



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

INGENIERÍA TISULAR EN ENDODONCIA.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N O D E N T I S T A

P R E S E N T A:

EDUARDO CARBAJAL PELÁEZ

TUTOR: C.D. FRANCISCO JAVIER IBARRARÁN DÍAZ

ASESORA: Esp. GRISSEL BERENICE LÓPEZ LÓPEZ

MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DEDICATORIA

A Dios

Por permitirme cumplir mis metas y enseñarme a valorar la vida.

A mis padres

Por ser mi inspiración y por su apoyo incondicional.

A mi hermano

Por ser mi compañero en toda ocasión.

A mi familia y amigos

Por las experiencias y enseñanzas que me han brindado.

A mis maestros

Por sus enseñanzas y por ser mis modelos a seguir.

A Samantha

Por su amistad y por descubrir junto conmigo las maravillas de la vida.



ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|----------|
| INTRODUCCIÓN..... | 7 |
| OBJETIVO..... | 8 |
| CAPÍTULO 1 | |
| 1.1 ANTECEDENTES DE LA INGENIERÍA TISULAR..... | 9 |
| 1.2 UNA VISIÓN ACTUAL DE LA INGENIERÍA TISULAR..... | 10 |
| 1.3 ELEMENTOS DE LA INGENIERÍA TISULAR..... | 12 |
| 1.3.1 CÉLULAS MADRE MESENQUIMATOSAS (MCS)..... | 13 |
| 1.3.2 ANDAMIOS O BIOMATERIALES..... | 17 |
| 1.3.3 FACTORES DE CRECIMIENTO PROLIFERATIVOS..... | 18 |
| 1.4 TÉCNICAS EN INGENIERÍA TISULAR..... | 18 |
| 1.4.1 INGENIERÍA TISULAR POR TRANSFERENCIA CELULAR (TERAPIA CELULAR)..... | 19 |



1.4.2 INGENIERÍA TISULAR POR INDUCCIÓN.....19

1.4.3 INGENIERÍA TISULAR POR ELABORACIÓN DE
CONSTRUCTOS.....20

1.5 CÉLULAS MADRE MESENQUIMATOSAS IN
VIVO.....21

CAPÍTULO 2

2.1 GENERALIDADES DE ODONTOGÉNESIS.....24

2.1.1 GERMEN DENTARIO.....25

2.1.1.1 ESTADIO DE YEMA O BOTÓN DENTARIO.....25

2.1.1.2 ESTADIO DE COPA O CASQUETE.....26

2.1.1.3 FASE DE CAMPANA TEMPRANA.....27

2.1.1.4 FASE DE CAMPANA AVANZADA.....28

2.1.2 AMELOGÉNESIS.....28

2.1.3 FORMACIÓN DEL COMPLEJO DENTINO-PULPAR.....30



2.3 CÉLULAS MADRE ADULTAS. FORMACIÓN Y ERUPCIÓN DENTAL.....33

2.4 MOLÉCULAS DE SEÑALIZACIÓN IMPLICADAS EN LA DIFERENCIACIÓN Y REGENERACIÓN DENTAL.....35

2.5 CARACTERIZACIÓN DE CÉLULAS MADRES EN EL COMPLEJO PULPODENTINAL.....37

CAPÍTULO 3

3.1 ENDODONCIA REGENERATIVA.....39

3.2 PROCEDIMIENTOS ENDODÓNTICOS REGENERADORES.....40

3.2.1 REVASCULARIZACIÓN PULPAR A PARTIR DE UN COÁGULO SANGUÍNEO DENTRO DEL CONDUCTO.....41

3.2.2 INGENIERÍA TISULAR EN REGENERACIÓN PULPAR.....42

3.2.2.1 CÉLULAS MADRE EN INGENIERÍA TISULAR ENDODÓNTICA.....44



| | |
|---|-----------|
| 3.2.2.2 IMPLANTACIÓN DE ANDAMIOS EN ENDODONCIA REGENERATIVA..... | 47 |
| 3.2.2.3 FACTORES DE CRECIMIENTO..... | 47 |
| 3.2.3 EMPLEO DEL KIT ENDODÓNTICO REGENERADOR..... | 48 |
| 3.3 INFLAMACIÓN- REGENERACIÓN..... | 51 |
| CAPÍTULO 4 | |
| 4.1 LA INGENIERÍA TISULAR ENDODÓNTICA EN LA ACTUALIDAD..... | 52 |
| 4.2 RETOS FUTUROS..... | 60 |
| DISCUSIÓN..... | 61 |
| CONCLUSIONES..... | 64 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 65 |



INTRODUCCIÓN

En la práctica odontológica, uno de los más grandes retos es la reposición de los tejidos que se han modificado por lesiones o patologías. Como respuesta a ello, una ciencia que se ha desarrollado en los últimos años es la “Ingeniería Tisular”, la cual propone nuevas terapias que implican la regeneración o reemplazo de tejidos y órganos, a través de constructos tridimensionales tisulares, que devuelven la forma y función, a partir de las propias células del paciente, en conjunto con biomateriales y biomoléculas.

La Ingeniería Tisular, es sin duda un nuevo campo en la Odontología y áreas especializadas, por lo que conjunta ciencias básicas como Biología Celular, Fisiología, Inmunología, Bioquímica, Ciencia de los Materiales y Biofísica, para ofrecer al paciente alternativas de tratamiento enfocadas a la regeneración de tejidos.

De acuerdo a lo anterior, partir de la década pasada se han reportado trabajos encaminados a la reparación del tejido pulpar, mediante el uso de técnicas que permitan la regeneración de tejido, en lugar de eliminarlos en su totalidad. Al respecto, cabe señalar que en cuanto a la regeneración del tejido pulpar se han realizado avances importantes que, en algunos casos, ya se han llevado a la práctica clínica.

Con el inicio de la era de la Ingeniería Tisular la posibilidad de regenerar tejido se ha tornado un procedimiento sustentable y ha dado la pauta a la “Endodoncia biológica”.



Aunque aún hay aspectos que deben desarrollarse e implementarse, la Endodoncia Regenerativa es una terapia inminente; por lo que es indispensable un mayor acercamiento a los avances en dicha área, de modo que es necesario estar preparados para la aplicación clínica de esta terapia.

Objetivo

Dar a conocer mediante el presente trabajo los conceptos actuales de la Ingeniería tisular aplicada en el área de Endodoncia, así como también hacer una reseña de los avances más recientes y de la semblanza que se espera a futuro.



CAPÍTULO 1

1.1 ANTECEDENTES DE LA INGENIERÍA TISULAR

La pérdida de tejidos y las fallas orgánicas constituyen uno de los problemas más devastadores, frecuentes y de alto costo para los sectores sanitarios de cualquier nación. Por tanto, a pesar del desarrollo creciente de implantes y sustitos sintéticos de tejidos, no se han cumplido en su totalidad las demandas de función y calidad esperadas en dichos sustitutos, puesto que estos solo ofrecen una solución temporal y en todo caso, no llegan a satisfacer por completo la calidad de vida de los pacientes.

Durante siglos el hombre ha tratado de comprender la capacidad del cuerpo para reparar o reemplazar las células y tejidos del organismo. Sin embargo, debemos considerar que aunque los avances más significativos de esta ciencia se han dado en las últimas décadas, las raíces del término Ingeniería Tisular se mencionan en escritos tan antiguos como la biblia.

A partir del año 1950, autores tales como Abraham Trembley, Charles Bonnet, Peter Simon Pallas y René- Antoine contribuyeron a la investigación de la regeneración de salamandras y cangrejos, para posteriormente determinar que existía una regeneración de la piel, la sangre, los músculos y los huesos en mamíferos, lo cual era posible mediante “las células madre”¹.

Durante los años 60's y 70's, tuvo lugar la primera generación de biomateriales. En este período, la meta era obtener materiales que tuvieran propiedades físicas, se adaptaran lo mejor posible a las del tejido



a reemplazar, y que reaccionaran mínimamente con el tejido circundante, es decir, materiales inertes.

A partir de los años 80's, surge una segunda generación de biomateriales. Esta vez, el objetivo era crear materiales que indujeran una reacción controlada por parte del tejido vivo, es decir, materiales bioactivos como los vidrios bioactivos de silicio y la hidroxiapatita. Durante esta segunda generación, también tienen lugar los materiales bioabsorbibles, como los polímeros biodegradables principalmente¹.

Cabe señalar, que inicialmente el término de Ingeniería Tisular hacía referencia al uso de aparatos protésicos y a la manipulación quirúrgica de tejidos involucrados, en el año de 1980².

Aunque posteriormente se empleó el concepto actual de Ingeniería Tisular, el cual se produjo en un artículo titulado "Functional Organ Replacement; The new Technology of Tissue Engeneering", en el año de 1991, hasta que finalmente la Ingeniería Tisular nació y se desarrolló como disciplina científica en los laboratorios de investigación de Boston y Cambridge, Massachusetts².

1.2 UNA VISIÓN ACTUAL DE LA INGENIERÍA TISULAR

La Ingeniería Tisular puede entenderse como un nuevo campo de la medicina que se ocupa de la regeneración o reposición de órganos y de los tejidos a partir de la combinación de células, biomateriales y factores bioquímicos.

Actualmente, la ingeniería tisular combina el aporte de células, indiferenciadas que se colocan sobre una matriz a la cual se puede añadir



los factores que aceleren su proliferación e indiferenciación para ser trasplantadas a la estructura dañada y conseguir su regeneración, o bien también las células se pueden tratar en el laboratorio para que liberen sustancias beneficiosas para la reparación de los tejidos³.

Asimismo, se han utilizado diferentes estrategias combinando matrices biocompatibles, factores de crecimiento, trasplantes celulares y terapias de liberación de genes, en donde el objetivo final es recapitular la estructura y la función del tejido original³.

Cabe señalar que para lograr el éxito terapéutico se deben cumplir con parámetros indispensables, como son, las líneas celulares, donde se identifican y aíslan las que son fáciles de multiplicar y por consiguiente se satisfaga la demanda existente³.

