



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

INGENIERÍA GENÉTICA Y TISULAR Y SU
APLICACIÓN EN LA ORTODONCIA.

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:

ROCÍO PARRA SAN JUAN

TUTOR: Mtro. JAVIER DAMIÁN BARRERA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por
permitirme formar parte de ella.*

*A la Facultad de Odontología por abrirme sus puertas
para formarme como profesional.*

*Al Dr. Javier Damían Barrera por su
tiempo y dedicación a este trabajo.*

*A mi madre por su cariño, consejos y apoyo incondicional
durante este largo camino por el que hoy veo llegar a su fin una
de las metas de mi vida.*

*Porque eres de esa clase de persona que todo lo comprende, da lo
mejor de sí misma sin esperar nada a cambio, porque sabes
escuchar y brindar ayuda cuando es necesario.
¡Gracias!*

*A mi familia por su paciencia y comprensión
durante estos años de estudio.*

*A todos mis amigos que han estado siempre compartiendo buenos
y malos momentos, por su ayuda y amistad, especialmente a mis
amigas de la carrera: Lupita, Bianca, Dany y Gaby.*

Índice

1. Introducción	5
2. Odontogénesis	7
2.1 Estadio de brote	8
2.2 Estadio de casquete	9
2.3 Estadio de campana	10
2.4 Estadio terminal o de folículo dentario	11
3. Células madre	13
3.1 Células madre embrionarias	14
3.2 Células madre del adulto	14
3.3 Totipotenciales	17
3.4 Pluripotenciales	17
3.5 Multipotenciales	17
3.6 Monopotenciales	17
4. Obtención de células madre	17
5. Ingeniería de tejidos	21
6. Estrategias para la inducción de formación tisular	22
6.1 Conductiva	22
6.2 Inductiva	22
6.3 Transplante de células semejantes	22
7. Ingeniería genética	30
8. Ácidos nucleicos: ADN y ARN	31
9. Tecnología del ADN recombinante	36
9.1 Diagnóstico temprano de enfermedades genéticas	36
9.1.1 Amniocentesis	37
9.1.2 Biopsia de vellosidades coriónicas	37
9.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	38
9.3 Enzimas de restricción	39
9.4 Hibridación molecular y sondas génicas	39

10. Terapia génica	39
10.1 Terapia génica de la línea germinal	39
10.2 Terapia génica de células somáticas	40
11. Sistemas de transferencia genética	41
11.1 Vectores virales	42
12. Aplicación en la Ortodoncia del uso de la ingeniería de tejidos y terapia génica	44
12.1 Ingeniería tisular	44
12.2 Factores genéticos de las maloclusiones	45
12.3 Terapia génica	46
13. Conclusiones	49
14. Referencias bibliográficas	51



1. Introducción

En los últimos años la investigación en ciencias biológicas ha dirigido su campo de estudio a la ingeniería tisular y a la terapia génica, como consecuencia de una búsqueda de nuevas estrategias que ayuden a la regeneración de tejidos perdidos y la corrección de enfermedades genéticas.

En la Odontología la medicina regenerativa ha logrado un gran avance gracias a la ingeniería tisular orientada a regenerar tejidos perdidos a causa de enfermedades que afectan el complejo dentofacial, que permiten restablecer la estética y función de los pacientes.

Es por ello que las células madre han sido estudiadas ampliamente por sus características de autorrenovación, que les da el potencial de originar células hijas indiferenciadas, proliferación y diferenciación para formar tejidos especializados; por lo que tienen utilidad en las estrategias para la regeneración tisular. Hay tres estrategias fundamentales en la ingeniería tisular que son:

- Conductiva: en donde se utilizan materiales como membranas para guiar la regeneración tisular.
- Inductiva: se colocan células o factores para inducir la formación de tejidos.
- Transplante de células: se producen células en el laboratorio que después se transplantan al paciente.

La terapia génica, por otra parte trata de intervenir o modificar la acción de ciertos genes mediante la introducción de genes corregidos.

La terapia génica se clasifica en dos tipos:

- Terapia génica de la línea germinal: consiste en introducir células transgénicas en la línea germinal para reemplazar el gen defectuoso.



- Terapia génica de células somáticas: se extraen las células que presentan el gen mutado para después corregirlas y se introducen nuevamente en el cuerpo del paciente para que la función normal del órgano o tejido se restablezca.

En la terapia génica se utilizan vectores para introducir el gen transgénico a las células y se usan principalmente virus.

El uso de estas nuevas estrategias es de gran utilidad para la corrección de defectos óseos, realizar distracción osteogénica o regenerar tejidos periodontales perdidos por enfermedades en el caso de la ingeniería tisular.

La formación de piezas dentales completas aún está en fase experimental pero en un futuro será de gran utilidad para el tratamiento de maloclusiones.

En lo referente a la terapia génica se podrán corregir enfermedades de carácter genético e incluso conocer los genes que actúan en las diferentes maloclusiones y poder corregirlos así como manipular el crecimiento (inhibir o inducir) en síndromes y maloclusiones.

Para el Odontólogo general es importante conocer las opciones de tratamiento que tiene con la terapia génica e ingeniería tisular, (para que el paciente recupere la estética y la función que se hayan perdido) que en el futuro estarán disponibles para su realización.

Es importante evaluar también que estas técnicas cuentan con ventajas y desventajas, que el odontólogo deberá analizar con mucho criterio para su aplicación de acuerdo a las características individuales de cada paciente.



2. Odontogénesis

Es el proceso donde se da el desarrollo y formación de los elementos dentarios.

En este proceso participan dos capas germinativas: el epitelio ectodérmico que formará el esmalte y el ectomesénquima que forma el complejo dentinopulpar, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar.

Para que inicie este proceso es necesario un inductor, que en este caso es el ectomesénquima que interacciona con el epitelio bucal dando como resultado la diferenciación y organización de los tejidos dentales.

La odontogénesis tiene lugar en dos fases:

- a) La morfogénesis donde se desarrolla y forma el patrón coronario y radicular.
- b) La histogénesis donde se forma el esmalte, la dentina y la pulpa en los patrones previamente formados.

Desarrollo y formación del patrón coronario

Se da la diferenciación de la lámina dental a partir del ectodermo que tapiza la cavidad dental primitiva o estomodeo.

El epitelio ectodérmico está constituido por dos capas; una superficial de células aplanadas y otra basal de células altas conectadas al mesénquima por medio de la membrana basal.

Las células basales proliferan y se forman dos estructuras: la lámina vestibular y la lámina dentaria, en ella se originan los gérmenes de los dientes deciduos y permanentes.

Los gérmenes dentarios pasan por cuatro etapas consecutivas.¹

2.1 Estadío de brote

Aparecen diez brotes en cada maxilar que serán los futuros órganos del esmalte. En la periferia del brote hay células cilíndricas y en el interior poligonales.¹ (Fig. 1)

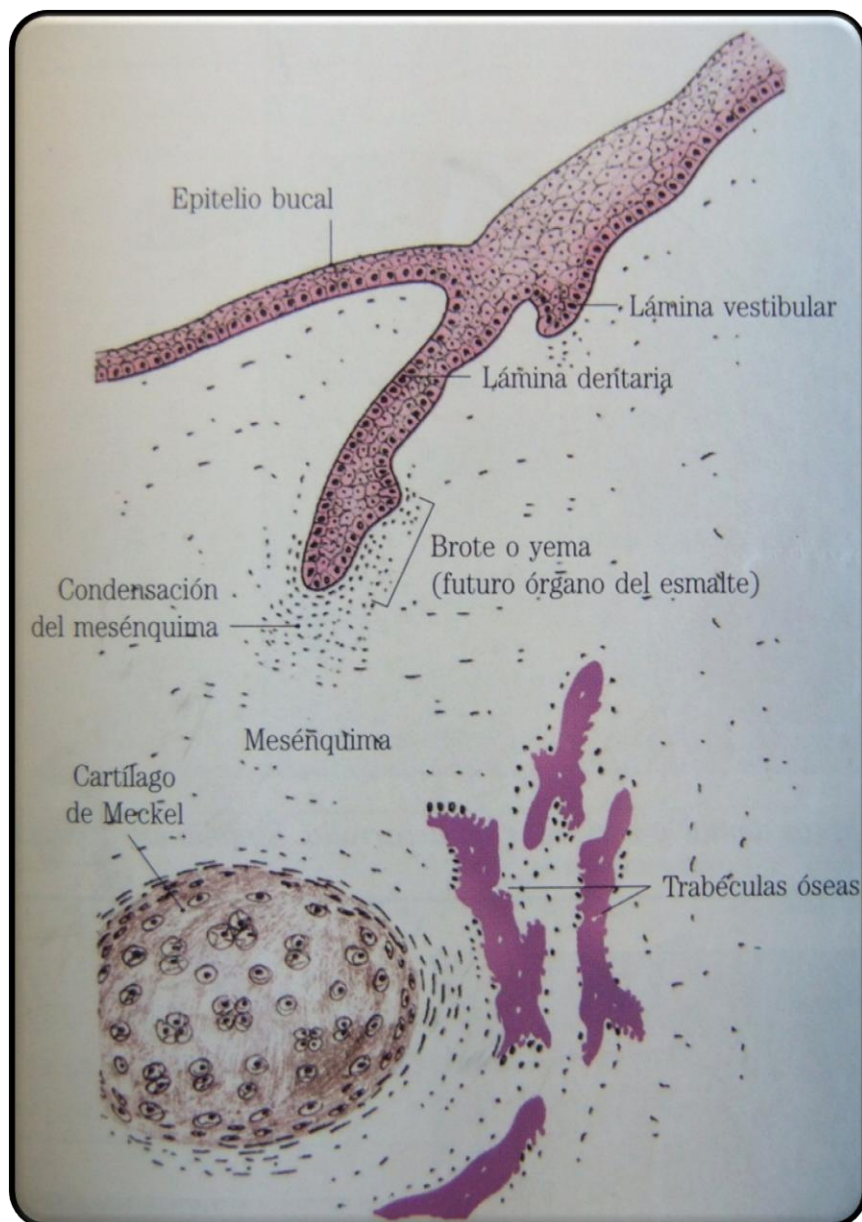


Fig. 1. Esquema de la formación de la yema o brote dentario.

Fuente: Gómez de Ferraris. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 2009.

2.2 Estadio de casquete

El brote va proliferando de forma desigual, con una concavidad en su cara profunda que encierra una pequeña porción de ectomesénquima que es la futura papila dentaria que formará el complejo dentinopulpar.

Se distinguen tres estructuras en el órgano del esmalte:

- * Epitelio dental externo: constituido por una capa de células cuboidales unidas a la lámina dental por una porción del epitelio.
- * Epitelio dental interno: se encuentra en la concavidad y está formado por células cilíndricas, estas a su vez formarán los ameloblastos.
- * Retículo estrellado: constituido por células de aspecto estrellado cuyas prolongaciones se anastomosan formando un retículo. (Fig. 2)

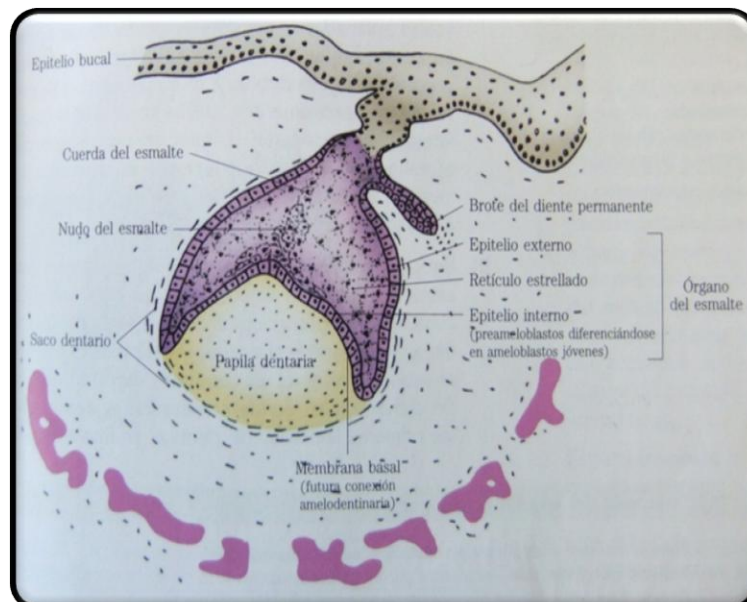


Fig. 2. Esquema del estadio de casquete.

