

Revisiones Bibliográficas:

**LA PARTICIPACIÓN DE LAS CÉLULAS-TRONCO EN LA REGENERACIÓN PERIODONTAL**

**Recibido para arbitraje: 23/06/2008**

**Aceptado para publicación: 04/08/2009**

- **Danielle do Nascimento BARBOSA** Cirurgiã-dentista pela Universidade Estadual da Paraíba
- **Ruthinéia Diógenes Alves Uchôa LINS** Dra., M.D, Ph.D. en Patología Oral. Profesora Titular de la Disciplina de Periodoncia / UEPB
- **Felipe Cavalcanti SAMPAIO** Cirurgião-dentista. pela Universidade Estadual da Paraíba
- **Gustavo Pina GODOY** Dr., M.D, Ph.D. en Patología Oral. Profesor Titular de la Disciplina de Patología Oral / UEPB
- **Manuel Antonio GORDÓN-NÚÑEZ** Dr., M.D, Ph.D. en Patología Oral. Alumno de Postdoctorado en Patología Oral, Programa de Becas Doctorales y Postdoctorales 2005-2010, IFARHU/SENACYT Panamá / UFRN, Brasil.
- **Patrícia Meira BENTO** Dra., M.D, Ph.D. en Patología Oral. Profesora Titular de la Disciplina de Radiología / UEPB

**Dirección para correspondencia:**

Danielle do Nascimento Barbosa. Rua Elizabeth Arruda, 168 Bodocongó , Campina Grande - Paraíba- Brasil CEP: 58108-190. e-mail: [dani\\_nbarbosa@yahoo.com.br](mailto:dani_nbarbosa@yahoo.com.br)  
Telefono: (55) 83 3333 4247/ 55 83 8812 4733

**RESUMEN**

La enfermedad periodontal causa destrucción de los tejidos periodontales, incluyendo el ligamento periodontal, el hueso alveolar y el cemento, siendo considerada la mayor causa de pérdida dentaria en adultos. Una vez dañado, el periodonto posee un limitado potencial de regeneración. La reconstrucción del complejo periodontal destruido por la periodontitis es la mayor meta de la terapia periodontal. Para eso varios tratamientos fueron propuestos, a pesar de basarse casi que completamente en la implantación de substitutos estructurales con pequeño o ningún potencial reparador. Los progresos recientes en la terapia con células-tronco y de nuevas técnicas basadas en la ingeniería tisular podrán ser utilizados en las prácticas regenerativas. Las células-tronco pueden ser encontradas en muchos tejidos dentarios adultos como pulpa y ligamento periodontal, y podrán ser utilizadas para regenerar los tejidos del complejo periodontal. La reciente identificación de células-tronco dentro del ligamento periodontal representa un desenvolvimiento significativo de nuevas terapéuticas clínicas direccionadas a la regeneración periodontal de manera previsible. Siendo así, este abordaje literario explora los conceptos contemporáneos a cerca de la biología de las células-tronco, los recientes progresos en la identificación de estas, su potencial regenerador y sus implicaciones clínicas.

**Palabras-clave:** células-tronco mesenquimales, ingeniería de tejidos, regeneración periodontal.

**ABSTRACT**

Periodontal diseases lead to the destruction of periodontal tissues, including periodontal ligament, cementum and alveolar bone, are a major cause of adult teeth loss. Once damaged, the periodontium has limited regeneration potential. The reconstruction of the complex destroyed by periodontitis is the periodontal therapy top barrier. Aiming this, many treatments were proposed, almost all of them based

on structural substitute implantation with less on no repairing potential. The recent progress on stem-cells therapy and tissue engineering based new technique will allow their use in regenerative practices. The stem-cells identification into the periodontal ligament and the scientific proofs of their applicability in periodontal complex regeneration on predictable methods represent the periodontics revolution, providing tissue reconstruction never found on any other technique satisfactorily. Thus, this literary approach explores the contemporary concepts concerning the biology of stem-cells, the recent progresses in their identification, regeneration potential and their clinical implications.

**Key-words:** mesenchymal stem cells, tissue engineering, periodontal regeneration.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales son consideradas la principal causa de pérdida de dientes, constituyendo un problema significativo de salud pública mundial (1). Se presentan como patologías de carácter infeccioso resultantes de la relación entre el potencial patogénico del biofilm dentario y la calidad de la respuesta inmunológica del organismo hospedero (2, 3). Comprometen la composición y la integridad de las estructuras periodontales, causando destrucción de la matriz de tejido conectivo, la pérdida del complejo fibroso y la reabsorción ósea, conduciendo frecuentemente a la pérdida del elemento dentario (4).

Una vez dañado, el periodonto posee una limitada capacidad para promover una regeneración, pudiendo esto ser observado hasta en las fases iniciales de la periodontitis (5). Establecida tal enfermedad, solo la intervención terapéutica podrá inducir la regeneración periodontal. Hasta hoy, la restauración del periodonto está basada en el uso de substitutos estructurales que, en general, buscan la regeneración del hueso alveolar perdido, incluyendo el uso de materiales autógenos (cortical ósea), alógenos (hueso desmineralizado) y aloplásticos (cerámicas, hidroxiapatita, polímeros y fibras de vidrio). El uso de esos agentes en la regeneración periodontal ha sido cuestionado debido a su efectividad clínica y estabilidad a largo plazo (6).