Otro parámetro importante que debe considerarse son los materiales empleados, puesto que estos son utilizados como vehículos por las células para un óptimo crecimiento.

Y por último se debe tomar en cuenta la adecuada interacción de células y materiales empleados, así como el lugar de administración en el que serán utilizados con el fin de favorecer las condiciones necesarias para la viabilidad del implante.

Los criterios generales a considerarse son:

- La producción de un número suficiente de células y tejido para conseguir la reparación completa.
- Mantener y diferenciar las células hacia el fenotipo correcto.

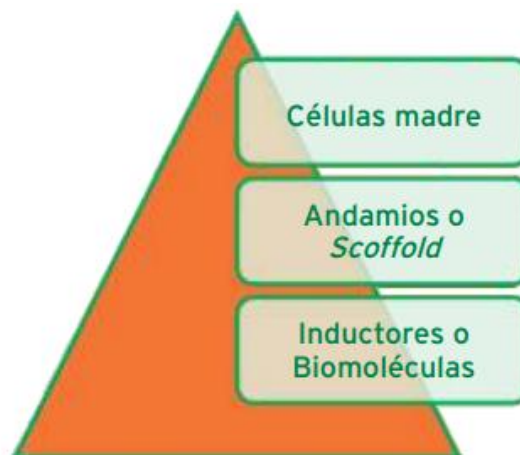


- Asegurar que tanto las células como los tejidos adoptan la organización tridimensional necesaria.

Aunado a lo anterior, las células y los tejidos deben adaptarse e integrarse a las demandas del tejido que se va a reparar, además de conseguir una integración completa y una vascularización adecuada con el tejido local, así como la valoración del riesgo de un rechazo inmunológico.

1.3 ELEMENTOS DE LA INGENIERÍA TISULAR

Los tres aspectos fundamentales en la ingeniería tisular son las Células Madre Mesenquimatosas, los andamios y la estabilidad mecánica del propio ambiente, junto con los factores de crecimiento o inductores constituyen lo que se conoce como “el concepto de diamante”³. A continuación se muestra la triada de los factores que constituyen a la Ingeniería Tisular(Figura 1).



Componentes principales que se usan en Ingeniería Tisular para formar nuevo tejido en el laboratorio

Figura 1. Rosales R. Ibañez. Ingeniería Tisular en Odontología. Rev ADM. 2012. Pp 165



1.3.1 Células Madre Mesenquimatosas (CMM)

El primer elemento de la ingeniería tisular son las células troncales o Células Madre Mesenquimatosas. Son células multipotentes primitivas, con morfología fibroblastoide, originadas a partir de la capa germinal mesodermal, con la capacidad de diferenciarse en diversos tipos de células, incluyendo²:

- Osteocitos (células óseas).
- Adipocitos (células grasas).
- Mioblastos (precursores de células musculosas).
- Cardiomiocitos (células del corazón).
- Neuronas y astrocitos (Células gliales).

Durante décadas, se ha estudiado la naturaleza de dichas células, la biología, las propiedades, clasificación, fenotipos, mecanismos celulares y moleculares, así como sus probables aplicaciones terapéuticas.

Podemos clasificarlas según su capacidad de proliferación y diferenciación en totipotenciales (células que tienen el potencial de dar origen a un organismo completo incluyendo el tejido germinal), pluripotenciales (células que pueden dar origen a células de las tres capas germinativas: ectodermo, mesodermo y endodermo); y multipotenciales (son células comprometidas en una línea celular específica y dan origen a células de un órgano o tejido particular)².



A su vez, las células madre constituyen la unidad natural de generación durante la embriogénesis y regeneración en la vida adulta².

Según su estado evolutivo, las CM pueden clasificarse en embrionarias y adultas o postnatales, citándose a continuación las diferencias y características respectivas (Tabla 2).



| | VENTAJAS | DESVENTAJAS |
|--------------------|--|---|
| CM EMBRIONARIAS | Poseen el potencial de formar cualquier célula del cuerpo, inmortal y fácilmente obtenible. | La obtención es más compleja, tienen el potencial inmunogénico por ser alogénicas, enfrentan problemas éticos y legales y además producen un alto porcentaje de tumores en los animales de experimentación. |
| CM ADULTAS | Su manipulación es más simple, pueden ser autólogas, no presentan limitantes éticas ni legales, ni tampoco se han comprobado que produzcan neoplasias. | Es difícil obtenerlas en grandes cantidades, poca duración de los cultivos experimentales y las CM cosechadas pueden llevar consigo mutaciones. |

Tabla 2. Imagen Extraída. Gamboa K. Metancourt. Uso de células madre en el complejo bucofacial. Rev Arch med Camaguey Vol 16n(5)2012. Pp 1640

Las células madre son un blanco prometedor como terapéutico biológico para un amplio rango de necesidades médicas no resueltas. Las razones para esto son diversas, pues incluyen las siguientes características:

- Fácil aislamiento y expansión en cultivo
- Multipotencia



La capacidad de diferenciación y especialización de estas células pluripotenciales da lugar a los diferentes tipos de tejidos conectivos especializados (tejido adiposo, tejido cartilaginoso, tejido óseo, así como los tejidos hematopoyético y muscular); las que no se especializan forman los tejidos conectivos laxos³.

➤ Efectos paracrinós

Este elemento evidencia que las señales paracrinós de las CMM son el mecanismo predominante responsable para el potenciamiento de la reparación de las heridas³.

➤ Propiedades inmunomoduladoras

Las células madre mesenquimales evitan el reconocimiento de antígenos interfiriendo en la función de las células dendríticas y de los linfocitos T. Tienen por tanto un efecto inmunosupresor local debido a su capacidad de secretar citoquinas³.

➤ Conducta migratoria

EL uso de CMM para aplicaciones terapéuticas ha sido particularmente aprobado por su capacidad de llegar a los sitios de inflamación causados por lesión, gracias a la localización en relación a la gravedad y a la geometría de la misma lesión. Este efecto recibe el nombre de anidamiento³.



1.3.2 ANDAMIOS O BIOMATERIALES

El término biomaterial designa a aquellos materiales utilizados en la fabricación de sistemas biológicos y que se aplican en diversas ramas de la medicina³.

Una de las características de los materiales es que deben ser biocompatibles, o biológicamente aceptables. De este modo, en la evaluación de un material resulta fundamental examinar su biocompatibilidad y capacidad de reabsorción; ya que permanecen en contacto con los tejidos vivos, por lo que resulta imprescindible que no se produzcan reacciones no deseadas en la interfase tejido-material y que mantenga sus propiedades durante el tiempo que tenga que desempeñar su función⁴.

Actualmente los estudios se enfocan a conocer las interacciones específicas entre propiedades físico-químicas del material y la observación de comportamientos celulares, como la adhesión, activación y liberación de citoquinas. Existe en la actualidad una gran cantidad de biomateriales diferentes, que según su composición se pueden clasificar en biomateriales metálicos, biomateriales cerámicos o biomateriales poliméricos naturales o sintéticos⁴.

Los biomateriales deben favorecer la función biológica y mecánica de las células ya que actúan como una matriz extracelular artificial. Como resultado, los biomateriales pueden proporcionar a las células un espacio en tres dimensiones para formar los tejidos nuevos con la estructura y función apropiada⁵.



1.3.3 FACTORES DE CRECIMIENTO PROLIFERATIVOS

Los factores de crecimiento son un grupo de moléculas de bajo peso molecular. Son mediadores endógenos de la respuesta celular, que ante estímulos concretos favorecen el funcionamiento, el crecimiento y la regeneración de determinados tipo de células⁵.

Durante la expansión se pueden aplicar factores de crecimiento para aumentar el tiempo y mejorar el rendimiento de las células⁵. Actúan de forma no enzimática como señales intercelulares que modulan la función celular, regulando el crecimiento, la diferenciación y el metabolismo celular⁵.

Los factores de crecimiento actúan a través de la vía de transducción de señales, estas señales se transmiten a través de una escalera de moléculas que son activadas-desactivadas en forma secuencial para provocar una respuesta celular que nos llevará a la regulación de su crecimiento, su división, la apoptosis, respuesta a los estímulos del estrés y a la reparación tisular. Que se realice una u otra función va a depender del factor de crecimiento involucrado y del estado fisiológico de la célula³.

1.4 TÉCNICAS DE INGENIERÍA TISULAR

En la actualidad, la ingeniería se puede llevar a cabo utilizando tres tipos de estrategias diferentes⁶.



1.4.1 INGENIERÍA TISULAR POR TRANSFERENCIA CELULAR (TERAPIA CELULAR)

En esta estrategia, las células son primero aisladas, mantenidas y tratadas in vitro y posteriormente se inyectan en la circulación sanguínea o implantan en determinadas localizaciones del organismo para poder, de ese modo, suplir la deficiencia estructural o funcional que este tipo de células se hubiera podido producir⁶.

La transferencia de condrocitos autólogos para la reparación y sustitución de cartílago articular o de las células madre hematopoyéticas del cordón umbilical y de médula ósea son algunos ejemplos de la utilización de este tipo de estrategia⁶.

1.4.2 INGENIERÍA TISULAR POR INDUCCIÓN

La construcción de un nuevo tejido puede llevarse a cabo fomentando la inducción del mismo en el seno de nuestro propio organismo. Para ello, existen diversas posibilidades de actuación. En primer lugar, la acción más elemental de todas consiste en la utilización de aquellas señales moleculares, fundamentalmente, los factores de crecimiento, que son capaces de estimular a las células madre pluripotentes o células madre progenitoras existentes en la región en la que deseamos crear el nuevo tejido, con el objeto de potenciar su proliferación, su diferenciación y su distribución en el espacio y en el tiempo⁶.

La incorporación de las señales moleculares a la región puede realizarse directamente o mediante la transferencia de células capaces de segregar diversos factores. La matriz extracelular, como producto natural o como



biomaterial elaborado de modo artificial, tiene también en ciertos casos, la propiedad de inducir la formación de nuevos tejidos⁶.

