

APICOFORMACIÓN EN DIENTES PERMANENTES JÓVENES

JORGE FERNÁNDEZ MONJES

BEATRÍZ MARÍA MARESCA

EDUARDO JAVIER FERNÁNDEZ MONJES

Docentes de grado y posgrado de la Universidad Kennedy

Docentes de posgrado de la Carrera de Especialización en Endodoncia del Ateneo Argentino de Odontología.

RESUMEN

La Endodoncia Regenerativa desarrolla técnicas basadas en la ingeniería de tejidos para reponer tejidos perdidos. Con el desarrollo del conocimiento actual de la biología molecular, la microbiología y la genética entre otras disciplinas, estamos en condiciones de introducirnos en el conocimiento de las cascadas de señales intracelulares desencadenadas por los sistemas complejos autoorganizados en sus procesos de autoreparación. Esto nos permite definir los pasos que debemos efectuar para la regeneración ad integrum de los tejidos que conforman el sistema de inserción dental.

PALABRAS CLAVE Regeneración de tejidos - Células mesenquimáticas indiferenciadas - Factores de crecimiento - Matriz extracelular

ABSTRACT

Regenerative Endodontics developed based on tissue engineering techniques to replace lost tissues. With the development of the current knowledge of molecular biology, microbiology and genetics among other disciplines, we are able to introduce us to the knowledge of the intracellular signaling cascades triggered by self-organizing complex systems in their process of self-healing. This allows us to define the steps that must make for regeneration ad integrum of the tissues that make up the system of dental insertion.

KEYWORDS Endodontics Regenerative - Stem cells - Growth factors - Scaffold

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el Comité Permanente de Endodoncia Regenerativa de la Asociación Americana de Endodoncia preconizó la regeneración de los tejidos que conforman el sistema de inserción dental en dientes permanentes jóvenes con ápices abiertos.

Banch y Trope (1) recomiendan el uso de la técnica de desinfección del conducto radicular mediante lavajes con hipoclorito de sodio de alta concentración y pasta triantibiótica (metronidazol, ciprofloxacina y minociclina). El sellado del conducto radicular se realiza a nivel del cuello del diente con un material que libera iones de calcio. Esto logra, al cabo de unos meses, la disminución del diámetro del foramen apical con la aposición de tejido duro en las paredes del mismo 1-2.

Algunos autores (2) sostienen que las células mesenquimáticas indiferenciadas, presentes en el tejido conectivo invaginado en el interior del conducto radicular, constituyen un nuevo tejido pulpar.

Maisto (3) utilizó una pasta alcalina compuesta por yodoformo e hidróxido de calcio en partes iguales en volumen para obturación de conductos radiculares de dientes permanentes jóvenes con ápices abiertos con diagnóstico de necrosis pulpar. Dicha pasta obtura totalmente el conducto y es reemplazada con una obturación definitiva, cuando se completa la apicoformación del foramen con cemento dental 3-4.

Está comprobada por Fernández Monjes y Maresca (5) la penetración de fluido intersticial a través del foramen apical, con diferentes valores de presión expresados en milímetros de mercurio, según el grado de inflamación de los tejidos periapicales. Podemos inferir que, a través de dicho fluido, se vehiculizan los iones de calcio que llegan a la zona apical y modulan la respuesta del tejido conectivo periapical.

En el comienzo de la práctica endodóntica predominó el conocimiento empírico-práctico de “el cómo”

sobre “el porqué” de las técnicas empleadas. Con el desarrollo del conocimiento actual de la biología molecular, la microbiología y la genética, entre otras disciplinas, estamos en condiciones de introducirnos en el conocimiento de las cascadas de señales intracelulares desencadenadas por los sistemas complejos autoorganizados en sus procesos de autoreparación. Dicho conocimiento permitió dejar de lado antiguos mitos de la clínica endodóntica y constituir las bases de un nuevo paradigma o modelo teórico que sustenta las modernas técnicas endodónticas regenerativas.