Considerando que la regeneración periodontal es esencialmente la reformulación del proceso de desarrollo, incluyendo morfogénesis, diferenciación celular y producción de matriz extracelular mineralizada, tal proceso sustenta o concepto de que algunas células mesenquimales permanecen dentro del ligamento periodontal y serían responsables por la hemostasia, sirviendo como fuente de células progenitoras, generadoras de cementoblastos, osteoblastos y fibroblastos a lo largo de la vida, y que en el momento de injuria al periodonto, estas células mesenquimales podrían ser inducidas a la diferenciación terminal para regenerar el tejido afectado (5).

Ocurrida la destrucción tisular, uno de los mayores obstáculos de la terapia periodontal es regenerar los tejidos afectados con su arquitectura y funciones originales (7). Innumerables técnicas clínicas han sido utilizadas por años como alternativa para alcanzar la regeneración periodontal, sin embargo, las medidas terapéuticas actuales son incapaces de promover la regeneración de modo deseado (8).

La complejidad del periodonto, aliada al hecho de que solo ciertos componentes son capaces de ser utilizados para obtenerse la regeneración torna la identificación de las células-tronco relevante no solo para comprender el proceso salud/enfermedad, como también para proyectar técnicas clínicas que lleven a una regeneración periodontal satisfactoria (9, 10).

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Células-tronco Mesenquimales

Células-tronco son genéricamente definidas como un grupo de células indiferenciadas, presentes en diversos tejidos, capaces de renovarse durante toda la vida de un individuo y diferenciarse en variadas linajes de células específicas (11, 12). Estas pueden ser divididas en dos categorías: embrionarias y

adultas. Las células-tronco embrionarias son derivadas de la masa celular (blastocito) durante el período embrionario, son consideradas pluripotentes o totipotentes por ser virtualmente capaces de formar cualquier tipo de célula del cuerpo (13). Debido a las cuestiones éticas envueltas y las dificultades de manipulación de estas células, gran énfasis ha sido dada a las células-tronco adultas (8).

A pesar de que las células-tronco postnatales posean un potencial de diferenciación restringido, si son comparadas con las embrionarias, estas aún poseen características básicas de las células-tronco, como la habilidad de auto renovación durante toda la vida del organismo, de generar un gran número de progenies y de diferenciación en diversos tipos de células especializadas (multipotentes) (11, 12, 13).

Muchos tejidos poseen poblaciones de células-tronco con capacidad de renovación después de sufrir traumas, enfermedades y envejecimiento, las cuales pueden estar presentes en el tejido o dentro de otros tejidos que sirven como reservorios de éstas (14). Diversos estudios relatan el suceso del uso de esas células en la regeneración de varios tejidos, incluyendo hueso (15), músculo, células del miocardio, células nerviosas (16), como también en el tratamiento de anomalías genéticas como la osteogénesis imperfecta, el mal de Parkinson y lesiones de la medula espinal (11, 17).

Friedenstein et al (1966) fueron los primeros a manipular células-tronco mesenquimales, cuando aislaron e identificaron unidades de fibroblastos formadores de colonias originarias de biopsias de medula ósea que poseían potencial de proliferación y diferenciación in vitro en varias linajes de células del estroma. La técnica más utilizada para separar e identificar estas células es la citometría de flujo (8). Estudios recientes demostraron que marcadores de superficie celular utilizados para identificar células hematopoyéticas también identificaron células-tronco mesenquimales (19).

Simmons y Torok (1991) identificaron antígenos de superficie de células progenitoras del estroma de la medula ósea, utilizando los anticuerpos STRO-1 y IgM, además identificaron una población de unidades formadoras de colonias con morfología similar a fibroblastos. Los autores verificaron que el referido antígeno de superficie no presentaba reacción en presencia de células hematopoyéticas. Además, ningún marcador de superficie demostró ser específico para células-tronco mesenquimales, por consiguiente son más empleados métodos de combinación de anticuerpos (8). Otros antígenos de superficie celular como CD146 / MUC-18, CD106, CD44, VCAM-1 y fosfatasa alcalina fueron utilizados con la misma finalidad (20, 21, 22, 23).

No obstante los anticuerpos STRO-1 y CD146 hayan mostrado resultados satisfactorios cuando son utilizados para aislar células con propiedades de clonogenicidad y potencial de diferenciación celular, Kramer et al (2004), en su estudio, afirman la posibilidad de que estas células representen apenas una población enriquecida de células-tronco que también contengan células progenitoras. Células precursoras o progenitoras son células intermediarias generadas por células-tronco antes de alcanzar el estado completo de diferenciación. Tales células son involucradas en la diferenciación de un tipo celular específico a lo largo de su desarrollo (8). Como consecuencia de esto, la identificación de un marcador específico de células-tronco con base genética y molecular, constituye una necesidad para obtener poblaciones puras de células-tronco (25).

### **Células-tronco em el ligamento periodontal**

El concepto de que las células-tronco podrían estar presentes en el ligamento periodontal fue propuesto por primera vez por Melcher (1976), el cual examinó tres poblaciones de células del periodonto (cementoblastos, fibroblastos y células del hueso alveolar), derivadas de una única población de células ancestrales y que estarían asociadas directamente a la regeneración periodontal. Desde entonces, la presencia de las células-tronco dentro del ligamento fue repetidamente referida en la literatura, sin embargo, poca evidencia científica fue proporcionada para confirmar este postulado (5).