Finalmente, en algunos casos se utilizan biomateriales y señales moleculares para inducir la construcción de algunos tejidos. En estos casos, el biomaterial actúa como barrera creando espacio para facilitar el posterior crecimiento expansivo del nuevo tejido. Este mecanismo de ingeniería tisular es el utilizado en la denominada regeneración tisular guiada que se practica como tratamiento de enfermedad periodontal⁶.

1.4.3 INGENIERÍA TISULAR POR ELABORACIÓN DE CONSTRUCTOS

Un constructo es la estructura que resulta de la asociación, en un dispositivo denominado bioreactor. Con el fin de elaborar un constructo es necesario aislar las células del organismo y situarlas, junto a los factores de crecimiento, sobre o dentro del biomaterial más adecuado en relación con el tejido u órgano que se desee construir. Para la elaboración de constructos se utilizan modelos con un solo tipo de células y un solo tipo de biomaterial, como ocurre con algunos constructos de cartílago y modelos con varios tipos de células y de biomaterial, en los que se utilizan fibroblastos.

El diseño y la elaboración de constructos por ingeniería tisular para uso clínico deben intentar conseguir⁶:

- Obtener la naturaleza estructural y funcional de los tejidos naturales.
- Los tamaños y las formas deseadas.



- La posibilidad de continuar su desarrollo una vez implementado en el cuerpo.
- La posibilidad de integrarse completamente en el huésped.

1.5 CÉLULAS MADRE MESENQUIMATOSAS IN VIVO

La generación del crecimiento de las células en el laboratorio se conoce como cultivo de células¹.

Las células madre son aisladas transfiriendo la masa celular a una caja de Petri o botella de cultivo de que contenga un caldo nutriente, conocido como medio de cultivo¹.

Posteriormente se colocan en una estufa de cultivo celular (a 37°C, oxígeno y 5% de dióxido de carbono). Las células se dividen y se extienden por la superficie del recipiente².

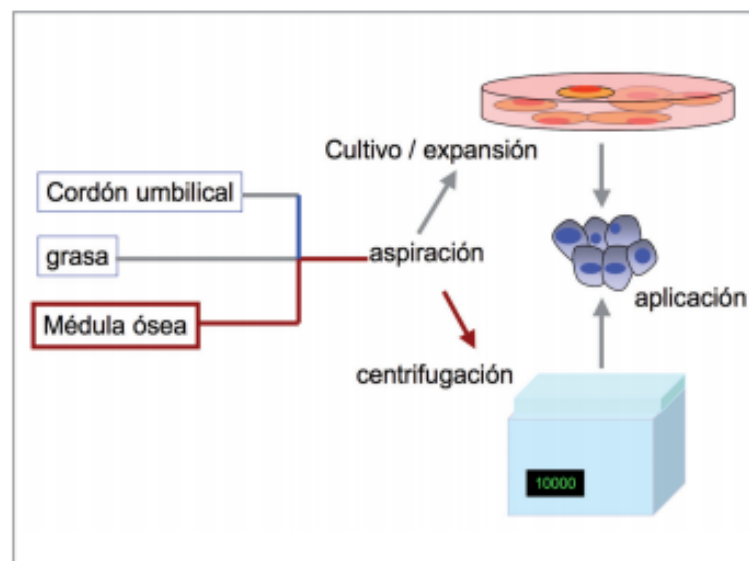
Después, a lo largo de varios días, las células proliferan y comienzan a apretarse en el recipiente de cultivo.

Cuando esto ocurre, se retiran con cuidado y se transfieren a varias botellas de cultivo frescos. El proceso de volver a colocar las células en nuevas botellas de cultivo se repite muchas veces y durante muchos meses, y este proceso se llama subcultivo. Cada ciclo de creación de un subcultivo de células es denominado pasaje³.

Las muestras de tejido humano pueden obtenerse en distintas fuentes. En general, los tejidos más utilizados para la generación de cultivos celulares primarios son los siguientes³.

- Piel de espesor total
- Mucosa oral
- Vejiga urinaria
- Córnea

En la siguiente imagen se observa la obtención de células madre mesenquimatosas, de las zonas donantes más habituales (Figura 3).



Obtención de MSC en clínica, zonas donantes más habituales (médula ósea, tejido adiposo o cordón umbilical) y obtención directa en quirófano y de aplicación inmediata por centrifugación o, más tardía, por cultivo y expansión.

Figura 3. Forriol F. Ingeniería tisular: aplicación de las células troncales pluripotenciales en cirugía ortopédica y traumatológica. Rev Trauma. 2008.

Para la toma de muestras, se debe utilizar una técnica estéril, aplicando antisépticos a la zona donante previamente a la toma de muestra³.



Habitualmente, se utiliza anestesia local, sin embargo en ocasiones también es posible que se utilice anestesia general.

Una vez extraídos, se lavarán brevemente los tejidos en suero fisiológico estéril, introduciéndose lo antes posible en medio de transporte estéril, donde se mantendrán hasta el momento de su procedimiento³.

El medio de transporte está constituido por medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), suplementado con altas concentraciones de antibióticos (500 U/ml de penicilina G y 500 mg/ml de estreptomina) y antimicóticos (1,25/ml de anfotericina B) para evitar una contaminación de la muestra³.

Transcurrido el periodo de transporte, todas las muestras se lavarán dos veces en una solución estéril de PBS con altas concentraciones de penicilina estreptomina y anfotericina B (500 U/ml, 500 mg/ml y 1.25 mg/ml respectivamente) para eliminar todos los restos de sangre, fibrina, grasa o materiales extraños que pudieran encontrarse adheridos a las muestras³.



CAPÍTULO 2

2.1 GENERALIDADES DE ODONTOGÉNESIS

La modulación de la inducción tisular mediante cierto tipo de señales contribuirá a la regeneración de tejidos orales. Por estas razones, es fundamental un completo entendimiento de los mecanismos moleculares del desarrollo de órganos como sucede durante la odontogénesis.

El proceso de desarrollo dental que conduce a la formación de los elementos dentarios en el seno de los huesos maxilares recibe la denominación de odontogénesis⁷.

Al final de la sexta semana de vida intrauterina, cuando el embrión mide alrededor de 15 mm, el epitelio ectodérmico que recubre los maxilares comienza a engrosarse en dos zonas diferentes que adoptan la forma de herradura. Estos engrosamientos que se forman por proliferación de las células basales del epitelio pluriestratificado plano de la cavidad oral, se introducen en el mesénquima subyacente y representan el primer inicio en el desarrollo de la lámina dentaria y de la lámina vestibular⁷.

Por ruptura ulterior de las células epiteliales del estrato medio y superficial que la integran, da origen al vestíbulo oral⁷.

La lámina dentaria de cada maxilar, da origen en diferentes etapas del desarrollo a los esbozos dentarios de la dentición temporal y permanente⁷.



Los órganos dentarios se desarrollan a partir de dos esbozos que interactúan recíprocamente durante el transcurso de la odontogénesis. Uno, a partir de la lámina dentaria: esbozo epitelial de origen ectodérmico y otro a partir de tejido mesenquimático derivado de las crestas neurales⁷.

El epitelio ectodérmico forma el órgano del esmalte y como su nombre lo indica da origen al tejido externo que recubre la corona del diente. Del tejido mesenquimático deriva la papila y el saco dental que da origen al complejo pulpodentinario (dentina y pulpa) y a los elementos del periodoncio de inserción respectivamente (cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar)⁷.

2.1.1 GERMEN DENTARIO

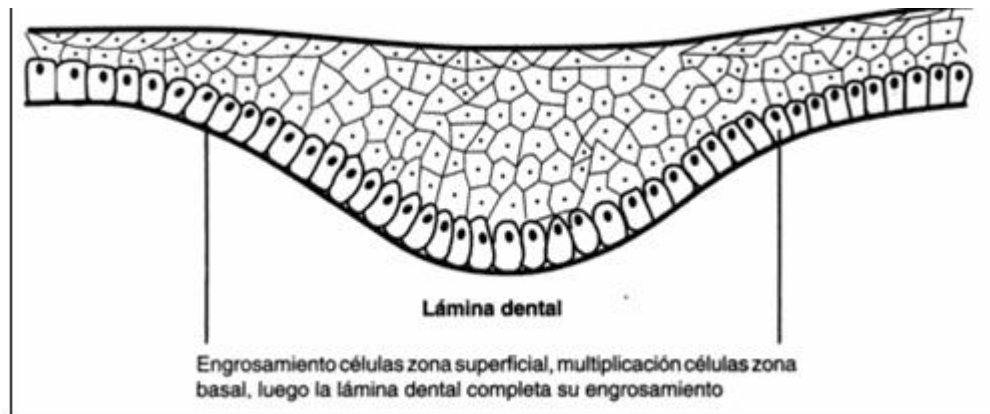
A medida que el epitelio prolifera e interactúa con el mesénquima subyacente, el órgano del esmalte va adoptando diferentes formas: yema, casquete y campana; cada una de las cuales marca una actividad importante en el desarrollo y determinación de la forma definitiva del futuro órgano dentario⁷.

2.1.1.1 ESTADIO DE YEMA O BOTÓN DENTARIO

Se caracteriza por la aparición de una notable actividad mitótica de la lámina dentaria que permite la formación de 20 botones o yemas de los dientes temporales, en el seno del mesénquima subyacente. Este también muestra una celularidad aumentada vecina a la formación de cada botón⁷.

En la siguiente figura se observa la lámina dental en donde su vez se muestra el engrosamiento en las células de la zona superficial, una

multiplicación que intervienen en el engrosamiento de dicha lámina (Figura 4).



