

# Células madres pulpares: describiendo y descubriendo potencialidades

*Merino, Graciela; Dewey, Ricardo; Mayocchi, Karina; Butler, Teresa; Dorati, Pablo; Basal, Roxana; Paggi, Ricardo; Cantarini, Martín; Pinola, Lidia; Micinquevich, Susana*

*Facultad de Odontología – Universidad Nacional de La Plata. 50 e/ 1 y 115, La Plata (1900)*

*Directora | Merino Graciela - secyt\_folp@hotmail.com*

*Fuente de apoyo financiero | UNLP*

*“Sin conflicto de interés”*

## Resumen

La evidencia científica ha demostrado que las células madre (CM) ofrecen una importante innovación en la investigación odontológica. Ellas pueden diferenciarse posibilitando el reemplazo de tejidos afectados aunque sean de otros linajes celulares. Las de origen dental por su multipotencialidad pueden formar células con carácter osteo/odontogénico, adipogénico y neurogénico. La pulpa dental ofrece células madre en baja concentración, siendo más proliferativas aquellas que dan origen a la corona o las procedentes de dientes neonatales; una subpoblación de estas puede diferenciarse hacia osteoblastos o células endoteliales. Los dientes temporales exfoliados son una sustancial fuente de células madre pulpares, poseen células epiteliales para la regeneración dentaria, así como angiogénicas precursoras de tejido conectivo. Las células madre de la papila dental controlan las fases eruptivas y de formación dental mediante la interacción molecular. En consecuencia las CM pulpares son: de fácil acceso al lugar donde se encuentran, de escasa morbilidad, de extracción altamente eficiente, con gran capacidad de diferenciación, y su demostrada interacción con biomateriales las hace ideales para la regeneración tisular. Los trabajos de investigación revisados son el pilar fundamental para desarrollar nuevos tratamientos en el futuro basados en células madres, que tendrán aplicación en la práctica clínica odontológica.

*Palabras Clave | Células madre-pulpa-investigación-regeneración.*

## Summary

Scientific evidence has shown that stem cells (SC) provide an important innovation in dental research. They can be differentiated allowing replacement of affected tissue even of other cell lines. The dental origin for its multipotentiality can form cells with osteo / odontogenic, adipogenic and neurogenic character. It provides dental pulp stem cells in low concentration, being proliferative those that give rise to the crown or from neonatal teeth; A subpopulation of these can differentiate into osteoblasts or endothelial cells. Exfoliated deciduous teeth are a substantial source of pulp stem cells possesses epithelial cells for tooth regeneration, as well as angiogenic precursor of connective tissue. Stem cells control the dental papilla and dental eruptive phase formation by molecular interaction. Thus the CM pulp are easily accessible to the place where they are, of low morbidity, highly efficient extraction, with plenty of differentiation, and demonstrated interaction with biomaterials makes them ideal for regeneration tisular. The reviews are the key to developing new treatments in the future based on stem cells that will have application in dental clinical practice pillar.

