

Células madre mesenquimales orales: Estado del arte en Odontología

Oral mesenchymal stem cells: State of the art in dentistry

Cea-Sanhueza M*, Sánchez-Sanhueza G**

RESUMEN

Desde la organogénesis y hasta estadios adultos, las células madre mesenquimales participan activamente dando origen y manteniendo la homeostasis del organismo. En la cavidad oral han sido aisladas desde variadas estructuras del órgano dental tales como el ligamento periodontal, pulpa dental, tejido gingival, foliculo dental y papila apical significando una prometedora fuente de células madre mesenquimales las que pueden ser caracterizadas de acuerdo a los criterios mínimos establecidos por "The International Society for Cellular Therapy" que son: a) La adherencia al plástico; b) La expresión de marcadores CD73, CD90, CD105 y la carencia de CD34, CD45, CD14, CD11, CD79, CD19 y HLA-DR (clase II); c) Capacidad multipotencial de diferenciación hacia linaje osteogénico, condrogénico y adipogénico. El objetivo de esta revisión consiste en realizar un levantamiento de la situación actual de este tema efectuando una revisión comprensiva de la literatura en los campos de; identificación a través de marcadores de superficie, aislamiento por medio de mecanismos de digestión enzimática o explante, almacenamiento atendiendo a la necesidad de suprimir el uso de suero fetal bovino como medio de cultivo en un esfuerzo por avanzar hacia aplicaciones terapéuticas, banca o criopreservación destacando nueva experiencia en este campo como lo es la criopreservación de piezas dentales completas gracias a la tecnología láser Nd:YAG. Y, finalmente, las aplicaciones clínicas que promete este grupo de células a través de la medicina regenerativa y la ingeniería tisular tanto en el campo de la odontología como la medicina general.

Palabras clave: Medicina regenerativa, células madre mesenquimales orales, criopreservación.

SUMMARY

Since organogenesis and even adult stages, mesenchymal stem cells actively participate starting and maintaining body homeostasis. In the oral cavity they have been isolated from various structures dental organ such as the periodontal ligament, dental pulp, gingiva, dental follicle and apical papilla meaning a promising source of mesenchymal stem cells which can be characterized according to the minimum criteria set by The International Society for Cellular Therapy that are: a) the adherence to plastic, b) expression of markers CD73, CD90, CD105 and the absence of CD34, CD45, CD14, CD11, CD79, CD19 and HLA-DR (class II) c) multipotent differentiation capacity to osteogenic lineage, chondrogenic and adipogenic. The objective of this review is to conduct a survey of the current status of this issue by a comprehensive review of the literature in the fields; identification through surface markers, isolation through mechanisms of enzymatic or explant, storage digestion with the need to eliminate the use of fetal bovine serum as the culture medium in an effort to move towards therapeutic applications, highlighting new banking and cryopreservation experience in this field such as the cryopreservation of whole teeth thanks to the NdYAG laser technology. And finally promising clinical applications this group of cells through regenerative medicine and tissue engineering both in the field of dentistry and general medicine.

Key words: Regenerative medicine, oral mesenchymal stem cells, cryopreservation.

Fecha de recepción: 2 de noviembre de 2015.

Aceptado para publicación: 15 de diciembre de 2015.

* Estudiante de Odontología. Universidad de Concepción.

** Ph.Dc, MEd, DDS. Profesor Asistente Disciplina Endodoncia. Fac. de Odontología. Univ. de Concepción.

Cea-Sanhueza M, Sánchez-Sanhueza G. Células madre mesenquimales orales: Estado del arte en Odontología. *Av. Odontostomatol* 2016; 32 (2): 97-105.

INTRODUCCIÓN

El proceso de desarrollo de un diente, evento conocido como odontogénesis, es iniciado y regulado por las interacciones ocurridas entre el epitelio y las células madre mesenquimales (CMMs) (1). Estas últimas están presentes en todo momento y permanecen durante estadios adultos del organismo para servir como reguladoras de la homeostasis y reparación de injurias (2,3). Son células indiferenciadas capaces de autorrenovarse, multipotentes, de morfología blastoidea y con capacidad de diferenciación hacia células como adipocitos, condrocitos, osteocitos, entre otras (4). Es por esto que representan una gran oportunidad para la medicina regenerativa como parte de un campo aún en desarrollo; la ingeniería tisular (5).