Fuente: Gómez de Ferraris. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 2009.

A nivel del epitelio externo en su proximidad con el epitelio interno y en el retículo estrellado se han localizado nichos de células madre.¹

El mesénquima que se encuentra por fuera del casquete se condensa y forma el saco dentario primitivo o folículo dental.

El órgano del esmalte, la papila y el saco constituyen el germen dentario.

En el epitelio interno del órgano del esmalte se desarrolla un acumulo de células llamado nudo del esmalte (NE) del que sale una prolongación llamada cuerda del esmalte, estas estructuras son temporales y tienen función inductiva en la morfogénesis coronaria.

2.3 Estadio de campana

En este se acentúa la invaginación del epitelio dental interno adquiriendo el aspecto de una campana.

El órgano del esmalte presenta una nueva capa en el estrato intermedio entre el retículo estrellado y el epitelio dental interno.¹ (Fig. 3)

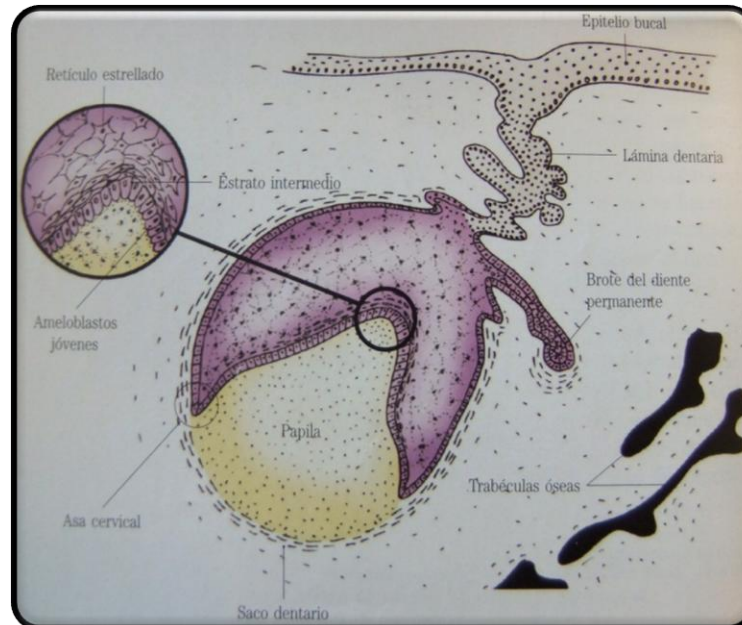


Fig. 3. Esquema del estadio de campana.

Fuente: Gómez de Ferraris. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 2009.



Epitelio dental externo: el epitelio presenta pliegues debido a invaginaciones o brotes vasculares provenientes del saco dentario.

Retículo estrellado: se comienzan a depositar las primeras laminillas de dentina, el retículo estrellado se adelgaza para permitir el paso de elementos nutricionales hacia los ameloblastos que sintetizarán la matriz del esmalte.

Estrato intermedio: formado por cuatro o cinco hileras de células planas, este participa en la mineralización del esmalte durante la amelogénesis.

Epitelio dental interno: después de la diferenciación de los odontoblastos de la papila dentaria, las células del epitelio dental interno se diferenciarán en ameloblastos.

En este periodo se determina la morfología de la corona por acción del ectomesénquima sobre el epitelio interno del órgano del esmalte.

El epitelio dental interno induce a la papila dentaria para que las células se diferencien en odontoblastos que comienzan a sintetizar dentina en las cúspides.

Una vez que se han formado las primeras capas de dentina calcificada los ameloblastos sintetizan la matriz del esmalte.

Cuando se forma la dentina, la porción central de la papila se transforma en pulpa dentaria con su posterior inervación y vascularización.

2.4 Estadio terminal o de folículo dentario

Comienza con la presencia del depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de dentina en desarrollo. (Fig. 4)

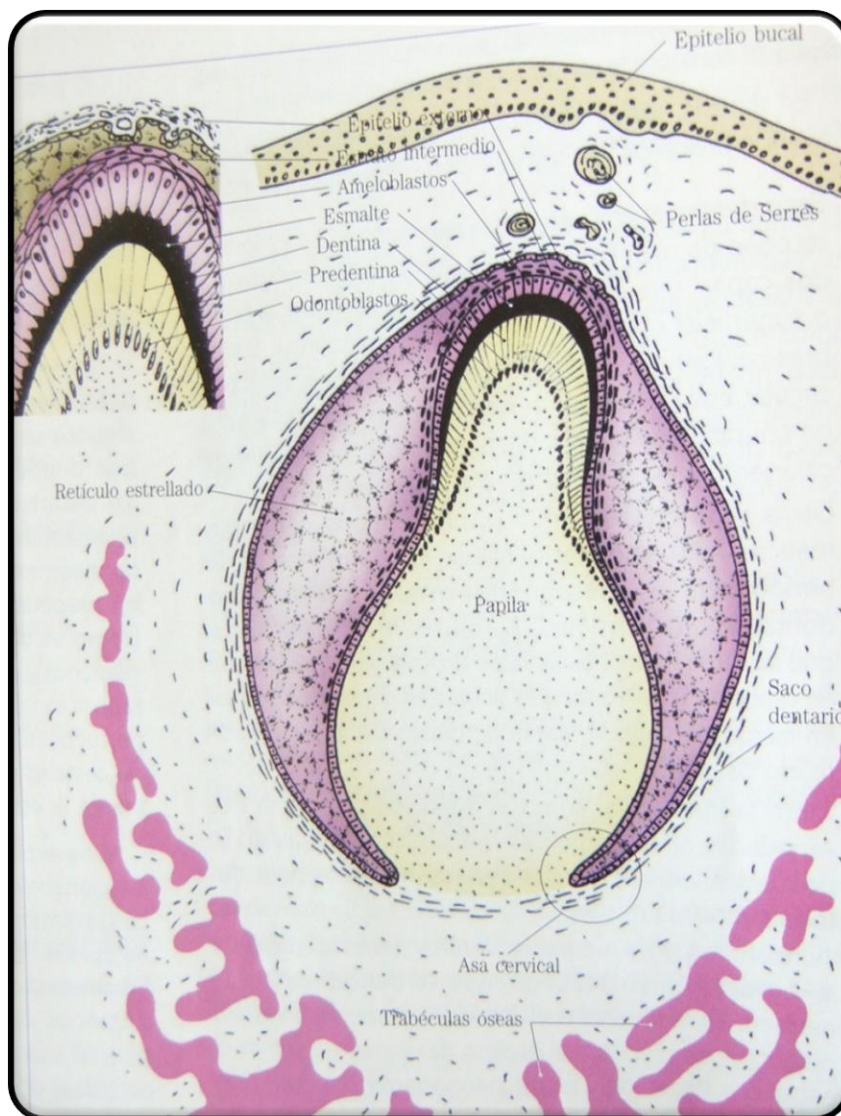


Fig. 4. Esquema del estadio de folículo dentario.

Fuente: Gómez de Ferraris. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 2009.

Primero se depositan unas laminillas de dentina y luego una de esmalte de manera que van dando estructura a la corona, después comienza el desarrollo y formación del patrón radicular.

En la formación de la raíz la vaina epitelial de Hertwig tiene un papel inductor; esta vaina resulta por la fusión del epitelio interno y el epitelio externo del órgano del esmalte.¹

Cuando se deposita la primera capa de dentina radicular, la vaina de Hertwig se fragmenta y forma los restos de Malassez que persisten en el ligamento periodontal en el adulto.¹

3. Células madre

Definición

Las células madre también llamadas células precursoras o troncales son células clonogénicas indiferenciadas en el embrión o en el adulto capaces de originar diferentes tipos celulares. Estas células se caracterizan por presentar potencial de autorrenovación con elevada capacidad de proliferación y gran potencial de diferenciación.^{2,3,4,5,6,7} (Fig. 5)

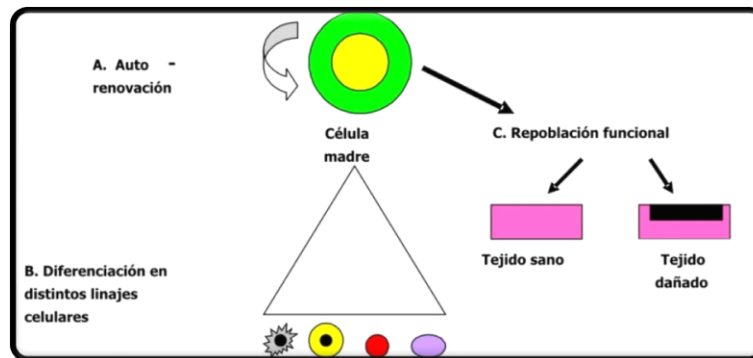


Fig. 5. Características de las células madre.

Fuente: Hernández P, Dorticós E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. 2004.

La capacidad de autorrenovación es definida como la propiedad de generar una célula hija con características semejantes a ella, pero que permanece en un estado indiferenciado.^{3,4,6}

El potencial de proliferación se refiere a la multiplicación de las células por mitosis sin cambiar el fenotipo indiferenciado.^{1,4,6}

La diferenciación es un proceso en el que la célula adquiere un fenotipo específico y se convierte en una célula diferenciada especializada.^{1,2,3,4,5,6,}

3.1 Células madre embrionarias

Las células madre embrionarias (CME) derivan de la masa celular interna del embrión y son precursoras totipotenciales; estas se pueden aislar de embriones en estadio temprano o etapa de blastocisto donde todavía no han pasado por un proceso de diferenciación.

Estas células tienen la capacidad de proliferar indefinidamente in vitro.^{2,3,4}

3.2 Células madre del adulto

Las células madre adultas son precursoras multipotenciales, estas células indiferenciadas se encuentran en diferentes tejidos como el hematopoyético, neuronal, musculo esquelético, músculo cardíaco, hígado, páncreas, pulmón, médula ósea, pulpa dental, piel, córnea, retina, corazón y cerebro.^{2,3,4,5,6} (Fig. 6)

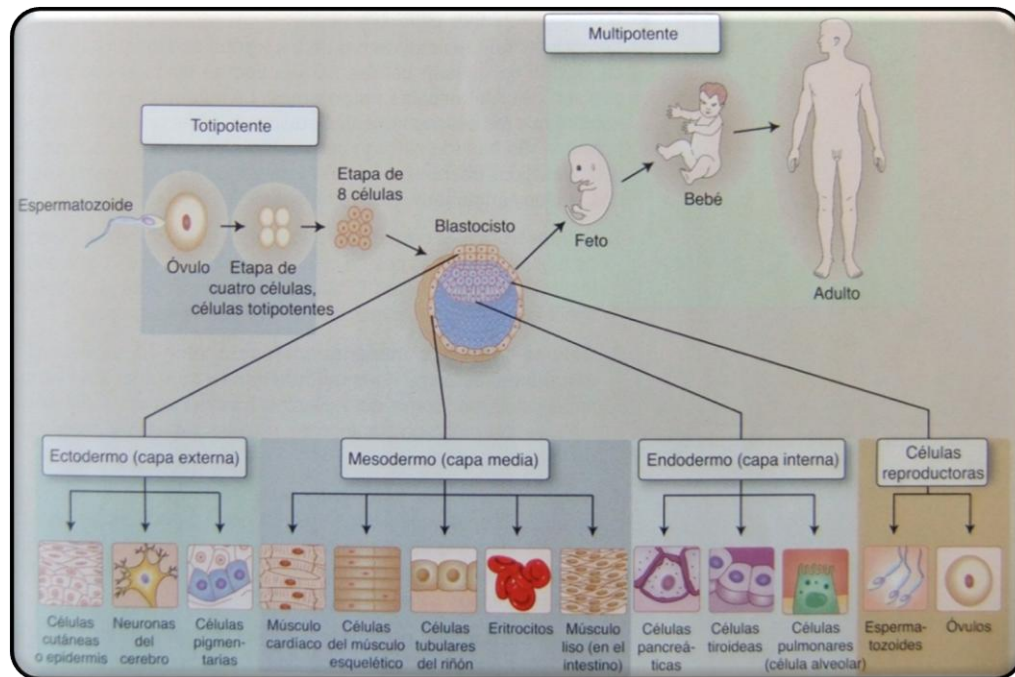


Fig. 6. Células madre embrionarias y adultas.

