources/stemcells1_med2.
- Imagen tomada de <http://www.dentistasenqueretaro.com/www.dentistasenqueretaro.com/Fotografias/CELULA-MADRE->
- Imagen tomada de www.solociencia.com
- Imagen tomada en: <http://dna-power.over-blog.com/article-celulas-madre-48791928.html>

- J. Smucker B. Investigación de células madre: Antecedentes, historia, política actual, y los aspectos éticos. Disponible en: <http://www.goshen.edu/bio/Biol410/BSSpapers99/bensmucker.html>
- Jay B. Reznick. Continuing Education: Stem Cells: Emerging Medical and Dental Therapies for the Dental Professional. Dentaltown magazine, Oct: 42–53, 2008.
- Jeremy J. Mao. Stem Cells and the Future of Dental Care. New York State Dental Journal, 74(2): 21–24, 2008.
- Jiménez San Juan I, Abella A, Manzanares M. Avances en regeneración celular en odontología: perspectivas de futuro, DENTUM 2007;7(3):124-130.
- K. Lohara, M. Nakashima, M. Ito, M. Ishikawa, A. Nakasima, and A. Akamine Dentin Regeneration by Dental Pulp Stem Cell Therapy with Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 2 J. Dent. Res, 2004; 83(8): 590 - 595.
- Liu, W. Li, C. Gao, Y. Kumagai, R.W. Blacher, and P.K. DenBesten, Dentonin, a Fragment of MEPE, Enhanced Dental Pulp Stem Cell Proliferation J. Dent. Res., June 1, 2004; 83(6): 496 – 499.
- M. Miura, S. Gronthos, M. Zhao, B. Lu, L. W. Fisher, P. G. Robey, and S. Shi SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth PNAS, May 13, 2003; 100(10): 5807 - 5812.
- Mao JJ, Giannobile WV, Helms JA, Hollister SJ, Krebsbach PH, Longaker MT, Shi S. Craniofacial tissue engineering by stem cells. J Dent Res, 85(11): 966–79, 2006.
- Nam H, Lee G. Identification of novel epithelial stem cell-like cells in human deciduous dental pulp. Biochem Biophys Res Común. 2009; 386:135-139.

Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. Oper Dent. 2006;
31(6):633-42.

Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D, De
Rosa A, Carinci F, Laino G. Long-term cryopreservation of dental pulp
stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell
source for tissue repair. J Cell Physiol, 208(2): 319–25, 2006.

Revista Padres e Hijos XXXI, núm 3ª Ed. Televisa, 28 marzo, año 2010.

Tabla tomada de <http://www.gacetadental.com/imagenes/cienluis04.jpg>

Tomada de http://www.babycellsspain.es/IMGS/generalidades_2.jpg

Tomada de Tesina Soláis N. Células Madre adultas. 2009. Pág. 5-6

Tomado de

<http://www.explorestemcells.co.uk/HistoryStemCellResearch.html>

Zhao Z, Wang Y, Wang D, Liu H. The Regulatory Role of A Disintegrin and
Metalloproteinase 28 on the Biologic Property of Human Periodontal
Ligament Stem Cells. J Periodontol. 2010; 81:934-944.