



EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA A LA INDUCCIÓN ADIPOGÉNICA *in vitro* EN CÉLULAS TRONCALES DERIVADAS DEL LIGAMENTO PERIODONTAL

Erick Pérez-Argueta^{1,2}, Ricardo Peñaloza-Cuevas¹, Fernando J. Aguilar-Ayala¹, Alejandro Zepeda-Pedreguera², Rafael Rojas-Herrera², Geovanny Irán Nic-Can^{1,2} y **Beatriz A. Rodas-Junco**^{1,2}, ¹Laboratorio Traslacional de Células Troncales de la Cavidad Oral, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Yucatán. CP 97000. ²Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. CP 97203. Mérida, Yucatán. beatriz.rodas@correo.uady.mx

Palabras clave: ligamento periodontal, pluripotencia, adipogénesis.

Introducción. El ligamento periodontal (LP) es un tejido conectivo que reside entre el cemento de la raíz de un órgano dental y el hueso alveolar. Está conformado por un grupo heterogéneo de células (1), de las cuales destaca una subpoblación celular con características similares a las células troncales mesenquimales (MSCs, por sus siglas en inglés), denominadas células troncales de ligamento periodontal (CTLP) (2). Gran parte de las investigaciones enfocadas en la aplicación de CTLP en medicina regenerativa, se han centrado en restaurar lesiones periodontales (3), sin embargo, se considera necesario revalorar su potencial de diferenciación, con el objetivo de ampliar sus aplicaciones en terapia celular. De manera particular, se ha demostrado que el desarrollo de la diabetes podría estar vinculado con la alteración en las funciones de los adipocitos (4), por lo que el estudio de la diferenciación adipogénica en CTLP podría en un futuro contribuir al establecimiento de terapias autólogas que eviten el desarrollo de la diabetes y de otras patologías relacionadas.

Es por lo anterior que el objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta a la inducción adipogénica *in vitro* en CTLP.

Metodología. El tejido se retiró de la parte externa del órgano dental de un paciente masculino de 18 años de edad (Línea celular H18-LP) empleando un bisturí. Seguidamente, se seccionó el tejido y se cultivó en una caja Petri de 35 mm conteniendo medio α -MEM+10% SBF (Suero Bovino Fetal) con 1% de solución antibiótico-antimicótico. La respuesta a la diferenciación adipogénica en el cultivo se evaluó sembrando 2×10^4 células/mL por pozo en placas multipozos para realizar la inducción durante 21 días. Después de este tiempo, las células se tiñeron con aceite rojo al 0.3% (p/v) para identificar la formación de gotas de lípidos en las células.

Resultados. El estado de pluripotencia de las células en cultivo se evaluó a través del análisis de expresión de los marcadores génicos NANOG y OCT4 mediante RT-qPCR (datos no mostrados). En la Fig. 1C, se puede observar que las células aisladas mediante explante presentaban una morfología alargada, aplanada y similar a los fibroblastos, además de que fue factible la identificación

de colonias clonogénicas. Los análisis de proliferación, viabilidad celular y tiempo de duplicación sugieren que su tasa de crecimiento es alta y que mantienen su viabilidad durante el cultivo *in vitro* (Fig. 1A y 1B). Por otro lado, se detectó una respuesta positiva a la diferenciación adipogénica ya que la examinación microscópica mostró la presencia de vacuolas lipídicas (Fig. 1C).

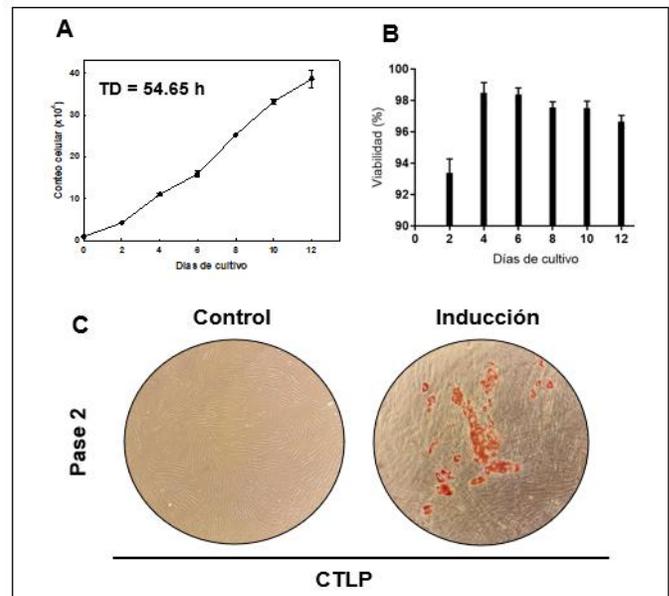


Fig 1. Determinación de parámetros cinéticos y evaluación de la respuesta a la inducción adipogénica de las CTLP. A) Curva de proliferación y **B)** evaluación de la viabilidad celular de CTLP procedentes del pase 2. **C)** CTLP sin tratamiento (control) y tratadas con medio de inducción adipogénico al día 21 de crecimiento (Objetivo 10X).

Conclusiones. La identificación de los adipocitos mediante la presencia de vacuolas lipídicas confirmó la capacidad de las CTLP de llevar a cabo la diferenciación adipogénica *in vitro*.

Agradecimientos. La siguiente investigación es financiada por el proyecto Cátedras-CONACYT (No. 1882) y por la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán.

Bibliografía.

1. Charles C-Y *et al.* (2009). *Regen. Med.* 4 (6): 809-821.
2. Menicanin D *et al.* (2014). *Stem Cells Dev.* 23 (9): 1001-1011.
3. Kassebaum NJ *et al.* (2014). *J Dent Res.* 93 (11): 1045-1053.
4. Guilherme A *et al.* (2008). *Nat Rev Mol Cell Bio.* 9 (5): 367-377.