Fuente: Chandar N, Viselli S. Biología molecular y celular. 2011.

Las células madre adultas pueden renovarse constantemente y dar lugar a células especializadas capaces de reparar lesiones tisulares y de renovar células seniles; presentan también una gran versatilidad ya que son capaces de cambiar el fenotipo en respuesta a los cambios del microambiente en donde se desarrollan y diferenciarse en células de tejidos distintos al que pertenecen, característica denominada plasticidad o transdiferenciación. Esta característica se puede observar en las células hematopoyéticas y neuronales.^{2,3} (Fig. 7)

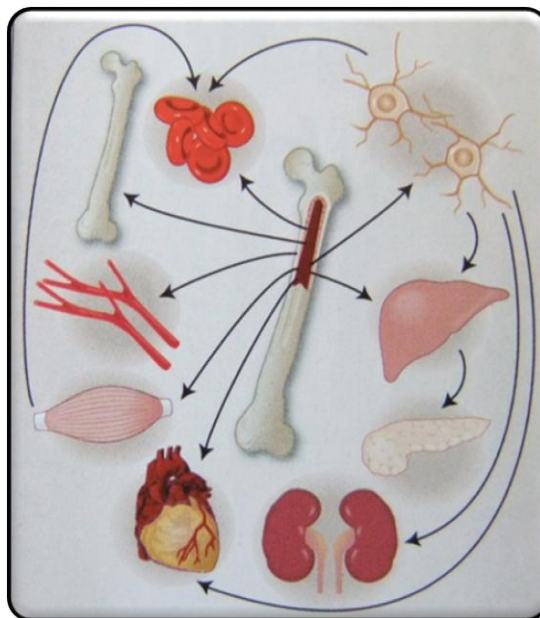


Fig. 7. Plasticidad de las células madre adultas.

Fuente: Chandar N, Viselli S. Biología molecular v celular. 2011.

Las células madre adultas más utilizadas y estudiadas son las derivadas de la médula ósea.

En estudios recientes se ha demostrado la existencia de cinco tipos de células madre en la médula ósea (Fig. 8):

- Hematopoyéticas. Este grupo de células da lugar a todos los tipos de células sanguíneas: eritrocitos, linfocitos B, linfocitos T, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos, macrófagos y trombocitos.⁸

Dan origen al endotelio. Presentan mayor plasticidad bajo ciertas circunstancias, prueba de esto es que se pueden diferenciar en tejidos derivados de las tres capas embrionarias. Además también contribuyen en el proceso de vasculogénesis y angiogénesis.

- Mesenquimales. Participan en la hematopoyesis y pueden diferenciarse en osteoblastos, condrocitos y adipocitos.⁸
- Células ovales. Pueden dar origen a células hepáticas.³
- Población lateral. Se pueden diferenciar en células hematopoyéticas.²
- Células progenitoras adultas multipotentes. Estas células tienen características similares a las células madre embrionarias, se ha demostrado que pueden diferenciarse en tejidos derivados de las tres capas embrionarias.³

Estas células presentan mayor plasticidad bajo ciertas circunstancias y pueden diferenciarse en tejidos derivados de distintas capas embrionarias.

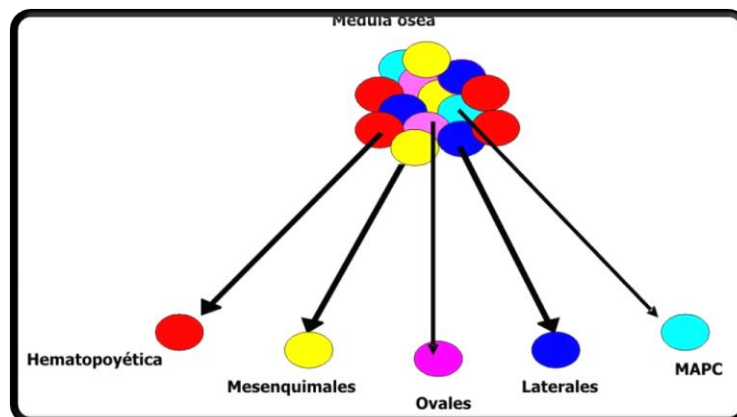


Fig. 8. Células madre presentes en la médula ósea.

Fuente: Hernández P, Dorticós E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. 2004.



De acuerdo a la potencialidad que tienen estas células, se clasifican en:

- Totipotenciales
- Pluripotenciales
- Multipotenciales
- Monopotenciales

3.3 Totipotenciales

Las células totipotenciales tiene la capacidad de diferenciarse a cualquier tipo de célula e incluso dar origen a un organismo completo.

3.4 Pluripotenciales

Las células pluripotenciales pueden diferenciarse a tejidos de cualquiera de las tres capas embrionarias.

3.5 Multipotenciales

Las células multipotenciales son aquellas que pueden diferenciarse a diferentes tipos celulares que proceden de la misma capa embrionaria.^{2,3,4,5,6}

3.6 Monopotenciales

Por último las células monopotenciales solo pueden diferenciarse a un tipo de célula adulta.³

4. Obtención de células madre

Las células madre embrionarias se pueden obtener de embriones en estadios tempranos, en este caso el uso de este tipo de células madre está en controversia ya que para obtenerlas es necesario interrumpir el crecimiento del embrión.^{2,3,4,5,9}

Otro tipo de células madre embrionarias se encuentran en tejidos gonadales del embrión por lo que son llamadas células embrionarias germinales (EGC).

También se pueden obtener de carcinomas (ECC) sobre todo de teratocarcinomas de gónadas adultas.⁹



Las células madre embrionarias ofrecen las siguientes ventajas:

- ❖ Son fáciles de adquirir
- ❖ Son flexibles
- ❖ Pueden formar cualquier tipo de tejido y mantenerse indefinidamente en cultivo

Las desventajas que presenta el uso de estas células son:

- ⤴ Está en controversia el uso de embriones humanos por razones bioéticas
- ⤴ Hay rechazo por el sistema inmunológico
- ⤴ Es difícil controlar su crecimiento
- ⤴ Potencialidad teratogénica.^{3,4}

Las células madre adultas se encuentran en tejido adiposo, cresta ilíaca, médula ósea, piel, córnea, cerebro; la obtención de las células madre de estos tejidos se realiza mediante aspirado o biopsia de tejidos.^{3,4,6}

Las células madre de la pulpa dental se obtienen mediante la segmentación de dientes extraídos, posteriormente se extrae el tejido pulpar para después aislar las células madre y permitir su crecimiento en un medio de cultivo adecuado.⁷ (Fig. 9)

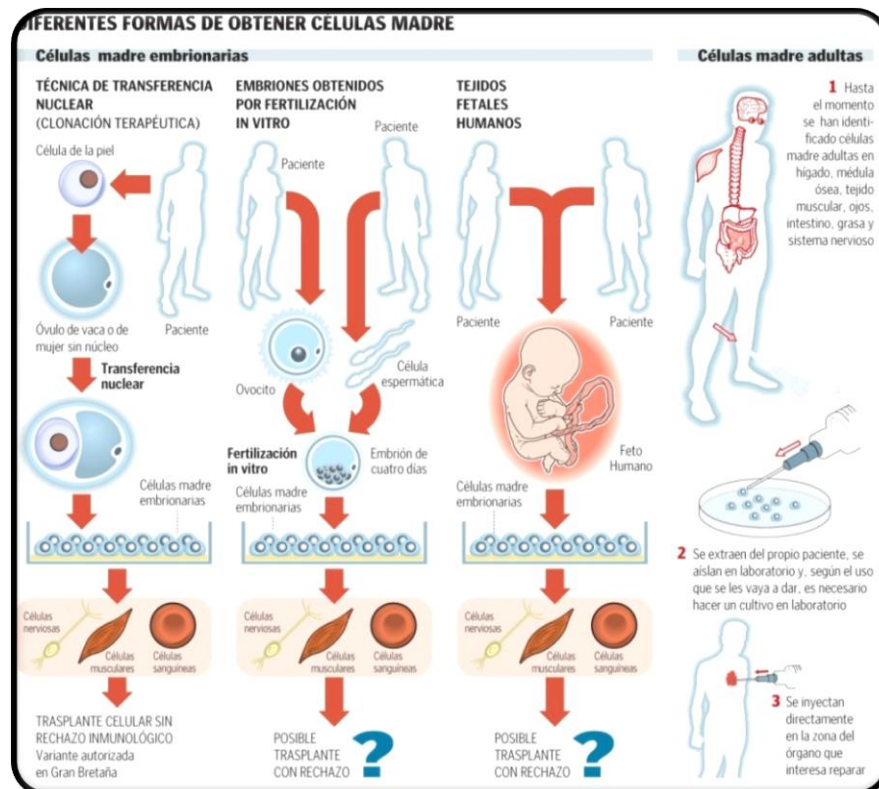


Fig. 9. Formas de obtener células madre.

Fuente: www.zonadenoticias.com/ciencia-y-tecnologia/un-paraplejico-entra-en-el-primer-ensayo-clinico-con-celulas-madre-embrionarias

Las células madre adultas tienen las siguientes ventajas:

- ❖ Son de naturaleza flexible, pueden formar otro tipo de tejido
- ❖ No hay rechazo
- ❖ Son especializadas

Y sus desventajas pueden ser:

- ⬆ Se desvanecen por naturaleza
- ⬆ Autorrenovación limitada
- ⬆ Manipulación costosa.^{3,4}



Una vez obtenidas las células madre se mantienen en un método de criopreservación que consiste en la congelación lenta controlada hasta conseguir la vitrificación homogénea, en nitrógeno líquido a -196°C .

Las células madre se identifican mediante tres criterios:

- a) Buena adherencia y crecimiento celular
- b) Inmunofenotipo adecuado. Una célula es identificada por consenso internacional como célula madre cuando se detecta la expresión de varios marcadores fenotípicos específicos que reflejan la presencia (+) y/o ausencia (-) de antígenos característicos en esas células.⁶
- c) Diferenciación: proceso que se da por la activación de genes, regulada por distintos mecanismos celulares.

Posteriormente se descongelan para estudiar si han sufrido cambios. Esto se hace en baño de agua tibia (37°C).

Después se realiza la digestión enzimática con colagenasa tipo I.¹⁰

Se colocan en un medio de cultivo suplementado con factores de crecimiento y en ausencia de suero para que no pasen a fase de diferenciación.

Durante la fase de diferenciación se usan medios de cultivo suplementados con suero y en ausencia de factores de crecimiento.

Los medios de cultivo más utilizados son: DMEM, IMDM

DMEM: Medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco. Los medios DMEM son una modificación simple del Medio Basal de Eagle (BME), en los cuales se ha aumentado la concentración de vitaminas y aminoácidos.¹¹



Sus componentes principales son:

4 mM L-glutamina
4500 mg glucosa/L
1500 mg/L bicarbonato de sodio¹²

IMDM: Medio de cultivo Dulbecco modificado por Iscove. Este medio es apto para permitir una proliferación rápida de células, y además cultivos de alta densidad.

