

# ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LA REGENERACIÓN *IN VIVO* DEL COMPLEJO PULPO-DENTINARIO HUMANO CON INGENIERÍA TISULAR AUTÓLOGA

## HISTOLOGICAL ANALYSIS OF *IN VITRO* REGENERATION OF HUMAN DENTAL PULP COMPLEX WITH AUTOLOGOUS TISSULAR ENGINEERING

Ricardo Manuel Romero Márquez<sup>1</sup>

RESUMEN

Desde hace mucho tiempo, se pensaba en la Regeneración del Complejo pulpo dentinario como objetivo final de la Reparación Radicular Dentaria y que garantice un correcta formación de tejido sano y funcional. El presente estudio realiza un análisis histológico de la formación de un nuevo complejo pulpo dentinario, usando el plasma rico en plaquetas, tejido pulpar y fibrina, todos autólogos, como componentes del tratamiento con Ingeniería Tisular pulpar. Mediante análisis cualitativos y cuantitativos se demostró que el grado de regeneración de los tejidos pulpares de los grupos experimentales y control fueron similares y que esta técnica nos abre el camino para la regeneración de toda una pieza dentaria en el futuro.

**Palabras clave:** Complejo pulpo-dentinario, Ingeniería Tisular, Regeneración

ABSTRACT

A long time ago, dental pulp-complex regeneration was our main objective in radicular reparation which could guarantee an appropriate growth of healthy and functional tissue. The present study is about a histological assay of a new dental-pulp complex formation using platelet rich plasm, pulpar tissue and fibrina, all autologous, as components of dental pulp tissular engineering treatment. Qualitative and quantitative assays about the dentin pulp-complex regeneration grade on experimental and control groups were made and showed similar results. This technique opens a pathway for regenerate a complete tooth in the future.

**Key words:** Dentin pulp-complex, Tissue Engineering, Regeneration.

### INTRODUCCIÓN

En este nuevo milenio, las técnicas de biología molecular y celular están cada vez más desarrolladas y con la secuencia completa del Código Genético se puede inducir la formación de nuevos órganos *in vitro* para luego colocarlos a pacientes que han perdido su función por falta de los mismos.

Actualmente se realiza Ingeniería Tisular, con ayuda de medios para el estudio de tejidos cada vez más sofisticados<sup>1</sup>.

Se realiza la Regeneración Tisular mediante técnicas de Ingeniería Tisular<sup>2</sup> y la Biogenética, en las cuales se utilizan células precursoras, matriz de colágeno, y reguladores (factores de crecimiento, proteínas morfogenéticas y adhesinas)<sup>3,4,5,6,7,8</sup> y actualmente la transferencia de genes o geneterapia, mediante el microenvío con una pistola hacia el núcleo celular. En el campo de la Odontología hay muchísimos avances con estas técnicas de Ingeniería Tisular en Cirugía Bucal y Maxilofacial, Periodoncia y Endodoncia, entre otros<sup>2,3,5</sup>.

El presente estudio busca abrir las puertas hacia la investigación de la regeneración del complejo pulpo-dentinario, para lograr un nuevo tejido que sea similar al original, y no reemplazarlo con materiales sintéticos o logrando una repa-

ración, que es un fenómeno natural que restaura la continuidad de un tejido sin respetar su arquitectura original ni su función<sup>1,6,8,11</sup>

### OBJETIVOS

Analizar histológicamente la reacción tisular a nivel coronal, medio y apical, que se produce en las piezas dentarias experimentales por la implantación del material autólogo humano con intervalos de 7, 14 y 21 días. Realizar el análisis histológico comparativo del tejido formado que se produce por la implantación del material autólogo pulpar humano a nivel coronal, medio y apical en las piezas dentarias experimentales y las piezas dentarias control.

### HIPÓTESIS

La implantación del material autólogo humano estimula la formación de un nuevo tejido pulpo dentinario. La presencia del nuevo tejido pulpo-dentinario es similar al original.

