

Artículo de revisión

Células madre de la pulpa dental (DPSC): prospectivas terapéuticas en enfermedades crónico degenerativas

Villa García-Torres L.S. (1), Flores-Hernández F.Y. (2), Santibáñez-Escobar L.P. (3)

(1) Químico Farmacobiólogo, Biotecnología Médica y Farmacéutica del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco, A.C., (2) Maestría en Ciencias de la Salud, Investigador Biotecnología Médica y Farmacéutica, (3) Maestría en Ciencias de la educación Jefe del servicio de Cirugía Maxilofacial del Hospital Civil "Juan I. Menchaca".

Resumen

Las células madre (CM), también denominadas troncales, son células con la capacidad de autorrenovarse y generar uno o más tipos de células especializadas. Debido a la capacidad de diferenciación y a los diversos nichos tisulares donde se han localizado, se han desarrollado métodos de tratamiento basados en la aplicación de las mismas con el objetivo de reparar tejidos dañados. Las células madre de la pulpa dental o, en inglés, Dental Pulp Stem Cell (DPSC), se encuentran en la cámara central de la cavidad dentaria como un tejido suave que se infiltró por una red de vasos sanguíneos y las ramificaciones nerviosas que emanan de la formación apical de la pieza dental. Este tejido se conoce como pulpa dental y es en donde se localizan las células mesénquimales indiferenciadas. Las células madre de pulpa dental humana se han obtenido por varias metodologías e investigaciones diversas reportadas hasta el día de hoy. Los objetivos de las terapias con células madre suelen centrarse en el reemplazo celular, es decir, la sustitución de las células dañadas por células nuevas y funcionales. Las DPSC tienen gran potencial clínico debido a su capacidad de diferenciación además de la facilidad que existe de obtenerlas. En este trabajo presentamos algunas de sus aplicaciones y perspectivas en enfermedades crónico degenerativas.

Palabras clave: Células madre de la pulpa dental, enfermedades crónico-degenerativas.

Abstract

Stem cells (SC), also called trunks, are cells with the ability to self-regulate and generate one or more

specialized cell types. Because of the differentiating ability and the various tissue niches where they have been located, there are methods of treatment based on the application thereof with the aim of repairing the damaged tissues. Dental pulp stem cells (DPSC) are found in the central chamber of the dental cavity as a soft tissue that is infiltrated by a network of blood vessels and the nerve branches that emanate from the apical formation dental piece. This tissue is known as dental pulp and is where undifferentiated mesenchymal cells are located. Human dental pulp stem cells have been obtained by various methods based on diverse methodologies and investigations reported to date. The objectives of stem cell therapies are usually to focus on cell replacement, i.e. replacement of damaged cells with new and functional cells. DPSC have great clinical potential due to their differentiation capacity in addition to the ease of the specimens. In this paper we present some of its applications and perspectives in chronic degenerative diseases.

Key words: Stem Cells Dental Pulp, Chronic degenerative diseases.

Introducción

Las CM son células con la capacidad de generar uno o más tipos de células especializadas y de autorrenovarse. La multidiferenciación de estas células puede dar como resultado una población celular con características morfológicas y funcionales estables, logrando

obtener células de reemplazo,¹ es decir, nuevas células funcionales formadas a partir de estas células madre, lo cual les confiere cualidades que las proponen como una posibilidad en la terapia de diversas enfermedades crónico degenerativas de prioridad nacional y mundial. En la actualidad son la base de numerosas investigaciones en las áreas de terapia celular y medicina regenerativa.²

Las enfermedades crónicas se caracterizan por una larga duración y por lo general son de progresión lenta, como las enfermedades cardíacas, el cáncer, las enfermedades respiratorias y la diabetes, que son las principales causas de mortalidad en el mundo, siendo responsables del 63% de las muertes. En 2008, 36 millones de personas murieron de una enfermedad crónica, de las cuales la mitad era de sexo femenino y el 29% era de menos de 60 años de edad.³

Debido a la capacidad de diferenciación y a la amplia distribución tisular de las CM es que se han desarrollado métodos de aplicación en tejidos dañados y algunos ya se han utilizado tanto en fase preclínica como en modelos clínicos, convirtiéndose en una herramienta atractiva para la reparación de tejidos. Las DPSC también han sido probadas como candidatas para la terapia celular de múltiples padecimientos como cardiopatías y regeneración ósea maxilar. Se ha demostrado que estas células troncales humanas pueden generar distintos linajes de células especializadas.⁴

Bajo estímulos específicos, estas células se diferencian en diversos tipos de células que incluyen adipocitos, condrocitos, osteoblastos y neuronas.^{5,6} La relevancia de estas células multipotentes recae en las aplicaciones terapéuticas que pueden alcanzar debido a su fácil obtención y a que se pueden encontrar tanto en etapas adultas como como infantiles.