La regeneración del complejo funcional dentinopulpar no se puede lograr por medio del tratamiento endodóntico convencional. Sin embargo, con el advenimiento de la medicina regenerativa es posible lograrlo en los tejidos del sistema de inserción dental, e incluso la pulpa misma, basándonos en los principios de la ingeniería de tejidos, que tiene como objetivo el desarrollo de nuevos tejidos mediante el uso de células madres, una matriz tridimensional y factores de crecimiento.

REGENERACIÓN DE TEJIDOS

Las células madres indiferenciadas juegan un rol fundamental en la regeneración de los tejidos y en la capacidad de autoreparación del organismo ya que le permite conformar estructuras biológicas complejas muy alejadas de las generadas por el clínico.

Para Prigogine *“la organización de la naturaleza sólo puede mantenerse mediante una autoorganización, y los sistemas biológicos forman productos complejos con precisión, eficacia y velocidad, muy superiores a los que podemos producir mecánicamente”* (6).

En la pulpa dental y en el periodonto se encuentran presentes células madre (SCs) multipotenciales adultas con cierto grado de diferenciación. Las mismas pueden proliferar o migrar.

Estas células tienen la capacidad de dividirse asimétricamente a través de la mitosis, dando lugar a dos células hijas, una de las cuales tiene las mismas propiedades que la célula original (autorenovación) y la otra adquiere la capacidad de diferenciarse en distintos tipos celulares (diferenciación), si las condiciones del microambiente le son favorables. Debemos recordar que las bacterias las destruyen, los inmunosupresores las borran, los anticancerígenos detienen su migración y los esteroides facilitan su proliferación. La dentina condicionada con altas concentraciones

de hipoclorito de sodio (5,25 %) es altamente negativa para la adhesión, supervivencia y diferenciación de las SCs (7-8-9).

En la región periapical coexisten dos líneas de células madres, las hematopoyéticas (HSCs Hematopoietic Stem Cells) que derivan de la médula ósea, y las ecto-mesenquimáticas (MSCs Mesenchymal Stem Cells) que derivan del mesodermo embrionario.

Las primeras son precursoras de los “clastos”, es decir, monocitos-macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, línea linfocítica y osteoclastos. Las segundas son capaces de diferenciarse en “blastos” que incluyen, entre otras, a células del estroma, adipocitos y osteoblastos. La respuesta celular a los mediadores inflamatorios y factores tróficos va a ser diferente según el linaje al cual pertenezca el tipo celular.

El nicho de células madres en el microambiente óseo incluye una alta concentración de iones de Calcio (Ca^{+2}) extracelular. Las células responden a las concentraciones de iones de Calcio a través de 7 dominios transmembrana, que abarca un receptor sensible al calcio (CaR).

El principal mecanismo en la potenciación de la reparación de heridas son las señales paracrinas de las células madres. Ellas presentan en el mecanismo reparativo un efecto similar a la utilización de las células mismas. Esto cambia el paradigma, centrado en la diferenciación celular, a una visión en donde las SCs pueden ser terapéuticas. Incluso si no son implantadas ni se diferencian en células específicas dentro de un tejido.

Estas señales paracrinas o factores de inducción están constituidos por factores de crecimiento (*Transforming Growth Factors*) como el TGF- β y los BMP-2 y 4, y los factores de transcripción (*Nuclear Factor Activator*) como el NF- κ B (Activador central del TNF), RANK y OPG (Receptor señuelo homólogo al RANK-L).

Muchos de los factores paracrinos pueden agruparse en cuatro familias principales sobre la base de sus estructuras: la familia de los Factores de Crecimiento Fibroblástico (FGF), la familia Hedgehog, la familia Wingless (Wnt) y la superfamilia de Crecimiento Transformante-beta (TGF- β) 10.

Los FGF están asociados con a varias funciones del desarrollo, incluida la angiogénesis, la formación del mesodermo y extensión del axón.