Este medio de cultivo contiene:

4,0 mM L-Glutamina y 25 mM Hepes, bicarbonato de sodio.¹¹

5. Ingeniería de tejidos

La bioingeniería es definida como una combinación de principios y métodos científicos con métodos de ingeniería para reparar el tejido dañado o enfermo, y/o para crear el reemplazo completo del tejido.¹³

Las estrategias que han sido utilizadas en la ingeniería de tejidos están basadas en la combinación de moléculas bioactivas (factores de crecimiento) y órganos para inducir la formación de tejidos o células en el laboratorio.

Las moléculas bioactivas son frecuentemente factores de crecimiento, que están relacionados en la formación y remodelación natural del tejido. La liberación local apropiada de dichos factores a una correcta dosis por un periodo de tiempo definido puede guiar al reclutamiento, proliferación y diferenciación de células de un paciente desde un sitio adyacente.⁴

Otro procedimiento consiste en la obtención de células madre, el cultivo de estas en el laboratorio y su transplante en el sitio donde se requiere regenerar tejido.

Con ambas estrategias se requiere de un material que sirva de soporte mecánico para la formación de tejido, este puede ser sintético o natural.¹³



Entre los materiales sintéticos se utilizan materiales biodegradables del tipo Pologlicólico/poli-L-Láctico (PGA/PLLA) y poli-co-glicólico-láctico (PLGA).

El material natural más utilizado es el colágeno para soporte mecánico en la ingeniería tisular.

6. Estrategias para la inducción de la formación tisular.

6.1 Conductiva

En este tipo de procedimiento se utilizan biomateriales de manera pasiva que facilitan el crecimiento o capacidad regenerativa de un tejido existente.

Un ejemplo del uso de esta técnica se da en Periodoncia con el uso de membranas en la regeneración tisular guiada (RTG).

6.2 Inductiva

Involucra la activación de células en cercana proximidad al sitio del defecto con señales biológicas específicas, para esto se emplean proteínas morfogenéticas óseas (BMPs).

6.3 Transplante de células

Se transplantan células cultivadas en el laboratorio. Se realiza una biopsia para obtener una muestra de tejido que contenga las células de interés para después lograr la multiplicación de células en el laboratorio y mantener su función para su posterior implantación en el paciente.^{4,13,14} (Fig. 10)

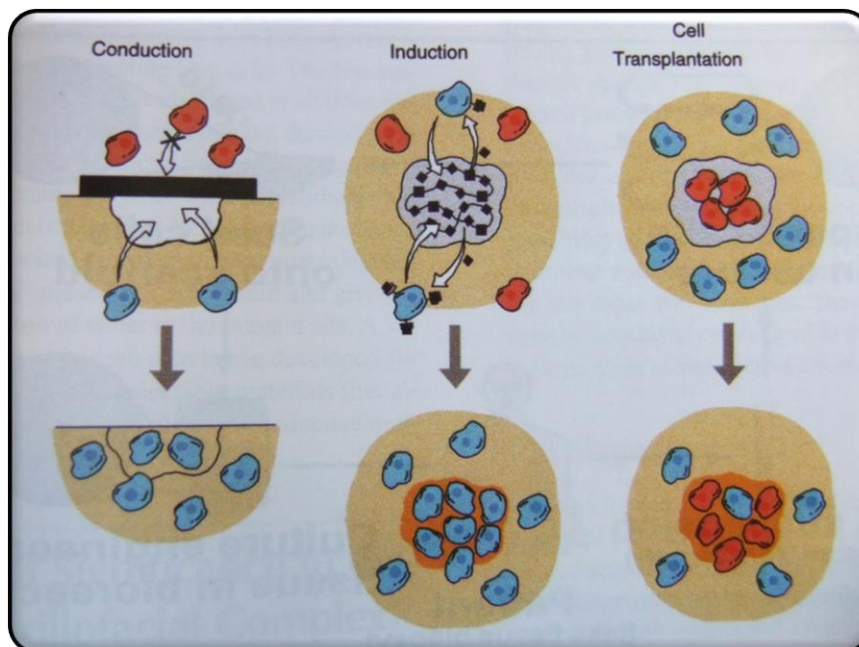


Fig. 10. Estrategias de la ingeniería de tejidos.

Fuente: Kaigler D, Mooney D. Tissue engineering's Impact on dentistry. 2001.

A continuación se describen los tejidos a los que se orienta el uso de la ingeniería de tejidos en Odontología.

Hueso

Los defectos óseos secundarios a lesión, enfermedad y desórdenes congénitos representan un gran problema de salud, por lo que las estrategias para sustituir defectos óseos incluyen la utilización de aloinjertos, autoinjertos y biomateriales sintéticos.

El uso de este tipo de materiales ofrece una buena opción de tratamiento en defectos óseos, sin embargo la ingeniería de tejidos propone la reconstrucción de tejidos iguales a los perdidos; esto se ha llevado a cabo mediante la obtención de células madre de tejido adiposo por lipoaspirado, después cultivadas en el laboratorio para su implantación en el sitio deseado mostrando formación de nuevo hueso.¹⁵



Cartílago

El trasplante de células es usado para reparar pequeños defectos del cartílago articular.

Investigadores han demostrado en modelos animales la formación de nuevo tejido cartilaginoso con el uso de membranas biodegradables para transplantar las células.¹⁴

Mandíbula

En un proyecto de investigación se aislaron células madre mesenquimales de rata y humano, estas fueron colocadas en medios de cultivo con factores condrogénicos u osteogénicos. Las células obtenidas fueron encapsuladas en un hidrogel dentro de un molde de un cadáver de cóndilo mandibular en dos capas estratificadas integradas.

Este compuesto se implantó en un ratón inmunodeprimido y se observó que el cóndilo tenía la forma y dimensiones del cóndilo mandibular del cadáver.^{4,15}

En otro estudio se escaneó la estructura ósea mandibular mediante tomografía computarizada para determinar las dimensiones de la estructura perdida de un paciente que había sido tratado por un tumor en dicha zona; posteriormente se obtuvo una malla de titanio que se rellenó con bloques de hueso, 7mg de BMP7 para estimular el crecimiento óseo.

Este tratamiento se llevó a cabo en dos fases, en la primera la estructura se implantó bajo la axila derecha, en el músculo altísimo del dorso del paciente para su vascularización. Transcurridas siete semanas se extrajo el implante y se colocó en el lugar para el que había sido diseñado con éxito y después de cuatro semanas el paciente fue capaz de comer alimentos sólidos después de 9 años.⁴ (Fig. 11)

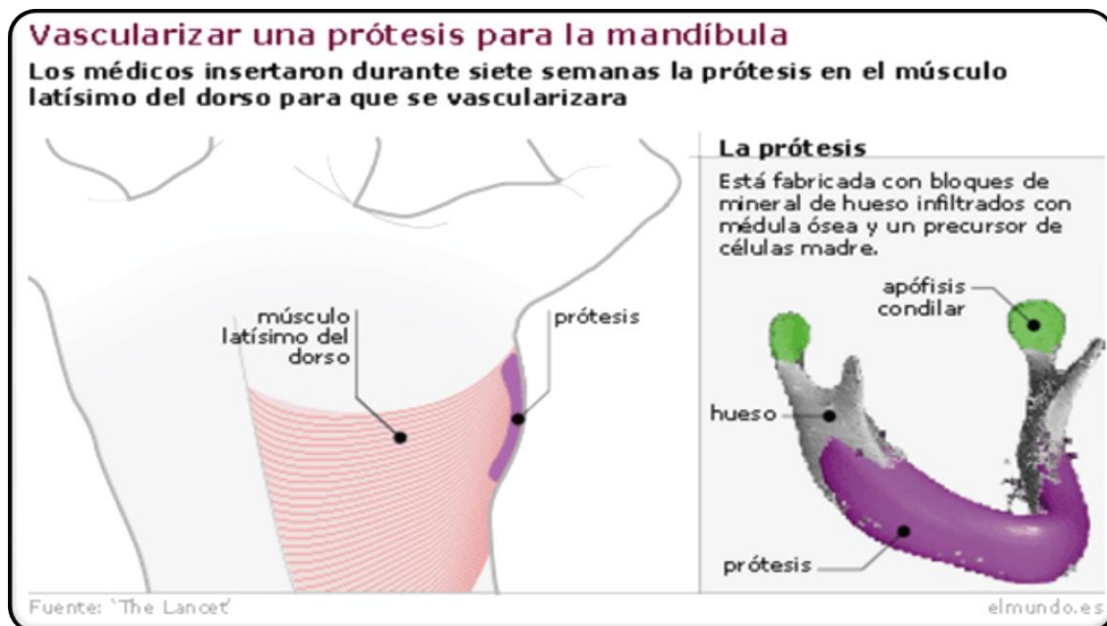


Fig. 11. Diseño de una prótesis para mandíbula.

Fuente: Mérida I. Bioingeniería y su aplicación en la Ortodoncia. 2011.

Dentina y pulpa dental

Las células madre obtenidas de la pulpa dental de dientes permanentes extraídos por indicación ortodóntica y de dientes deciduos exfoliados tienen gran utilidad en ingeniería tisular para generar dentina y pulpa dental, esto se logra colocando las células en un cultivo con proteínas recombinantes óseas (BMPs) y matrices sintéticas.¹⁴

Estas células se encuentran en la pulpa propiamente dicha, zona basal de Weil y zona rica en células.¹⁶ (Fig. 12)

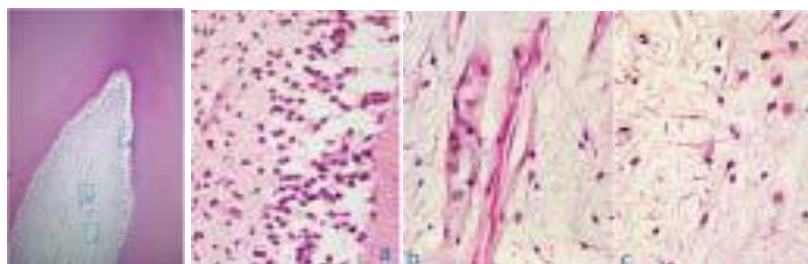


Fig. 12. Ubicación de las células madre en la pulpa dental. a: Zona basal de Weil, b: Zona rica en células y c: Pulpa propiamente dicha.

Fuente: Céspedes D, Perona G. Futuro de la odontología restauradora. 2010.



Las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) están implicadas en el desarrollo dental, la expresión de BMP2 se incrementa durante la diferenciación terminal de los odontoblastos. Esta proteína regula la diferenciación de células pulpares en un linaje odontoblástico y estimula la formación de dentina reparativa.

En un estudio donde las células madre de pulpa dental fueron cultivadas en el laboratorio y posteriormente implantadas en pulpa dental amputada de un canino se observó la formación de dentina.¹⁷

Se ha demostrado que las células madre de la pulpa dental de dientes deciduos, dientes permanentes y de ligamento periodontal son más proliferativas que las células de la médula ósea.

El Dr Songtao Shi de la Universidad del sur de California creó en un modelo animal raíz y ligamento periodontal mediante el uso de células madre obtenidas de la papila apical de la raíz. Utilizó células madre de dientes deciduos.⁴

Por otra parte Gronthos et al.¹⁸ lograron la caracterización de células madre de la pulpa dental para evaluar su capacidad de autorrenovación, diferenciación y eficiencia clonogénica. Para lograrlo utilizaron terceros molares extraídos a pacientes de 19 a 29 años, después de la obtención de las células madre, estas se mantuvieron en cultivo, la población celular fue mezclada con el complejo hidroxiapatita/fosfato tricálcico (HA/TCP), la población obtenida fue transplantada subcutáneamente en la superficie dorsal de ratones inmunocomprometidos, se observó la formación de dentina, mientras que otro grupo de células se utilizó para lograr la diferenciación en adipocitos y células neurales.