### MATERIAL Y MÉTODOS

La muestra del estudio es el tejido del complejo pulpo dentinario observado a 40X en 10 campos a nivel coronal, 10 campos a nivel medio y 10 campos a nivel apical, de cada premolar de los pacientes jóvenes de 11-12 años, de sexo femenino, lo cual constituyó el total de la muestra, siendo 3

<sup>1</sup> Docente Colaborador del Departamento de Ciencias Básicas Estomatológicas, Curso de Patología General y del Sistema Estomatognático. Facultad de Odontología. UNMSM.

de experimentación y 3 de control. Recursos humanos: Tesista investigador, Médico Patólogo, Laboratorista Clínico, Laboratorista de Anatomía Patológica, Técnico en Micro-Fotografía Clínica. Ambientes: Consultorio Dental y Laboratorio Clínico del Centro Médico Moderno. Departamento de Ciencias Básicas. Sección Histopatología, Facultad de Odontología – UNMSM. Departamento de Anatomía Patológica. Sección Microfotografía, Hospital Edgardo Rebagliati Martins. Materiales para examen clínico: Espejo bucal. Pinza para algodón. Explorador estandar. Algodón y alcohol yodado. Gorros, mascarillas y guantes descartables. Materiales para preparación de cavidades y exéresis pulpar : Turbina dental de alta velocidad marca NSK PANAIR. Fresas de diamantes: redonda, cilíndrica. Tiranervios marca Maillefer. Limas K-flex serie 15-40. Suero fisiológico. Jeringas descartables. Materiales para tratamiento de regeneración pulpar: Plasma rico en plaquetas autólogo. Fibrina autóloga. Tejido pulpar autólogo. Materiales para sellado de la cavidad : Cemento de hidroxido de calcio. Cemento de policarboxylato de zinc.

## RESULTADOS

Los resultados del presente trabajo de investigación nos confirma que las propiedades del Plasma Rico en Proteínas (PRP) que contiene a las Proteínas Morfogenéticas, los Factores de Crecimiento (FCT) y las Adhesinas, como componentes del PRP se pueden utilizar para la regeneración del complejo-pulpo dentinario. Los resultados encontrados nos demuestran que la concentración de estas BMP inducen la neoformación de tejidos como odontoblastos, fibroblastos, neovasos, células mesenquimales y tejido colágeno. Cada BMP produce la formación de un elemento tisular diferente, como lo demuestran los datos cualitativos, que se demuestra con la presencia de cada elemento y su comparación numérica con los casos control en el estudio cuantitativo. La cicatrización inicial de los casos experimentales fue más rápida que los casos control, por la presencia concentrada y en conjunto de las BMP y los Factores de Crecimiento que inducen la formación más rápida de tejido colágeno y neovasos, a pesar de no utilizar una BMP concentrada en especial como la BMP-2 que forma tejido colágeno y la BMP-4 que forma matriz dentinaria . Es por eso, según mi análisis, al colocar todas las BMP y los FC juntos, y al ser sometidos al factor in vivo del paciente, responden en una manera conjunta organizada, y no se presentaron formaciones de osteodentina o fibrinización del tejido pulpar que se hallaron en otros estudios tempranos. Las células mesenquimales presentes demuestran que estas son las encargadas de proliferar y de histodiferenciarse, como pueden ser odontoblastos, fibroblastos, células sanguíneas y seguir su diferenciación en una célula madura similar a la original. Sin embargo, se encontró una menor cantidad en la zona

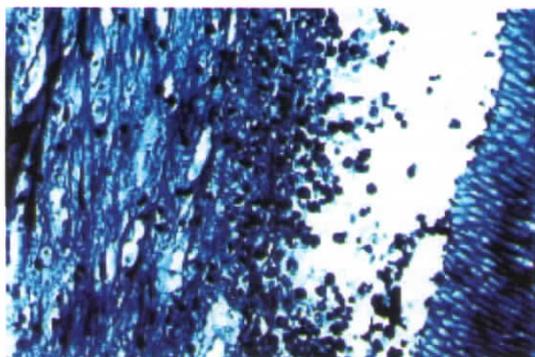
media de las piezas dentarias experimentales en los diferentes días debido probablemente a que la zona media se encuentra lejos a las zonas de mayor inducción que son la unión pulpo-dentinaria coronal y la unión pulpo-periodontal apical. Se requieren otras investigaciones para corroborar y ampliar estos hallazgos. El número elevado de neovasos en los casos experimentales y el promedio disminuido en el de control, nos demuestran la presencia del Factor de Crecimiento Angiogénico que siguió su actividad todavía a los 21 días. Los análisis histológicos comparativos nos demuestran que no hubieron diferencias significativas, probadas estadísticamente, en las cantidades y la presencia de los elementos tisulares realizadas con el proceso de Ingeniería Tisular autóloga.