La familia Hedgehog es expresada en el cartílago y es importante en el crecimiento óseo postnatal y en el diente en desarrollo.

Los miembros de la superfamilia TGF- β , que incluye a las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), regulan algunas de las más importantes interacciones del desarrollo, como la división celular y la formación de la matriz extracelular.

Las glucoproteínas Wnt son una familia de moléculas de señalización que participan en múltiples eventos de desarrollo durante la embriogénesis y en la homeostasis de los tejidos adultos. En la *Drosophila melanogaster* las células apoptóticas expresan el “secretory factor wingless” y puede directamente estimular la proliferación celular. Wnt5a es importante en las señales de diferenciación de las células madres y en la respuesta inflamatoria de las células inmunes. Además se ha demostrado que es esencial en el desarrollo del diente y en la diferenciación de los odontoblastos (11).

Los factores de crecimiento mantienen la supervivencia celular y actúan como factores de vida y estímulo a la migración, diferenciación y apoptosis, controlando el ciclo celular. Los factores de transcripción, al ser activados, adquieren la capacidad de regular la expresión génica en el núcleo celular, encendiendo o apagando diversos genes.

Los efectos de las señales parácrinas de las células madres pueden dividirse en tróficos, inmunomoduladores, quimiotácticos y antireparativos (cicatriz).

Los efectos tróficos involucran todas aquellas funciones vinculadas con la nutrición, desarrollo y mantenimiento de la vida celular y hacen referencia al medio ambiente. Pueden dividirse en efectos antiapoptóticos, de apoyo (estimulando la mitosis, proliferación y diferenciación de las SCs) y angiogénicos.

En la morfogénesis de los tejidos debemos tener en cuenta dos importantes propiedades. La inducción y la especificidad genética.

La inducción llama a jugar a diferentes grupos de genes en las células que responden. En los tejidos existen dos modos principales de interacción inductiva: la interacción instructiva y la interacción permisiva.

En la interacción instructiva es necesaria una señal de la célula inductora para iniciar la expresión de un gen en la célula que responde. Sin la primera, la segunda no es capaz de diferenciarse en un determi-

nado sentido. Ejemplo de ello es lo que sucede en el folículo dental entre la papila dental y el órgano del esmalte.

En la interacción permisiva el tejido que responde contiene todos los potenciales para expresarse y solamente necesita un ambiente o un sustrato sólido para desarrollarse y permitir la expresión de lo que ya ha sido determinado genéticamente. La matriz extracelular adquiere así una importancia fundamental, ya que sus moléculas como el colágeno, laminina y fibronectina, proporcionan un soporte estructural para que las células migren.

La segunda propiedad en la interacción de los tejidos es la especificidad genética de la inducción. Mientras se instruye a un tejido, de modo tal que active cierto grupo de genes, solamente puede cumplir con esas instrucciones cuando el código genético de sus células lo permite.

REPARACIÓN ENDODÓNTICA POR REGENERACIÓN

En la lesión periradicular, consecuencia de una necrosis pulpar, la regeneración *ad integrum* del cemento dental, periodonto y cortical alveolar puede lograrse mediante la inducción de células del estroma por estimulación de las células madre del nicho periapical. Previamente deben cumplirse una serie de requisitos esenciales como ausencia de infección, ausencia de todo elemento extraño y nocivo, resolución del proceso inflamatorio, presencia de factores de crecimiento y factores de transcripción, factores tróficos que condicionen el microambiente local y una matriz que de soporte estructural y permita el crecimiento celular. (Figura 1)

1. Ausencia de infección

Las bacterias destruyen las células madres. Está ampliamente demostrada la existencia de microorganismos en la región periapical, que incluso pueden alcanzar a otros órganos de la economía. Nair denominó Actinomycosis Apical a la serie de signos y síntomas causados por la presencia de *Actinomyces* en la región apical. Con lo cual se destruye el concepto de granuloma apical sólido de Harndt (12).