La primera vez que las células-tronco fueron aisladas directamente del ligamento periodontal humano fue en los estudios de Seo et al (2004), que aislaron una población de células-tronco multipotente del ligamento periodontal de molares de humanos adultos, utilizando el mismo método adoptado para aislar

células-tronco de la médula ósea y de la pulpa de dientes, observando que esta presentaba características comunes a las de células-tronco mesenquimales, como el potencial de clonogenicidad, la alta tasa de proliferación celular y expresión positiva al marcador de células-tronco STRO-1 y al marcador perivascular CD-146. En el ensayo inmunohistoquímico y en los análisis Western y Northern blot, tales células expresaron positividad a la fosfatasa alcalina; a sialoproteína ósea, a osteocalcina y al factor de crecimiento transformante  $\beta$ -1. Después de ser trasplantadas en defectos óseos artificiales en molares de ratones, fueron realizadas evaluaciones histológicas pasadas 6 a 8 semanas, donde estas células se mostraron capaces de generar una fina camada de tejido similar al cemento, sobre una superficie con partículas de hidroxiapatita y trifosfato de calcio, juntamente con las fibras colágenas, que se asemejaban a fibras de Sharpey.

Trubiani et al (2005) aislaron y caracterizaron una población de células del ligamento periodontal in vitro. Sobre condiciones de crecimiento específicas, fueron realizados análisis con citometría de flujo y microscopía electrónica, siendo evidenciada la formación de células similares a fibroblastos. Además de eso las células del ligamento periodontal expresaron positividad a los marcadores CD29, CD44, CD166, CD105 y CD13, identificadas en células progenitoras del estroma de la médula ósea, indicando el ligamento periodontal como fuente de células progenitoras.

La mayor dificultad encontrada para la caracterización de las células-tronco del ligamento periodontal fue descubrir un marcador específico asociado al ligamento o al cemento (28). De ese modo, una alternativa para seleccionar estas células sería detectar la presencia de una proteína específica del cemento o del ligamento periodontal, por ejemplo la PLAP-1 (Proteína 1 asociada al ligamento periodontal) (29, 30).

Chen et al (2006) estudiaron la localización y la presencia de las células-tronco tanto en el ligamento periodontal saludable como en aquellos afectados por la enfermedad periodontal, utilizando metodología similar a la cultura de células de la médula ósea, y los marcadores STRO-1, CD-146 y CD-44 para identificar las células en el ligamento. Demostraron la presencia de estas células tanto en el periodonto saludable como en el afectado. Estas células fueron localizadas en regiones periféricas de vasos sanguíneos y agrupadas en pequeñas células en áreas extravasculares, se observó aún distribuciones más amplias de estas células en el ligamento afectado por la enfermedad periodontal.

En sus experimentos, Nagatomo et al (2006) evaluaron cuantitativamente las propiedades de las células-tronco del ligamento periodontal, utilizando una metodología similar a la de estudios previos, donde los marcadores utilizados fueron STRO-1, CD-105 y CD-166, mostrando, así, que de una población de 400 células, 30% presentaban potencial de replicación y eran capaces de formar unidades formadoras de colonia, entre estas, 30% exhibieron marcación positiva al STRO-1 y 20% se diferenciaban en adipocitos y 30% en osteoblastos. En la citometría de flujo, las células del ligamento periodontal expresaron positividad para los marcadores CD-105, CD-166 y STRO-1.

Seo et al (2005) analizaron el efecto de la criopreservación sobre las células-tronco adultas del ligamento periodontal, observando a través del marcador celular STRO-1, la presencia de estas células después de 3 a 6 meses de congelamiento de las piezas del ligamento periodontal en nitrógeno líquido. Adicionalmente evaluaron el potencial de diferenciación después de trasplante in vivo, pudiendo visualizar la formación de estructuras similares al cemento, a dentina, a fibras colágenas y al ligamento periodontal. Se observó que las tasas de proliferación de colonias representaban solo 40% de las descritas por estudios previos en poblaciones de células-tronco del ligamento periodontal.

En estudio reciente, Gay et al (2007) evaluaron la capacidad de diferenciación celular de las células-tronco del ligamento periodontal, utilizando el STRO-1 y la citometría de flujo para aislar las células, e identificar las condiciones de crecimiento específico para la diferenciación de osteoblastos, condroblastos y adipocitos, como relatado en estudios previos. Los cultivos de células-tronco de la médula ósea sirvieron como grupo control. De la muestra de células, 30% expresaron positividad al STRO-1. El potencial de diferenciación fue observado por 7 a 25 días, mostrando inducción osteogénica, condrogénica y adipogénica, comportándose de modo similar a las células del estroma de la médula y de

la pulpa dental. Además, el potencial mitótico de estas células fue evaluado en los periodos de 0h, 48h y 96h. Los resultados mostraron una diferencia estadística entre las dos poblaciones a las 96h, donde la población de células-tronco del ligamento periodontal case se duplicó, llevando en consideración que hasta las 48h no había diferencia significativa entre las dos poblaciones.

Sonoyama et al (2007) demostraron in vitro e in vivo, mediante analisis inmunohistoquímica y Western blot, la interrelación entre las células de la vaina epitelial de Hertwig y las células-tronco del ligamento periodontal. Induciendo la diferenciación de las células de la vaina a células mesenquimales cuando estaban en contacto con el factor de crecimiento transformante  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ), mostrando que estas fueron capaces de promover la osteogénesis y la cementogénesis cuando trasplantadas en ratones inmunocomprometidos.