Características generales de las células madre

Las células madre se describieron por primera vez en 1976 por Friedenstein y colaboradores. A finales del siglo XX, los histoembriólogos Boveri y Haeckel, acuñaron el término de células madre. De manera general, estas células tienen la capacidad característica de dividirse indefinidamente y diferenciarse en distintos tipos de células especializadas, no sólo morfológicamente sino también de forma funcional. Atendiendo a su origen, las CM se clasifican en embrionarias y adultas, en tanto que de acuerdo a su potencial y capacidad de diferenciación

se clasifican en: totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales y unipotenciales.^{1,7}

Las células madre adultas (CMA) o multipotenciales, también son conocidas como órgano-específicas, ya que generan los tipos celulares del mismo tejido. Las CMA se han obtenido principalmente de la médula ósea, tejido adiposo, cordón umbilical, ligamentos periodontales, membranas sinoviales, hueso trabecular, sistema nervioso, piel, y pulpa dental, entre otros.^{8,9}

Parece ser que en todos los tejidos existen células madre capaces de compensar los daños y mantener la reparación, sin embargo se ha observado que la capacidad de reparación de algunos órganos es mínima y en algunos casos nula, por ejemplo, el sistema nervioso central y el corazón son tejidos en los cuales su activación y reparación después del daño parece ser menor o tardía. Se conoce que a edades tempranas existen células suficientes para compensar los daños y mantener la reparación pero, con el incremento de la edad del individuo o la presencia de algunas enfermedades crónicas, se llegan a producir fallos en la capacidad de reparación del tejido, debido a que disminuye el número y función de las CM progenitoras y además pierden la capacidad de hacer frente a las mayores demandas de reparación existente.^{1, 10, 11}

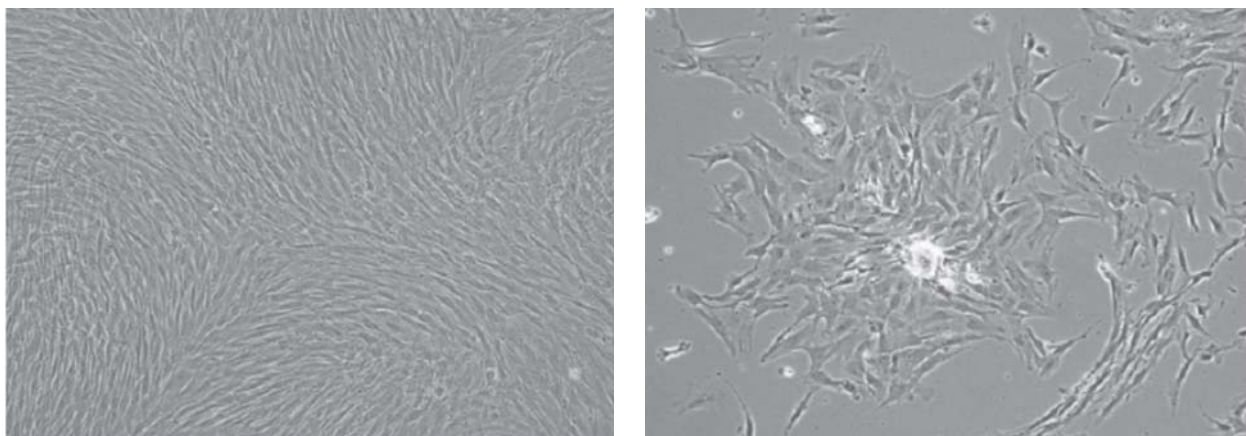
Además de las características generales mencionadas, existen una serie de particularidades de las CM, como: a) autorrenovación, debida a la actividad de la telomerasa, b) potencialidad, que es la capacidad de diferenciarse en otro tipo celular, c) baja inmunogenicidad, debido a una baja expresión del complejo principal de histocompatibilidad I (MHC I) y carencia de la expresión de MHC II.¹

Células madre de la pulpa dental

Las células DPSC, se encuentran en la cavidad interna de las piezas dentales; la cámara central de la cavidad dentaria se compone de un tejido suave infiltrado por una red de vasos sanguíneos y las ramificaciones nerviosas que emanan de la formación apical de la pieza dental. Este tejido suave se conoce como pulpa dental y se compone principalmente por células mesénquimales indiferenciadas (células madre multipotenciales), su morfología es fibroblastoide y se caracterizan por ser células adherentes en cultivo, figura 1.^{15,16}

Figura 1.

DPSC en cultivo *in vitro* aisladas de órganos dentarios, se observa su morfología fibroblástica típica y la formación de colonias circulares¹⁶



DPSC en cultivo *in vitro* aisladas de órganos dentarios, se observa su morfología fibroblástica típica y la formación de colonias circulares. Tomada de Gioventu S. *et al* 2012.¹⁶

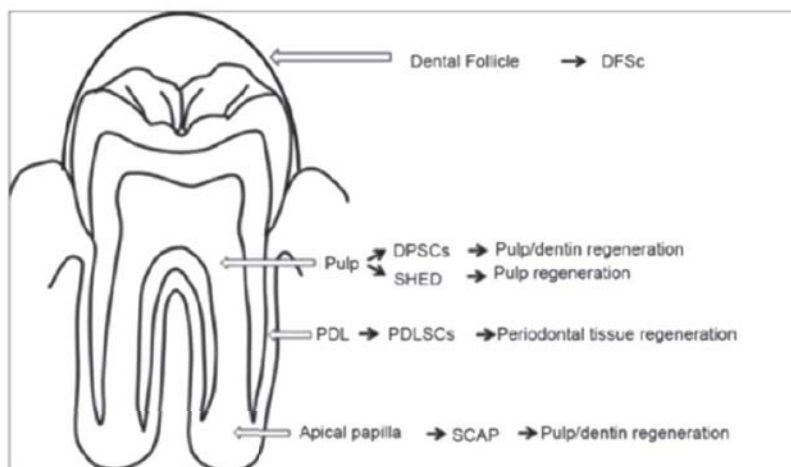
El tejido pulpar dental puede ser recuperado de las piezas dentales que son extraídas por procedimientos odontológicos de rutina y por previa recomendación médica, ya sea por razones de salud o estéticas, esto puede proceder a lo largo de la vida del individuo, al obtener cultivos de DPSC pueden criopreservarse, garantizando un recurso terapéutico a futuro.¹⁷ Otra situación que refuerza su uso es que hasta hoy las piezas dentales generalmente se consideran un producto de desecho biológico, por lo que es altamente viable su aprovechamiento como fuentes de

obtención de células madre mesénquimales consideradas útiles para el desarrollo de terapias en la medicina regenerativa en múltiples padecimientos como diabetes mellitus, enfermedades neurológicas, deficiencias óseas y de cartílago,¹⁸ sin consideraciones éticas mayores respecto a su obtención.