Con esto se puede corroborar que las células madre de pulpa dental tienen la capacidad de diferenciarse en diferentes linajes, así como potencial clonogénico y de autorrenovación. (Fig. 13)

Diversos estudios han comprobado que las células madre de la pulpa dental de dientes deciduos y permanentes pueden generar dentina y hueso, mientras que las células madre presentes en dientes en estadio de brote pueden formar la totalidad de la corona.¹⁶

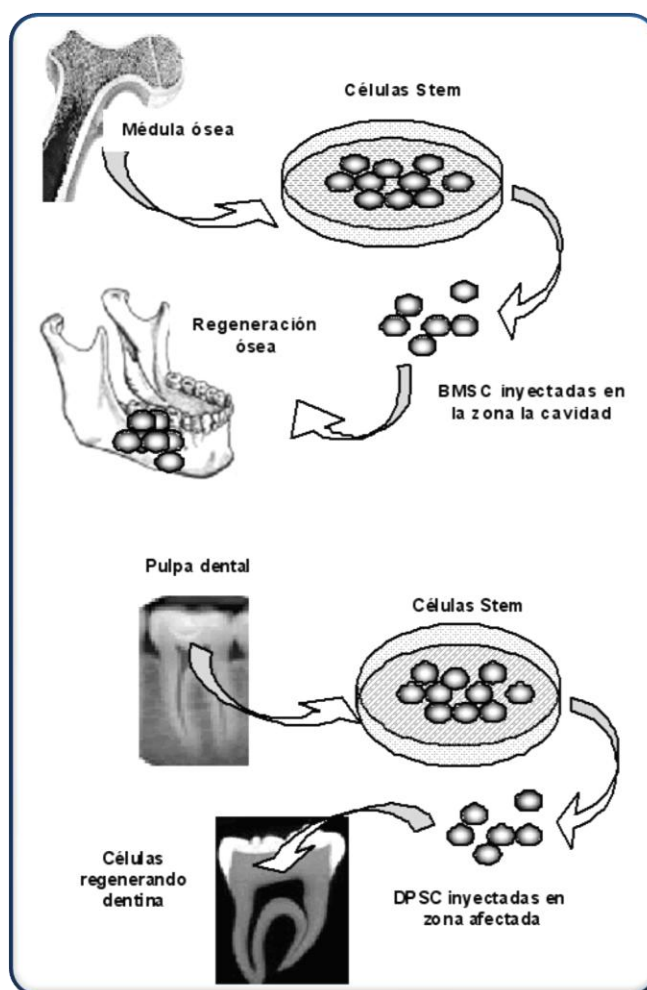


Fig.13. Las células madre adultas pueden ser tomadas de varios tejidos y cultivadas in vitro. Cuando se implantan en el sitio alterado las células madre tienen el potencial de regenerar hueso y estructuras dentales.

Fuente: Munévar JC, Becerra A, Bermúdez C. Aspectos celulares y moleculares de las células madres involucrados en la reparación de tejidos en la práctica clínica odontológica. 2008.



En la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Odontología de la UNAM se logró caracterizar e inducir la diferenciación de células madre provenientes de pulpa dental hacia un fenotipo mineralizante.⁷

Para este estudio se utilizaron premolares permanentes extraídos por indicación ortodóntica de cinco pacientes. Una vez realizada la extracción el órgano dentario se colocó en medio Dubelcus Modified Eagle Medium (DMEM) frío para garantizar el estado celular vital del tejido pulpar.

El tejido pulpar se obtuvo después de fracturar el órgano dentario con pieza de alta velocidad, la muestra se extrajo de la cavidad y se colocó en medio DMEM frío estéril.

Después de extraer las células madre de la muestra se realizó la diferenciación con un medio inductor de la biomineralización que contiene medio DMEM.

Para evaluar la diferenciación de estas células se evaluaron los niveles de expresión del gen que codifica para dos proteínas que participan en el proceso de biomineralización; sialoproteína ósea (BSP) y osteopontina (OPN) por medio de la reacción en cadena de la polimerasa reversa y por detectar la presencia de nódulos mineralizados por medio de la tinción con rojo de azilarina.⁷

La regeneración de dentina en endodoncia se logra mediante terapia in vivo y terapia ex vivo.

Terapia in vivo: se aplican proteínas morfogenéticas óseas en la exposición pulpar.

Terapia ex vivo: se aíslan células madre de tejido pulpar igualmente, se les aplican proteínas morfogenéticas óseas para su diferenciación en odontoblastos y se transplantan para la regeneración de la dentina.¹³



Esmalte dental

Dado que los ameloblastos después de cumplir con su función de elaborar matriz de esmalte en la formación dental sufren apoptosis, no hay manera de que este tejido se pueda regenerar cuando es afectado.

Actualmente se ha diseñado un esmalte sintético con nanoapatitas que presentan similitud estructural con la hidroxiapatita.

La creación de este esmalte sintético se logra colocando las nanoapatitas en un contenedor con agua y solvente, después de un tiempo el agua se evapora y las nanopartículas van adquiriendo la forma de prismas.⁴

Ligamento periodontal

Las técnicas actuales utilizadas para la regeneración de tejidos periodontales perdidos por enfermedad periodontal emplean membranas e injertos, como la regeneración tisular guiada (RTG). Con esto se logra regenerar tejido periodontal con características similares al tejido perdido.

En la ingeniería de tejidos se busca que el tejido regenerado sea igual al tejido perdido. Un estudio realizado por Carini et al.¹⁹ a 7 pacientes con periodontitis crónica severa tuvo como objetivo la evaluación de la estabilidad, biocompatibilidad, toxicidad y potencialidad de las células madre in vivo, para la regeneración de defectos óseos.

Durante una primera fase de tratamiento se procedió a eliminar el agente causal de la periodontitis dando instrucciones de higiene oral, raspado y alisado radicular. Durante esta fase también se corrigió el trauma oclusal y los dientes con movilidad fueron ferulizados.

Tres meses después de haber realizado la terapia causal, se evaluaron clínica y radiográficamente las bolsas y defectos periodontales.



Las células madre se obtuvieron mediante aspirado de la cresta ilíaca. Una vez aisladas las células, se logró la expansión y diferenciación hacia un fenotipo osteoblástico y se colocaron en un andamio de colágeno.

Una parte de estas células se utilizó para el andamio de colágeno, otra parte para pruebas microbiológicas. Después se indujo la diferenciación odontoblástica.

Después del día 21 y antes del 42 se efectuó la tinción con rojo de azilarina para comprobar el proceso de mineralización.

Para realizar el trasplante se hizo una incisión intrasulcular, se levantó el colgajo y se procedió a la eliminación del tejido de granulación. Se llenó el defecto periodontal con el andamio de colágeno que contenía las células madre y se suturó reposicionando el colgajo.

Seis meses después del procedimiento quirúrgico se verificó el estado periodontal de la zona tratada donde radiográficamente se observó un relleno del área cerca de los defectos periodontales primarios.¹⁹

7. Ingeniería genética

La ingeniería genética incluye toda la aplicación de los conocimientos genéticos a un fin tecnológico.

La ingeniería genética molecular es la parte de la ingeniería genética en la que se manipula directamente el ADN aislado, mientras que la ingeniería genética no molecular manipula los organismos o las células vivas.

El primer paso para la ingeniería genética molecular es aislar un segmento de ADN y multiplicarlo hasta obtener cantidades manejables.²⁰

El ADN se obtiene de cualquier material biológico. Las muestras más utilizadas son sangre, tejidos obtenidos de biopsia, líquido amniótico.



Al extraer el ADN del núcleo de la célula a través de la lisis celular, se extraen las proteínas y ARN, después se realiza la precipitación del ADN hasta llegar a su purificación.²¹

El ADN obtenido es digerido por enzimas de restricción que producen fragmentos de ADN, estas enzimas cortan la hélice de ADN en una secuencia concreta llamada sitio de restricción.

Los puentes de hidrógeno son disueltos aumentando la temperatura, a este proceso se le llama desnaturalización. Cuando la temperatura disminuye las cadenas simples se unen nuevamente, esta capacidad de renaturalización se utiliza en el proceso de hibridación.^{21,22}

8. Ácidos nucleicos: ADN y ARN

El ADN y el ARN son ácidos nucleicos compuestos por nucleótidos, estos a su vez formados por una base nitrogenada, una pentosa y un fosfato.

Los azúcares que componen a los nucleótidos son derivados de la ribosa en el ARN y de la desoxirribosa en el ADN.

Las bases nitrogenadas se dividen en bases pirimidínicas: citosina, timina y uracilo. Las bases púricas son adenina y la guanina.

El ADN y el ARN contienen dos bases púricas adenina y guanina; y una de las bases pirimidínicas: citosina y la segunda es la timina en el ADN y uracilo en el ARN.

Los ácidos nucleicos se forman cuando los nucleótidos se unen entre sí por medio de puentes fosfodiéster entre el C3 de un nucleótido y el C5 del siguiente. La secuencia lineal de los nucleótidos es en dirección 5' a 3'.²³

Las bases nitrogenadas se mantienen unidas por puentes de hidrógeno; la adenina se une específicamente con la timina o uracilo en el ARN mediante

tres puentes de hidrógeno y la guanina se une a citosina con dos puentes de hidrógeno. Esta unión entre bases nitrogenadas le confiere la estructura de doble hélice al ADN, por lo que la secuencia de bases nitrogenadas en una cadena de ADN en dirección 5' a 3' es complementaria de la secuencia de bases nitrogenadas de la otra cadena en dirección 3' a 5'; es decir, son antiparalelas. (Fig 14)

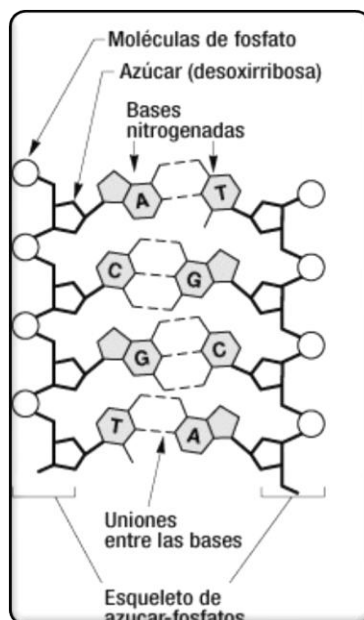


Fig. 14. Estructura del ADN.

Fuente: www.aportes.educ.ar/biologia/nucleo-teorico/estado-del-arte/el-libro-de-la-vida-el-adn/estructura_del_adn.php

La estructura del ADN está conformada por dos cadenas helicoidales enrolladas alrededor del mismo eje. Los pares de bases nitrogenadas se encuentran en el interior de la doble hélice y corresponde a la parte hidrofóbica, la pentosa y los grupos fosfato se encuentran en el exterior que conforma la parte hidrofílica.

Dicha estructura helicoidal se repite cada 10 pares de bases, el apareamiento compensado de las dos cadenas da lugar a la formación de un surco mayor y un surco menor en la superficie de la doble hélice.²³ (Fig. 15)

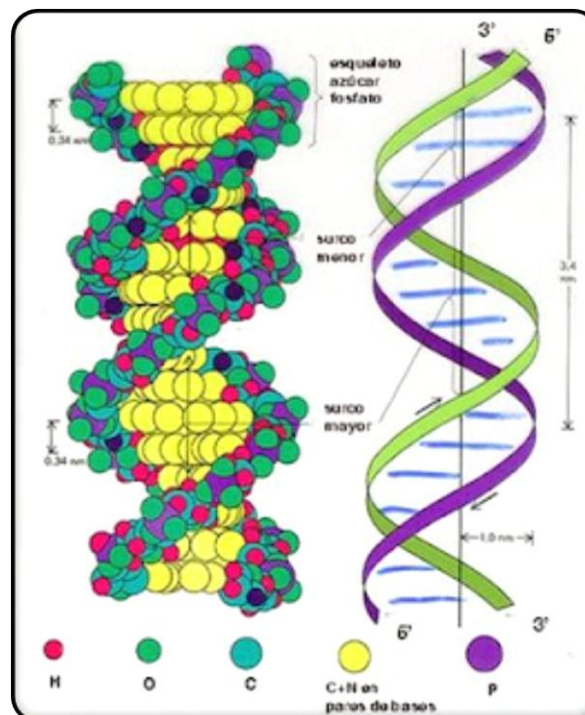


Fig. 15. Conformación de ADN. Con rojo se distinguen los átomos de hidrógeno (H); con verde los carbonos (C). Los átomos violeta son los fósforos (P) y los átomos de nitrógeno (N) de las bases en violeta.