2. Ausencia de elementos extraños

La persistencia de algunas pocas colonias microbianas, o algún otro elemento extraño y nocivo como un biomaterial de obturación de conductos de primera generación no reabsorbible, desencadena la etapa defensiva-irritativa con sobreexpresión del Factor de

Crecimiento Transformante-beta (TGF- β). Esta superfamilia la integran factores fibroblásticos y proteínas morfogénicas óseas que generan fibrosis en el periodonto y osteocondensación en la cortical alveolar.

Para Maisto y Maresca (3) el Cierre Biológico del Ápice Radicular con formación de osteocemento sólo podrá obtenerse al cabo de un tiempo de realizado el tratamiento, si dicho ápice queda libre de todo elemento extraño y nocivo.

3. Resolución de la Inflamación

Para lograr la regeneración *ad integrum* es indispensable disminuir el estrés oxidativo de los tejidos involucrados en la lesión periradicular y alcanzar la resolución de la inflamación, que es una respuesta activa. Al comienzo de la inflamación aguda destinada a neutralizar el antígeno, se pone en marcha un "programa de resolución" activo y controlado que involucra la producción local de mensajeros intracelulares, especializados en la apoptosis y fagocitosis celular. El conocimiento de este sendero de señales permite influir y controlar la respuesta inflamatoria (13).

La producción por parte de las células del Inhibidor de Metaloproteinasas (Tissue Inhibitor of Metaloproteinasas o TIMP's) y de la Secreción Leucocitaria Inhibidor de Peptidasas (Secretory Leukocyte Peptidasa Inhibidor o SLPI) impiden que se continúe destruyendo la matriz extracelular del tejido periodontal. El aumento en la producción de OPG (Osteoprotegerin), factor señuelo del RANK-L (Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand), induce a la apoptosis de los osteoclastos y a la estimulación de los osteoblastos en la cortical ósea.

La resolución de la inflamación está impulsada principalmente por el retiro del estímulo inicial, el decremento de los mediadores proinflamatorios involucrados en atraer células inflamatorias a la lesión y el retiro de éstas y de cualquier resto celular remanente. Esto permite que la reparación final ocurra. Pero también actúa como una fuerza activa que conduce al "switch" del macrófago, que apaga la inflamación en curso y promueve la reparación.

4. Factores de crecimiento y factores de transcripción

Constituyen las señales de inducción instructivas para la morfogénesis de los tejidos, indispensables para la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular.

El reconocimiento de células apoptóticas por parte del macrófago produce potentes reacciones antiinflamatorias y antiinmunogénicas, y la estimulación de factores de crecimiento para las células del tejido. También disminuye el Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) y aumenta entre otras la Interleucina-10 (IL-10), que estimula la producción de TGF- β . Este último aumenta enérgicamente en los tejidos, cuando la mayoría de los tipos celulares tropiezan con células apoptóticas.

5. Factores tróficos

Poseen funciones vinculadas a la nutrición, desarrollo y mantenimiento de la vida de un tejido, condicionando el microambiente. En los tejidos duros del sistema de inserción dental, el ion Calcio (Ca^{+2}) interviene en la apoptosis del osteoclasto y en la estimulación del osteoblasto a través del sistema RANK-OPG-RANK-L. Además, el osteoclasto responde a las concentraciones de iones de Calcio a través de un receptor sensible al Calcio (CaR), cuando aumenta su concentración en el medio extracelular entra en apoptosis.

6. Matriz extracelular (scaffold)

La matriz extracelular genera la inducción permisiva o soporte estructural a las células involucradas en la regeneración del tejido afectado, para dirigir el crecimiento celular y facilitar la formación de las células y tejidos adyacentes. Puede estar conformada por moléculas de colágeno, laminina, fibronectina, ácido hialurónico o proteoglicanos. También puede ser artificial, constituida por membranas tridimensionales elaboradas con biomateriales.