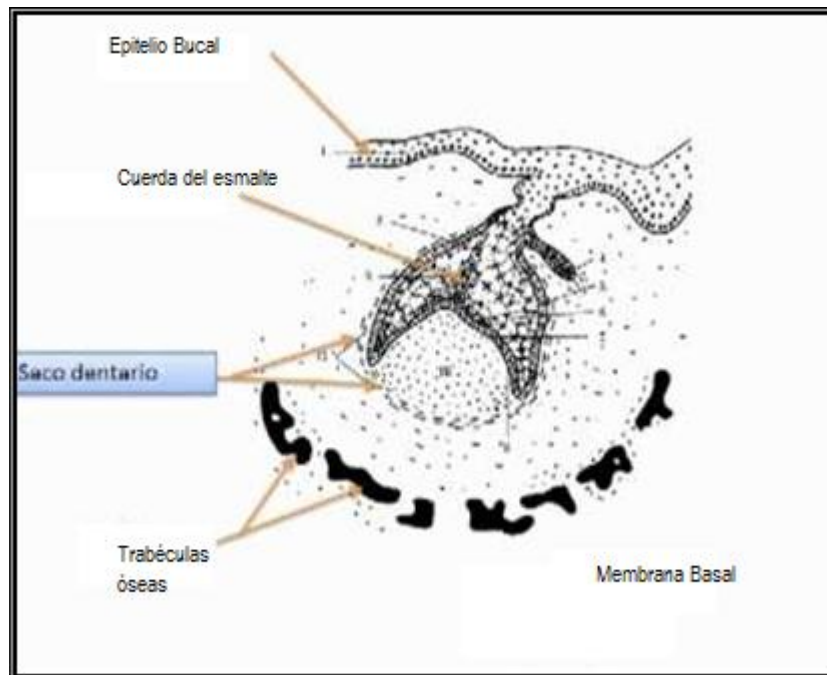
ESQUEMA DE LA FORMACIÓN DE LA YEMA O BROTE DENTARIO

Figura 4. <http://HISTOLOGÍA Y EMBRIOLOGÍA DENTAL/ODONTOLOGÍA.COM>

2.1.1.2 ESTADIO DE COPA O CASQUETE

Se caracteriza por una marcada proliferación e invaginación del epitelio del órgano del esmalte, el cual presenta una depresión en su parte profunda donde se aloja tejido mesenquimático condensado para formar la papila dental. El tejido mesenquimático que queda rodeando externamente el órgano del esmalte y la papila, también sufre una condensación gradual para constituir el saco dentario. El órgano del esmalte, la papila dental y el saco dentario constituyen el folículo o germen dentario. En esta etapa es posible distinguir en el órgano del esmalte el

epitelio interno, un epitelio externo, retículo estrellado y la cuerda del esmalte como observamos a continuación (Figura 5).



ESQUEMA DE ESTADIO DE CASQUETE INICIAL

Figura 5. <http://HISTOLOGÍA Y EMBRIOLOGÍA DENTAL/ODONTOLOGÍA.COM>

2.1.1.3 FASE DE CAMPANA TEMPRANA

Del epitelio interno del órgano del esmalte, formado por un solo estrato de células, se diferencian los ameloblastos⁷.

Entre el epitelio interno del órgano del esmalte y el retículo estrellado, aparecen algunas capas de células planas con escasa sustancia intercelular entre ellas, que recibe el nombre de estrato intermedio⁷.



El epitelio externo del órgano del esmalte, está formado por una capa de células cúbicas y su superficie lisa en un comienzo, va sufriendo poco a poco irregularidades. Posteriormente, dicha proliferación dará origen al órgano del esmalte de las piezas permanentes de reemplazo⁷.

En la papila dental, las células mesenquimáticas periféricas se transforman en odontoblastos, bajo el efecto inductor del epitelio interno. Entre la capa de ameloblastos y la capa de odontoblastos, existe una delgada membrana basal, denominada membrana preformativa; la cual corresponderá posteriormente al límite amelodentinario⁷.

2.1.1.4 FASE DE CAMPANA AVANZADA

En esta fase comienza la formación de dentina y de esmalte: tejidos mineralizados, cuya génesis, al igual que la del tejido óseo involucra dos procesos. Uno inicial, en que se secreta aposicionalmente la matriz (predentina, preesmalte), y otro secundario en que se calcifica la matriz recién formada⁷.

2.1.2 AMELOGÉNESIS

Poco tiempo después en que aparece la primera dentina a nivel de la región incisiva o cuspídea, los ameloblastos opuestos a ella comienzan a segregar la matriz de preesmalte, en sentido inverso a la formación de dentina, es decir, desde la profundidad a la superficie⁷.

La prolongación que se diferencia en el polo secretor de cada ameloblasto, se denomina proceso de Tomes y está íntimamente asociada con la formación de la matriz orgánica de cada prisma. El límite entre el cuerpo del ameloblasto y el proceso de Tomes está demarcado

en la periferia por bandas de cierre o barras terminales. A medida que las paredes de preesmalte aumenten su altura, las bandas de cierre se alejan del límite amelodentinario y el proceso de Tomes crece en longitud, hasta alcanzar su completo desarrollo⁷.

El preesmalte aumenta de espesor, a medida que la matriz se deposita de forma aposicional y rítmica (estrías de Retzius), a consecuencia de ello, los ameloblastos se van alejando del límite amelodentinario⁷.

(Figura 6).

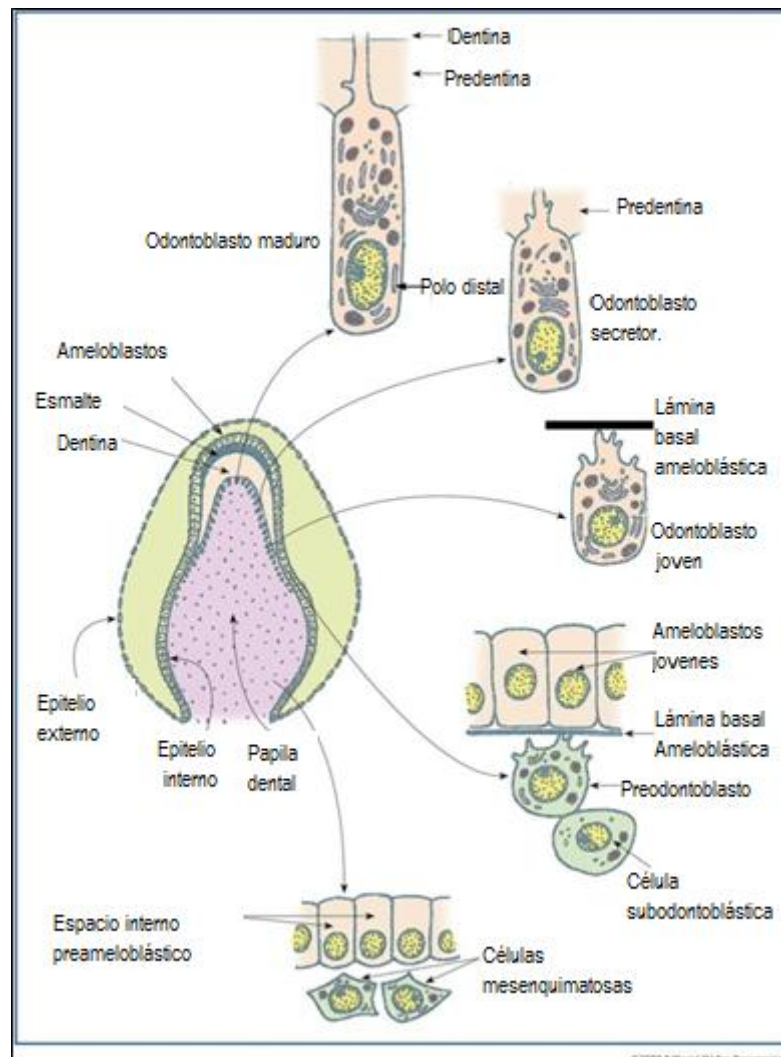


Figura 6. GOMEZ de F. Histología. Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3ª ed. México. Editorial Médica Panamericana.



2.1.3 FORMACIÓN DEL COMPLEJO DENTINO- PULPAR

La estructura del germen dentario de principal interés para la formación del complejo dentino- pulpar es el epitelio interno del órgano del esmalte, el cual interactúa recíprocamente con las células mesenquimatosas indiferenciadas de la papila dentaria, caracterizando la inserción epiteliomesenquima, de la cual resulta la dentina y la pulpa. En el epitelio dentario interno, las células relacionadas con las futuras cúspides se tornan columnas altas⁷.

Esa modificación de las células del epitelio interno sirven de señalización, a través de la membrana basal, de donde se libera el producto de secreción de las células epiteliales (TGB- β 1, BMP2, IGF, entre otros) de modo que las células más periféricas de la papila dentaria se tornan elongadas, se organizan y se apoyan en la membrana basal, tornándose odontoblastos. Esta diferenciación se relaciona con la biología pulpar y con los mecanismos de reparación de este tejido conjuntivo altamente especializado⁷.

Las células mesenquimatosas de la región más superficial de la papila dentaria adquieren competencia, siendo que, en la última mitosis, la célula madre se posiciona adyacente a la membrana basal. La célula hija permanece en un área más interna de la papila, donde en el futuro se desarrollará la zona rica en células de la pulpa. Tanto la célula madre como la hija pasan a denominarse preodontoblastos, pues ambas asumieron competencia para diferenciarse en odontoblastos⁷.

Después de que las células epiteliales secretan los factores de crecimiento de la familia TGP β , estas proteínas bioactivas acaban permaneciendo junto a la membrana basal, cuyos componentes activan



estos TGFs para interactuar con receptores de la membrana de los preodontoblastos⁷.

Al mismo tiempo que ocurre una sobrerregulación de los TGFs, los preodontoblastos pasan a sintetizar fibronectina y a expresar la proteína de membrana 165KDa, la cual es específica para interactuar con esta fibronectina. Las homoproteínas MSXs parecen estar involucradas en la reorganización del citoesqueleto de los preodontoblastos, los cuales están en proceso de diferenciación para originar las células elongadas, denominadas odontoblastos⁷.

Los odontoblastos funcionales pasan a exhibir uniones intercelulares. Estos odontoblastos en la fase de aposición de la matriz de la dentina se desplazan de forma centrípeta con relación a la papila dentaria, dejando detrás de su cuerpo celular las prolongaciones citoplasmáticas, los cuales permanecen en el interior de la matriz de la dentina, determinando la característica tubular de este tejido⁷. En las figuras 7 y 8 se muestra imágenes del mecanismo de diferenciación de las células mesenquimatosas de la papila dentaria en odontoblastos.