*Key words | Stem Cells- pulp – regeneration- research*

## Introducción

A medida que transcurre el tiempo los seres humanos develamos más misterios de la naturaleza, desde una meiosis donde todo queda dividido en la mitad, y que pasa cuando esas dos células se juntan? Oh sorpresa! un individuo con mitad de carga genética de los dos progenitores. El huevo o cigoto da origen a todas las células embrionarias y extraembrionarias. A medida que se avanza en la ontogenia celular, las células van perdiendo la potencialidad de dar origen a toda la gama de tipos celulares posibles. Se puede observar que durante el pasaje de una célula troncal embrionaria a una célula progenitora de neuronas el silenciamiento de genes versus la activación es de 23:1. Se denominan células totipotentes a las células huevo o cigota (ya que poseen la capacidad de originar un individuo completo junto a sus anexos embrionarios). Las blastómeras derivadas del huevo o cigota conservan esta totipotencialidad hasta las 8 blastómeras después pasan a ser pluripotenciales. Las células de la cresta neurales corresponden a las rombómeras r1 y r2, invaden el primer arco branquial, las de las rombómeras r4 el segundo arco branquial y las de las rombómeras r6 y r7 el tercer arco branquial. En su lugar de destino, forman células mesenquimatosas que contribuyen a originar una gran parte del cartílago y hueso de la cara y el cráneo. Está comprobado que para su diferenciación se rigen por la influencia de genes Hox, que estas células han conservado a pesar de su migración desde su lugar de origen en el tubo neural. Las células derivadas de la cresta neural se denominan células ectomesenquimáticas (llamadas así a las células de la cresta que migran y constituyen poblaciones celulares) estas contribuyen a formar parte de la cara y órganos dentarios. (2) Estudios realizados por Chain y col, lograron detectar el recorrido de las células de la cresta neural a través de marcadores específicos. (3)

## Desarrollo

Las Células Madre (CM) en el campo de la odontología regenerativa, por sus características de autorrenovación, proliferación y diferenciación, ofrecen una importante innovación para el tratamiento odontológico. La regeneración tisular implica el reemplazo de tejidos afectados con células idénticas que pueden ser generadas a partir de la estimulación de CM Mesenquimatosas por diferentes mecanismos moleculares y celulares involucrados en la morfogénesis dental. Las CM se han definido como células clonogénicas, tienen la capacidad de generar al

menos una célula hija con características similares a la célula de origen, manteniéndose al mismo tiempo en un estado indiferenciado. Tienen además la capacidad de proliferación, para dividirse sin cambiar su fenotipo celular indiferenciado, y de diferenciación para modificar el fenotipo de la célula de origen en distintos tipos celulares diferentes al tejido embrionario original en varias líneas celulares, como médula ósea, sangre periférica, cerebro, piel, pulpa dental y ligamento periodontal, entre otros.

### *Células Madre de origen dental.(C.M.D.):*

Poseen potencial de multidiferenciación y por tanto pertenecen al grupo de C.M. adultas, teniendo la capacidad de formar células con carácter osteo/odontogénico, adipogénico y neurogénico. En comparación con las C.M. de la médula ósea, las C.M.D tienen predilección por el desarrollo odontogénico.

### *Existen diversos tipos de células madre de origen dental:*

#### **1. Células madre de la pulpa (Dental Pulp Stem Cells (DPSC))**

Fueron las primeras células madre dentarias que se aislaron (Gronthos 2000). (8) Por analogía con las células madre de la médula, se consideró que había una comunidad de células multipotenciales en el tejido pulpar de dientes maduros. En estudios posteriores, se las empezó a relacionar con características endoteliales y vasculares. La producción de DPSC es muy pequeña (1 por 100 de todas las células) y según aumenta la edad del individuo, la disponibilidad de estas células se ve reducida. Se han estudiado sobretodo las células que provienen de terceros molares y dientes supernumerarios. Cabe destacar que, si son aisladas durante la formación de la corona, las DPSC son más proliferativas que si se aíslan más adelante. Con las mismas capacidades prácticamente que las DPSC, se puede hablar de un subtipo: las DPSC procedentes de dientes neonatales, las hNDPSC (human Natal Dental Pulp Stem Cells) que ofrecen mayor capacidad de proliferación que las propias células de la médula ósea, aunque sin grandes diferencias al compararlas con las DPSC. Las SBP-DPSCs son otra subpoblación de DPSCs capaces de diferenciarse hacia osteoblastos, sintetizando tejido óseo tridimensional in vitro y pueden diferenciarse en osteoblastos y en células endoteliales. Su asombrosa capacidad de diferenciación les permite dar lugar in vivo a hueso adulto con canales de Havers y la apropiada vascularización (7).



## 2. Células madre del ligamento periodontal (Periodontal Ligament Stem Cells (PDLSC)).

Varios estudios afirman que el ligamento periodontal tiene poblaciones de células que pueden diferenciarse tanto hacia cementoblastos como hacia osteoblastos.