En las siguientes páginas se abordarán tópicos relacionados con la odontología y su relación con la medicina regenerativa a través del aporte de CMMs presentes en la cavidad oral estudiando su ubicación, forma de obtención, almacenamiento y potenciales aplicaciones.

NICHOS ORALES DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Existen, en nuestro cuerpo, diferentes fuentes de CMMs desde donde han sido aisladas, tales como el tejido adiposo, la médula ósea, dermis, cordón umbilical, cerebro, hígado, pulmones, músculo esquelético y dientes (6,7). Ubicadas en microambientes especialmente mantenidos para ellas, denominados nichos (8).

En la cavidad oral, las CMMs adultas se encuentran clasificadas en dos tipos, de acuerdo a su capacidad para generar complejo dentinopulpar o no; dentales (aquellas que sí poseen dicha capacidad) y no dentales (aquellas que no son capaces de generar complejo dentinopulpar). Entre las células madre mesenquimales dentales encontramos las células madre de la pulpa dental (CMPD), las células madre de dientes deciduos exfoliados (CMDE), y células madre de la papila apical (CMPA). Mientras que las células madre mesenquimales no dentales incluyen; células madre del ligamento periodontal (CMLP) y células madre del tejido gingival (CMTG) (9). Por otro lado,

encontramos también CMMs embrionarias entre las que cuentan las células madre mesenquimales del folículo dental (CMFD) (10).

Las CMPD y las CMDE son células inactivas que permanecen en microambientes perivasculares específicos donde mantienen sus características. Cada una de ellas posee una elevada tasa de proliferación, siendo la de dientes deciduos mayor que la de la pulpa adulta, y ambas han demostrado multipotencialidad (11).

Por otro lado, las CMLP se encuentran confinadas a nichos en el ligamento periodontal siendo ellas las encargadas de la regeneración del tejido después de traumas leves jugando un rol importante en la reparación periodontal (12). También han podido ser utilizadas para dar origen a complejos raíz-periodonto según estudios recientes (13).

Finalmente, las CMFD son derivadas del tejido mesenquimático que rodea al germen dentario durante su desarrollo y antes de su erupción. Por lo mismo, una de las más importantes y atractivas fuentes de este tipo de células se encuentra tanto en terceros molares como en dientes supernumerarios retenidos (10-14).

CARACTERIZACIÓN Y AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DESDE EL ÓRGANO DENTAL

Para todo este conjunto de CMMs existe una serie de marcadores de superficie comunes (5), tales como:

- STRO-1, una proteína de superficie utilizada en el reconocimiento de células madre (15).
- CD29, también conocida como integrina beta-1.
- CD44, que es una glicoproteína integral de membrana.
- CD73, que cumple funciones como molécula de adhesión celular y media la unión de linfocitos al endotelio.
- CD90, glicoproteína expresada principalmente en leucocitos y que participa en las interacciones celulares entre sí y con la matriz (5-16).
- CD105, que es una glicoproteína homodimérica de membrana asociada al epitelio vascular humano donde participa como componente del TGFβ (*Transforming growth factor-beta*).

- CD146, también conocido como molécula de adhesión de células de melanoma, que es una molécula de superficie de la familia de las inmunoglobulinas expresada en varios tipos de endotelio humano (5-17).
- CD166, molécula de adhesión de leucocitos activados, es una molécula expresada en la superficie de células madre mesenquimales adultas y natales.
- CD271, que es considerado uno de los dos tipos de receptores para neurotrofinas (5).

Además, existen para este mismo grupo de células algunas poblaciones que han expresado STRO-1 acompañada de marcadores propios de células madre hematopoyéticas (18,19) como **CD34**, que es expresada por progenitores hematopoyéticos, en el endotelio de vasos pequeños presentes en varios tejidos y un subconjunto de células estromales de la médula ósea (20) y **CD117**, que es un receptor de tirosina quinasa tipo III y juega un rol importante en la proliferación, supervivencia de la célula y diferenciación (21).