La función biológica de las células madre que se encuentran en la cámara pulpar consiste en la reparación de la dentina y el esmalte.¹⁹ En la figura 2, se ilustra los diversos tipos de células troncales dentales y la función de estas.

Figura 2.

Células troncales dentales. Tipos de células encontradas en un premolar, ubicación y función de estas



Células troncales dentales. Tipos de células encontradas en un premolar, ubicación y función de estas. Tomada de Ranganathan K. y Vidya L. 2012.²⁰

Odontogénesis

La odontogénesis es el proceso embrionario por el que las células ectodérmicas de la boca primitiva (estomodeo), forman una invaginación junto con el ectomesénquima para dar origen a los dientes.¹² Es de importancia conocer este proceso ya que a través de él se puede entender cómo es que los órganos dentarios contienen células mesénquimales.

De manera general se sabe que a partir del epitelio ectodérmico se forma el esmalte dental y del ectomesénquima se forma el complejo pulpodentinario, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. El desarrollo y formación del patrón coronario comienza en la sexta semana de vida intrauterina, cuando a partir del ectodermo se forma la lámina dentaria y la banda de tejido epitelial, esta es la primera evidencia del desarrollo de un órgano dentario. Durante la sexta semana del desarrollo embrionario, las células ectodérmicas basales del epitelio bucal se multiplican, lo que produce un engrosamiento a lo largo del borde libre de los futuros maxilares y mandíbula, que se introduce al ectomesénquima subyacente y da lugar a dos nuevas estructuras: la lámina vestibular y la lámina dentaria.¹³

Por otro lado, a partir de la lámina se forman en el ectomesénquima diez crecimientos epiteliales para la formación del maxilar y otros diez para la mandíbula correspondientes a los órganos dentarios deciduos o primarios, este proceso tiene lugar en la octava semana. Para el quinto mes de gestación, se formarán también los órganos dentarios permanentes.

Al principio de la séptima semana la lámina dentaria se alarga, en su extremo se forma un brote o botón llamado primordio dental, que da origen al esmalte. En esta etapa las células del ectomesénquima se encuentran condensadas por debajo del epitelio y alrededor del brote epitelial.¹⁴

En la décima semana, las células del primordio se multiplican de manera desigual al mismo tiempo que se forma una concavidad en su cara profunda, por lo que adquieren la forma de un casquete. Esta concavidad encierra una porción del ectomesénquima subyacente, que da origen a la papila dentaria, en la que quedan embebidas células troncales que en el futuro una parte de ellas formarán al complejo dentinopulpar. En esta etapa se observa el epitelio externo, el interno y el retículo estrellado. El epitelio externo está ubicado en la convexidad del órgano dentario, se conforma de células

cuboideas conectadas con la lámina dental a través de una porción de epitelio denominado pedículo epitelial.¹⁴

En las semanas 14 a la 18, el epitelio externo adquiere aspecto de plano simple, presenta invaginaciones que corresponden a brotes vasculares provenientes del saco dentario.

El epitelio interno se diferencia a ameloblastos, debajo del cual se encuentra la lámina basal ameloblástica con abundantes fibras de colágena que tienen la función de formar la conexión amelodentinaria. Al avanzar el desarrollo, los ameloblastos inducen a las células pluripotenciales de la papila dental a diferenciarse en odontoblastos y a secretar la matriz dentaria. Antes de que comience la dentinogénesis los ameloblastos sufren un cambio en la polaridad de sus organelos de tal manera que los núcleos se localizan distantes del odontoblasto. La actividad del ameloblasto es posterior a la secreción de las primeras capas de dentina.^{13,14}

El desarrollo continúa con la formación del folículo dentario, una vez que se han formado los bordes incisales, las cúspides dentarias y la presencia del depósito de esmalte sobre la dentina en desarrollo. El depósito de este tejido es aposicional y rítmico. Una vez que se ha depositado la matriz orgánica de la dentina y del esmalte, inicia la fase temprana de mineralización. Cuando la dentina es joven ya puede observarse la papila dental, en donde podemos encontrar células madre.¹³

Aislamiento y cultivo de las DPSC

Las células madre de pulpa dental humana se han obtenido por métodos basados en diversos experimentos e investigaciones,²¹ entre ellos encontramos el reportado por Raoof y colaboradores en el año 2014,²² el aislamiento y cultivo de las DPSC se realizó mediante tres metodologías: a) El tejido de la pulpa dental se colocó en digestión con colagenasa o enzima dispasa y se sembraron las células aisladas en placas de cultivo, b) El explante de pulpa dental se cortó en pequeños trozos de tejido sin digerir y se colocó directamente en las placas de Petri, c) Se puso en contacto la pulpa dental inicialmente con tripsina y luego se cortó el explante en pequeños trozos y se colocaron en placas de Petri para su crecimiento.