La matriz debe reunir los siguientes requisitos: ser biocompatible y completamente reabsorbible o bio-reabsorbible. Luego de la degradación del sustrato biomaterial, debe quedar, en el lugar, un tejido totalmente normal. Además debe ser plástica para adaptarse con facilidad a las formas estructurales. Debe proporcionar un soporte mecánico para mantener un espacio para el tejido en formación y permitir una correcta distribución y flujo de células. La interacción superficial matriz-células debe permitir el crecimiento y mantener la función de las células diferenciadas y cuando se requiera, debe inducir el crecimiento de los tipos celulares deseados provenientes del tejido circundante. En el caso de estar constituida por biomateriales, debe ser fácilmente esterilizable (14-15).

CONCLUSIÓN

Habíamos dicho anteriormente que una propiedad

importante en la generación de nuevos tejidos vitales es la especificidad genética de la inducción. Por lo tanto, en los casos clínicos de dientes permanentes jóvenes con diagnóstico de necrosis pulpar, las HSCs y MSCs que se encuentran en el nicho periapical de células madre, no están diferenciadas para producir odontoblastos y no pueden regenerar dentina ni tejido pulpar 1- 2.

En dientes permanentes jóvenes con ápice abierto y diagnóstico de necrosis pulpar, el alargamiento y engrosamiento de la raíz mediante un tejido duro similar al cemento dental, sólo puede lograrse mediante la inducción de las células mesenquimáticas indiferenciadas del ligamento periodontal.

Para regenerar tejido pulpar es necesario utilizar células madre pluripotentes inducidas (Induced Pluripotent Stem – IPS), derivadas artificialmente de una célula diana que inicialmente no era pluripotencial. Generalmente se utiliza como diana una célula adulta diferenciada, procedente de un tejido, sobre el que se induce la expresión de varios genes exógenos como *Otc4*, *Sox2*, *c-Myc* y *Klf4*, capaces de desdiferenciarla. Es una técnica compleja que conlleva riesgos importantes y es difícil de implementar en la clínica de todos los días.

La reparación apical constituye el éxito de la endodoncia. Esto puede lograrse con o sin obturación del conducto radicular, pero la solución debe ser *susten-*

table. Por eso se debe obturar y mantener el sistema libre de microorganismos o materiales biológicos que se degraden.

En la técnica descrita por Banch y Trope (1) destinada a la apicoformación de dientes permanentes jóvenes, al rellenar el conducto con una matriz de fibrina y sellar el conducto a nivel del cuello del diente, se facilita la penetración de tejido conectivo periapical hasta dicha zona, con el riesgo cierto de la necrosis de los nuevos tejidos invaginados, por falta de vascularización. La vasculogénesis (formación de nuevos vasos) o la angiogénesis (formación de vasos a partir de los ya existentes) difícilmente se realice hasta el extremo cervical del conducto partiendo desde la zona periapical, en razón de la estrechez, longitud y condiciones de viabilidad del mismo. (Figura 2)

En la técnica de Maisto (3) de apicoformación con pasta alcalina, esta última conforma una matriz que limita la penetración profunda del tejido conectivo periapical. Esto limita la formación de cemento dental en la zona del foramen. Luego del cierre del mismo se realiza la obturación convencional del conducto radicular. (Figura 3)

La endodoncia no es únicamente la instrumentación y obturación del conducto radicular, como tampoco lo es sólo la reparación de la región apical. Lo primero sin lo segundo no constituiría un éxito y lo segundo sin lo primero, sería un éxito efímero.