### **Células-tronco en la regeneración periodontal**

El mayor obstáculo para conseguir la regeneración periodontal con modalidades de tratamiento convencionales reside en el hecho de que, después de la terapia, ocurre una intensa proliferación de los tejidos epiteliales dentro del defecto óseo, resultando en la formación de un epitelio juncional largo, impidiendo así la migración selectiva, la proliferación y la diferenciación de células derivadas del ligamento periodontal (6).

Desde una perspectiva biológica, para que ocurra la regeneración periodontal son necesarios varios factores, como la disponibilidad de un tipo específico de célula, capaz de inducir tal regeneración, en conjunto con un ambiente favorable para que ocurra la migración, adhesión, proliferación y diferenciación celular (8).

Langer y Vacanti (1993) propusieron la técnica de la ingeniería tisular como una alternativa para regenerar tejidos perdidos y restaurar diversos tejidos y órganos humanos. Esta técnica propone la reconstrucción natural del tejido dañado a través de tres elementos: membranas biocompatibles, moléculas señalizadoras (factores de crecimiento y diferenciación, genes) y células (35).

Con el desarrollo de estudios sobre los procesos moleculares asociados a la regeneración tisular, factores de crecimiento son utilizados en la superficie radicular con el intuito de facilitar la regeneración periodontal (4). La combinación de estos factores con el plasma rico en plaquetas demostró ser útil en la promoción de la regeneración periodontal (36).

Kawaguchi et al (2004) utilizaron células-tronco mesenquimales de la médula ósea combinadas a colágeno tipo I con el objetivo de analizar la regeneración periodontal en defectos experimentales clase III en canes. Transcurridas dos semanas de crecimiento in vitro, estas células fueron mezcladas a colágeno en gel (colágeno tipo I a 2%) y trasplantadas dentro de los defectos en las siguientes concentraciones: 2 x 10<sup>6</sup>, 5 x 10<sup>6</sup>, 1 x 10<sup>7</sup>, ó 2 x 10<sup>7</sup> células/ml. El grupo en que se aplicó solo el gel sirvió como control. Pasado un mes del trasplante los tejidos periodontales fueron analizados a través métodos histológicos y morfométricos, indicando que al comparar los grupos en que fue aplicada la combinación de células-tronco y colágeno en gel con el grupo control, ocurrió una regeneración significativa de los defectos óseos, con formación de cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar en los grupos sometidos a la combinación antes citada.

Hasegawa et al (2006) analizaron el comportamiento del transplante de células-tronco derivadas de la médula ósea en defectos óseos periodontales en canes. Las células fueron aisladas utilizando proteínas de fluorescencia verde (GFPs) y cultivadas in vitro, enseguida fueron mezcladas al colágeno tipo II a 2% y trasplantadas en defectos periodontales experimentales clase III. Después de este proceso, fueron localizadas por la GFPs y por el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) y a través de analisis inmunohistoquímica. Los resultados mostraron que, cuatro semanas después del transplante, los defectos periodontales estaban prácticamente regenerados.

Sonoyama et al (2006) investigaron una nueva población de células multipotentes presente en tejidos

dentales: las células-tronco aisladas de la papila apical de la raíz de dientes humanos (SCAP). Estas fueron aisladas y caracterizadas de modo similar a estudios anteriores, con citometría de flujo y selección inmunomagnética. Los cultivos fueron trasplantados en suínos con células-tronco del ligamento periodontal, donde fue demostrada la generación del complejo ligamento periodontal / raíz, capaz de dar soporte a una corona de porcelana. Los resultados se mostraron satisfactorios para la estrategia de la ingeniería tisular mediada por células-tronco.

Yamada et al (2006) utilizaron células-tronco mesenquimales de la crista ilíaca y plasma rico en plaquetas. Fue preparado un gel con el plasma y las células-tronco, el cual fue aplicado sobre las raíces previamente raspadas y alisadas, como también en el defecto óseo adyacente, utilizándose los siguientes criterios de evaluación: mudanzas en la profundidad de sondaje de la bolsa periodontal, aumento del nivel de inserción clínica, sangrado durante el sondaje y cantidad de pérdida ósea. Después del tratamiento con el gel de células-tronco y plasma, fue realizado un nuevo examen, verificándose que hubo reducción de 4 mm en el nivel de sondaje y ganancia de 4 mm de inserción clínica, además la movilidad y el sangrado desaparecieron. En el examen radiográfico se observó reducción del defecto óseo adyacente.

Donzelli et al (2007) obtuvieron células-tronco de la médula ósea de ratones, las cuales fueron cultivadas en matriz de colágeno (Gingostat) e inducidas a través de suplementos osteogénicos a diferenciarse en células óseas. La diferenciación celular y la deposición de calcio fueron analizadas a través de las técnicas de inmunohistoquímica, histoquímica, ensayo enzimático y análisis SEM-EDX. Se evaluó la degradación del biomaterial in vitro a través de la mensuración de la reducción de la masa después de incubación en cultivo de crecimiento medio. Los resultados mostraron que las células-tronco expresaron positivamente la osteopontina y la osteocalcina, además de ser observado el aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina. Adicionalmente, fue observado que estas células fueron capaces de inducir la osteogénesis. El biomaterial fue degradado en un periodo de 4 a 5 semanas, siendo este considerado un período corto, lo que limitaría su uso en la regeneración periodontal.