Ellos reportaron que estos cultivos crecieron en medio esencial mínimo (MEM), suplementado con 20% de

suero bovino fetal (FBS), a 37°C, con 5% de CO₂ y 90% de humedad en la incubadora de CO₂, como conclusión de estas metodologías se reportó que el tercer método da un mejor crecimiento celular con el logro de una confluencia del 60% en el plazo de 2 días de cultivo, por lo que recomiendan el tercer método.^{21,22}

Por otra parte Lin y colaboradores^{21,23} en el mismo año reportaron otro método de aislamiento en el que las células madre de la pulpa dental humana fueron extraídas de piezas dentales, se congelan y después se almacenan a -196°C en tanque de nitrógeno líquido durante 24 h. Durante la congelación, las células se suspendieron en medio de cultivo que contenía 10% de dimetilsulfóxido (DMSO), los resultados reportados sobre esta metodología fueron que cuando el medio de congelación no contenía DMSO las tasas de supervivencia de DPSC aumentaba una vez que se descongelaban y se cultivaban nuevamente.^{21,22} Dos años atrás, Gioventù y colaboradores,^{21,16} reportaron una metodología en la que estudiaron 4 dientes humanos enteros, que criopreservaron haciendo micro canales en el diente con la ayuda de rayo láser para ser almacenados a -80°C. Reportaron que este método ahorra tiempo en el aislamiento de células madre de pulpa dental antes de la crio preservación y por lo tanto reduce los costos iniciales y la carga de trabajo del procesamiento de las piezas dentales. Las células aisladas por este método no mostraron cambios en cuanto a morfología, viabilidad celular y tasa de proliferación normal, así como el mantenimiento del fenotipo mesenquimal similar a los de las células aisladas de los dientes frescos no crio conservados.

Ellos demostraron además que las DPSC aisladas, sin perforación láser, tienen una pérdida significativa de la viabilidad celular y la tasa de proliferación en comparación con los dientes crio preservados con las perforaciones.^{21,16}

Actualmente el desarrollo de protocolos de aislamiento ha permitido obtener DPSC de forma simplificada y ha agilizado los procesos de obtención.

Inmunotipificación del fenotipo mesenquimal en DPSC

El análisis fenotípico en CM se lleva a cabo mediante el estudio de la expresión de marcadores que son moléculas de superficie celular característicos de estas poblaciones celulares.²⁶ En el caso de las DPSC, estos análisis son útiles para la clasificación, el aislamiento, así como para dar seguimiento de sus estados en procesos de diferenciación, los cuales pueden ser visualizados por diversos métodos como la citometría de flujo,

inmunofluorescencia y por complejos magnéticos activados.²⁴

En el año 2006 la Sociedad Internacional de Terapia Celular (SCT, por sus siglas en inglés) define las propiedades que debe cumplir una célula para ser considerada como troncal, una de ellas es el presentar marcadores de superficie como CD73, CD90 y CD105 en una proporción $\geq 95\%$ y ausencia de antígenos hematopoyéticos $\leq 2\%$ como CD34, CD45, marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos B (25).

El objetivo de realizar este análisis, es verificar si las poblaciones celulares cultivadas de los órganos dentarios representan diferencias en su inmunofenotipo, además de obtener los porcentajes de expresión de estos marcadores y proceder a un reaislamiento si los porcentajes obtenidos no cumplen los criterios de la ISCT. El análisis de inmunofenotipo detallado se realiza más comúnmente mediante citometría de flujo usando los marcadores ya mencionados. Se han realizado estos análisis en DPSC los cuales muestran que estas células expresan además marcadores de células madre embrionarias (ES) Oct-4, Nanog y marcador mesodermal Vimentina, los cuales se midieron mediante inmunofluorescencia indirecta. El inmunofenotipado de las DPSCs ha revelado una fuerte expresión de marcadores de MSC (CD73, CD90 y CD105).²⁶

Para la realización de este análisis mediante citometría de flujo suelen utilizarse paneles de anticuerpos conjugados a fluorocromos y controles correspondientes a cada uno (controles de isotipo), con la finalidad de visualizar si existen problemas en la tinción de las muestras o fluorescencia inespecífica, también se utilizan células sin teñir, con el fin de visualizar la auto-fluorescencia celular. Se recomienda que las suspensiones celulares se realicen en solución reguladora de fosfatos (PBS) con albúmina sérica (BSA) al 0.1%, para evitar degradación de las membranas celulares.²⁷

La incubación con los anticuerpos o marcadores debe realizarse bajo las especificaciones del proveedor, comúnmente se recomienda alrededor de una hora, a temperatura ambiente, protegidas de la luz. Después de este proceso, por lo general, las muestras se lavan con PBS-BSA 0.1% con la finalidad de retirar el exceso de anticuerpo, posteriormente las células son analizadas en el citómetro teniendo en cuenta la longitud de onda de cada fluorocromo con el que se tiñó para observarlas en el canal de fluorescencia correspondiente a su rango

de longitud de onda, así visualizar la población celular y la presencia de marcadores de células madre para indagar y esclarecer sus características fenotípicas.²⁷

Transdiferenciación y microambientes artificiales

La transdiferenciación es un proceso en el que las células madre son capaces de cruzar el límite de la capa germinal de la que provienen, para formar tipos de células de capas germinales distintas. La concepción de transdiferenciación ha cambiado la noción de que las células madre multipotentes están restringidas en su potencia para formar las células de una capa germinal derivada, este proceso se lleva a cabo en las DPSC, ya que siendo estas de origen ectodérmico, pueden diferenciarse por ejemplo, hacia células pancreáticas cuyo origen es endodérmico, por otra parte, las DPSC también tienen la capacidad de ser clonógenas, ligado a la capacidad de auto-renovación, se les ha adjudicado el ser del tipo multipotentes,¹ han presentado plasticidad celular versátil y se ha reportado que pueden dar origen a estirpes celulares de tipo osteogénica, odontogénica, miogénica, adipogénica, neurogénica y melanocítica, e incluso se trabaja con transdiferenciación a células corneales, células de islotes del páncreas y células de tipo neuronal.^{30,31}