Para llevar a cabo el aislamiento de este tipo de células desde su tejido de origen se han desarrollado técnicas en donde se da uso a estos marcadores de superficie y se consigue este aislamiento gracias al uso de FACS (del inglés Fluorescence Activated Cell Sorting) o micro perlas de anticuerpos conjugados (5). Sin embargo, no es la única estrategia utilizada, ya que también se consigue su aislamiento a través de métodos como el de crecimiento celular, en el que aprovechando la elevada tasa de proliferación de este conjunto de células se consigue separarlas del resto (22). O también la técnica de tinción nuclear fluorescente, en donde se aprovecha la habilidad que poseen las CMMs de excluir este tipo de colorante desde su núcleo y gracias a este comportamiento se consigue la identificación (23).

En un estudio realizado por Brizuela et al (4) se ha realizado el aislamiento y caracterización de CMMs provenientes de pulpa dental y folículo dentario humano. El proceso fue llevado a cabo utilizando los criterios mínimos para definir CMMs humanas, según la recomendación de *The International Society for Cellular Therapy* (24), que son:

- a) Adherencia al plástico en condiciones estándar de cultivo.

- b) Morfología celular blastoidea.
- c) Expresión de marcadores de superficie en que más del 95% de la población exprese fenotipo positivo para CD73, CD90, CD105 y menos del 3% de la población exprese fenotipo positivo para CD34, CD45, CD14, CD11, CD79, CD19 y HLA-DR (clase II).
- d) Capacidad multipotencial de diferenciación hacia linaje osteogénico, condrogénico y adipocitos.

El objetivo fue poder aislar los distintos grupos celulares para realizar una caracterización de su inmunofenotipo y estudiar su potencial de diferenciación a linaje osteogénico, adipogénico y condrogénico.

Luego de realizar el procedimiento de aislamiento, desde terceros molares impactados, el explante tras cuatro semanas de cultivo, presentó CMMs con la morfología, adherencia al plástico y características mencionadas.

Los resultados para la caracterización de inmunofenotipo de CMMs derivadas tanto de pulpa como del folículo demostraron aproximadamente un 99% de expresión positiva para CD73, CD90, CD44 y CD105 y menos del 3% para marcadores CD34, CD54, CD38 y CD45.

Por otro lado, los ensayos de diferenciación fueron exitosos para el linaje condrogénico, adipogénico y osteogénico en las CMFD, no así para las de la pulpa donde solo fueron exitosos para linaje osteogénico y condrogénico. Una manera de explicar esto podría ser la marcada diferencia en el grado de diferenciación que presentan estos dos grupos celulares.

Finalmente, este estudio permitió demostrar que las CMPD y CMFD presentan una gran capacidad proliferativa, son multipotentes y mantienen este fenotipo hasta ser inducidas a la diferenciación, por lo mismo representan una potencial fuente de células madre para ser utilizadas en medicina y odontología regenerativa.

Básicamente se puede resumir que para realizar aislamiento de CMMs desde el órgano dental existen dos posibles métodos (14); uno, conocido como el método de explante y que se basa en la alta tasa de

proliferación celular de las CMMs a partir de un tejido fragmentado y su adherencia al plástico, mientras que el segundo método, conocido como el método de digestión enzimática, consiste en la extirpación quirúrgica del tejido, su digestión en dispasa/colagenasa y su caracterización a través de una selección realizada gracias a marcadores específicos (25); principalmente con el apoyo de un citómetro de flujo con clasificador de células activadas fluorescentemente.

En una investigación efectuada por Navabazam et al (25) se realizó la caracterización de CMMs desde pulpa dental, folículo periapical y ligamento periodontal. El ejercicio fue aplicado a terceros molares sanos extraídos por razones de tratamiento ortodóntico a 20 pacientes de entre 15 y 32 años de edad. Se les realizó el raspado de tejido necesario para el estudio y se llevaron a cabo ensayos de potencial proliferativo y de diferenciación celular.

