

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
Pulpa dental de premolares	2
1. Células que conforman la pulpa	4
Células troncales	5
1. Clasificación de las células troncales de acuerdo al potencial de diferenciación	6
2. Células troncales mesenquimales	8
Técnicas de obtención pulpar	11
Técnicas de cultivo celular	13
1. Método de explante	16
Aislamiento, caracterización y potencial de diferenciación celular	16
Aplicación clínica de las células troncales de pulpa dental	17
HIPÓTESIS	20
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
MATERIAL Y MÉTODOS	23
DISEÑO DEL ESTUDIO	23
VARIABLES Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
POBLACIÓN DE ESTUDIO	24

1. Criterios de inclusión	24
2. Criterios de exclusión	24
3. Criterios de eliminación	24
4. Tamaño de la muestra	24
METODOLOGÍA	25
1. Recolección y manejo de los órganos dentarios	25
1.1. Procedimiento para la obtención del órgano dentario	25
2. Prueba piloto	26
2.1. Procedimiento para la obtención de la pulpa dental	26
2.1.1. Grupo 1 (Corte longitudinal)	26
2.1.2. Grupo 2 (Corte transversal)	26
3. Obtención de las células	27
3.1. Método de explante	27
4. Prueba experimental	28
4.1. Procedimiento para la obtención de la pulpa dental	28
4.1.1. Grupo 1 (Corte longitudinal)	28
4.1.2. Grupo 2 (Corte transversal)	28
4.2. Procedimiento para la obtención de células pulpares	29
4.2.1. Método de explante	29
4.3. Tripsinización	30
4.4. Cultivo celular	31
4.5. Criopreservación	31
4.6. Descongelación	31
4.7 Estimación de la eficiencia de obtención de células	32
4.8. Caracterización de las células troncales obtenidas	33
4.8.1. Clonogenicidad	33
4.8.2. Multipotencia	33
4.8.3. Tinción de las placas de cultivo celular para clonogenicidad	34
4.8.4. Tinción de las placas de cultivo celular para multipotencia	35
4.8.5. Tinción de Rojo Oleoso para lípidos sobre células en placa	36

4.8.6. Tinción de Rojo de Alizarina S para hueso sobre células en placa	36
4.8.7. Caracterización de marcadores de superficie celular mediante citometría de flujo	36
5. Manejo de los sujetos de estudio	37
6. Métodos de medición y estandarización	37
7. Aspectos éticos	37
8. Equipo	38
RESULTADOS	39
Prueba piloto	39
1. Rendimiento de las técnicas con base en el peso pulpar	39
Resultados de la prueba experimental	43
1. Rendimiento de las técnicas con base en el peso pulpar	43
2. Análisis de la eficiencia de la obtención de la siembra de la pulpa dental	45
3. Análisis cualitativo de la eficiencia de la obtención de la pulpa dental	46
4. Efecto del tipo de corte sobre la eficacia de obtención pulpar	46
5. Clonogenicidad	49
6. Multipotencia	52
7. Citometría de flujo	53
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

RESUMEN

En el área de la salud el objetivo ha sido desarrollar estrategias que regeneren tejidos y órganos lesionados, anómalos, muertos, degenerados o perdidos por diversas causas. Es por ello que la investigación de las células troncales muestra una amplia perspectiva hacia la aplicación clínica. Debido a la facilidad de acceso de la pulpa dental a partir de la cual se obtienen células troncales, se considera candidata ideal para la investigación en áreas médicas de ingeniería de tejidos. El objetivo de este trabajo consiste en comparar la técnica de corte transversal contra la longitudinal para la obtención de células troncales de la pulpa dental. Además se realizaron pruebas de clonogenicidad, multipotencia y citometría de flujo. Para ello la muestra se obtuvo de pacientes entre 12 y 18 años que acudieron a la Clínica de la Maestría de Odontología Infantil (CMOI) y Cirugía Bucal de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán (FOUADY) durante el periodo agosto 2017 - junio 2018.

Este estudio fue experimental, longitudinal y prospectivo. El tamaño de la muestra fue intencionada, no probabilística. Se estudiaron 24 pulpas de premolares divididos en dos grupos: 1. Corte longitudinal 41.7% (n=10) y 2. Corte transversal 58.3% (n=14), de las cuales se comparó el rendimiento valorado mediante el peso pulpar (7.0 mg). No se encontró diferencia significativa entre los pesos obtenidos por cada técnica de corte ($p=0.472$); es decir, que el rendimiento (valorado mediante el peso pulpar) del corte transversal fue similar al del longitudinal. Se obtuvo proliferación celular a partir de las últimas 6 pulpas del grupo de corte transversal (42.9%) a las que se les realizaron pruebas de clonogenicidad, multipotencia y citometría de flujo para CD90-CD73 ($0.14\% \pm 0.01\%$) y CD90-CD105 ($0.08\% \pm 0.01\%$).

Con base en las pruebas realizadas a las 6 pulpas podemos considerar que la técnica de corte transversal pudiera ser la más viable para la obtención de células troncales. Sin embargo, se considera necesario realizar más pruebas en condiciones diferentes.