Esto pareciera dar una ventaja en cuanto a la capacidad multipotencial/pluripotencial ligado a la accesibilidad del tejido y al uso autólogo.³² Los procesos de transdiferenciación o diferenciación, están relacionados a la influencia de microambientes extracelulares en los cuales son manipuladas las células ya que, para que una célula sea funcional en la ingeniería de tejidos, debe seguir ciertos criterios: no ser inmunogénica, ser de rápida y fácil expansión en cultivos y ser accesible con mínima morbilidad para el sitio donante, estas características responden al microambiente y sitio donde se fabrica dicho órgano o tejido, de esta forma se pueden establecer modelos tridimensionales con el uso de biomateriales o las técnicas de cultivo, tomando en cuenta si se trata de trasplantes autólogos, heterotrópicos, etc.^{33,34}

El proceso de transdiferenciación conlleva un cambio en el fenotipo, ya que hay pérdida tanto de marcadores específicos como de funciones referentes al tipo celular de origen así como la adquisición de marcadores y función del otro tipo celular.³³ La investigación sobre cómo ocurre el fenómeno aún sigue descifrándose, se ha mencionado que puede suceder por una regresión a un estado primitivo, perdiendo la diferenciación (de-diferenciación), seguido de una re-diferenciación

hacia un nuevo linaje celular, y el microambiente en el que se encuentren las células troncales adultas es un detonante para inducir una reprogramación genética y/o epigenética derivada de la exposición a los diversos factores inductores con el objetivo de iniciar la cascada de expresión génica que permita el reclutamiento celular, la diferenciación, la producción de matriz y el ensamblaje ordenado de estructuras para la regeneración de tejidos, estas estrategias genéticas se han mejorado durante los últimos años.^{33,35}

Los microambientes que se crean en los procesos de diferenciación o transdiferenciación, en muchos casos, implica una estrategia de preparación genética mediante el uso de proteínas, hormonas, sustancias químicas y diversos factores para propiciar que se lleve a cabo la inducción al tipo tisular mediante estímulos con estas moléculas para iniciar una cascada de expresión génica que permita el reclutamiento celular, la producción de matriz y el ensamblaje ordenado de estructuras para la regeneración de tejidos, buscado mediante la activación de los sitios deseados y que el tratamiento clínico que se tiene como objetivo pueda darse. Los procesos de inducción de diferenciación o transdiferenciación mediante la manipulación génica celular se pueden dividir en no virales y virales, para esta última, un ejemplo es mediante el uso un adenovirus para transportar los genes con una buena eficiencia; para las modalidades no virales podemos mencionar la transferencia génica mediada por genes liposómicos, sin embargo, han sido poco utilizadas por su baja eficiencia.^{34,36}

El proceso de transdiferenciación también está relacionado a los fenómenos de fusión celular, en el caso de las células troncales mesénquimales encontramos una población celular no homogénea y no son poblaciones originadas a partir de clonas individuales, por lo que hay investigaciones al respecto para avanzar en este tema y así entender la función de los genes implicados en la proliferación y la diferenciación celular, este conocimiento será fundamental en el diseño de las nuevas estrategias para el campo de la regeneración tisular y la terapia celular sobre todo tras la apertura en el abanico de nuevas fuentes de células troncales, como son las dentales, que se prospectan como células mesénquimales con potencial para la regeneración tisular con capacidad para transdiferenciarse en condiciones apropiadas, es por ello que se tiene interés en la gestión de estrategias de proliferación y diferenciación con microambientes determinados tanto *in vitro* como *ex vivo* con una clara recombinación de bases proteicas y factores de crecimiento exógenos que ofrezcan una alternativa funcional para mejorar los tratamiento de enfermedades crónico degenerativas, al igual que otros padecimientos.^{34,35}

Pese a las nuevas visiones y las estrategias que buscan esta transdiferenciación, es imprescindible demostrar que en realidad las células con las que se trabaja son células madre aisladas a nivel clonal, ya que los tejidos de los cuales se obtienen son complejos y por tal contienen diversos tipos celulares que incluyen células comprometidas con linajes mesenquimatosos, endoteliales y hematopoyéticos, por ello no es posible dar por hecho que se cuenta con células madre de un tipo de tejido. Es imprescindible asegurar que los métodos que se siguen son los adecuados para obtener una inducción efectiva para que se logre una transdiferenciación, involucrando controles de proceso, desde las condiciones básicas de esterilidad y seguridad para el cultivo celular hasta los protocolos de diferenciación o transdiferenciación para que no se vea reflejada ninguna alteración en el crecimiento celular para lograr la estirpe que se desea y que esto sea totalmente reproducible con el rigor científico que conlleva.^{30,34}

Terapia celular

Las “terapias celulares” utilizan injertos de células o tejidos para tratar enfermedades o lesiones. Los objetivos de las terapias con células madre suelen centrarse en el reemplazo celular, es decir, la sustitución de las células dañadas por células nuevas y funcionales obtenidas *in vitro* o bien, mediante el enriquecimiento ambiental, es decir, para apoyar la regeneración de algún órgano o tejido dañado en el organismo.²⁸ En los últimos 20 años, la tecnología y aplicaciones terapéuticas con células madre se han convertido en una opción en la investigación y en el tratamiento de enfermedades crónicas, como padecimientos neurodegenerativos y diabetes mellitus por ejemplo.²⁸

A pesar del carácter destructivo de estas enfermedades, el número de individuos afectados y los costos de atención médica superan los miles de millones de dólares, existe una impresionante falta de opciones de tratamiento.²⁸ En nuestro país se prevé que el costo de la atención de las enfermedades crónicas signifique mayores impresiones financieras a todas las instituciones de salud pública en cuanto a enfermedades como cáncer, diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares.²⁹

Recientemente, las terapias celulares han ganado mayor atención como posible nueva terapia. El análisis de la literatura científica publicada demuestra que <2% de todos los documentos por campo de enfermedad, están dirigidas a la investigación en la aplicación de células madre. Sin embargo, es probable que estas cifras aumenten a medida que avanza el campo de la terapia celular.²⁸

El injerto de células madre pueden ser extraídas del mismo paciente y colocársele en el órgano o sistema dañado que se desea regenerar, es decir, un trasplante autólogo, por otra parte la investigación en esta área y de la medicina regenerativa, también se ha enfocado en dirigir la diferenciación celular imitando las señales existentes en el desarrollo embrionario para generar *in vitro* células especializadas a partir de las CM.

