

## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PROLIFERATIVA Y PERFIL PROTEICO DE CÉLULAS TRONCALES DERIVADAS DE LA PULPA DENTAL Y PAPILA APICAL.

José A. Marín-Uc <sup>1,2</sup>, Julio A. Montero-del-Toro <sup>2,4</sup>, Ricardo Peñaloza-Cuevas <sup>2</sup>, Fernando Aguilar-Ayala <sup>2</sup>, Rubén Cárdenas <sup>2</sup>, Rafael Rojas-Herrera <sup>4</sup>, Teresa Hernández-Sotomayor <sup>3</sup> y Beatriz A. Rodas-Junco <sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, CP 97100.

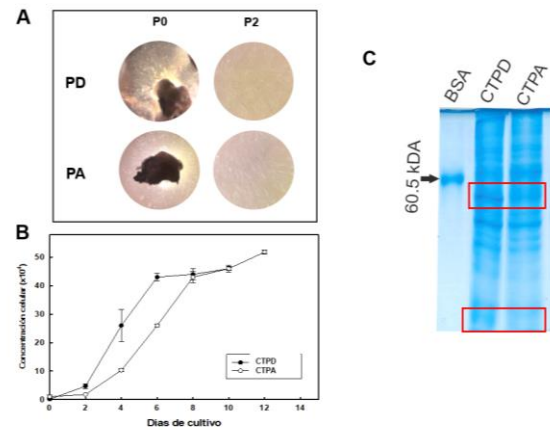
<sup>2</sup>Laboratorio Traslacional de Células Troncales de la Cavidad Oral, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, CP 97000. <sup>3</sup>Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán, Mérida, Yucatán, CP 97205. <sup>4</sup>Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, CP 97302. Correo electrónico: beatriz.rodas@correo.uady.mx

*Palabras clave: células troncales, pulpa dental, papila apical.*

**Introducción.** Las células troncales (CT) son células de morfología fibroblastoide, indiferenciadas, autorrenovables y con plasticidad celular. En la cavidad bucal existen nichos de CT como las células troncales de la pulpa dental (CTPD) y las células troncales de la papila apical (CTPA). Estas son células troncales multipotentes adultas, con elevada capacidad de proliferación y pluripotencia, así como baja teratogénesis. Sus propiedades les han conferido importantes aplicaciones en terapia celular, terapia génica y medicina regenerativa (1). Sin embargo las poblaciones de CT no son fenotípicamente homogéneas y difieren en su capacidad de proliferación y diferenciación celular. Ciertas proteínas han sido asociadas con la regulación del crecimiento y especialización celular, por lo que, la evaluación de los perfiles proteicos en CT puede ser una primera aproximación para entender las causas de dichas variaciones y definir aquellas poblaciones con mejores cualidades terapéuticas (2). Por lo tanto, la finalidad del presente trabajo es evaluar la capacidad proliferativa y los perfiles proteicos de las CTPD y CTPA en el pasaje 2.

**Metodología.** La pulpa dental (PD) y papila apical (PA) fueron obtenidas de órganos dentarios sanos donados por una mujer de 12 años y un hombre de 16 años, respectivamente, previo consentimiento informado. El aislamiento de las CT se realizó mediante el método de explante. Posteriormente se realizaron los pasajes bajo condiciones estándar. El segundo pasaje se seleccionó para la evaluación de la curva de proliferación, monitoreando cada segundo día de cultivo mediante protocolos establecidos por el grupo de investigación. Para obtener el perfil proteico se realizó la extracción de las proteínas totales utilizando el buffer RIPA complementado con 2 mM PMSF y 1 mM EDTA (2). La cuantificación de las proteínas se realizó por el método del ácido bicinonínico (3). Finalmente los perfiles proteicos se resolvieron mediante una electroforesis en condiciones desnaturizantes en geles de acrilamida al 12% (4).

**Resultados.** Se obtuvieron dos cultivos de CT derivadas de la PD y la PA. Los análisis morfológicos muestran que ambas poblaciones presentan una morfología fibroblastoide (Fig. 1A). La curva de proliferación indica que las CTPD poseen mayor capacidad proliferativa en el día 4 y 6 comparado con las CTPA (Fig. 1B). Asimismo, en el patrón electroforético se detectó la disminución de bandas de proteínas de aproximadamente 62.5 kDa y menor peso molecular, en las CTPA (Fig. 1C).



**Figura 1.** Cultivo y caracterización de las células derivadas de la pulpa dental y papila apical. **(A)** Morfología de las células derivadas de la pulpa dental (PD) y papila apical (PA) en cultivo primario (P0) y en el segundo pasaje de cultivo (P2), magnificación 10x. **(B)** Curva de proliferación de las células de PD y PA durante los 12 días de cultivo celular. **(C)** Patrón electroforético (SDS-PAGE) de las proteínas extraídas de las CTPD y CTPA en el pasaje 2 del cultivo. Carril 1, BSA: Albúmina sérica bovina; Carril 2: CTPD y Carril 3: CTPA. Gel de electroforesis al 12% de acrilamida teñido con azul de Coomassie

**Conclusiones.** Ambas poblaciones de CT presentaron características fibroblastoides y clonogénicas, sin embargo las CTPD presentaron mejor capacidad proliferativa en cultivo. En relación al perfil proteico existen diferencias en los perfiles de proteínas en ambos cultivos, lo cual puede atribuirse a las diferentes características biológicas de las células contenidas en cada tejido dental.

**Agradecimientos.** La presente investigación es financiada por el CONACyT en el marco del programa Cátedras-CONACyT. También se agradece a la Facultad de Ingeniería Química y a la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán por el apoyo brindado para la tesis de JAMU.

### Bibliografía.

- Rodas-Junco B, *et al.* (2017). *Front Physiol*, 8: 1-20
- Roche S. *et al.* (2009). *Proteomics*, 9: 223-232.
- Johnson M. (2018). *Master Methods*. 2(115).
- Anjo S, *et al.* (2016). En: *Mesenchymal Stem Cells. Methods in Molecular Biology*, Vol 1416. Gnechchi M. (ed) Humana Press, New York, EEUU, pp 521-549.