## 3. Células madre de dientes temporales exfoliados (Stem cells from Human Exfoliated Deciduous teeth (SHED)).

Se han aislado células de la pulpa remanente de los dientes deciduos exfoliados, denominadas SHED. Los resultados revelaron que ésta, contenía una población de células madre multipotenciales diferentes a las aisladas anteriormente de la pulpa dental de dientes permanentes (DPSC). Las SHED se consideran una importante fuente de células madre de fácil obtención. Los dientes deciduos y los permanentes tienen importantes diferencias en cuanto a su función, proceso de desarrollo y estructura tisular, y al comparar las SHED con las DPSC, se encontró una mayor velocidad de proliferación y una mayor capacidad de especialización. Un revelador ejemplo es el de la existencia, hasta ahora ignorada, de células epiteliales en la pulpa de estos dientes. Aisladas de manera exitosa (Hyun Nam, Gene Lee 2009),(2) se estudia la posibilidad de que jueguen un papel importante en la composición epitelial para la reparación o regeneración del diente, ya que sus características morfológicas se correspondían con el fenotipo de células madre epiteliales, pudiendo llegar a expresar marcadores epiteliales. También se ha probado el potencial de las SHED para diferenciarse en células angiogénicas, cuya capacidad de inducción se considera fundamental para cualquier tipo de regeneración con tejido conectivo. Es necesario el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) para que las SHED se diferencien hacia células endoteliales. Una investigación ultraestructural con microscopio electrónico del tejido y la estructura pulpare implantados dentro de dientes tratados endodónticamente, concluyó que es posible implantar dichas estructuras pulpares creadas gracias a la ingeniería tisular dentro de los dientes tras su limpieza y conformación.

## 4. Células madre de la papila dental (Stem Cells from the Apical Papilla (SCAP)).

En el transcurso del proceso de erupción y formación dental la diferenciación de células Madres osteoblásticas y osteoclasticas es absolutamente necesaria para controlar la sincronía de las fases a lo largo de la vía de erupción y su respectivo movimiento dental. Para crear la vía de erupción por resorción alveolar ósea

activa es fundamental el reclutamiento de osteoclastos.

La proliferación y diferenciación de osteoblastos y osteoclastos a partir de células Madres progenitoras mesenquimatosas y/o hematopoyéticas respectivamente son importantes en el crecimiento y el desarrollo postnatal controlado por factores solubles locales como; morfogenes, factores de crecimiento, citocinas, neuropéptidos y hormonas. Los factores de crecimiento estimulan la proliferación y diferenciación celular mediante la activación de receptores específicos en células blanco. Muchos de los factores de crecimiento se encuentran en forma activa asumiendo diversas funciones en diferentes periodos durante el crecimiento y desarrollo de órganos y tejidos corporales. La vía de señalización del factor de crecimiento transformante (TGF) ocupa una posición central dentro de las vías de señalización desencadenadas por factores solubles que controlan el crecimiento, diferenciación y destino en las células. El TGF induce las células alterando la expresión de los genes como el c-myc y junB controlando la proliferación celular. También se ha demostrado que la familia del TGF son reguladores críticos en el desarrollo orofacial de los mamíferos debido a diferencias de expresión por gradientes espaciotemporales en sitios tisulares específicos controlando la proliferación celular y crecimiento del tejido. Hormonas como la de hormona de crecimiento, también están involucradas en la formación ósea por medio de la estimulación de precursores óseos o células madres para su proliferación, seguido de una expansión clonal y promoción de la diferenciación hacia linajes osteogénicos.(7)

## *Moléculas de señalización implicadas en la diferenciación y regeneración dental.*

Los morfogenes, son señales secretadas a nivel extracelular, dirigiendo la morfogénesis durante las interacciones epitelio-mesénquima. Las vías de señalización morfogenética incluyen cinco clases de genes altamente conservados durante la evolución: proteínas morfogenéticas óseas (BMP), factores de crecimiento fibroblástico (FGFs), proteínas internas wingless (Wnts), proteínas Hedgehog (Hhs), y las moléculas de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF). Estas familias de genes están principalmente involucradas durante el inicio de la morfogénesis y cito diferenciación.(4).