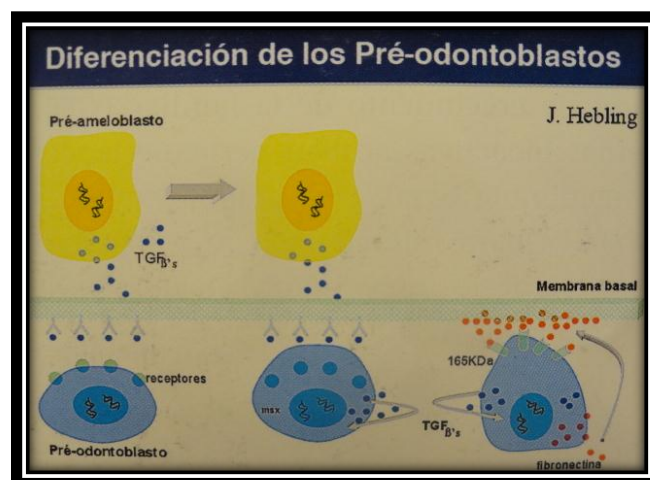


Figura 7. ESQUEMAS DEL MECANISMO DE DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS MESENQUIMATOSAS DE LA PAPILA DENTARIA EN ODONTOBLASTOS.
GOMEZ de F. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3ª ed. México. Editorial Médica Panamericana. 2009

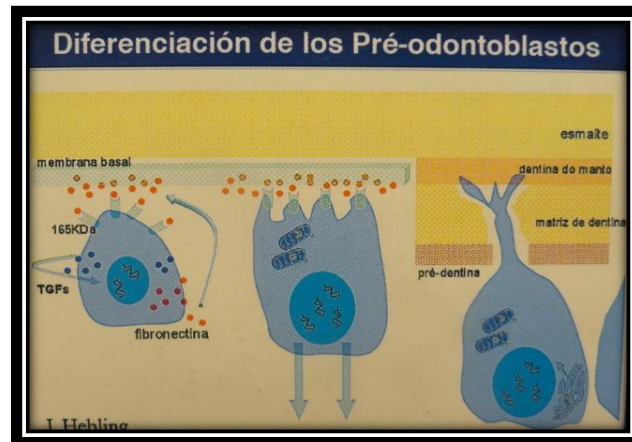


Figura 8. ESQUEMAS DEL MECANISMO DE DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS MESENQUIMATOSAS DE LA PAPILA DENTARIA EN ODONTOBLASTOS.
GOMEZ de F. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3ª ed. México. Editorial Médica Panamericana. 2009

Los odontoblastos sintetizan la matriz orgánica de la dentina en dos niveles⁷:

- Deposición proximal, en la cual la secreción de la matriz ocurre adyacente al cuerpo celular, donde los componentes de la pre-dentina se posicionan.
- Adyacente a los fronts de mineralización.

El proceso de mineralización también es dependiente de los odontoblastos, pues liberan vesículas con fosfolípidos y fosfatasa alcalina, de los cuales depende la formación de los primeros cristales de hidroxiapatita. La mineralización de la dentina es heterogénea, por calcificación globular, resultando en fronts de mineralización o calcosferitos. Con el continuo crecimiento, los cristales de hidroxiapatita suelen fundirse, formando una masa mineralizada alrededor de las prolongaciones de los odontoblastos, dando un aspecto tubular a la



dentina. La porción de la papila que es envuelta por la dentina se transforma en pulpa dentaria⁷.

A medida que la formación dentinaria va ocurriendo, las células del epitelio interno del órgano del esmalte más cervicales van convirtiéndose en preameloblastos, evento que sigue de incisal a cervical. Cuando la formación de la dentina se acerca a la región cervical, las células del epitelio interno y externo del órgano del esmalte proliferan del ala, formando una doble capa de células, denominadas vaina epitelial de Hertwig. A la expansión de la vaina sigue la formación de la dentina radicular, mientras las células del folículo dentario más cercanas a la capa externa de la vaina se diferencian cementoblastos y comienzan a producir matriz orgánica del cemento⁷.

2.3 CELULAS MADRE ADULTAS. FORMACIÓN Y ERUPCIÓN DENTAL

En el transcurso del proceso de erupción y formación dental la diferenciación de células Madres osteoblásticas y osteoclasticas es absolutamente necesaria para controlar la sincronía de las fases a lo largo de la vía de erupción y su respectivo movimiento dental. Para crear la vía de erupción por resorción alveolar ósea activa es fundamental el reclutamiento de osteoclastos¹.

La diferenciación y proliferación de preosteoclastos pueden ser activadas por el factor estimulante de colonias 1 (CSF-1), el ligando del factor nuclear kappa (RANKL) y la osteoprotegerina (OPG)¹.

La activación de factores de transcripción específicos por medio de citoquinas y factores de crecimiento, estimulan la diferenciación a osteoclastos localizados en el periostio periférico al folículo dental que



permite inducir la osteogénesis durante la formación del periodonto. Asimismo, para la activación del osteoclasto, debe actuar el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL) (localizado en osteoblastos y células del estroma de la médula ósea) acoplado al receptor activador del factor nuclear kappa B (RANK) (localizado en preosteoclastos)¹.

Según Shiotani y colaboradores, la molécula RANKL se localiza en tejidos periodontales durante el movimiento experimental de molares en ratas. Esa expresión de RANKL se detectó en osteoblastos, osteocitos y fibroblastos, principalmente en el citoplasma, retículo endoplasmático rugoso, y membrana plasmática. El RANKL, se expresó en los osteoblastos del tejido periodontal, durante la erupción dental¹. Estos hallazgos sugieren un posible papel de RANKL en la diferenciación osteogénica de las células madres.

Se ha demostrado in vitro que el comportamiento de las células madres adultas está modulado por factores solubles liberados por las células óseas¹.

Lo anterior indica que el medio de cultivo de osteocitos estimula la proliferación de las CMM y su diferenciación a osteoblastos¹.

La proliferación y diferenciación de osteoblastos y osteoclastos a partir de células madres progenitoras mesenquimatosas y hematopoyéticas respectivamente son importantes en el crecimiento y el desarrollo postnatal controlado por factores solubles locales como; morfogenes, factores de crecimiento, citocinas, neuropéptidos y hormonas. Los factores de crecimiento estimulan la proliferación y diferenciación celular mediante la activación de receptores específicos en células blanco. La vía



de señalización del factor de crecimiento transformante (TGF) ocupa una posición central dentro de las vías de señalización desencadenadas por factores solubles que controlan el crecimiento, diferenciación y destino en las células¹.

Warner y colaboradores en el 2003, demostraron que la familia del TGF son reguladores críticos en el desarrollo orofacial de los mamíferos debido a diferencias de expresión por gradientes espaciotemporales en sitios tisulares específicos controlando la proliferación celular y crecimiento del tejido¹.

2.4 MOLÉCULAS DE SEÑALIZACIÓN IMPLICADAS EN LA DIFERENCIACIÓN Y REGENERACIÓN DENTAL

Los morfogenes, son señales secretadas a nivel extracelular, dirigiendo la morfogénesis durante las interacciones epitelio- mesénquima. Las vías de señalización morfogenética incluyen cinco clases de genes altamente conservados durante la evolución: proteínas morfogenéticas óseas (BMP), factores de crecimiento fibroblástico (FGFs), proteínas internas wingless (Wnts), proteínas Hedgehog (Hhs), y las moléculas de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF)¹.

La familia de las BMP, relacionada con la formación y erupción dental, están formadas por seis diferentes clases (BMP2 a BMP7) que son co-expresadas según gradientes temporo-espaciales. Diez miembros de la familia de las BMP's (BMP2, BMP4, BMP6, BMP7, BMP8), factor de crecimiento de diferenciación (GDF) 1, GDF5, GDF6, GDF7, GDF11 y factor neurotrófico derivado de línea celular glial (GDNF); han sido clonados de la pulpa de incisivos en ratas. La BMP4 sintetizadas por el epitelio, inducen al mesénquima hacia un linaje odontogénico, mientras



que la BMP2, BMP4 y BMP7 estimulan la expresión sostenida de enamulina e influyen a las células epiteliales y mesenquimatosas a inducir posteriormente la morfogénesis del epitelio. Así mismo, la BMP2, BMP4, BMP6, BMP7 y GDF11 se expresan durante la diferenciación de los odontoblastos; mientras que la BMP4 y BMP5 durante la diferenciación de los ameloblastos¹.

En las células de la pulpa dental, se expresan receptores transmembranales BMP tipo I y II con actividad serina treonina kinasa, que intervienen en los procesos de comunicación e interacción celular epitelio - mesénquima; estos permiten que las señales de las BMP's sean transducidas desde la membrana plasmática hacia el núcleo por medio de proteínas SMADS, receptor activador de Smads (R-SMADS), mediador común de Smads (Co- SMADS) e inhibidor de Smads (I- SMADS)¹.

Las BMP's originalmente fueron aisladas de matrices de hueso descalcificado; la utilización de BMP2 recombinante humana estimula la diferenciación in vitro de células pulpares indiferenciadas en odontoblastos en cultivos en monocapa y organotípicos establecidos en matrices tridimensionales¹.

Aún no está totalmente clara la regulación y la transición abrupta de células madres de un estado quiescente a uno activado en términos de proliferación, migración, diferenciación y secreción de la matriz, después de un daño en el tejido pulpar; el control de los mecanismos moleculares de estos diferentes morfogenes es necesario para elucidar el buen uso terapéutico en endodoncia regenerativa.



2.5 CARACTERIZACIÓN DE CÉLULAS MADRES EN EL COMPLEJO PULPODENTINAL

Una posible fuente de CMM se encuentra en la pulpa dental, este es un tejido conectivo de baja vascularidad rodeado por dentina, conformado por una población heterogénea de células como: odontoblastos, fibroblastos, células estromales, células endoteliales y perivasculares, las células nerviosas, entre otras; estas células mantienen la homeóstasis de los diferentes tejidos dentinales mineralizados¹.