En resumen, los procedimientos de interés en este caso y haciendo referencia a los procesos de aislamiento celular fue, en primer lugar, el aislamiento de las células madre desde los tejidos obtenidos la que se realizó con el método de digestión enzimática utilizando una solución de 3 mg/mL de colagenasa tipo I y 4 mg/mL de dispasa disueltas en DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) por una hora en una incubadora de CO₂ para luego ser seleccionadas o filtradas y colocadas en frascos y, en segundo lugar, el ensayo de inmunocitoquímica en el que a las CMS aisladas desde los tres tejidos mencionados (ligamento periodontal, papila periapical y pulpa dental) se les sembró en cuatro portaobjetos de cámara y fueron cultivadas durante 24 horas. Posteriormente fueron lavadas con una solución salina de buffer fosfato (PBS) y fijadas en un 4% de p-formaldehído por quince minutos. Entonces las muestras fueron incubadas con anticuerpo stro-1, c-kit, nanog, anticuerpo CD44, anticuerpo CD34 y anticuerpo CD31 durante tres horas. Luego, las células fueron incubadas con una serie de anticuerpos secundarios animales como: IgG-Cy3, IgG-FITC, IgG rodamina y marcador CD durante una hora para entonces ser teñidas con DAPI por diez minutos.

Los resultados puntuales de esta experiencia referentes al aislamiento de CMMs y la inmunocitoquí-

mica mostraron que los cultivos celulares expresaron marcadores de superficie como CD34, CD31, CD44 C-kit y nanog además de la molécula de superficie STRO-1.

ALMACENAMIENTO Y BANCA DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES ORALES

En la actualidad, el campo de estudio de las células madre es amplio y aún se encuentra en etapas iniciales. Uno de los ámbitos importantes es el desarrollo de métodos de almacenamiento y banca de la células madre luego de su obtención y previo a su utilización.

En un estudio dirigido por Eubanks et al (26), se realizó la caracterización de CMPD enfocándose al estudio de la forma en que se almacenan en la actualidad y apuntando también a la posibilidad de realizar la expansión de dichas células en un medio carente de suero fetal bovino. Lo anterior, bajo la primicia de la necesidad de medios de almacenamiento que no limiten los posibles usos terapéuticos de las células madre y el desarrollo de alternativas en los protocolos de obtención de CMMs definiendo rápidamente un método de almacenamiento inmediato de dientes para su posterior utilización clínica. Haciendo hincapié en que la factibilidad del almacenamiento y la posterior expansión del cultivo celular podrían mejorar considerablemente si existiese un medio estándar para almacenar las extracciones y que cumpla al menos con los criterios de ser; eficiente, generalizable, de uso intuitivo y predecible.

Uno de los puntos más interesantes expuestos por este estudio presenta la necesidad de eliminar el uso de suero animal en el cultivo de las células para hacer efectivo su posterior uso terapéutico en humanos.

Luego de un proceso de ensayo realizado con 32 terceros molares en que un grupo de 25 piezas fueron almacenados en solución salina estéril y, el otro, de siete piezas, en alpha minimum essential medium (α -MEM) y donde un grupo de 16 piezas fueron sometidas a el aislamiento de sus células de forma inmediata versus un grupo de nueve piezas que fueron sometidas a igual proceso transcurridas veinticuatro horas para, posteriormente, realizar los culti-

vos de dichas células en tres condiciones distintas: una, con 15% de suero fetal bovino + α -MEM; otra, con 15% de suero humano + α -MEM y, una, con 15% de suero humano + α -MEM y un recubrimiento del matraz de fibronectina. Se obtuvo como resultado el hecho de que no hubo grandes diferencias entre los resultados aplicados al estudio de dificultad para aislamiento de las diversas muestras, ni notorias diferencias en la morfología de las células cultivadas en los distintos medios.

Realizando también un reconocimiento de marcadores de superficie de las células madre obtenidas y su posterior diferenciación a linaje adipogénico y osteogénico, se pudo corroborar que no existen notables diferencias cualitativas entre aquellas que habían sido cultivadas en un medio de suero fetal bovino y aquellas cultivadas en un medio de suero humano.

En base a lo anterior, este ensayo nos lleva a la conclusión de que existe la posibilidad de eliminar el uso de suero animal de los cultivos celulares madre y avanzar en el uso de suero humano lo que nos abre un camino hacia su aplicación terapéutica.

Otro punto importante a considerar, dentro del campo de estudio de las CMMs en odontología, es la banca de éstas a través de un proceso conocido como criopreservación.

