"Sin conflicto de interés"

Estudio de la acción de la melatonina para la obtención de células madre inducidas al linaje osteoblástico.

Autores: *Alfaro Gabriel; Bustichi Gabriela; Didomenico Pablo; Lazo Mariano; Peñalva Anahí; Zanelli Carina; Castilla Juan; Porras Camila; Bosi Mariangeles; Dominguez Guidi Ramiro; Orozco Monica; Lago Agustín.*

Resumen

En Odontología, la regeneración ósea y la osteointegración constituyen procesos fundamentales para el éxito de los implantes. La melatonina, hormona sintetizada principalmente por la glándula pineal, ha demostrado propiedades osteogénicas, antioxidantes, inmunomoduladoras y regenerativas, acelerando la diferenciación celular y estimulando la formación de colágeno y matriz ósea. Investigaciones previas señalan que su aplicación reduce el tiempo de diferenciación de preosteoblastos y promueve la cicatrización y angiogénesis en tejidos asociados a implantes dentales. Las células madre mesenquimales, por su capacidad de autorrenovación, proliferación y diferenciación, constituyen una herramienta valiosa en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa. En particular, las derivadas de la pulpa dentaria son accesibles y muestran un notable potencial osteogénico bajo condiciones de cultivo específicas. El presente proyecto tiene como finalidad estudiar la acción de la melatonina sobre células madre mesenquimales pulpares (CMMP) con el objetivo de inducir su diferenciación hacia el linaje osteoblástico.

Palabras clave: Melatonina, Células Madre, Osteointegración.

Summary

In Dentistry, bone regeneration and osseointegration are essential processes for the long-term success of dental implants. Melatonin, a hormone primarily synthesized by the pineal gland, has demonstrated osteogenic, antioxidant, immunomodulatory, and regenerative properties, accelerating cell differentiation and stimulating collagen and bone matrix formation. Previous research indicates that its application reduces preosteoblast differentiation time and promotes healing and angiogenesis in peri-implant tissues. Mesenchymal stem cells, due to their capacity for self-renewal, proliferation, and differentiation, represent a valuable tool in tissue engineering and regenerative medicine. In particular, dental pulp-derived mesenchymal stem cells are easily accessible and exhibit significant osteogenic potential under specific culture conditions. The aim of this project is to evaluate the action of melatonin on dental pulp mesenchymal stem cells (DP-MSCs) in order to induce their differentiation into the osteoblastic lineage, contributing to the development of innovative strategies in regenerative implant dentistry.

Keywords: Melatonin, Stem Cells, Osseointegration.

Asignatura Fisiología, Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología - Facultad de Odontología / UNLP - Calle 50 e/ Av. 1 y 115 La Plata (1900), Bs. As. Argentina - Financiamiento: Universidad Nacional de La Plata

Introducción

La rehabilitación implantológica contemporánea exige no sólo estabilidad mecánica primaria, sino también una adecuada integración biológica entre el implante y el tejido óseo circundante. La osteointegración -concepto introducido por Per-Ingvar Brånemark- se define como la conexión estructural y funcional directa entre el hueso vivo y la superficie del implante sometido a carga funcional. Este fenómeno depende de una compleja interacción entre células osteoprogenitoras, matriz extracelular, factores de crecimiento y señales moleculares. En este contexto, la medicina regenerativa ha incorporado herramientas provenientes de la biología molecular y la ingeniería tisular con el objetivo de optimizar la regeneración ósea periimplantaria[4]. Entre las estrategias emergentes, la modulación farmacológica de la diferenciación celular representa una alternativa promisoria. La melatonina, sintetizada principalmente por la glándula pineal y regulada por los ritmos circadianos, ha sido tradicionalmente estudiada por su papel en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Sin embargo, en las últimas décadas se ha demostrado su participación en múltiples procesos fisiológicos, incluyendo la regulación del metabolismo óseo. Diversos estudios experimentales evidencian que la melatonina estimula la proliferación y diferenciación osteoblástica, incrementa la expresión de marcadores como fosfatasa alcalina, osteocalcina y colágeno tipo I, y disminuye la actividad osteoclástica mediante mecanismos antioxidantes y antiinflamatorios[1]. Paralelamente, las células madre mesenquimales (CMM) constituyen un pilar fundamental en la ingeniería de tejidos. Estas células, caracterizadas por su capacidad de autorrenovación y diferenciación multipotencial, pueden derivar hacia linajes osteogénico, condrogénico y adipogénico bajo estímulos específicos. Las células madre mesenquimales derivadas de la pulpa dentaria (CMMP) presentan ventajas significativas: accesibilidad clínica, bajo nivel de invasividad en su obtención y elevada capacidad proliferativa. La melatonina ha demostrado actuar a través de receptores específicos de membrana (MT1 y MT2)[1], modulando vías intracelulares asociadas a la activación osteoblástica. Además, su potente capacidad antioxidante reduce el estrés oxidativo local, un factor determinante en la pérdida ósea periimplantaria. Desde una perspectiva fisiológica, la incorporación de melatonina como agente osteoinductor podría optimizar los tiempos de maduración celular y favorecer la formación de matriz mineralizada, mejorando así las condiciones biológicas para la osteointegración.