Ito et al. (2005) investigaron las propiedades histológicas y la resistencia mecánica del hueso desarrollado con células-tronco mesenquimales asociadas al plasma rico en plaquetas. Defectos óseos fueron criados artificialmente en mandíbulas de canes. Enseguida, llenaron los defectos con los siguientes materiales: plasma rico en plaquetas (grupo I), células-tronco mesenquimales y plasma (grupo II), hueso autógeno (grupo III), Bio-Oss (grupo IV) y ningún (grupo control). Los análisis fueron realizados dos, cuatro, ocho y doce semanas después de la implantación. Los resultados histológicos mostraron que los defectos óseos del grupo II, al ser comparados con los demás grupos, se presentaban completamente regenerados. Para evaluar la resistencia mecánica fue utilizado el teste de dureza Vickers donde se observó que el grupo de las células-tronco y plasma consiguió el mayor coeficiente en comparación a los demás materiales, lo que demuestra que este podrá ser utilizado en la regeneración de defectos óseos.

## DISCUSIÓN

Varios abordajes terapéuticos fueron desarrollados para promover el tratamiento de los defectos periodontales, entre estos: la regeneración tisular guiada, el uso de factores de crecimiento y las proteínas derivadas del esmalte. Sin embargo, ninguna de esas terapias fue capaz de lograr una regeneración periodontal de manera satisfactoria (6, 43).

Diversos estudios, que objetivaban determinar la población de células del ligamento periodontal responsable por la regeneración de los tejidos periodontales de soporte mostraron resultados controversiales (35,38, 37, 44, 45).

A pesar de que Lang, Schüller y Nolden (1998) observaron la formación de cemento nuevo y hueso alveolar en defectos periodontales tratados con células del hueso alveolar y de que Kawaguchi et al (2004) hayan sugerido que las células del tejido óseo serían precursoras de la regeneración periodontal, Nakahara et al (2004) y Hasegawa et al (2005) mostraron resultados superiores en la formación de

cemento en defectos periodontales tratados con cultivos de células del ligamento periodontal, sugiriendo que el contacto directo de células progenitoras del ligamento periodontal con la dentina radicular induciría in vivo la diferenciación de los cementoblastos.

A través de estudios, varios autores concordaron con la información de que después de trasplante en defectos óseos ocurre un incremento del número de células y esta proliferación es mantenida con el transcurrir del tiempo formando una mayor cantidad de hueso alveolar, si es comparada a la cantidad formada solo por células de la superficie ósea, confirmando la hipótesis de que las células mesenquimales indiferenciadas o pluripotentes, residentes en el ligamento periodontal, son las únicas capaces de diferenciarse en los diversos tipos celulares que componen el periodonto (3, 35, 37, 38, 44, 45, 46).

Pittenger et al (1999) relatan la utilización de diversos anticuerpos y la combinación de estos en la rutina de identificación, caracterización y cultivo de células-tronco mesenquimales. Varios autores son unánimes al afirmar que los anticuerpos STRO-1 y CD146, presentaron resultados satisfactorios en el aislamiento de células-tronco mesenquimales (3, 7, 20, 21, 22, 23, 31, 47). A pesar de Seo et al (2004) admiten que debido a la heterogeneidad de estos marcadores específicos para células-tronco mesenquimales, es posible que las células-tronco del ligamento periodontal, utilizadas en sus experimentos, representen una población de células-tronco heterogénea, enriquecida con células progenitoras indiferenciadas tornando necesaria la identificación de marcadores específicos para las células-tronco del ligamento periodontal, desarrollados a través de técnicas moleculares y genéticas. Una alternativa viable para seleccionar estas células sería detectar la presencia de una proteína específica del cemento o del ligamento periodontal, por ejemplo la PLAP-1 (29, 30).

De forma similar, Gay et al (2007) demostraron suceso en el aislamiento y la caracterización de las células progenitoras indiferenciadas del ligamento periodontal, considerando estas como el único reservatorio de células-tronco obtenido de procedimientos mínimamente invasivos, representando una alternativa viable para la obtención de un elevado número de células útiles en procedimientos regenerativos sin la necesidad de aspiración de la médula ósea o de métodos más invasivos que representen mayores incómodos y riesgos para el paciente.

Además, Gronthos et al (2006) obtuvieron resultados similares al aislar de células-tronco del ligamento periodontal de ovinos, demostrando la presencia de una subpoblación de células-tronco mesenquimales, equivalente a las células del ligamento periodontal de humanos, presentando, por lo tanto, suceso en la formación de tejidos periodontales al ser trasplantadas a animales inmunocomprometidos. Estas células proporcionarían medios útiles para la implantación de las células-tronco en defectos periodontales producidos en animales de mayor porte antes de proceder con la intención de utilizarlas en humanos.

Varios autores (3, 7, 32, 50) son unánimes al afirmar que las células-tronco del ligamento periodontal son capaces de formar depósitos de tejidos mineralizados cuando son trasplantadas, in vivo, juntamente con cristales de hidroxiapatita y fosfato de calcio de forma similar a los resultados encontrados en los estudios realizados con otras células-tronco mesenquimales, de la pulpa de dientes adultos e en dientes deciduos (21, 49, 50).