Aplicaciones de las células madre de pulpa dental en enfermedades crónico degenerativas

Actualmente la fuente de obtención de células madre más común es la extracción de médula ósea y de tejido adiposo. Sin embargo, la obtención de células madre de los órganos dentarios, en específico de la cámara pulpar, ha sido en los últimos años una fuente con gran potencial ya que se encuentran en abundancia y son de fácil obtención debido a que las piezas dentales se consideran desechos biológicos, por lo que resulta sencillo encontrar donadores de las mismas, además no se requiere una cirugía mayor para la extracción de las piezas dentales, sin embargo es importante que las piezas se encuentren en buen estado, es decir, que no presenten infecciones o contaminación bacteriana, picaduras, caries, puesto que estas condiciones comprometen el potencial y supervivencia del tejido pulpar dental.^{21, 43} Por otro lado, se han realizado estudios donde a partir de estas se ha logrado obtener células beta pancreáticas con la capacidad de secretar insulina para el tratamiento de la diabetes mellitus, también se han obtenido cardiomiocitos, para terapia en enfermedades cardiovasculares, condrocitos y osteocitos en terapias para la regeneración ósea, además han sido un gran recurso en áreas de la ingeniería de tejidos en la obtención de tendón,^{37,38} terapia celular en enfermedad de Alzheimer,³⁹ se han obtenido células neuronales a partir de la inducción de estas células madre,⁴⁰ la reparación del nervio retiniano y sistema nervioso central,⁴¹ también se ha descubierto que el trasplante de células madre de pulpa dental suprime la inflamación del nervio ciático cuando son colocadas en esta región y mejora la poli neuropatía diabética.⁴²

En la tabla 1, se resumen algunas de las aplicaciones de las células madre de pulpa dental en enfermedades crónico degenerativas, recientemente, la investigación con este tipo de células se ha enfocado en obtener células especializadas que desempeñen una función particular, es decir, muchas investigaciones se han dirigido a encontrar protocolos para guiar el desarrollo *in vitro* de tipos celulares que desempeñen funciones del organismo que en ciertos padecimientos se ven afectados; por ejemplo,

en el caso de la diabetes mellitus insulino dependiente, se ha propuesto el desarrollar células beta productoras de insulina obtenidas de la diferenciación de células madre de pulpa dental; en el año 2007, se llevó a cabo el primer ensayo clínico que evaluó el trasplante de células madre como una vía viable, segura y eficaz para el tratamiento de diabetes tipo 1, fue realizado por el Dr. Julio C. Voltarelli

y sus compañeros investigadores,³⁷ otras aplicaciones de las células madre, han tenido lugar en enfermedades neurodegenerativas, también estas células madre han sido útiles en el estudio de los trastornos neuro-genéticos ya que a partir de ellas se han logrado obtener y caracterizar células de tipo neuronal.⁴⁴

Tabla 1.
Aplicaciones terapéuticas de las células madre de la pulpa dental.^{21,37}

Odontología	Reemplazo biológico de dientes perdidos. Incluye la generación de una raíz y un ligamento periodontal con suministros de nervio y sangre.
Neurología	Tratamiento de lesión del nervio periférico. Las células de pulpa dental se trasplantaron en geles de colágeno y se infundieron dentro de un tubo de silicio, colocado dentro de una separación de 7 mm en la rama bucal del nervio facial de rata. Las células de pulpa dental formaban vasos sanguíneos y tejido mielinizante, además contribuyeron a la promoción de la regeneración nerviosa.
Angiología	Se estimuló la vasculogénesis como un tratamiento potencial para pacientes con isquemia y pacientes propensos a sufrir infarto al miocardio.
Endocrinología	Obtención a partir de la diferenciación <i>in vitro</i> de células funcionales en la producción y almacenamiento de glucógeno y producción de urea

Actualmente se realizan estudios para evaluar la seguridad y la viabilidad de la terapia autóloga de células madre de la pulpa dental en pacientes que han sufrido un accidente cerebrovascular,⁴⁵ así como la relación de la senescencia celular con su potencial de diferenciación y la edad del donante, se ha concluido que la senescencia perjudica la proliferación y el potencial de diferenciación de las DPSC, así como la edad del donante, es un factor importante que afecta su uso para la regeneración dentaria.⁴⁶

Por otra parte, en nuestro país se está trabajando en el aislamiento de estas células con el propósito de crear protocolos de diferenciación para la obtención de células especializadas, así como técnicas estandarizadas para la extracción y cultivo de las mismas.

Las múltiples aplicaciones de las DPSC, otorgan grandes ventajas y potencial para tratar diversos padecimientos crónicos ofreciendo un control permanente en el caso de algunas enfermedades, en particular el caso de diabetes mellitus y algunas cardiopatías, sin embargo es necesario incrementar esfuerzos en estas líneas de investigación ya que aún existen muchas preguntas sin respuestas en

los estudios pre-clínicos y clínicos para implementar protocolos eficaces, seguros y regularizados de esta clase de terapia en seres humanos.