Fuente: www.estructuraadn.blogspot.com/2008/12/definicion-de-adn-y-arn-cido.html

Replicación de ADN

La replicación de la estructura del ADN tiene lugar a través de la separación de las dos hebras y la síntesis de hebras complementarias a ellas. Es semiconservativa pues formará una hebra complementaria conservando la otra.²³

Durante la síntesis de ADN participan las siguientes proteínas:

- ◆ Polimerasa: llevan a cabo la síntesis a partir de una hebra molde.
- ◆ Helicasas: separan las dos cadenas para formar la horquilla de replicación.
- ◆ Primasas: inician la síntesis de la cadena.
- ◆ Proteínas de iniciación: reconocen el punto de origen de la replicación

En conjunto este grupo de proteínas reciben el nombre de replisoma.

La replicación comienza en varios sitios o replicones, se da en ambas direcciones de cada replicón hasta que los replicones vecinos se fusionan y todo el ADN es duplicado, este se sintetiza en dirección 5' a 3'.

En la cadena que va en dirección 3' a 5' la replicación de ADN se da por partes de 1000 a 2000 pares de bases llamados fragmentos de Okazaki.

En esta cadena se requiere una pequeña parte de ARN como cebador para iniciar la replicación. Este es formado por la ARN polimerasa. El fragmento de ARN es removido y el ADN formado ocupa su lugar por la polimerasa I. Una vez ocupados los espacios por el ADN estos segmentos son ligados por la ADN ligasa.

La enzima que se encarga de la síntesis de ADN es la ADN polimerasa III.²²
(Fig. 16)

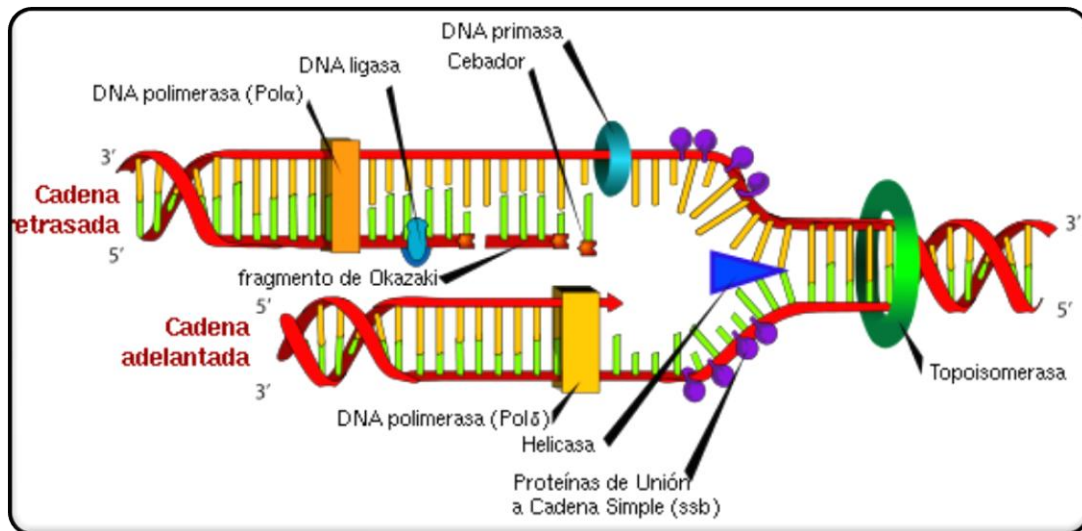


Fig.16. Replicación del ADN.

Fuente: www.aprenderasbiologia.blogspot.com/2011/01/replicacion-del-adn.html



Transcripción y traducción

La información genética contenida en el ADN es transferida de manera unidireccional mediante la transcripción y la traducción.

La transcripción es el proceso de formación de mRNA sobre un molde de ADN. La hélice se abre y la cadena en dirección 3' a 5' sirve como molde para la transcripción de ARN que se sintetiza en dirección 5' a 3'.

En la traducción la información contenida en el mRNA es traducida a una secuencia de aminoácidos correspondiente.

Durante la traducción los aminoácidos son enlazados mediante el tARN. Cada aminoácido posee su propio tARN.²²

Reparación del ADN

Una célula solo tiene una o dos copias de ADN genómico y este puede ser dañado por agentes ambientales e incluso en el proceso de replicación pues puede que en el proceso queden pares de bases mal apareadas.

Cuando resulta un cambio en la secuencia de bases del ADN que se replica y transmite la información a futuras generaciones este se hace permanente. Tal cambio permanente de la secuencia de cambios de la secuencia de nucleótidos de ADN recibe el nombre de mutación.

Si la mutación se da por la sustitución de un par de bases por otro se denomina mutación por sustitución, si se da por la adición de uno o más pares de bases es una mutación por inserción y finalmente, si la mutación es por la eliminación de uno o más pares de bases se conoce como mutación por delección.²³

Cuando existe una mutación es de gran importancia lograr la reparación del ADN para permitir la correcta función de la célula, es por esto que cuenta con varios sistemas de reparación que logran la corrección de apareamiento de



bases o nucleótidos dañados; sin embargo, esto no siempre es posible y da como resultado diferentes enfermedades genéticas.

ARN

El ARN tiene la función de almacenamiento y transmisión de la información.

Hay tres tipos de ARN: ARN mensajero, de transferencia y ribosómico.

El ARN mensajero (mARN) codifica la secuencia de aminoácidos de uno o más polipéptidos especificados por un gen.

El ARN de transferencia (tARN) lee la información codificada en el mARN y transfiere el aminoácido adecuado a la cadena polipeptídica en crecimiento durante la síntesis de proteínas.

El ARN ribosómico (rARN) forma parte de los ribosomas.²³

9. Tecnología del ADN recombinante

La tecnología del ADN recombinante reúne una serie de técnicas para la detección de alelos mutantes tanto de individuos como de embriones dentro del útero.²⁴

9.1. Diagnóstico temprano de enfermedades genéticas

Algunas enfermedades genéticas pueden ser detectadas en etapas tempranas, permitiendo la prevención o tratamiento.

Actualmente el diagnóstico prenatal de ciertas enfermedades se logra con métodos como la ecografía, la identificación de ciertas sustancias en el suero materno y la ecografía de alta resolución, estos métodos no son invasivos.

Otros métodos son invasivos como la amniocentesis y la biopsia de vellosidades coriónicas, que permiten llevar a cabo el diagnóstico prenatal citogenético. Aunque es posible el diagnóstico, el tratamiento de las



enfermedades detectadas por pruebas prenatales todavía no es posible, y los padres tienen la elección de abortar o no el feto afectado.²⁵

9.1.1. Amniocentesis

La amniocentesis se realiza a partir de una muestra de fluido amniótico que rodea al feto, obtenida entre las semanas 16 y 20 de gestación. La muestra se toma introduciendo una aguja delgada a través de la pared abdominal de la madre y de las membranas que encierran al feto. Mientras se desarrolla el procedimiento se observa al feto en un monitor por medio de un sonograma o ecografía. Esto le permite al médico identificar su ubicación precisa. El líquido amniótico contiene células vivas desprendidas del feto que son genéticamente idénticas a las demás células fetales. Estas células, que se hacen crecer en cultivo, se encuentran detenidas en mitosis y su cariotipo puede ser analizado para detectar anomalías cromosómicas.

9.1.2. Biopsia de vellosidades coriónicas

Biopsia de vellosidades coriónicas: es un procedimiento que consiste en recolectar células de corion, que es una de las membranas fetales. Las células se analizan citogenéticamente. La ventaja de este método es que la prueba puede efectuarse en la semana 12 del embarazo.

El diagnóstico prenatal presenta algunas limitaciones: la enzima o proteína buscada puede expresarse sólo en tejidos específicos y puede no ser detectable en el líquido amniótico o en las células de vellosidades coriónicas. Las células amnióticas no crecen con facilidad y los cultivos pueden contaminarse o morir antes de que haya suficientes células para analizar. Lo que se busca es el producto anormal de un gen y ya que se conocen relativamente pocos de los productos que caracterizan los trastornos humanos heredados, el diagnóstico por estos medios es limitado.²⁵

9.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Es un sistema de amplificación in vitro de un segmento específico de ADN.

La técnica consiste en desnaturalizar el ADN donde se encuentra el segmento que se va a amplificar, se pone en contacto con dos oligonucleótidos que actúan como cebadores complementarios al segmento de ADN, después de la unión de los cebadores con la secuencia complementaria inicia la síntesis de ADN por una ADN polimerasa y desoxirribonucleótidos que se utilizan para que se pueda producir la síntesis in vitro.

Se repiten varios sitios de desnaturalización por calor y renaturalización de los cebadores con sus secuencias complementarias y la extensión de los cebadores con ADN polimerasa.

De esta manera se van duplicando los segmentos de ADN y esto lleva a la amplificación del ADN después de una serie de ciclos.²⁰ (Fig. 17)

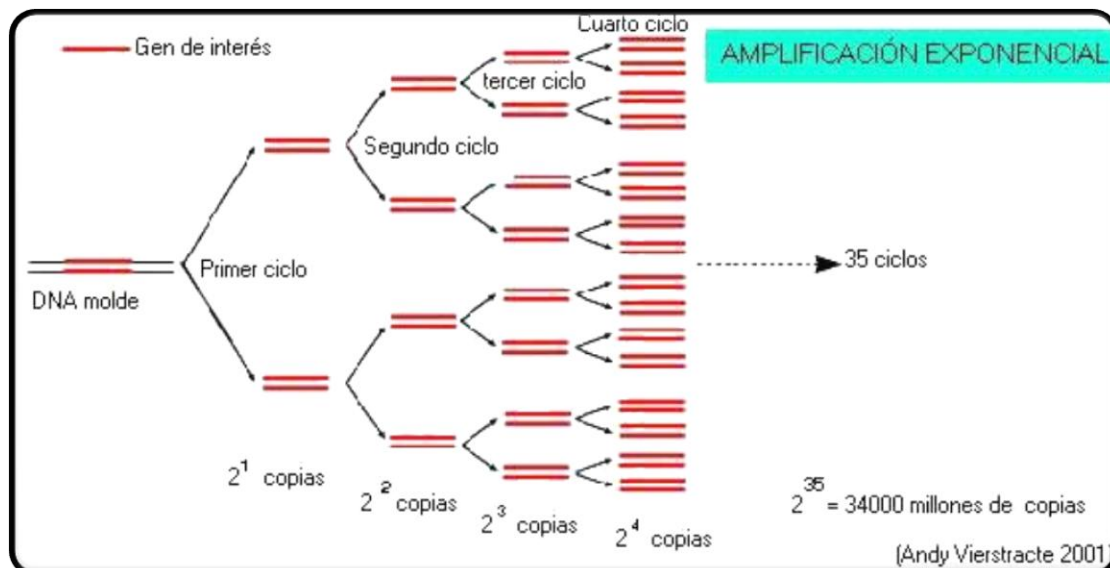


Fig.17. Reacción en cadena de la polimerasa.