## CONCLUSIONES

Se concluye que el grado de regeneración del nuevo complejo pulpo-dentinario humano con el uso de ingeniería tisular autóloga es similar al original de los casos control y se demuestran la hipótesis general y las específicas. Se observó una tendencia marcada hacia la regeneración del tejido pulpo-dentinario.

Hay una velocidad de regeneración acelerada en los tejidos implantados con ingeniería tisular autóloga. Asimismo, se encontró una aumentada velocidad de formación de colágeno. Se evidenció la presencia abundante de odontoblastos, fibroblastos pulpares, fibras colágenas y vasos neoformados en los tejidos implantados con ingeniería tisular autóloga. Se formó matriz dentinaria a medida que pasaba el tiempo.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre el tejido pulpar original y el tejido regenerado mediante análisis cualitativos y cuantitativos. Se concluye que el grado de regeneración del nuevo complejo pulpo-dentinario humano con el uso de ingeniería tisular autóloga es similar al original de los casos control y se demuestran la hipótesis general. Estadísticamente se verifica la hipótesis nula, de no haber diferencias significativas entre los casos experimentales y los de control. Se concluye también que la implantación del material autólogo humano induce la formación de un nuevo tejido pulpo dentinario, demostrándose la primera hipótesis específica. También se demuestra que la presencia del nuevo tejido pulpo-dentinario es similar al original, demostrándose la segunda hipótesis específica. Espero que con la ayuda de la codificación y secuencia completa del Código Genético y las técnicas de Geneterapia, Farmacogenética, Nanotecnología y la Clonación para células embrionarias, se puedan vislumbrar nuevas técnicas y así poder cumplir con los fines científicos para el bien de la humanidad.

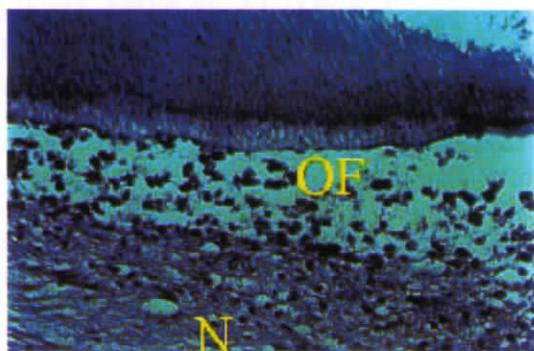


**Fig. 1**

Corte longitudinal de premolar superior permanente joven, implantación del material autólogo a los 7 días.

A este mayor aumento, histológicamente se observa la pulpa dental con abundante tejido colágeno formándose, y presencia de abundantes neovasos de tipo capilares (n). Hay la presencia de abundantes fibroblastos. Los odontoblastos (of) están en proceso de organización por la presencia de células mesenquimales y sustancia fundamental. Hay abundantes elementos celulares inflamatorios: monocitos, histiocitos, linfocitos y células plasmáticas.

Aumento 40x, hematoxilina-eosina.

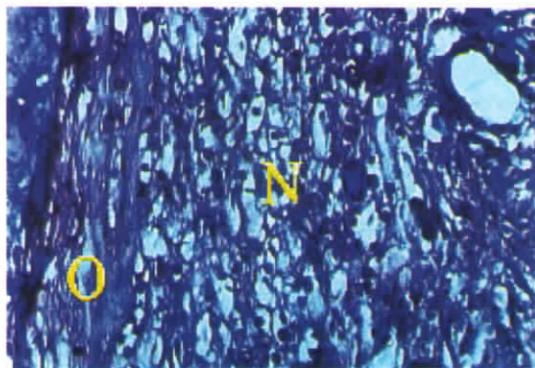


**Fig. 3**

Corte longitudinal de premolar superior permanente joven. Implantación del material autólogo a los 21 días.