La mayoría de las células pulpares son postmitóticas; sin embargo, algunas de estas células aún se dividen y forman capas de nuevas células pulpares con habilidad de diferenciación a odontoblastos y formación de dentina. Estas células, junto con los vasos sanguíneos se encuentran en matrices extracelulares creando un microambiente ideal para permitir procesos de reparación¹.

Diferentes estudios, han buscado definir el fenotipo de células madres mesenquimales de pulpa dental el crecimiento in vitro en comparación con CMM de médula, y su plasticidad in vitro por lo menos en tres tipos de células: osteoblastos, condroblastos y adipositos. Gronthos y col; caracterizaron estas células por medio de marcadores específicos de CMM y observaron su capacidad de autoregeneración, diferenciación a múltiples linajes y su capacidad clonogénica; hallando DPSCs capaces de formar dentina asociada con tejido pulpar in vivo. Iohara y colaboradores, por medio de la expresión de ARNm de Dentina sialofosfoproteína (Dsp) y metaloproteínas de la matriz 20 (MM20) confirmaron la diferenciación de DPSCs en odontoblastos al ser estimuladas por proteínas morfogenéticas óseas¹.



En el Instituto Unidad de Investigación Básica Oral (U.I.B.O) de la Universidad El Bosque, se está realizando un proyecto de investigación con el propósito de determinar la presencia de células madres en muestras de pulpa dental humana. La caracterización de estas células se realizan identificando la expresión de los marcadores CD 117, FGFR3, CD 90, STRO-1, CD34, CD44 y CD45 mediante inmunohistoquímica y citometría de flujo. Los resultados previos obtenidos demuestran la presencia de células precursoras en la pulpa dental, probablemente de la línea hematopoyética o mesenquimatosa¹.

Estos trabajos de investigación son el pilar fundamental para desarrollar nuevos tratamientos en el futuro basados en células madres. En efecto, existen varios ensayos clínicos con terapia celular basados en células madres que en este momento se efectúan en sujetos humanos.



CAPÍTULO 3

3.1 ENDODONCIA REGENERATIVA

Desde hace décadas, la endodoncia ha procurado lograr la regeneración o la sustitución de los tejidos dentarios. Pero la carencia de tecnología y la falta de potencial regenerativo de los tejidos dentarios enfermos, traumatizados o perdidos han dificultado el logro de estos objetivos.

A finales de 1960 se utilizaron los injertos de hueso esponjoso ilíaco para regenerar pérdidas en la furcación, dehiscencia y defectos periodontales intraóseos. Asimismo, varios años más tarde, la regeneración del tejido en el conducto radicular se observó después de una pulpectomía⁹.

Recientemente, algunos estudios demostraron el potencial que poseen los dientes con pulpa mortificada de revascularizarse después que la sangre, proveniente de una hemorragia de los tejidos periapicales y por consiguiente de una sobreinstrumentación rellene el conducto¹⁰.

Al respecto, los adelantos en el cultivo de células madre, realizados sobre bases apropiadas, seguramente permitirán a los endodoncistas en el futuro, realizar tratamiento para sustituir o regenerar el tejido pulpar enfermo, traumatizado o perdido.

Como consecuencia de los adelantos en el tratamiento endodóncico, se creó un campo nuevo: la Endodoncia Regenerativa. El éxito de los tratamientos regeneradores dependerá de la aceptación de los endodoncistas, la perspectiva de usar células madre y técnicas de ingeniería celular para regenerar tejidos dentarios, por lo que



la mayoría espera que estas terapias sean habituales en la próxima década.

3.2 PROCEDIMIENTOS ENDODÓNTICOS REGENERADORES

Los procedimientos endodónticos regeneradores son técnicas biológicas creadas para sustituir tejidos dentarios lesionados, incluida la dentina y las estructuras radiculares, así como el complejo dentino- pulpar.

La manera más simple de conseguir la regeneración del tejido pulpar sería la formación de una pulpa nueva sobre el tejido infectado o parcialmente mortificado. Sin duda, las alternativas de regenerar el tejido pulpar en estas condiciones han fracasado y se reconoce que el pronóstico de la protección de la pulpa infectada es malo, por ello no se aconseja. Cuando hay infección la supervivencia de la vitalidad de las células pulpares es baja y las pocas células madre de la pulpa que sobreviven parecen ser incapaces de producir regeneración. Como la mayoría de las pruebas científicas disponibles indican que la pulpa dental mortificada o infectada no repara, en un futuro próximo será imprescindible desinfectar el sistema de conductos radiculares y eliminar los tejidos duros y blandos infectados antes de emplear un tratamiento endodóntico regenerador⁸.

Para alcanzar lo anterior, debe conseguirse primero la desinfección, mediante la irrigación y la colocación de una medicación intraconducto, pasta de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina los cuales proporcionan acción bactericida contra patógenos endodónticos dentro del conducto radicular. Después de la desinfección, los siguientes



procedimientos endodóncicos regeneradores han sido contemplados por su posible potencial de éxito:

- a. Revascularización de la pulpa a partir de un coágulo sanguíneo dentro del conducto.
- b. Uso de la ingeniería de tejidos para formar la pulpa dental.
- c. Empleo de kit endodóntico regenerador.

Por otra parte, existen otras aplicaciones consideradas por sus resultados regenerativos. Estos se muestran a continuación en la siguiente figura (Figura 9).

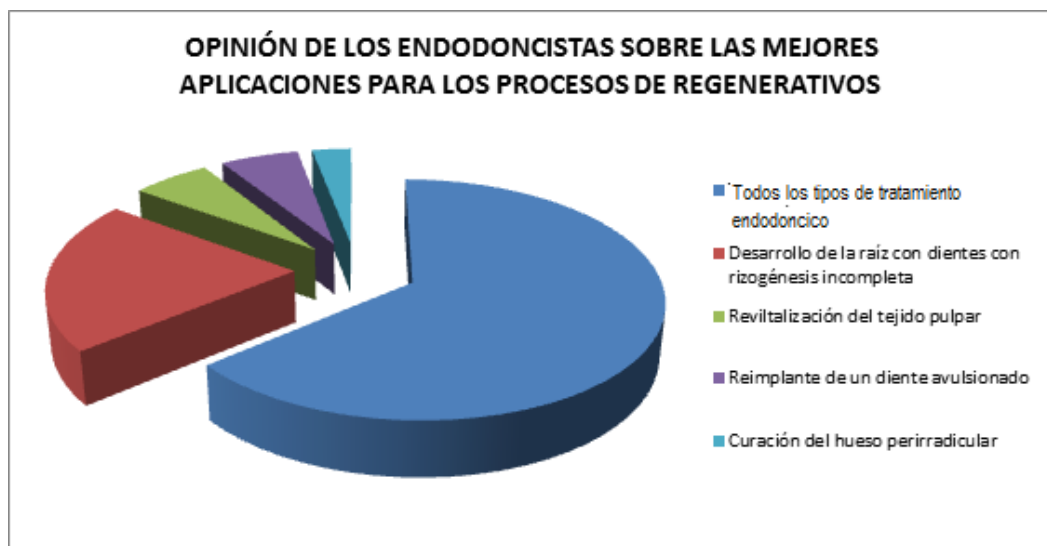


Figura 9. SOARES I. Endodoncia: Técnica y Fundamentos. Editorial Panamericana. Segunda Edición. 2012.



3.2.1 REVASCULARIZACIÓN PULPAR A PARTIR DE UN COÁGULO SANGUÍNEO DENTRO DEL CONDUCTO

La revascularización de dientes con mortificación pulpar después de la desinfección y el relleno del conducto con sangre proveniente de una hemorragia intencional en los tejidos periapicales se ha demostrado en diversas publicaciones⁸.

Un aspecto importante destacable en estos casos es el empleo de soluciones irrigadoras (hipoclorito de sodio y clorhexidina) y a continuación, la colocación de una pasta triantibiótica (por ejemplo, una pasta de ciprofloxacina, metronidazol y minociclina) por varias semanas⁸.

El concepto teórico es que la sangre que ocupa el espacio del conducto radicular genera una matriz (fibrina) que funcione como un soporte y el tejido local, lo que crearía condiciones de regeneración.

La Asociación Americana de Endodoncia creó un banco de datos para reunir información sobre la revascularización de la pulpa a partir de un coágulo sanguíneo. Los casos de revascularización señalan un futuro promisorio para este tratamiento, ya que es un procedimiento simple, fácil y de bajo costo. Pero aún es muy temprano para definir cuáles son los factores esenciales que contribuyen a su éxito. Es probable que los tres factores fundamentales sean:

- La desinfección del conducto radicular, ya que es bien conocida la afirmación de que la pulpa mortificada infectada no repara.



- La hemorragia a través del foramen debe ser suficiente como para posibilitar la formación del coágulo sanguíneo y dar soporte a la revascularización y a la formación de un nuevo tejido.
- La edad del paciente también es un factor importante, pese a no estar establecido con claridad el efecto positivo guarda relación con la mayor capacidad de reparación tisular en pacientes jóvenes.

3.2.2 INGENIERÍA TISULAR EN REGENERACIÓN PULPAR

Hace 30 años, se realizaron los primeros estudios de ingeniería tisular pulpar con la intención de revitalizar e inducir la formación de tejido duro en conductos radiculares de primates, mediante un gel colágeno de fosfato de calcio. En una serie de estudios en primates, se intentó la revascularización luego de la pulpectomía parcial y total. Los autores extirparon la pulpa de dientes de primates, colocaron un material de sustentación en el conducto radicular y comprobaron el crecimiento de tejido conjuntivo y la formación de tejido duro sobre las paredes dentinarias¹⁰.

Actualmente, el mayor logro en Endodoncia Regenerativa aparece al usar diversos tipos de células madre colocadas sobre andamios o estructuras tridimensionales las cuales a su vez se utilizan internos al sistema de conductos de los órganos dentarios¹⁰.

Sin embargo, existe también un argumento al desarrollo de la Endodoncia Regenerativa indica que aunque el remplazo de tejido pulpar tiene el potencial de revitalizar al órgano dentario, esto puede convertirse en un inconveniente que contribuya a la susceptibilidad de la enfermedad

pulpar, y eventualmente sea necesario realizar el tratamiento de conductos¹⁰.