Un estudio recientemente realizado por Ma et al (27) nos muestra cómo este proceso es utilizado para conservar pulpa desde dientes exfoliados postulando su viabilidad como una de las más factibles fuentes de células madre para la medicina regenerativa. En dicho estudio se han utilizado dientes exfoliados de niños entre cinco a siete años de edad, con el respectivo consentimiento de sus tutores. Y guiándose por un protocolo establecido de criopreservación se realizó primero la separación del tejido pulpar de las piezas dentales para luego someter la mitad de la muestra a un tratamiento con un medio criopreservante (medio compuesto en un 10% de dimetilsulfóxido —DMSO— y en un 90% de suero fetal bovino —FBS—) a 4° C para luego pasar la noche a -80° C. Al día siguiente fueron colocados en nitrógeno líquido y almacenados durante dos años para ser descongelado posteriormente de forma rápida

a 37° C. Por otro lado, la mitad restante de la muestra fue sometida de forma inmediata y fresca al proceso de aislamiento de sus células madre.

A continuación se realizó el aislamiento del conjunto total de células madre y entonces fueron cultivadas hasta conseguir el número de células madre necesarias para realizar ensayos de actividad telomerasa, análisis de citometría de flujo, inmunofluorescencia, ensayos de multipotencialidad in vitro para potencial dentinogénico, osteogénico, condrogénico, adipogénico, endotelial y neuronal; ensayos in vivo de regeneración tisular y autorrenovación, entre otros.

A la luz de los resultados, este estudio nos da a entender que la criopreservación, para este tipo de células, no representa en gran medida un daño para las mismas y conforma un proceso totalmente inocuo. Tanto así, que en el mismo estudio, se pudo corroborar que las células criopreservadas por un largo periodo de tiempo, equivalente a dos años, pudieron mantener de manera indemne su capacidad de autorrenovación, multipotencialidad, regeneración ósea y dentinaria e inmunomodulación, lo que termina por concluir que la criogenia conforma un método de almacenamiento eficiente ante las posibles aplicaciones terapéuticas que pudiesen tener las CMMs conservadas.

Existen además, dentro del mismo campo de la criopreservación, algunos otros métodos desarrollados que han permitido mejorar sustancialmente los resultados obtenidos en todo aquello que a calidad de células criopreservadas concierne. Tal es el caso del método de banca desarrollado por Gioventú et al (28) en donde a un conjunto de piezas dentales, extraídas desde menores de entre siete a once años de edad, se les ingresó a un proceso de criopreservación en el que previamente una parte de la muestra fue perforada con la ayuda de un láser Nd:YAG a nivel del cuello atravesando las capas de esmalte y dentina respectivamente y sin causar daño a la pulpa, esto, con el objetivo de generar micro túbulos que permitiesen aplicar el procedimiento de criopreservación sin la necesidad de extraer la pulpa completamente desde la cámara pulpar. Mientras que la otra parte fue dividida entre una muestra control, la que fue aislada de forma inmediata y fresca, y una

muestra criopreservada sin ser previamente tratada con las perforaciones láser Nd:YAG y subdividida en una mitad criopreservada en un medio DMSO y sin medio DMSO.

Otro de los detalles a considerar es que, en la experiencia de Gioventú, es el medio criopreservante utilizado que no contiene suero animal, lo que bien condice lo postulado respecto a este tema en los párrafos anteriores.

Una vez realizada la criopreservación, descongelación y comparación de resultados de la muestra versus un control de muestra fresca aislada y otra criopreservada sin el tratamiento de perforación láser; se demostró que el método desarrollado en este estudio resultó ser tan favorable como el aislamiento de células madre desde pulpa dental fresca.

Lo anterior, con base en los resultados que demostraron que las CMMs aisladas desde aquellas piezas dentales que no fueron tratadas con la perforación láser, si bien mantuvieron un cultivo, mostraron una morfología atípica o defectuosa, lo que se puede interpretar como una fase apoptótica, y el hecho de que el resultado de la tasa de crecimiento de la CMMs aisladas desde la pulpa dental de piezas dentarias tratadas con el procedimiento de perforación láser es equiparable al de sus homólogas aisladas desde pulpa dental fresca a modo de muestra control. Por el contrario, aquellas aisladas desde las piezas dentales sin tratar con perforación láser e inclusive sin ser almacenadas en un medio con DMSO mostraron una muy baja tasa de crecimiento celular.