Fuente: e-ciencia.com/recursos/monografias/biologia/tecnica-de-reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa.html



Esta técnica es útil en el diagnóstico de enfermedades asociadas a la presencia de un sitio mutante específico.²⁴

9.3. Enzimas de restricción

Las enzimas de restricción son componentes normales de las bacterias que tiene la función de cortar el ADN en un lugar específico llamado sitio de restricción, estos sitios tienen de cuatro a ocho bases de longitud.

Algunas enzimas rompen las cadenas de ADN en el mismo sitio formando extremos alineados, mientras que otras las rompen en diferentes sitios produciendo extremos desalineados.

9.4 Hibridación molecular y sondas génicas

Las sondas génicas son segmentos de ADN elaborados con secuencias de bases idénticas y complementarias al gen que se requiere analizar para que el segmento hibride con él.

Se deben hacer dos sondas, una con la secuencia normal y otra con la secuencia que incluye el cambio de una base. La primera se une con el gen normal mientras que la otra con el gen portador de una mutación.²⁶

10. Terapia génica

La terapia génica es un procedimiento que consiste en el tratamiento de enfermedades genéticas mediante la introducción de un gen silvestre para corregir la función defectuosa de los genes mutados.^{20,21,24,26}

10.1 Terapia génica de la línea germinal

Consiste en introducir células transgénicas en las células germinales.

Este tipo de terapia génica presenta varias desventajas que dificultan su uso, como son:



- Interfiere con el crecimiento y desarrollo normales por la mezcla del gen normal con el gen mutado.
- Se revierte el fenotipo alterado pero el alelo mutante presente podría separarse del transgén en futuras generaciones.²⁴

10.2 Terapia génica de células somáticas

Consiste en corregir el fenotipo de una enfermedad mediante el tratamiento de células somáticas.^{21,24}

Las células somáticas pueden ser modificadas de tres formas:

- * Sustituir genes alterados. Se sustituye el gen defectuoso o se repara la secuencia mutada.
- * Inhibir la expresión génica. Se interfieren los mecanismos de expresión génica mediante ARN anti-sentido bloqueando el mRNA.
- * Insertar nuevos genes. Se introduce la copia de un gen normal para sustituir la función de un gen mutante.^{21,27}

La terapia génica de células somáticas implica tres pasos secuenciales:

- 1) La eliminación de algunas de las células del paciente
- 2) La introducción de copias normales y funcionales del gen defectuoso del paciente en estas células
- 3) La reintroducción de las células transgénicas corregidas en el paciente.

Los genes pueden ser modificados en el laboratorio (ex vivo) o modificados en las células del paciente directamente (in vivo). (Fig. 18)

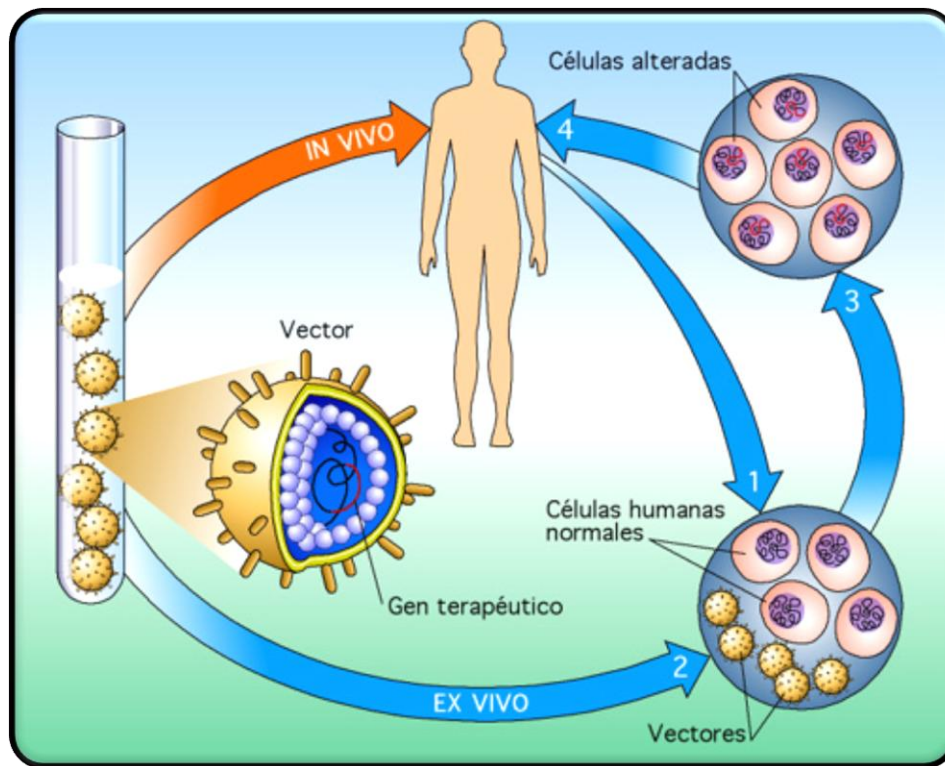


Fig. 18. Terapia génica.

Fuente: www.recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/2bachillerato/genetica/contenido14.htm

El primer paso en la terapia génica es caracterizar con exactitud la determinación genética propia de la enfermedad y la alteración fisiológica del paciente que corresponde a la mutación, ya que la terapia génica está indicada para enfermedades causadas por la mutación de un solo gen.²⁰

11. Sistemas de transferencia genética

La inserción del gen corregido a las células se realiza mediante métodos físicos, químicos y biológicos.

En los métodos químicos se utilizan sales como el fosfato de calcio o liposomas a los cuales se les introduce el gen corregido.²¹



Los liposomas son vesículas sintéticas que se forman espontáneamente cuando ciertos lípidos son mezclados en una solución acuosa.

El ADN que será transferido es empacado (in vitro) con los liposomas o usado directamente para la transferencia genética a un tejido (in vivo).

Los liposomas catiónicos tienen una carga positiva en la superficie y el ADN es ligado en el exterior de dicho liposoma. Los liposomas aniónicos tienen una carga negativa en su superficie y transportan en ADN en el interior.

El motivo por el que son menos utilizados los liposomas para la transferencia genética es que tienen menos eficiencia y el ADN introducido no se integra dentro del cromosoma por lo que la expresión del gen insertado es transitoria.²⁷

Los métodos físicos emplean la electroporación que consiste en el uso de corriente eléctrica para formar poros en la membrana celular que permiten el paso del ADN a la célula y la microinyección del gen directamente a la célula.²¹

11.1. Vectores virales

Los métodos biológicos comprenden el uso de virus.

Los virus son utilizados como vectores en la terapia génica bajo circunstancias ideales.

Se utilizan retrovirus, adenovirus, virus adeno-asociados y herpes virus.

Los retrovirus son virus que contienen ARN de cadena sencilla como genoma viral. Tienen la ventaja de que penetran efectivamente en las células en división y se integran en el material genético de la célula huésped sin introducir los genes virales; por tanto permiten una corrección permanente; además, se inserta solamente una copia del gen en cada célula. Las



desventajas son que sólo se pueden integrar en células que se dividen activamente, como las células sanguíneas, hay dificultades en controlar y asegurar la expresión, el tamaño de los genes que se introducirán es limitado y existe potencial de daño al genoma por integrarse al azar en éste pudiendo causar una mutación.^{21,24,27,28}

Este procedimiento ya ha sido utilizado para el tratamiento de una enfermedad causada por la deficiencia de adenosina desaminasa, que afecta la función del sistema inmunológico del paciente; se escogió esta alteración para ser tratada con terapia génica debido a que podía ser corregida actuando sobre un solo gen.

Las células fueron extraídas de la médula ósea del paciente y transformadas en el laboratorio con retrovirus modificados que contenían un gen funcional de la adenosina desaminasa. Una vez modificadas las células, fueron reintroducidas en la médula ósea del paciente. Después de 4 años el paciente pudo llevar una vida normal.^{23,24}

Los adenovirus atacan normalmente a los epitelios respiratorios, tienen la ventaja de que se logra con ellos un alto nivel de expresión, persisten extracromosómicamente en las células, lo que elimina el riesgo de una mutación en las células del huésped; son relativamente fáciles de manejar, infectan un buen número de tipos celulares, incluyendo la capacidad de infectar células que no se están dividiendo. Las desventajas son que producen un alto nivel de rechazo inmunológico y que su genoma es muy complejo y no del todo comprendido, además de tener una vida corta por no integrarse en el genoma.^{21,24,27,28}

Los virus adenoasociados contienen ADN lineal de cadena sencilla, se integran en sitios específicos del genoma, pueden infectar diferentes tipos de células, pero requieren de los genes virales para integrarse; además, el tamaño del gen que pueden integrar es muy limitado.^{21,28}



Herpes virus

Pueden llevar grandes cantidades de ADN insertadas y establecer infecciones latentes de larga duración en las cuales el genoma del virus existe sin efectos en la célula hospedera.^{24,27}

12. Aplicación en la Ortodoncia del uso de la ingeniería de tejidos y terapia génica

12.1 Ingeniería tisular

La Ingeniería de tejidos podrá ser utilizada en un futuro para consolidar fracturas y rellenar defectos óseos después de una extracción dental por medio de la inducción de formación de hueso.⁴

Las células madre se utilizan también para regenerar tejidos periodontales que le dan soporte a los órganos dentales y que evita su pérdida prematura, lo que podría favorecer el desarrollo de maloclusiones.

Se podrán cultivar fibroblastos, ameloblastos, odontoblastos y cementoblastos para el reemplazo de tejidos perdidos por caries o periodontopatías.

Para la formación de cartílago articular en el caso de trastornos de la ATM, que hoy en día son muy frecuentes.

Con el conocimiento de las moléculas necesarias para el desarrollo de un órgano dental, en algunos años se logrará también desarrollar órganos dentarios completos para su posterior implantación en lugares donde se hayan perdido o no se hayan formado en el caso de agenesia.

Otro factor que favorece el uso de la ingeniería tisular es que las células madre se pueden obtener de la pulpa dental de dientes permanentes y deciduos.²⁹



Promover el crecimiento de los tejidos óseos y dentales en: maloclusiones esqueléticas, periodontopatías, trauma para reemplazar tejidos en síndromes, trauma y enfermedades de ATM.²⁹

12.2 Factores genéticos de las maloclusiones

Clase II

En esta maloclusión el surco vestibular del primer molar permanente inferior está por distal de la cúspide mesiovestibular del primer molar superior.³⁰

Clase II división 1

Caracterizada por los incisivos en protrusión aumentando el resalte. Es atribuida a una herencia multifactorial poligénica.²¹

Clase II división 2

En esta maloclusión los incisivos centrales superiores están retroinclinados y los incisivos laterales se encuentran inclinados hacia vestibular, hay disminución del resalte y sobremordida.³⁰ Los factores genéticos son la principal causa etiológica en el desarrollo de esta maloclusión.²¹

Clase III

El surco vestibular del primer molar inferior esta por mesial de la cúspide mesiovestibular del primer molar superior, se caracteriza por prognatismo mandibular.³⁰

Se ha demostrado que la clase III posee un carácter hereditario; sin embargo, no se ha podido establecer el modo en el que se transmite.²¹

El desarrollo de estas maloclusiones está relacionado con la expresión de varios genes que interactúan con el medio ambiente, esta interacción



determina la manifestación y severidad de las características fenotípicas de cada una de ellas.

12.3 Terapia génica

Uno de los campos de la odontología que puede beneficiarse directamente de este tipo de terapias lo constituye el relacionado con las alteraciones craneofaciales y dentales.

Para la ortopedia craneofacial sería muy importante poder lograr la manipulación del crecimiento inhibiendo o promoviendo la formación de tejidos en síndromes y maloclusiones esqueléticas.