Bartold, Shi y Gronthos (2006) concuerdan con diversos autores que estudiaron las células-tronco del ligamento periodontal y marcadores asociados al hueso (3, 7, 27), afirmando que tales células poseen propiedades similares a los osteoblastos, tanto en la respuesta a los marcadores óseos como también en la formación de nódulos mineralizados. Complementando, Seo et al (2004) relatan que estas células pueden además ser inducidas por factores de crecimiento óseo, como la paratormona (PTH), factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF), proteína morfogénica ósea 2 (BMP-2) y factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1 (TGF-  $\beta$ 1).

Según relatos recientes de Benatti et al (2007), las células-tronco del ligamento periodontal probablemente poseen todas las habilidades de las células-tronco mesenquimales, incluyendo la auto renovación y la diferenciación a diversos fenotipos, siendo responsables por la regeneración parcial,

obtenida en procedimientos previos a la regeneración propiamente dicha.

Células-tronco del ligamento periodontal humano mantienen su capacidad regenerativa mismo después del proceso de criopreservación del tejido (32, 35, 37). Tal hecho revístese de gran relevancia en lo que concierne al uso de tejidos provenientes de bancos de almacenamiento, principalmente frente a la gama de regiones donadoras posibles, como terceros molares, dientes deciduos, supernumerarios, que hasta la actualidad son meramente despresadas en la clínica odontológica.

Recientes avances en los estudios de los factores de crecimiento y de polímeros biodegradables marcaron la fase de suceso de la ingeniería tisular de tejidos como el cartílago y el hueso, pudiendo el periodonto ser considerado candidato para este procedimiento (24, 35, 38, 37, 41, 44).

Lang, Schüler y Nolden (1998) verificaron que las células del ligamento periodontal pueden ser trasplantadas, dentro de defectos periodontales, sin efectos inmunológicos o inflamatorios adversos.

Varios autores concuerdan que el uso de la matriz de colágeno asociada a células-tronco, en variadas concentraciones, implantadas en defectos intra óseos clase III, imposibles de regenerar con cualquier otra técnica de regeneración periodontal convencional, fue capaz de regenerar completamente tales defectos (24, 35, 37, 38, 41, 44).

Por otro lado, Donzelli et al (2004) relataron que la matriz de colágeno Gingistat utilizada en el proceso de regeneración presenta un período de degradación corto, lo que tornaría limitada su aplicabilidad en las terapias regenerativas periodontales.

La utilización de células-tronco asociadas al plasma rico en plaquetas en el tratamiento de defectos óseos promovió una reducción significativa de éstos defectos, lo que pudo ser constatado clínicamente a través de la reducción de la profundidad del sondeo (40, 42).

Ito et al (2005) evaluaron de forma comparativa, las características histológicas y la resistencia mecánica del hueso formado a partir de la combinación anteriormente citada y a partir de otros materiales como el Bio-Oss y el hueso autógeno, observando que el hueso regenerado por la combinación presentó superioridad a los demás, demostrando su potencial de utilización en procesos regenerativos periodontales.

Sonoyama et al (2006) relataron el uso de células-tronco mesenquimales aisladas de la papila apical da raíz de dientes humanos y trasplantadas a suínos, con células-tronco del ligamento periodontal, donde quedó demostrada la formación de una "bio-raíz" (complejo periodontal / raíz) capaz de dar sustentación a una corona de porcelana. Estos resultados muestran que es satisfactoria la combinación de las técnicas de ingeniería tisular con materiales capaces de promover la reestructuración del elemento dental.

Zeichner-David et al (2003) y Sonoyama et al (2007) afirmaron que las células de la vaina epitelial de Hertwig son capaces de inducir la diferenciación de las células-tronco mesenquimales del ligamento periodontal a odontoblastos, cementoblastos y células precursoras de cementoblastos. En contacto con el factor de crecimiento transformante  $\beta 1$  (TGF  $\beta 1$ ), las células antes citadas también son capaces de inducir la osteogénesis e a producción de matriz mineralizada similar al cemento acelular, sugiriendo ser bastante viable su utilización en la terapia de reconstrucción periodontal.

### CONSIDERACIONES FINALES

Considerando que los estudios recientes apuntan el uso de células-tronco en el proceso de regeneración tisular, el desarrollo de la biología molecular y celular, así como de la ingeniería tisular con aplicación en los tejidos periodontales, han generado un impacto significativo en la terapéutica de la enfermedad periodontal, superando las limitaciones inherentes a la terapia periodontal regenerativa convencional. En el contexto de la odontología regenerativa, varios tejidos mantienen sus reservas de células-tronco, tales



como: la pulpa dental, los dientes deciduos exfoliados y el ligamento periodontal. Los mecanismos moleculares que regulan las funciones de esas células-tronco están siendo elucidados, tornándose necesarias nuevas investigaciones para delinear el uso de las mismas en la terapia periodontal, requiriendo la colaboración de diferentes áreas de conocimiento científico, incluyendo la nanotecnología, la ingeniería de materiales y la farmacología. El resultado de la identificación de la población de células-tronco presente en el ligamento periodontal y de su habilidad en alcanzar la regeneración in vivo es bastante significativo para el desarrollo de nuevas técnicas basadas en la ingeniería tisular, técnicas estas que puedan promover la regeneración de los tejidos periodontales perdidos por la enfermedad periodontal.