En resumen, existen métodos de criopreservación, como el desarrollado por Gioventú et al que representan una simplificación de la banca y almacenamiento de CMMs que resulta tan efectiva como la experiencia de Ma et al pudiendo representar potenciales beneficios que permitan reducir los altos costos que significa hoy en día la banca de CMMs. Mientras que, por otro lado, se ha descrito otro tipo de preservación celular denominada congelación magnética (9) que, si bien resulta cuantitativamente más costoso en cuanto a la calidad de sus resultados, pareciese representar una gran ventaja por sobre la criopreservación convencional, ya que se evita de una manera menos dañina que el uso de vitrifican-

tes, la formación de cristales de hielo que injurien las estructuras celulares.

APLICACIONES CLÍNICAS

Ya habiendo hablado de los procesos para el aislamiento de las células madre mesenquimales orales, formas de almacenamiento y criogenia; quedan entonces por analizar sus posibles aplicaciones al campo de la terapia regenerativa. Y estas aplicaciones no son menores, ya que diversos estudios han demostrado el potencial uso de CMMs orales en la regeneración pulpar; en el que los avances y estudios han demostrado la capacidad de las CMMs orales dentales para formar complejos parecidos al complejo pulpodentinario al ser trasplantados en ratones inmunocomprometidos y bajo ciertas condiciones. Sin embargo uno de los mayores desafíos al momento es lograr que lo mismo pudiese ocurrir en un espacio como la cámara pulpar, donde el aporte vascular es precario y en dichas condiciones las células trasplantadas no sobreviven (9).

También se ha demostrado su potencial para regenerar el ligamento periodontal como un tratamiento prometedor para la enfermedad periodontal y sus consecuencias (9-12) y la posibilidad de ser usadas en la regeneración neural donde existen opiniones divididas por parte de la comunidad científica entre aquellos estudios que mencionan la posibilidad de generar neuronas funcionales a partir de CMMs adultas y aquellos que reconocen que dicha propiedad no es tal en este tipo de células (9). Se postula, también, la posible utilización de células madre, a través de la ingeniería tisular, en reposición funcional para pacientes que padecen de xerostomía (29).

Además, se ha demostrado la capacidad de estas células de ser usadas en la regeneración muscular abriendo una posibilidad de tratamiento a la distrofia muscular y la utilización de estas células madre en la regeneración de tejido cartilaginoso y tendones en la que numerosos estudios han utilizado a las CMLP, primero dado su potencial condrogénico y segundo, dada la cercanía de este tejido con el tejido tendinoso lo que permitiría la regeneración de cartílago demostrado en experimentos donde se han creado microesferas que contienen a estas células y que al ser

trasplantadas de forma subcutánea en ratones inmunocomprometidos han desarrollado estructuras muy organizadas con una matriz de colágeno abundante lo que sugiere que las CMLP poseen un potencial para ser utilizadas en regeneración de tendones (9).

Igualmente podemos encontrar estudios que han permitido aplicaciones diversas a las CMMs como la reactivación de folículo piloso, la reconstrucción del epitelio de la córnea, la diferenciación en melanocitos maduros y la diferenciación en células endoteliales que podrían utilizadas para la reconstrucción de vasos dañados (5).

Por último, también ha sido demostrado de forma muy amplia la posibilidad de utilizar a las CMMs orales en la regeneración de tejido óseo gracias al potencial de linaje osteogénico que han presentado en diversos estudios (30). Un ensayo clínico (14) se utilizaron CMMs de la pulpa dental extraídas desde terceros molares y a modo comparativo se extrajeron ambos terceros molares de una mandíbula dejando un lado cicatrizar con ayuda de un andamio de colágeno vacío y al otro con la ayuda de un andamio de colágeno sembrado con las células madre obtenidas. El resultado luego de tres meses, al ser corroborado con exámenes radiográficos e histológicos, evidenció notables diferencias en la densidad de hueso y la regeneración ósea mejor desarrollada en aquel lado al que se aplicó en andamio de colágeno sembrado con células madre.

Lo anterior deja en evidencia el potencial uso que podemos dar las células madre mesenquimales obtenidas desde la cavidad oral; ahora el estudio debe abocarse hacia los métodos que se han de utilizar para aplicar la terapia regenerativa a los pacientes. Y como se mencionó anteriormente el uso de andamios ya parece ser una buena opción al momento de la reconstrucción ósea.