Histológicamente se observa la presencia de abundantes odontoblastos (o). Por debajo de esta capa se observan capilares neoformados (n) y se continúa por una capa hiperémica abundante de tejido colágeno de ácido hialurónico. Hay la presencia de abundantes fibroblastos y escasos elementos celulares inflamatorios: monocitos, histiocitos, linfocitos y células plasmáticas.

Aumento 40x, hematoxilina-eosina.

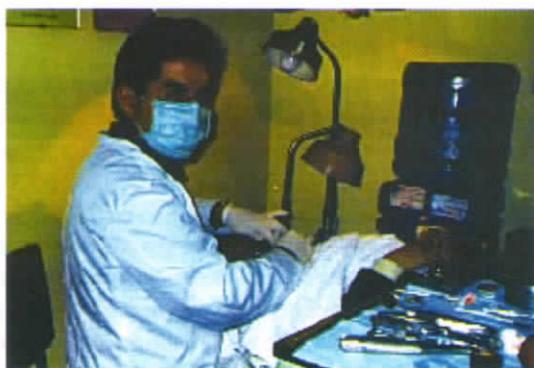


**Fig. 2**

Corte longitudinal de premolar superior permanente joven. Implantación del material autólogo a los 14 días.

Histológicamente se observa el tejido colágeno (c), presencia de neovasos (n) y abundantes odontoblastos.

Aumento 40x, tricrómico de masson.



**Fig. 4**

Procedimiento en la etapa clínica se colocan los materiales autólogos para obtener una respuesta tisular mediante la ingeniería tisular.



**Fig. 5**

En la foto se observa como se obtiene el prp autólogo con la ayuda de una pipeta después de centrifugar la sangre.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bohl KS; Shon J; Rutherford B; Mooney DJ. Role of synthetic extracellular matrix in development of engineered dental pulp. Department of Chemical Engineering, University of Michigan, USA. *J Biomater Sci Polym Ed*, 9(7):749-64 1998.
2. Hollinger-JO; Winn-SR. Tissue engineering of bone in the craniofacial complex. Division of Plastic and Reconstructive Surgery, Oregon Health Sciences University, USA. *Ann-N-Y-Acad-Sci*. 1999 Jun 18; 875: 379-85 .
3. Jepsen S; Albers HK; Fleiner B; Tucker M; Rueger D. Recombinant human osteogenic protein-1 induces dentin formation: an experimental study in miniature swine. Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Japan. *J Endod*, 42(10-11):378-82 1997 Jun.
4. Langer,R, Vacanti, JP. Tissue engineering. *Science* 1993, 260, 920-926.
5. Magloire H; Joffre A; Bleicher F. An in vitro model of human dental pulp repair. Laboratoire du Developpement des Tissus Dentaires, E.A. 1892, Faculté d'odontologie, France. *J Dent Res* 75(12): 1971-1978, December, 1996.
6. Mooney DJ y col. 1996 . Engineering dental pulp-like tissue in vitro. Department of Biologic & Materials Sciences, University of Michigan, USA. *Biotechnol Prog*, 12(6):865-8 1996 Nov-Dec .
7. Nakashima M; Toyono T; Murakami T; Akamine A . Transforming growth factor-beta superfamily members expressed in rat incisor pulp. Department of Operative Dentistry and Endodontology, Faculty of Dentistry, Kyushu University, Fukuoka, Japan. *Arch Oral Biol*, 43(9):745-51 1998 Sep .
8. Panagakos FS. Transformation and preliminary characterization of primary human pulp cells. Department of Prosthodontics and Biomaterials, New Jersey Dental School, USA. *J Endod*, 1998 Mar, 24:3, 171-5.  
Ranly DM. Pulpotomy therapy in primary teeth : new modalities for old rationales. *Pedtr Dent* 1994; 16(6):403-409.
9. Roberts-Clark, DJ ; AJ Smith. Angiogenic growth factors in human dentine matrix . *Archives of Oral Biology*, 45 (11) :1013-1016 , 2001.
10. Sloan AJ; Rutherford RB; Smith AJ. Stimulation of the rat dentine-pulp complex by bone morphogenetic protein-7 in vitro. School of Dentistry,

Dirección del autor: ricrom13@hotmail.com / r050105@ummsm.edu.pe