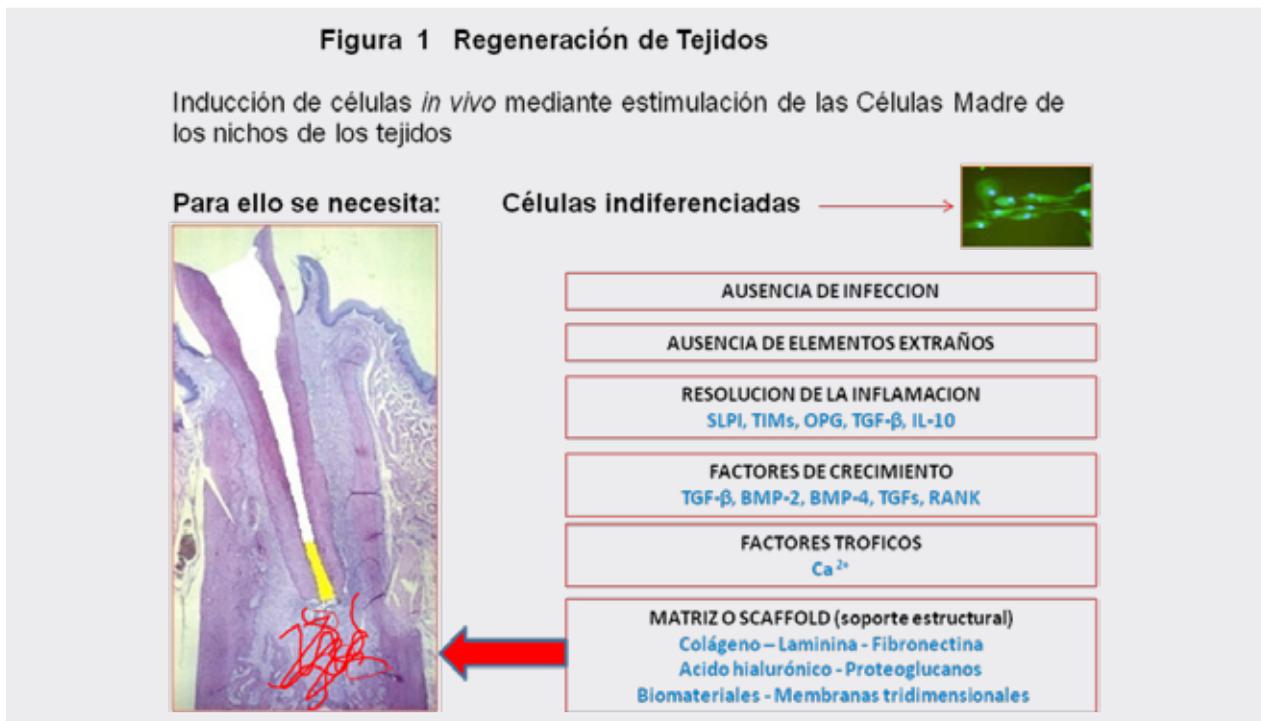
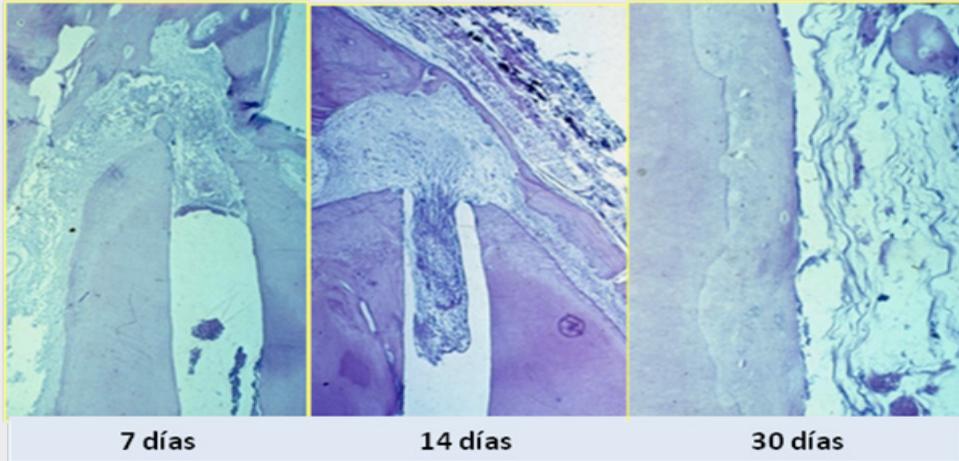