En un estudio realizado por Brizuela et al (31) se corroboró la biocompatibilidad de las CMMs de tejido gingival humano con el andamiaje de polímero sintético de ácido poliláctico (OPLA). En este ensayo se obtuvo una muestra de tejido gingival humano de pacientes sanos y se sometió a un proceso de aislamiento de células madre por explante. Luego, las células madre fueron caracterizadas y sometidas a

ensayos de inmunofenotipo, ensayos de diferenciación osteogénica y condrogénica, y cultivadas en presencia del andamio de OPLA.

El resultado al estudio histológico mostró que las células madre se propagaron por el interior del andamio y que lograron mantener su morfología no diferenciada y fenotipo blastoideo; esto da a entender entonces que el andamio de OPLA resulta ser una estructura que permite el transporte celular y ofrece una viabilidad (83,32%) que consigna una posibilidad real para su aplicación como parte de un procedimiento terapéutico de regeneración impulsado por las células madre sembradas en él.

Finalmente, no se puede ignorar la evidencia que existe respecto al potencial tumorigénico que se ha presentado por parte de algunos tipos de células madre de la cavidad oral, como es el caso de las células madre orales epiteliales (9).

CONCLUSIÓN

En resumen, las posibilidades que ofrecen las células madre tanto en el campo de la odontología como la medicina regenerativa son variadas pero aún muy poco estudiadas o ensayadas de forma clínica.

Urge avanzar en este campo de estudio, ya que se presenta como el siguiente paso de la medicina y la terapia de enfermedades a las que hoy difícilmente se puede acceder a una rápida recuperación.

Es necesario conocer más y comenzar a definir los protocolos de aplicación clínica a esta nueva oportunidad que se nos presenta. Por ejemplo, estudiar cómo es que estas células una vez trasplantadas en el organismo deciden su destino entre ser parte de la solución (autorrenovación y diferenciación) o parte un nuevo problema (carcinogénesis) y desarrollar los mecanismos que permitan controlar este componente.

Tanto bioingeniería como terapias regenerativas resultan ser prometedores campos que ganarán terreno rápidamente en el área de la medicina dada las ilimitadas posibilidades de tratamiento y solución a diferentes enfermedades que ofrecen. Podría la odontología dar un giro importante y formar parte de este

nuevo paradigma que se presenta para la salud, no solo como un eslabón más de la cadena sino, más bien, como protagonista al presentar una de las formas más accesibles (para el público en general) al futuro de la medicina.