Objetivos

Objetivo General

Estudiar la acción de la melatonina sobre células madre mesenquimales pulpares con el fin de inducir su diferenciación hacia el linaje osteoblástico.

Objetivos específicos

- Establecer cultivos primarios de CMMP a partir de terceros molares retenidos.
- Caracterizar morfológica e inmunofenotípicamente las células aisladas.
- Evaluar la diferenciación osteoblástica bajo la acción de melatonina.
- Comparar los resultados con protocolos osteogénicos estándares.
- Analizar la expresión de marcadores específicos de diferenciación osteoblástica.

Materiales y Métodos

Se establecerán cultivos primarios de CMMP obtenidas mediante técnica de explante a partir de terceros molares retenidos, extraídos bajo consentimiento informado y protocolos bioéticos vigentes en el Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología Odontológica. Las células serán caracterizadas mediante:

- Microscopía de contraste de fases para evaluación morfológica.
- Microscopía electrónica para análisis ultraestructural.
- Citometría de flujo para determinación de marcadores de superficie mesenquimales[9].
- Ensayos de diferenciación osteogénica en presencia de melatonina.
- Tinciones histoquímicas específicas (Rojo de Alizarina y Von Kossa) para detección de depósitos de calcio.
- Análisis de marcadores osteoblásticos mediante técnicas de biología molecular.

El diseño experimental incluirá grupos control (protocolo osteogénico convencional) y grupos tratados con melatonina en distintas concentraciones, permitiendo evaluar su efecto dosis-dependiente.

Resultados Esperados e Impacto

Se espera optimizar un modelo experimental reproducible que permita caracterizar el efecto osteoinductor de la melatonina sobre CMMP. Asimismo, se proyecta establecer una línea celular diferenciada estable con potencial aplicación en estudios preclínicos.

Desde el punto de vista clínico, los hallazgos podrían contribuir al desarrollo de terapias adyuvantes en implantología oral, reduciendo tiempos de cicatrización y mejorando la calidad del hueso periimplantario. El impacto traslacional de este estudio radica en su potencial aplicación en protocolos regenerativos personalizados.

Adicionalmente, el proyecto favorece la formación de recursos humanos en biología molecular, fisiología celular e investigación odontológica, fortaleciendo la integración entre ciencias básicas y práctica clínica.

Conclusión

La presente investigación propone un enfoque innovador que integra biotecnología, fisiología celular y odontología regenerativa. El estudio sistemático de la melatonina como agente osteoinductor sobre células madre mesenquimales pulpares podría representar una estrategia terapéutica complementaria en implantología, optimizando los procesos de osteointegración y ampliando las posibilidades de la medicina regenerativa aplicada a la práctica odontológica[2-10].

Referencias

1. Reiter RJ, Tan DX, Rosales-Corral S, Manchester LC. The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. Mini Rev Med Chem. 2013;13(3):373-84.

2. Zhang L, Su P, Xu C, Chen C, Liang A, Du K, et al. Melatonin inhibits adipogenesis and enhances osteogenesis of human mesenchymal stem cells by suppressing PPARγ expression and enhancing RUNX2 expression. J Pineal Res. 2010;49(4):364-72.

3. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97(25):13625-30.

4. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Acta Orthop Scand. 1981;52(2):155-70.

5. Roth JA, Kim BG, Lin WL, Cho MI. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. J Biol Chem. 1999;274(31):22041-7.

6. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by Runx2. Adv Exp Med Biol. 2010;658:43-9.

7. Koyama H, Nakade O, Takada Y, Kaku T, Lau KH. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. J Bone Miner Res. 2002;17(7):1219-29.

8. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. Cytotherapy. 2006;8(4):315-7.

9. Gregory CA, Gunn WG, Peister A, Prockop DJ. An Alizarin Red-based assay of mineralization. Anal Biochem. 2004;329(1):77-84.

10. Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Muñoz F, Lopez-Peña M, Stephenson J, et al. Melatonin stimulates osteointegration of dental implants. J Pineal Res. 2008;45(2):174-9.