Perspectivas

El estudio de las DPSC abre camino en la investigación en áreas como bioingeniería de tejidos y terapia celular en enfermedades crónico degenerativas, el crecimiento en estas áreas médico-biotecnológicas podría poner al alcance de los pacientes una cura efectiva y avances significativos en la calidad de vida.

Agradecimientos

Reconocemos el apoyo del Hospital Civil de Guadalajara “Juan I. Menchaca”, así como el Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social SS/IMSS/ISSSTE-CONACYT. -2014-01-233146.

Correspondencia

*M.C. Flor Yohana Flores Hernández Investigador del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco, A.C., Av. Normalistas 800 Col Jardines Alcalde C.P.44270, 3345 5200 Ext. 1328 fflores@ciatej.mx.

Referencias bibliográficas

1. Mata-Miranda M, Sánchez-Monroy M, Vázquez-Zapién G. *Investigación básica con células madre pluripotentes en la Escuela Médico Militar*. Perinatología y reproducción humana. 2014. (27):3 194-199.
2. Takeuchi H, Nakatsuji N, Suemori H. *Endodermal differentiation of human pluripotent stem cells to insulin-producing cells in 3D culture*. Nature, Scientific reports. 2014. 4:4488. p. 1-9.
3. Organización Mundial de la Salud [internet] México: OMG [fecha de actualización 2016] [fecha de acceso: 03 diciembre 2016]. Disponible en: http://www.who.int/topics/chronic_diseases/es/
4. Ledesma-Martínez E, Mendoza-Núñez VM, Santiago-Orsorio E. *Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Pulp: A Review.*, Stem Cells. 2016. 12p
5. Iohara K, Zheng L, Ito M, Tomokiyo A, Matsushita K, Nakashima M. *Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis*. Stem Cells. 2006. 24: 2493-503.
6. Masthan KMK, Leena SS, Aravindha BS, Gopalakrishnan T. *Mystery inside the thooth: the dental pulp stem cells.*, Journal of clinical and diagnostic research Dentistry section. 2013. Vol-7(5): 945-947.
7. Gimeno L, Ho Hyon S, Argibay F, et al. *Terapia celular para el tratamiento de la diabetes: más allá de las células madre*. MEDICINA Buenos Aires. 2011. 71:0025-7680. p. 267-273.
8. Giraldo J, Madero C, Ávila M, Cuneo S, López C, Aparicio A. *Artículo de revisión células madre*. Revista Colomb Obst Gin. 2009. 54: 87-95.
9. Orbay H, Tobita M, Mizuno H. *Mesenchymal stem cell isolated from adipose and other tissues: basic biological properties and clinical applications*. Stem cells. 2012. 1:9.
10. Acevedo-Toro A, Cortés-Márquez M. *Células madre: generalidades, eventos biológicos y moleculares.*, IATREIA. 2008. (21):3. P. 292-306.
11. Trounson A, DeWitt DN. *Pluripotent stem cells progressing to the clinic.*, SCIENCE AND SOCIETY. Nature. 2016. Vol.17: 194-200.
12. Sperber G. *The genetics of odontogenesis: implications in dental anthropology and palaeo-odontology*. ResearchGate. 2006. 17:1, ISSN 1096-9411.
13. Avery JK, Chiego DJ. *Principios de histología y embriología bucal*. Tercera Edición. Editorial Elsevier. 2007. Mosby. España
14. Sperber G. *The genetics of odontogenesis: implications in dental anthropology and palaeo-odontology*. Transactions of the Royal Society of South Africa. 2010. 61:2, 121-125
15. Shang yao S, Masako M, Byoung M, Pamela G. *The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures*. Research Gate. 2005. DOI: 10.1111.
16. Gioventu S, Andriolo G, Montelatici E, Bonino F, et al. *A Novel Method for Banking Dental Pulp Stem Cells*. Transfusion and Apheresis Science. 2012. 47, 199-206.
17. Potdar PD, Jethmalani YD. *Human dental pulp stem cells: Applications in future regenerative medicine*. World Journal of stem cells. 2015. 7(5): 839-851.
18. Huang AH, Snyder BR, Cheng PH, Chan AW. *Putative dental pulp-derived stem/stromal cells promote proliferation and differentiation of endogenous neural cells in the hippocampus of mice*. Stem Cells 2008; 26:2654-2663.
19. Tziafas D. *The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration*. Caries Res 2004. 38:314-20.
20. Ranganathan K, Vidya L. *Stem cells of the dental pulp*. Indian Journal of dental research. 2012 23(4): 558.
21. Aljamie M, Lujain A, Rawan N, Elsayed L. *Dental Pulp Stem Cells, a New Era in Regenerative Medicine: A Literature Review*. Open Journal of Stomatology. 2016. 6, 155-163.
22. Raoof M, Yaghoobi M, Ali D, Kamal A, Behnam E, Mehdi A. et al. *A Modified Efficient Method for Dental Pulp Stem Cell Isolation*. Dental Research Journal (Isfahan). 2014. 11, 244-250.
23. Lin SL, Chang WJ, Lin CY, Hsieh SC, Lee SY, Fan KH, et al. *Static Magnetic Field Increases Survival Rate of Dental Pulp Stem Cells during DMSO-Free Cryopreservation*. Electromagnetic Biology and Medicine. 2015. 34, 302-308.
24. Nagano K, Yoshida Y, Isobe T. *Cell surface biomarkers of embryonic stem cells*, Proteomics. 2008; 8: 4025-35.
25. Arévalo-Romero AJ, Páez-Guerrero DM, Rodríguez-Pardo VM. *Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas*. Publicación científica en ciencias biomédicas. 2007. Vol. 5. 1794-2470.
26. Ponnaiyan D, Bhat KM, Bhat GS. *Comparison of immunophenotypes of stem cells from human dental pulp and periodontal ligament*. International Journal Immunopathol. Pharmacol. 2012. 25(1):127-34.
27. Ducret M†, Fabre H†, Degoul O, Atzeni G, McGuckin C, Forraz N, et al. *Immunophenotyping Reveals the Diversity of Human Dental Pulp Mesenchymal Stromal Cells In vivo and Their Evolution upon In vitro Amplification*. Frontiers in Physiology. 2016. 7:(512) 1-10.
28. Lunn SJ, Sakowski SA, Junguk H, Feldman EL. *Stem Cell Technology for Neurodegenerative Diseases.*, NIH Public Access. 2011. 70(3): 353-361.
29. Plan nacional de salud Jalisco. Secretaría de Salud Jalisco. 2013-2018.