## *Caracterización de las células madre en el complejo Pulpodental.*

Una posible fuente de MSCs se encuentra en la pulpa dental,

este es un tejido conectivo de baja vascularidad rodeado por dentina, conformado por una población heterogénea de células como: odontoblastos, fibroblastos, células estromales, células endoteliales y perivasculares, células nerviosas, entre otras; estas células mantienen la homeóstasis de los diferentes tejidos dentinales mineralizados. La mayoría de las células pulpares son postmitóticas; sin embargo, algunas de estas células aún se dividen y forman capas de nuevas células pulpares con habilidad de diferenciación a odontoblastos y formación de dentina. Estas células, junto con los vasos sanguíneos se encuentran en matrices extracelulares creando un microambiente ideal para permitir procesos de reparación. Diferentes estudios, han buscado definir el fenotipo de células madres mesenquimales de pulpa dental (DP-MSc), el crecimiento in vitro en comparación con MSCs de médula, y su plasticidad in vitro por lo menos en tres tipos de células: osteoblastos, condroblastos y adipocitos (5). Gronthos y col;(8) caracterizaron estas células por medio de marcadores específicos de MSCs y observaron su capacidad de autorregeneración, diferenciación a múltiples linajes y su capacidad clonogénica; hallando DPSCs capaces de formar dentina asociada con tejido pulpar in vivo. Por medio de la expresión de mRNA de Dentina sialofosfoproteína (Dspp) y metaloproteinasas de la matriz 20 (MM20) confirmaron la diferenciación de DPSCs en odontoblastos al ser estimuladas por proteínas morfogenéticas óseas (4-7). Las células madre de la pulpa dental (DPSCs) han demostrado que pueden resolver : el acceso al lugar donde se encuentran estas células es fácil y de escasa morbilidad, su extracción es altamente eficiente, tienen una gran capacidad de diferenciación, y su demostrada interacción con biomateriales las hace ideales para la regeneración tisular. Estos trabajos de investigación son el pilar fundamental para desarrollar nuevos tratamientos en el

futuro basados en células madres. En efecto, existen varios ensayos clínicos con terapia celular basados en células madres que en este momento se efectúan en sujetos humanos. Estas estrategias terapéuticas novedosas tendrán aplicación en la práctica clínica odontológica.



## BIBLIOGRAFÍA

- Gomez de Ferraris, ME; Campos Muñoz A. "Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental". 3ª edición, Año 2009. México. Ed. Médica Panamericana.
- Huang AHC, Chen YK, Chan AWS, Shieh TY, Lin LM, Shieh TY, Cha AWS. Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a supernumerary tooth. *J Oral Pathol Med* 2008; 37: 571- 574.
- Huang G TJ, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res* 2006; 324: 225- 236.
- Liu L, Ling J, Wei X, Wu L, Xiao Y. Stem cell regulatory gene expression in human adult dental pulp and periodontal ligament cells undergoing odontogenic/osteogenic differentiation. *J Endod* 2009; 35(10): 1368- 1376.
- 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(11): 2493-2503.
- Valencia, R; Espinosa, R; Saadia, M; Velasco Neri, J; Nario, H; Panorama actual de las Células Madre de la Pulpa de Dientes Primarios y Permanentes. may-agos. 2013 *RodyBVol II*, 2.
- Rojas, M; Meruane, M. Potencialidad Celular Evolutiva y Medicina Regenerativa. *Int. J Morphol.* 2012...30(4):1243- 1251.
- Miura M1, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 May 13; 100(10):5807-12.