El desarrollo de las nuevas terapéuticas periodontales regenerativas que utilizan células-tronco asociadas o no a otros componentes, como el plasma rico en plaquetas, la matriz de colágeno e los factores de crecimiento de tipo TGF-  $\beta$ 1 y BMPs posibilitarían, de hecho, la aplicación clínica en el sentido de promover la construcción tisular y la disponibilidad de ligamento periodontal en dientes como terceros molares podría representar un abastecimiento de células-tronco, posibilitando el uso de estas en la regeneración de otras partes del cuerpo.

## REFERENCIAS

1. ELTER J.R., OFFENBACHER S., TOOLE J. F., BECK J. D. Relationship of periodontal disease and edentulism to stroke/TIA. *J Dent Res* 2003; 82(2):998-1001.
2. CARRANZA F. A., NEWMAN M. G. *Periodontia Clínica*. 10 ed. São Paulo: Elseiver, 2007.
3. SEO BM, MIURA M, GRONTHOS S, BARTOLD PM, BATOULI S, BRAHIM J, YOUNG M, ROBEY PG, WANG CY, SHI S Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364(9429):149-155.
4. BENATTI BB, SILVÉRIO KG, CASATI MZ, SALLUM EA, NOCITI FH JR Physiological features of periodontal regeneration and approaches for periodontal tissue engineering utilizing periodontal ligament cells. *J Biosci Bioeng*.2007; 103(1): 1-6.
5. BARTOLD PM, SHI S, GRONTHOS S. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontol* 2000 2006; 40(4):164-172.
6. BARTOLD PM, MCCULLOCH CAG, NARAYANAN AS, PITARU S Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol* 2000 2000; 24(3):253-269.
7. GAY IC, CHEN S, MACDOUGALL M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthod Craniofac Res*. 2007; 10(3):149-60.
8. IVANOVSKI S., et al. Stem cells in the periodontal ligament. *Oral Dis* 2006; 12(4): 358-63.
9. BARTOLD P.M. Periodontal tissues in health and disease: introduction. *Periodontol* 2000 2006;40(4):7-10.
10. NAKAHARA T. A review of new developments in tissue engineering therapy for periodontitis. *Dent Clin North Am* 2006; 50(2):265-76.
11. FORTIER L.A. Stem cells: classification, controversies and clinical applications. *Vet Surg* 2005;

- 34(2): 415-423.
12. ROBEY, P. G.; BIANCO P. The use of adult stem cells in rebuilding the human face. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137(7):961-72.
  13. SMITH A. A glossary for stem-cell biology. *Nature* 2006; 441:1060.
  14. NAKAHARA T, IDE Y Tooth regeneration: implications for the use of bioengineered organs in first-wave organ replacement. *Hum Cell.* 2007; 20(3):63-70.
  15. MANKANI MH, KUZNETSOV SA, FOWLER B, KINGMAN A, ROBEY PG In vivo bone formation by human bone marrow stromal cells: effect of carrier particle size and shape. *Biotechnol Bioeng* 2001; 72(1): 96-107.
  16. YOUNG HE, DUPLAA C, KATZ R, THOMPSON T, HAWKINS KC, BOEV AN, HENSON NL, HEATON M, SOOD R, ASHLEY D, STOUT C, MORGAN JH 3RD, UCHAKIN PN, RIMANDO M, LONG GF, THOMAS C, YOON JI, PARK JE, HUNT DJ, WALSH NM, DAVIS JC, LIGHTNER JE, HUTCHINGS AM, MURPHY ML, BOSWELL E, MCABEE JA, GRAY BM, PISKURICH J, BLAKE L, COLLINS JA, MOREAU C, HIXSON D, BOWYER FP 3RD, BLACK AC JR. Adult-derived stem cells and their potential for use in tissue repair and molecular medicine. *J. Cell. Mol. Med.* 2005; 9(3):753-769.
  17. MEZEY E, KEY S, VOGELSANG G, SZALAYOVA I, LANGE GD, CRAIN B Transplanted bone marrow generates new neurons human brains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(3):1364-1369.
  18. FRIEDENSTEIN A. J. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol* 1976; 47: 327-359.
  19. MAJUMDAR MK, KEANE-MOORE M, BUYANER D, HARDY WB, MOORMAN MA, MCINTOSH KR, MOSCA JD. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci* 2003; 10(2) 228-241.
  20. SIMMONS P. J., TOROK-STORB B. Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1. *Blood*, 1991; 78(1):55-62.
  21. GRONTHOS S, MANKANI M, BRAHIM J, GEHRON 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):13625-13630.
  22. GRONTHOS S, BRAHIM J, LI W, FISHER LW, CHERMAN N, BOYDE A, DENBESTEN P, ROBEY PG, SHI S Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res* 2002; 81(8):531-535.
  23. GRONTHOS S, ZANNETTINO AC, HAY SJ, SHI S, GRAVES SE, KORTESIDIS A, SIMMONS PJ Molecular and cellular characterization of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci* 2003; 116(9):1827-1835.
  24. KRAMER PR, NARES S, KRAMER SF, GROGAN D, KAISER M. Mesenchymal stem cells acquire characteristics of cells in the periodontal ligament in vitro. *J Dent Res* 2004;83(1):27-34.
  25. BIANCO P, RIMINUCCI M, GRONTHOS S, GEHRON ROBEY PG Bone marrow stromal stem cells: nature, biology and potential applications. *Stem Cells* 2001;19 (3): 180-192.
  26. MELCHER A. H. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976; 47(5):256-60.
  27. NAGATOMO K, KOMAKI M, SEKIYA I, SAKAGUCHI Y, NOGUCHI K, ODA S, MUNETA T, ISHIKAWA