La necesidad de un andamio, un suplemento vascular, factores de crecimiento, mecanismo de señal, migración celular y diferenciación fueron conceptos que se suscitaron sucesivamente durante la formación y el proceso regenerativo hasta desarrollarse como se conocen en la actualidad¹⁰. En la siguiente imagen observamos los factores involucrados en la Endodoncia Regenerativa (Figura 10):

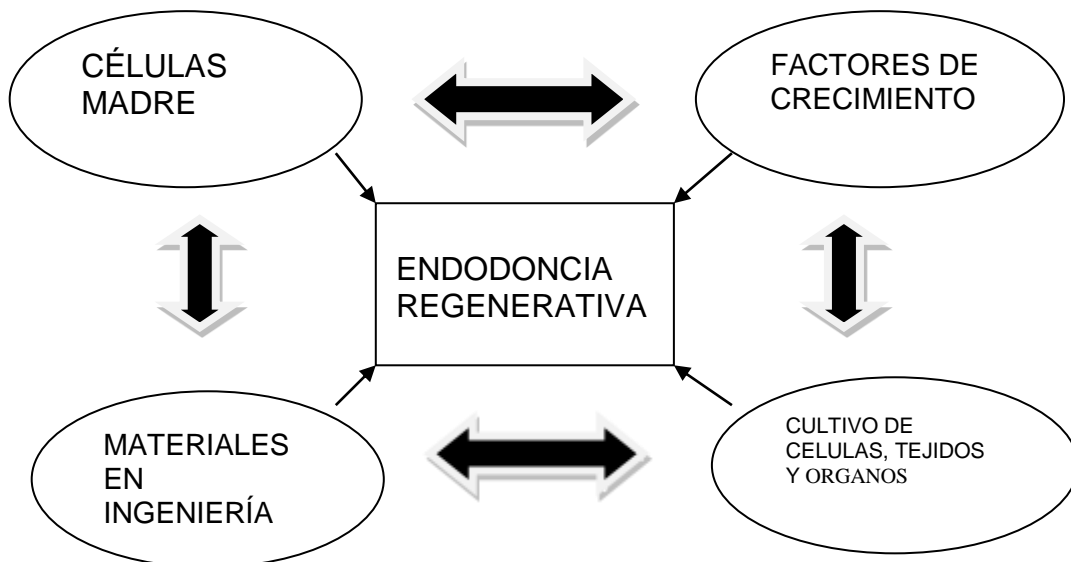


Figura 10. CUADRO DE FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA ENDODONCIA REGENERATIVA.
MURRAY P. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and Call for Action. Journal

3.2.2.1 CÉLULAS MADRE EN INGENIERÍA TISULAR ENDODÓNTICA

La células madre más prometedoras en la terapia de Endodoncia Regenerativa son las posnatales autólogas, debido a que estas presentan menos desventajas⁹.



Estas han sido encontradas en casi todos los tejidos del cuerpo, incluyendo los tejidos dentales.

Cuatro tipos de células madre dentales han sido aisladas:

- Células Madre del tejido pulpar (DPSC's)
- Células Madre de dientes exfoliados de humanos (SCHED)
- Células Madre de la papila apical (SCAP)
- Células Madre del Ligamento Periodontal (PDLSC)

Los odontoblastos son células que no pueden proliferar para remplazarse en lesiones irreversibles. La habilidad de los órganos dentales para responder a las lesiones mediante una inducción de dentinogénesis reparativa sugiere que una pequeña población de un progenitor competente de células madre pueden existir dentro del tejido pulpar, a su vez la información de dicho mecanismo pudiera ayudar a detectar y responder ante las lesiones dentales, y ser usada para el desarrollo de Ingeniería Tisular y terapias de Endodoncia Regenerativa⁹.

Las líneas de células madre son cultivadas en medios que contengan productos animales. El serumen fetal de bovino es un aditivo importante para el crecimiento celular, sin embargo, el potencial alergénico y la posibilidad de contaminación de dicho medio podría ser una barrera para el trasplante y como consecuencia, a la introducción de métodos de terapias celulares dentro de aplicaciones clínicas¹⁰.

La regeneración de tejido dental depende de la habilidad de células madre para producir proteínas en matriz extracelular encontradas en el



tejido pulpar. Sin embargo, no se sabe con claridad aún cuál es el tipo de fuente de células madre más potente y con mejor solución para la terapia regenerativa⁹.

Estudios han demostrado que las variaciones genéticas ocurren dentro de las diferentes fuentes de las mismas células y estas variaciones determinan su linaje hacia un destino en específico⁹.

Evidencia reciente sugiere que las células madre son localizadas en áreas con baja tensión de oxígeno⁹. A su vez, se ha demostrado que al cultivar progenitores en condiciones de hipoxia incrementa el número de clones multipotenciales en comparación a cultivos en condiciones normales¹⁰.

Éste fenómeno tal vez pueda describir clínicamente las situaciones en las cuales el tejido pulpar es afectado por estímulos nocivos propios de una exposición mecánica de la pulpa o de un trauma encaminadas a una isquemia localizada⁹.

Posteriormente, el puente de dentina secundaria que se forma debajo del sitio de la lesión es posiblemente el producto de la diferenciación de progenitores los cuales provienen del reservorio de células madre del tejido pulpar¹⁰.

Aún se requieren estudios posteriores para poder entender la reacción de DPSCs y su diferenciación molecular después de un tratamiento de hipoxia, el cual puede alterar mismo potencial⁹.



3.2.2.2 IMPLANTACIÓN DE ANDAMIOS EN ENDODONCIA REGENERATIVA

Para crear una terapia más práctica de Ingeniería de Tisular Endodoncia, las células madre del tejido pulpar deben ser organizadas dentro de las estructuras tridimensionales conocidas como Andamios las cuáles apoyan la organización y vascularización celular. Los Andamios contienen factores de crecimiento, del tejido pulpar; nutrientes, que promueven la supervivencia y crecimiento celular; y antibióticos que previenen el crecimiento bacteriano en el sistema de canales¹⁰.

En el sistema de conductos se plantea el uso de un Andamio Matriz, el cual es en sí, un polímero de hidrogel. Los hidrogeles son Andamios que pueden ser llevados mediante una jeringa. Tienen el potencial de no ser invasivos y de ser llevados fácilmente al sistema de conductos. En teoría, el hidrogel puede promover la regeneración pulpar mediante la proliferación de un sustrato celular y diferenciación dentro de una estructura de tejido organizado¹⁰.

Con el fin de desarrollar hidrogeles más prácticos, investigaciones buscan tener una presentación fotopolimerizable para formar estructuras rígidas una vez que han sido implantadas en su sitio.

3.2.2.3 FACTORES DE CRECIMIENTO

Los factores de crecimiento, especialmente aquellos de la familia (TGF_{β}), son importantes en la señalización celular de diferenciación y estimulación de matriz dentinaria. Estos factores de crecimiento son segregados por odontoblastos y depositados dentro de la matriz dentinaria, donde



permanecerán protegidos en activo para una interacción con otros componentes de la matriz dentinaria⁹.

Otra importante familia de factores tisulares en el desarrollo y regeneración del órgano dentario consiste en las proteínas morfogénicas óseas (BMP). Al recombinar con BMP2 se estimula la diferenciación de las células madre pulpares dentro de odontoblastoides morfológicos en el cultivo⁹.

Al recombinar BMP -2, -4, Y -7 se induce la formación de dentina reparativa in vivo⁹.

La recombinación de insulina humana como factor de crecimiento -1 junto con el colágeno ha demostrado la inducción completa del puente dentinario y la formación de dentina tubular. Esto indica el potencial de cálculo de los factores de crecimiento antes de la reconstrucción pulpar, o de incorporarlos dentro de los materiales endodónticos restaurativos para estimular la regeneración pulpar y dentinaria. En instancias posteriores, los factores de crecimiento en conjunto con las células madre posnatales pudieran realizar el reemplazo del tejido pulpar lesionado⁹.

3.2.3 EMPLEO DEL KIT ENDODÓNTICO REGENERADOR

Es probable que en el futuro los endodoncistas puedan disponer de un kit para terapia endodóntica regeneradora de la pulpa compuesto por instrumentos, medicamentos, soportes y factores de crecimiento que permitirá realizar el procedimiento en sus consultorios, sin la necesidad de derivar al paciente a un especialista en células madre⁸.



La colocación de un andamio o soporte que contenga factores de crecimiento atrae las células del propio paciente (autólogas) para regenerarla pulpa dental, lo que evita la posibilidad de rechazo y la transmisión de patógenos. En ese sentido, se necesitará hacer estudios clínicos en animales para evaluar el potencial de estas técnicas antes de que se les pueda recomendar para su aplicación generalizada en pacientes⁸.

La ingeniería de tejidos desconfía de la conformación del coágulo sanguíneo porque la concentración y la composición de las células localizadas en el coágulo de fibrina son imprevisibles. Es posible que las variaciones de concentración y la composición celular especialmente la de los pacientes adultos, pueden llevar a alteraciones en el resultado del tratamiento⁸. En la siguiente tabla observamos tres procedimientos (Tabla 11).



| Procedimientos | Revascularización del conducto radicular | Tratamiento de células madre | Kit Endodóntico Regenerador |
|----------------|--|--|--|
| Protocolo | <ul style="list-style-type: none">-Desinfectar el conducto con pasta triantibiótica.-Ampliar el foramen apical hasta alcanzar el mm para permitir que la sangra invada el contacto radicular vacío. | <ul style="list-style-type: none">-Desinfectar el conducto radicular.-Ampliar el foramen apical hasta alcanzar 1 mm para permitir que la sangre invada el conducto radicular vacío.-La células madre de la pulpa dental se siembran sobre el andamio de sustentación | <ul style="list-style-type: none">-Desinfectar el conducto radicular.-Ampliar el foramen apical hasta alcanzar 1mm para permitir que la sangre rellene el conducto radicular vacío.-Se injerta el andamio de sustentación, que contiene factores de crecimiento, en el conducto radicular. |
| | Tejido Pulpar Regenerado a partir del coagulo sanguíneo. | Tejido Pulpar Regenerado a partir de células Madre. | Los materiales de sustentación atraen a las células madre del huésped para generar nueva pulpa. |
| Desventajas | <ul style="list-style-type: none">-Fracaso en el caso de que persista la infección.-Regeneración lenta.-Informes de casos limitados | <ul style="list-style-type: none">-Procedimiento complejo.-Procedimiento costoso.-Ausencia de estudios clínicos. | <ul style="list-style-type: none">-Aún no disponible en el comercio.-Ausencia de estudios clínicos. |
| Ventajas | <ul style="list-style-type: none">-Buenas perspectivas de éxito en dientes inmaduros.-Bajo costo. | <ul style="list-style-type: none">-Regeneración rápida de la pulpa. | <ul style="list-style-type: none">-Potencialmente confiable.-Uso sencillo. |

Tabla 11. SOARES I. Endodoncia: Técnica y Fundamentos. Editorial Panamericana. Segunda Edición.