Particularmente los síndromes de Apert, Pfeiffer y Crouzon afectan el crecimiento craneofacial normal, debido al cierre prematuro de las suturas producido por una mutación en el gen FGFRII (receptor tipo II del factor de crecimiento fibroblástico). La investigación que se está realizando actualmente está dirigida a conocer las funciones de los genes que se expresan en este tejido, los mecanismos de señalización celular, las actividades de los factores de transcripción específicos y las interacciones celulares. Con el conocimiento de los procesos que tiene lugar durante el desarrollo de las estructuras craneofaciales será posible prevenir o intervenir tempranamente mediante terapia génica las alteraciones relacionadas con los síndromes que afectan el crecimiento craneofacial.

Con el uso de la ingeniería genética molecular se pueden conocer los genes involucrados en el desarrollo de maloclusiones, analizando el perfil genético del paciente. Una vez detectados se podrán corregir mediante la terapia génica o prevenir la aparición de sus manifestaciones.²⁹

Con el conocimiento de los genes involucrados en el desarrollo dental se logrará la inducción de agenesia; por ejemplo de terceros molares o en caso



contrario la formación de nuevos dientes en los casos donde se hayan perdido.²⁹

En cuanto al entendimiento del control genético en la morfogénesis dental, se conoce recientemente la identificación de genes, cuyas mutaciones causan hipodoncia: MSX1 para la forma autosómica dominante, PAX 9 asociada a Oligodoncia y el gen para la Displasia Ectodérmica Anhidrótica (EDA) en la forma ligada a X.

MSX1 y PAX9 son genes que codifican para factores de transcripción que se expresan en el mesénquima después de la iniciación del desarrollo dental como respuesta a señales del epitelio. La agenesia de segundos premolares ha sido asociada con la mutación Arg31Pro del MSX1.³¹

Se ha encontrado relación de la maloclusión clase III con el gen MSX1, además de que la mutación de este gen causa hipodoncia y fisura labiopalatina, en estudios se ha demostrado que existe asociación entre la clase III y la hipodoncia.³²

Otra utilidad en el campo de la Ortodoncia es en el movimiento dental ortodóncico, para conocer las moléculas que actúan durante dicho movimiento. Una de estas moléculas es la endotelina 1 (ET-1), una citoquina que se encuentra en el ligamento periodontal y en el lecho microvascular de dientes movilizados ortodóncicamente, actúa en la embriogénesis en la regulación de la proliferación celular, en la liberación de factores de crecimiento y en el desarrollo de anomalías dentofaciales, se ha reportado en estudios que la inyección de células endoteliales modificadas genéticamente puede activar la angiogénesis en sitios específicos de un órgano o tejido.

También se ha encontrado que el gen de la interleucina-1 (IL-1B), el gen TFNRS11A y el gen de la fosfatasa alcalina inespecífica de tejido (TNSALP) están relacionados con la reabsorción radicular externa que ocurre con el



movimiento ortodóncico. El TNF encontrado en el surco gingival durante el movimiento dentario presenta valores elevados.³³

El alelo 1 del gen Il-1B aumenta el riesgo de reabsorción radicular externa.³⁴

El gen TNSALP actúa en la mineralización y formación de cemento. El TNF- α participa en la regeneración de hueso in vivo e in vitro.³³

El conocimiento de las moléculas que intervienen en la respuesta biológica a la fuerza mecánica producida por ortodoncia permitirá en un futuro el control del movimiento ortodóntico, mediante la administración de genes o moléculas modificadas genéticamente para modular el ritmo de movimiento dental acelerando o reduciendo su velocidad según las necesidades del caso.³⁵

Los genes Noggin y Chordin intervienen en el desarrollo de la mandíbula y son antagonistas de las BMP. En un estudio con ratones se observó la presencia de una mutación del gen Noggin y esto produjo defectos mandibulares como hipoplasia mandibular, micrognatia y agnatia.³⁶

Incluso se pueden combinar estas técnicas para promover la regeneración de tejidos se ha utilizado la electroporación para transferir el gen GDF11 (que codifica para la proteína BMP11) en la pulpa dental amputada, y estimula la formación y reparación de dentina. En estos métodos se aíslan las células madres de la pulpa dental con genes que codifican para las BMP, y luego se implantan las células dentro de la pulpa afectada. Este procedimiento ex vivo para transferir genes estimula la reparación y formación de dentina más rápidamente lo que evitará pérdidas dentales y con ello los efectos nocivos que esto conlleva para la oclusión.²⁹



13. Conclusiones

Las células madre se encuentran normalmente en tejidos embrionarios en las primeras etapas del desarrollo y en tejidos adultos, su función principal es regenerar tejidos cuando estos son afectados.

La ingeniería tisular ofrece una alternativa de tratamiento que permite la regeneración de tejido igual al tejido perdido ya que utiliza células madre obtenidas del propio paciente lo que evita el rechazo del sistema inmunológico.

Las células madre tienen varias características como la capacidad de autorrenovación, proliferación y diferenciación que permiten la formación de tejidos en el paciente cuando se realiza in vivo, esto es que se administran las células madre directamente en el sitio donde se desea la formación de tejido.

También se puede realizar ex vivo, cuando se manipula en el laboratorio y se desarrolla el tejido en el laboratorio para su posterior implantación en el paciente.

El uso de esta estrategia de regeneración de tejidos será de gran utilidad en el área de la Ortodoncia para la regeneración ósea e incluso la creación de dientes completos.

Por otra parte la ingeniería genética es una técnica basada en una serie de estrategias para el diagnóstico de enfermedades y problemas genéticos mediante la manipulación del ADN obtenido de células del paciente para su estudio y finalmente para el tratamiento de dichos trastornos que estén causadas por la mutación de uno o varios genes.

La ingeniería genética consiste básicamente en la corrección de genes defectuosos en el paciente o en el laboratorio para después reintroducirlos



en los tejidos mediante vectores de transferencia, siendo los más utilizados los virus por sus capacidades de integrarse en el genoma de las células.

Con la ingeniería génica se podrán efectuar análisis genéticos para determinar los genes relacionados en síndromes y maloclusiones dentales para poder corregirlos o prevenir sus manifestaciones. Aunque también es importante que el Odontólogo tenga en cuenta que las manifestaciones de las maloclusiones son el resultado de la interacción de la expresión genética con el medio ambiente y con esto será más efectivo poder dirigir el crecimiento para controlar o disminuir las alteraciones de una maloclusión.

Tanto la terapia génica como la ingeniería tisular buscan prevenir, corregir o tratar enfermedades y en el caso de la Ortodoncia problemas de crecimiento y desarrollo, para poder ofrecerle al paciente recuperar la función para que pueda mejorar su salud bucal y calidad de vida.



14. Referencias bibliográficas

1. Gómez de Ferraris M. E, Campos A. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 3° edición. Editorial Médica Panamericana. México. 2009.
2. Acevedo P, Cortés M. Células madre: generalidades, eventos biológicos y moleculares. Iatreia vol.21 no.3 Medellín July/sept. 2008.
3. Hernández P, Dorticós E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. Revista Cubana de hematología e inmunología. 2004; 20(3).
4. Mérida I. Bioingeniería y su aplicación en la Ortodoncia. Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatría. Ortodoncia.ws edición electrónica Abril 2011. Obtenible en: www.ortodoncia.ws
5. Prósper F, Verfaillie CM. Células madre adultas. An Sis Sanit Navarra 2003; v.26:345-356. Obtenible en: <http://dx.doi.org/10.4321/S1137-66272003000500002>
6. Munévar JC, Becerra A, Bermúdez C. Aspectos celulares y moleculares de las células madres involucrados en la reparación de tejidos en la práctica clínica odontológica. Acta Odontológica Venezolana. (2008) 46:3.
7. Magallanes M, Carmona B, Álvarez M.A. Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. Rev. Odontológica mexicana. 2010; 14(1):15-20.
8. Chandar N, Viselli S. Biología molecular y celular. Wolters Kluwer Health. México. 2011. Pp. 2-8.
9. Arias ME, Felmer R. Biología de las células madre embrionarias (ES cells) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. Arch Med Vet 2009; 41, 185-195.
10. Planas J. Criopreservación de las células madre provenientes del tejido graso obtenido mediante liposucción. Obtenible en: <http://jorge->



planas.clinicaplanas.com/wp-content/Endochirurgia-estetica-del-volto_cap%C3%ADtulo.pdf

11. www.laboratoriomicrovet.com/medios/imdm.html
12. www.cientificasenna.com/index.php?modulo=catalogo&accion=articulo&id=886
13. Camejo V. Ingeniería de tejido en la regeneración de la dentina y la pulpa. Revisión de la literatura. 2008.
14. Kaigler D, Mooney D. Tissue engineering's Impact on dentistry. J Dental Educat. 2001; 65(5):456-462
15. Ravindra N. Current therapy in Orthodontics. 1º edición. Mosby Elsevier. China 2010. Pp. 359-370.
16. Céspedes-Martínez DI, Perona-Miguel de Priego G. Futuro de la odontología restauradora. Rev Estomatol Herediana. 2010; 20(1):44-49.
17. Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakashima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. J Dent Res. 2004; 83(8):590-595.
18. Gronthos S, Brahimi J, Li W, Fisher L, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. J Dent Res 2002; 81(8):531-535.
19. Carini F, Menchini G, Biagi E, Salvade A, Sbordone L, Baldoni M. Estudio experimental sobre la utilización de células madre humanas en la terapia de los defectos periodontales: resultados preliminares. Avances en Periodoncia vol.23 no.2 Madrid ago. 2011.
20. Puertas J.M. Genética. Fundamentos y perspectivas. Mc Graw Hill-Interamericana. 1996.
21. Mérida I. Terapia génica como coadyuvante en la ortodoncia. Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatría. Edición electrónica marzo 2011. Obtenible en: www.ortodoncia.ws



22. Passarge E. Genética: texto y atlas. 2° edición. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2004. Pp. 28-69.
23. Nelson D, Cox M. Lehninger Principios de bioquímica. 5° edición. Ediciones Omega. Barcelona. 2009. Pp.271-287
24. Griffiths A, Gelbert W, Miller J. Genética moderna. Mc Graw Hill-Interamericana. España. 2000. Pp. 361-367.
25. Curtis H, Barnes N. Biología. 6° edición. Editorial Médica Panamericana. España. 2000. Pp. 529-536.
26. Lisker R, Armendares S. Introducción a la genética moderna. 2° edición. El manual moderno. México. 2001. Pp. 53-195
27. Stracnan T, Read A. Human Molecular Genetics 3. Garland Publishing. India. 2004.
28. Rodríguez E. Terapia génica y principios éticos. Acta bioeth. v.9 n.1 Santiago 2003.
29. Otero L, Simanca E, Torres A. Terapia génica en Odontología.
30. Canut JA. Ortodoncia clínica y terapéutica. 2° edición. Masson. España. 2001. Pp.100-104.
31. Rivas R, Canto M, Herrera M. La vida está escrita en un lenguaje fantásticamente reducido. 2007. Obtenible en: <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/554/1/El-lenguaje-genetico-y-las-alteraciones-dentarias.html>
32. Otero L. Asociación entre el gen MSX1 y la maloclusión clase III. Tesis de doctorado. Revista de la Facultad de Ciencias. Vol. 13. No. 1. 2008. Pp. 87-88.
33. Abuabara A. Aspectos biomecánicos de la reabsorción radicular externa en terapia ortodóncica. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007 Dec 1;12(8):E610-3.
34. Clarkson A. Reabsorción radicular inducida por Ortodoncia. Revista Estomatología 2008; 16(1):25-29.



35. Otero L. La farmacogenómica en la Odontología. Obtenible en:
<http://recursostic.javeriana.edu.co/doc/farmacoge.pdf>
36. Gutiérrez S, Gómez M, Rey JA, Ochoa M, Prieto J. Polimorfismos del gen Noggin y el micrognatismo mandibular: una primera aproximación. Acta Odontol. Latinoam. 2010. Vol. 23 N° 1. 13-19.