- I. Stem cell properties of human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2006; 41(4):303-10.
28. TRUBIANI O, DI PRIMIO R, TRAINI T, PIZZICANNELLA J, SCARANO A, PIATTELLI A, CAPUTI S Morphological and cytofluorometric analysis of adult mesenchymal stem cells expanded ex vivo from periodontal ligament. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2005; 18(2): 213-221.
29. ARZATE H, OLSEN SW, PAGE RC, GOAN AM, NARAYANAN AS. Production of a monoclonal antibody to an attachment protein derived from human cementum. *FASEB J* 1992; 6 (11):2990-2996.
30. YAMADA S, OZAWA Y, TOMOEDA M, MATOBA R, MATSUBARA K, MURAKAMI S. Regulation of PLAP-1 expression in periodontal ligament cell. *J Dent Res.* 2006; 85(5):447- 451.
31. CHEN SC, MARINO V, GRONTHOS S, BARTOLD PM. Location of putative stem cells in human periodontal ligament. *J Periodontal Res.* 2006; 41(6):547-53.
32. SEO B, MIURA M, SONOYAMA W, COPPE C, STANYON R, SHI S Recovery of stem cells from cryopreserved periodontal ligament. *J Dent Res*, 2005; 84(10):907-912.
33. SONOYAMA W, SEO BM, YAMAZA T, SHI S. Human Hertwig's epithelial root sheath cells play crucial roles in cementum formation. *J Dent Res.* 2007; 86(7):594-9.
34. LANGER R., VACANTI J. P. Tissue engineering. *Science* 1993; 260(5110):920-6.
35. NAKAHARA T, NAKAMURA T, KOBAYASHI E, KUREMOTO K, MATSUNO T, TABATA Y, ETO K, SHIMIZU Y. In situ tissue engineering of periodontal tissues by seeding with periodontal ligament-derived cells. *Tissue Eng* 2004; 10(3-4):537-44.
36. FRECHETTE J. P., MARTINEAU I., GAGNON G. Platelet-rich plasmas: growth factor content and roles in wound healing. *J Dent Res* 2005; 84(5): 434-9.
37. KAWAGUCHI H, HIRACHI A, HASEGAWA N, IWATA T, HAMAGUCHI H, SHIBA H, TAKATA T, KATO Y, KURIHARA H Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. *J Periodontol* 2004; 75(9):1281-7.
38. HASEGAWA N, KAWAGUCHI H, HIRACHI A, TAKEDA K, MIZUNO N, NISHIMURA M, KOIKE C, TSUJI K, IBA H, KATO Y, KURIHARA H. Behavior of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in periodontal defects. *J Periodontol* 2006; 77(6):1003-7.
39. SONOYAMA W, LIU Y, FANG D, YAMAZA T, SEO BM, ZHANG C, LIU H, GRONTHOS S, WANG CY, SHI S, WANG S. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS ONE.* 2006; 20(1):79-82.
40. YAMADA Y, UEDA M, HIBI H, BABA S. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006; 26(4):363-9.
41. DONZELLI E, SALVADÈ A, MIMO P, VIGANÒ M, MORRONE M, PAPAGNA R, CARINI F, ZAOPO A, MILOSO M, BALDONI M, TREDICI G. Mesenchymal stem cells cultured on a collagen scaffold: In vitro osteogenic differentiation. *Arch Oral Biol.* 2007; 52 (1):64-73.

42. ITO K, YAMADA Y, NAGASAKA T, BABA S, UEDA M. Osteogenic potential of injectable tissue-engineered bone: a comparison among autogenous bone, bone substitute (Bio-oss), platelet-rich plasma, and tissue-engineered bone with respect to their mechanical properties and histological findings. *J Biomed Mater Res A*. 2005; 73(1): 63-72.
43. GREZESIK W. J., NARAYANAN A. S. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(6):474-484.
44. LANG H, SCHÜLER N, NOLDEN R. Attachment formation following replantation of cultured cells into periodontal defects--a study in minipigs. *J Dent Res*. 1998; 77(2):393-405.
45. MCCULLOCH C.A. Progenitor cell populations in the periodontal ligament of mice. *Anat Rec* 1985; 211(3): 258-262.
46. LEKIC PC, RAJSHANKAR D, CHEN H, TENENBAUM H, MCCULLOCH CA. Transplantation of labeled periodontal ligament cells promotes regeneration of alveolar bone. *Anat. Rec.*, 2001 262:193-202.
47. PITTENGER MF, MACKAY AM, BECK SC, JAISWAL RK, DOUGLAS R, MOSCA JD, MOORMAN MA, SIMONETTI DW, CRAIG S, MARSHAK DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284(5411):143-7.
48. GRONTHOS S, MROZIK K, SHI S, BARTOLD PM. Ovine periodontal ligament stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Calcif Tissue Int*. 2006; 79(5):310-7.
49. MIURA M, 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; 100(10):5807-5812.
50. SHI S, BARTOLD PM, MIURA M, SEO BM, ROBEY PG, GRONTHOS S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res* 2005; 8(3):191-9.
51. ZEICHNER-DAVID M. Role of Hertwig's epithelial root sheath cells in tooth root development. *Dev Dyn*. 2003; 228(4):651-63.