30. Kumar A, Narayanan K, Chaudhary RK, Mishra S, Kumar S, Vinoth KJ, et al. *Current Perspective of Stem Cell Therapy in Neurodegenerative and Metabolic Diseases*. Mol Neurobiol [Internet]. Molecular Neurobiology; 2016;1-21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-016-0217-4>.
31. Cao Y, Song M, Kim E, Shon W, Chugal N, Bogen G, et al. *Pulp-dentin Regeneration*. J Dent Res [Internet]. 2015;94(11):1544-51. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034515601658>
32. Vargas L, Oropeza M, Cano P. *Células pluripotenciales de la pulpa dental humana*. Odontol Actual. 2014;4-14.
33. Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. *Stem and progenitor cells: Origins, and Transdifferentiations*. Cell Developmental Biol. 2001;387-403.
34. Venezolana S. Claves P. Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatría. 2005;5-7.
35. Beltrán O, Quintero L, Chaparro O. *Plasticidad y transdiferenciación en células stem adultas: revisión; Plasticity and transdifferentiation in adults stem cell: review*. Rev MED [Internet]. 2005;13(1):10-6. Available from: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=432198&indexSearch=ID>
36. Bakopoulou A, Kritis A, Andreadis D, Papachristou E, Leyhausen G, Koidis P, et al. *Angiogenic Potential and Secretome of Human Apical Papilla Mesenchymal Stem Cells in Various Stress Microenvironments*. Stem Cells Dev [Internet]. 2015;24(21):2496-512. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26203919> <http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/scd.2015.0197>
37. Chen Y, He S, Yan F, Zhou P, Luo K, Zhang Y, Xiao Y, Lin M. *Dental pulp stem cells express tendon markers under mechanical loading and are a potential cell source for tissue engineering of tendon-like tissue*. International Journal of Oral Science (Nature). 2016. 1-10.
38. Theocharidou A, Bakopoulou A, Kontonasaki E, Papachristou E, Hadjichristou C, Bousnaki M, et al. *Odontogenic differentiation and biomineralization potential of dental pulp stem cells inside Mg-based bioceramic scaffolds under low-level laser treatment*. Lasers Med Sci., Springer. 2016. DOI 10.1007/s10103-016-2102-9.
39. Nermeen EM, Bellah A, Masashi M, Yujiro H, Misako N. *Therapeutic Potential of Dental Pulp Stem Cell Secretome for Alzheimer's Disease Treatment: An In Vitro Study*. Stem Cells International. 2016. 1-11 p.
40. Zhang J, Lu X, Feng G, Gu Z, Sun Y, Bao G, et al. *Chitosan scaffolds induce human dental pulp stem cells to neural differentiation: potential roles for spinal cord injury therapy*. Cell Tissue Res. Pubmed. 2016. 366(1):129-42.
41. Mead B, Logan A, Berry M, Leadbeater W, Scheven BA. *Dental Pulp Stem Cells: A Novel Cell Therapy for Retinal and Central Nervous System Repair*. Stem Cells. 2016. 0:0 1-7.
42. Omi M, Hata M, Nakamura N, Miyabe M, Kobayashi Y, Kamiya H, et al. *Transplantation of dental pulp stem cells suppressed inflammation in sciatic nerves by promoting macrophage polarization towards anti-inflammation phenotypes and ameliorated diabetic polyneuropathy*. Pubmed., Diabetes investigation. 2016. 7(4):485-96.
43. Agrafioti A, Taraslia V, Chrepa V, Lymperi S, Panopoulos P, Anastasiadou E, et al. *Interaction of dental pulp stem cells with Biodentine and MTA after exposure to different environments*. J Appl Oral Sci. 2016. 24(5):481-486.
44. Young F, Telezhkin V, Youde S, Langley M, Stack M, Kemp P, et al. *Clonal Heterogeneity in the Neuronal and Glial Differentiation of Dental Pulp Stem/Progenitor Cells*. Stem Cells International. 2016. 1-10 p.
45. Nagpal A, Kremer KL, Hamilton-Bruce MA, Kaidonis X, Milton AG, Levi C, et al. *TOOTH (The Open study Of dental pulp stem cell Therapy in Humans): Study protocol for evaluating safety and feasibility of autologous human adult dental pulp stem cell therapy in patients with chronic disability after stroke*. Pubmed. 2016. 11(5):575-85.
46. Yi Q, Liu O, Yan F, Lin X, Diao S, Wang L, et al. *Analysis of Senescence-Related Differentiation Potentials and Gene Expression Profiles in Human Dental Pulp Stem Cells*. Cells Tissues Organs. 2016. 203:1.