BIBLIOGRAFÍA

- Ishida K, Murofushi M, Nakao K, Morita R, Ogawa M, Tsuji T. The regulation of tooth morphogenesis is associated with epithelial cell proliferation and the expression of Sonic hedgehog through epithelial-mesenchymal interactions. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;405(3):455-61.
- Martin K, Zeev E. Adult stem cells for tissue repair — A new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003;349: 570-82.
- Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000;100 (1):157-68.
- Brizuela C, Galleguillos S, Carrión F, Cabrera C, Luz P, Inostroza C. Aislación y caracterización de células madre mesenquimales provenientes de pulpa y folículo dentario humano. *Int J Morphol* 2013;31(2):739-46.
- Kawashima N. Characterisation of dental pulp stem cells: A new horizon for tissue regeneration? *Arch Oral Biol* 2012;57(11):1439-58.
- Weissman IL. Translating Stem and Progenitor Cell Biology to the Clinic: Barriers and Opportunities. *Science* 2000;287(5457):1442-6.
- Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(25): 13625-30.
- Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol* 2007;213(2):341-7.
- Xiao L, Nasu M. From regenerative dentistry to regenerative medicine?: progress, challenges, and potential applications of oral stem cells. *Stem Cells Cloning Adv Appl* 2014;7:89-99.
- Völlner F, Driemel O, Reichert T, Morscheck C. Isolation and characterization of dental follicle precursor cells (DFPCs). *J Stem Cells Regen Med* 2007;2(1):130.
- Huang YH, Yang JC, Wang CW, Lee SY. Dental Stem Cells and Tooth Banking for Regenerative Medicine. *J Exp Clin Med* 2010;2(3):111-7.
- Han J, Menicanin D, Gronthos S, Bartold P. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. *Aust Dent J* 2014;59:117-30.
- Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-MM, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One* 2006;1(1):e79.
- La Noce M, Paino F, Spina A, Naddeo P, Montella R, Desiderio V, et al. Dental pulp stem cells: State of the art and suggestions for a true translation of research into therapy. *J Dent* 2014;42(7):761-8.
- Dennis JE, Carbillet J-P, Caplan AI, Charbord P. The STRO-1+ marrow cell population is multipotential. *Cells Tissues Organs* 2002;170(2-3):73-82.
- Rege TA. Thy-1 as a regulator of cell-cell and cell-matrix interactions in axon regeneration, apoptosis, adhesion, migration, cancer, and fibrosis. *FASEB J* 2006;20(8):1045-54.
- Bardin N, Anfoso F, Massé JM, Cramer E, Sabatier F, Bivic A Le, et al. Identification of CD146 as a component of the endothelial junction involved in the control of cell-cell cohesion. *Blood* 2001;98(13):3677-84.
- Laino G, Carinci F, Graziano A, D'Aquino R, Lanza V, De Rosa A, et al. In vitro bone production using stem cells derived from human dental pulp. *J Craniofac Surg* 2006;17(3):511-5.
- Laino G, Graziano A, D'Aquino R, Pirozzi G, Lanza V, Valiante S, et al. An approachable human adult stem cell source for hard-tissue engineering. *J Cell Physiol* 2006;206(3):693-701.
- Burn TC, Satterthwaite AB, Tenen DG. The human CD34 hematopoietic stem cell antigen promoter and a 3' enhancer direct hematopoietic expression in tissue culture. *Blood* 1992;80(12):3051-9.
- Edling CE, Hallberg B. c-Kit—A hematopoietic cell essential receptor tyrosine kinase. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(11):1995-8.
- Hilkens P, Gervois P, Fanton Y, Vanormelingen J, Martens W, Struys T, et al. Effect of isolation methodology on stem cell properties and multilineage differentiation potential of human dental pulp stem cells. *Cell Tissue Res* 2013;353(1):65-78.
- Goodell BMA, Brose K, Paradis G, Conner AS, Mulligan RC. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating In Vivo. *J Exp Med* 1996;183(4):1797-806.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause DS, et al. Minimal criteria for

- defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8(4):315-7.
25. Navabazam AR, Sadeghian Nodoshan F, Sheikhha MH, Miresmaeili SM, Soleimani M, Fesahat F. Characterization of mesenchymal stem cells from human dental pulp, preapical follicle and periodontal ligament. *Iran J Reprod Med* 2013;11(3):235-42.
 26. Eubanks EJ, Tarle SA, Kaigler D. Tooth storage, dental pulp stem cell isolation, and clinical scale expansion without animal serum. *J Endod* 2014;40(5):652-7.
 27. Ma L, Makino Y, Yamaza H, Akiyama K, Hoshino Y, Song G, et al. Cryopreserved Dental Pulp Tissues of Exfoliated Deciduous Teeth Is a Feasible Stem Cell Resource for Regenerative Medicine. *PLoS One* 2012; 7(12):e51777.
 28. Gioventù S, Andriolo G, Bonino F, Frasca S, Lazzari L, Montelatici E, et al. A novel method for banking dental pulp stem cells. *Transfus Apher Sci* 2012;47(2): 199-206.
 29. Salas J, Devesa E, Montero A, López L. Tratamiento de la boca seca. Nuevas tendencias. *Av Odontoestomatol* 2014;30(3):135-8.
 30. Laino G, D'Aquino R, Graziano A, Lanza V, Carinci F, Naro F, et al. A new population of human adult dental pulp stem cells: A useful source of Living Autologous Fibrous Bone Tissue (LAB). *J Bone Miner Res* 2005; 20(8):1394-402.
 31. Brizuela C, Saint N, Inostroza C. Biocompatibilidad de células madres mesenquimales de Tejido Gingival Humano en cultivo con un andamiaje de polímero sintético de ácido poliláctico (OPLA). *Int J Morphol* 2014;32(3):767-72.

CORRESPONDENCIA

Dra. Gabriela Sánchez-Sanhueza
Departamento de Odontología Restauradora
Facultad de Odontología
Universidad de Concepción
Roosevelt #1550
Concepción.
Chile

Correo electrónico: gasanchez@udec.cl