Figura 2
En un conducto vacío el periodonto se invagina



Microfotografía del conducto mesial del primer molar de rata

Figura 3
Formación de tejido duro apoyado en una matriz artificial



Microfotografía del conducto mesial del primer molar de rata

BIBLIOGRAFIA

- 1- BANCH F, TROPE M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod*;30:196-200 2004
- 2- BECERRA P, RICUCCI D, LOGHIN S., GIBBS JL, AND LIN LM. Histologic Study of a Human Immature Permanent Premolar with Chronic Apical Abscess after Revascularization/ Revitalization. *J Endod* 40:133-139 2014.
- 3- MAISTO OA, MARESCA BM, CAPURRO MA. Endodoncia. 1ª ed. Buenos Aires. Mundi. 1967
- 4- MAISTO OA, HOLLAND R, SOUZA V, MARESCA BM, NERY MJ. Acción y velocidad de reabsorción de distintos materiales de obturación de conductos radiculares en el tejido conectivo periapical. *Rev Asoc Odontol Argent*. 69(1):7-17 1981
- 5- MARESCA B et Al. Determinación de presión del fluido intersticial ápicoperiapical en humanos. *Revista de la Asociación Odontológica Argentina* Oct/Dic 1992
- 6- PRIGOGINE I. La fin des certitudes. 1ª ed. París. Odile Jacob. 1996.
- 7- DAVID E MARTIN, JOSE FLAVIO A DE ALMEIDA, MICHAEL A HENRY, ZIN Z KITAINING, CHISTINE E SCMIDT, FABRICIO B TEIXEIRA, ANIBAL DIOGENES. Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Sem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. *J Endod* 40:51-55 2014.
- 8- DONAL J KLEIER, ROBERT E AVERBACH, OMID MEHDIPOUR. The Sodium Hypochlorite Accident: Experience of Diplomate of the American Board of Endodontics. *J Endod* 34(11):1346-1350 2008
- 9- BONNIE ROTAMOZO, SHAH ROKN SHABAHANG, NEAL JOHNSON, RAVDOLFO M APRECIO, MAHMOUD TORABINEJAD. Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate Enterococcus Faecalis. *J Endod* 36(3):520-523 2010
- 10- GILBERT SCOTT F. Developmental biology. 7ª ed. Massachusetts. Sinaver associates. Inc Sunderland. Cap 6 2001
- 11- WENXI HE, ZHIHUA WANG, ZEYUAN Z, YAQUING ZHOU, YAQING ZHANG, QINGLIN ZHU, KEWEN WEI, YUAN LIN, PAUL R COOPER, ANTHONY J SMITH, QING YU. Lipopolysaccharide Enhances Wnt5a Expression through Toll-like Receptor 4, Myeloid Differentiating Factor 88, Phosphatidylinositol 3-OH Kinase/AKT and Nuclear Factor Kappa B Pathways in Human Dental Pulp Stem Cells. *J Endod* 40:69-75 2014
- 12- NAIR. PNR, Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med*;15:348-381 2004
- 13- HENSON PM. Dampening Inflammation. *Nature Immunology* 6,1179-1181 2005
- 14- CHAIGNAUD BE, LANGER R, VACANTE J, 1ª ed. Syntetic Biodegradable Polymers Scaffold. Boston Ed Birkhauser 1997
- 15- RAMIREZ CHG. Matrices y biomateriales en ingeniería de tejidos. Cap VI – Medicina Regenerativa y stem cells. Pablo Argibay. 1ª ed. Buenos Aires. Ed. Universidad Nacional de Quilmes. 2005

Jorge Fernández Monjes. E-mail: jfmonjes@gmail.com