3.3 INFLAMACIÓN- REGENERACIÓN

Aunque se sabe mucho sobre ambos procesos de inflamación y regeneración, se presenta un error en muchos estudios debido a la tendencia de considerar estas entidades separadas en lugar de considerarlas como procesos afines. Los procesos inflamatorios son vistos como antagonistas de este mismo proceso lo que indica que la regeneración está ocurriendo. La inflamación resulta en una depresión del tejido, donde finalmente se desarrollan acciones regenerativas¹¹.

Sin duda, una inflamación incrementada puede impedir la regeneración, sin embargo, si la inflamación responde en menor grado, esto puede promover que los mecanismos regenerativos puedan incluir procesos angiogénicos de las células madre¹¹.

El factor limitante en ambos procesos es la localización de la lesión pulpar. Los estudios deben a su vez enfocarse en el desarrollo de materiales idóneos que serán capaces de dirigir el tejido pulpar hacia los túbulos dentinarios y regenerar tejido original sin limitar espacios en el sistema de conductos¹¹.



CAPÍTULO 4

4.1 LA INGENIERÍA TISULAR ENDODÓNCICA EN LA ACTUALIDAD

Actualmente se ha evaluado a fondo la capacidad de dos tipos de células madre, con y sin el agregado de factores de crecimiento, para generar un diente en la boca de ratones. Tras obtener la aprobación del Institute Animal Care And Use Committe (IACUC) de Nova Southeastern University se recolectaron células del germen dental de ratones SCID cb7 de 4 días de edad y se las sembró en soportes de polímero (BD Biosciences Franklin Lakes, N)⁸.

También se sembraron sobre lo soportes de células madre de pulpa dental humana, cultivadas en un medio de cultivo DMEM con suero de fetos de ternero termoinactivado al 10 % y antibióticos durante 7 días. En algunos de los “sistemas dentales” se les añadieron los siguientes factores de crecimiento: 100 mg/mL de factor derivado del estroma 1(SDF-1), proteínas morfogenéticas del hueso 7 (BMP-7) y β glicerol-fosfato (β -GP) en una solución neutralizada de 2 mg/mL de colágeno de 1- de cola de rata (R&D, Minneapolis, MN)⁸.

Después de cultivar los sistemas dentales, se les implantó quirúrgicamente en cavidades creadas en la boca de ratones SCID cb7 de 60 días de edad durante 60 días, conforme a los requisitos de biocompatibilidad y eficacia ISO 7405 y 109993. La intervención se llevó acabo con anestesia general. A final del estudio de animales les fueron sacrificados y se fotografiaron los dientes⁸.



Se comprobó que las células madre de la pulpa dental humana no consiguieron regenerar dientes completos en los ratones, ni siquiera en los sistemas con factores de crecimiento. Las células madre del germen dental, en cambio, permitieron regenerar dientes completos funcionales con y sin factores de crecimiento⁸.

Se llegó a la conclusión de que las células madre de gérmenes dentales pueden regenerar dientes, pero su recolección a partir de niños recién nacidos es impracticable por motivos éticos. Lamentablemente, las células madre obtenidas de dientes humanos no regeneraron dientes en los ratones SCID cb7⁸.

El éxito de la regeneración dental a partir de células madre en los seres humanos dependerá de la capacidad de los investigadores de reprogramar las secuencias del núcleo celular para crear células madre pluripotentes inducidas seguras, con propiedades similares a las células madre del germen dental de ratones y seres humanos⁸.

A continuación se muestra una imagen descriptiva de las diferentes técnicas de Ingeniería tisular en Endodoncia utilizadas en la actualidad, así como sus ventajas y desventajas respectivamente (Tabla 12).

| | | | |
|--|---|---|---|
| <p>Revascularización del canal: Se realiza apertura hacia 1 mm posterior al apice.</p> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Riesgo mínimo de reacción inmune. -Riesgo mínimo de transmisión patógena. | <ul style="list-style-type: none"> -Riesgo Potencial de necrosis si el tejido se vuelve a reinfectar. |
| <p>Terapia de células madre: Las células madre autólogas o alogénicas son llevadas al diente mediante una matriz inyectable.</p> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Técnica rápida. -Dolor mínimo. -La células son de fácil cultivo. | <ul style="list-style-type: none"> -Baja sobrevida celular. -Alto riesgo de complicaciones. Las células no producen nuevo tejido pulpar funcional. |
| <p>Implante Pulpar: Tejido pulpar es desarrollado en el laboratorio e implantado quirúrgicamente.</p> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Los pliegos celulares son de bajo crecimiento. -Poseen una mayor estabilidad que la terapia por inyección. | <ul style="list-style-type: none"> -Deben poseer una ingeniería avanzada para rellenar el canal de forma precisa. |
| <p>Andamio Implantado: Las células pulpares son sembradas dentro de andamios 3-D realizados de polímeros e implantados quirúrgicamente.</p> |  | <ul style="list-style-type: none"> Algunos materiales pueden promover una vascularización. -Existe un soporte estructural debido a la organización celular. | <ul style="list-style-type: none"> -Baja sobrevida celular después de la implantación. -Deben ser modificadas para rellenar el canal de forma precisa. |
| <p>Células 3-D: Son Implantadas en un hidrogel, el cual a su vez es llevado quirúrgico.</p> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Varios tipos de células pueden ser colocados de forma precisamente. | <ul style="list-style-type: none"> -Deben ser colocados de forma precisa en el canal. |
| <p>-Andamios Inyectables: Hidrogeles polimerizables contienen suspensión celular y son llevadas por inyección.</p> |  | <ul style="list-style-type: none"> -Pueden crear un sustituto por matriz extracelular. | <ul style="list-style-type: none"> -Baja sobrevida celular. -Control limitado por formación fuera de tejido. |

Tabla 12. MURRAY P. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and Call for Action. Journal of Endodontics. 2008. Pp 377- 390.



Dentro de los factores principales que se mantienen en exhaustiva investigación, se encuentran los materiales utilizados como andamios, teniéndose como objetivo principal, encontrar el material que presente la mayor cantidad de ventajas y sirva como coadyuvante en la regeneración tisular.

En una investigación reciente se tuvo como propósito de estudio la comparación de tres diferentes tipos de andamios, así como su capacidad de inducir la proliferación de tejido pulpar humano¹⁷. Para ellos, se utilizaron dientes humanos de la dentición permanente, los cuales fueron extraídos y obtenidos de forma inmediata. A su vez se usaron tres tipos de andamios¹⁷:

- A) Ácido poliláctico
- B) Colágeno bovino
- C) Biocerámico de Fosfato de Calcio

A continuación se muestran los andamios en una vista histológica respectivamente (Figura 13).

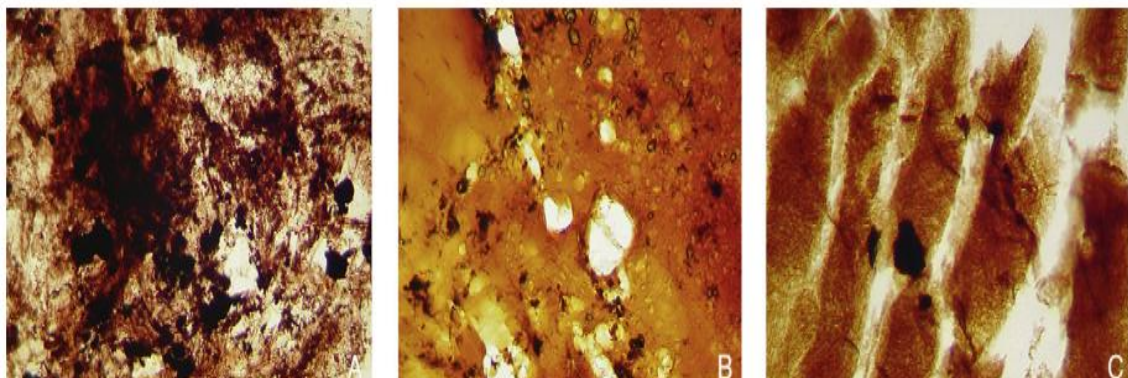


Figura 13. CHANDRAHASA S. Proliferation of Mature Ex Vivo Human Dental Pulp Using Tissue Engineering Scaffolds. 2012. Pp 1236- 1239.



Los andamios se colocaron de forma directa en la pulpa dental, y se mantuvieron en observación los días 7, 14, 21 y 30, posteriores a la colocación. Se utilizó rojo-neutro como tinte en el cultivo para mantener las células metabólicamente activas¹⁷.

Posteriormente, se contaron las células proliferativas por unidad, próximas al andamio implantado de acuerdo al criterio de ISO¹⁷.

Como resultado, en la proliferación de células pulpares se observó un fenotipo fibroblástico. Sin embargo, no se observaron fenotipos odontoblasticos. El rango de proliferación vital en las células pulpares fue de 1.305 células por día en el andamio biocerámico de fosfato de calcio, comparado con 7.195 (el rango se elevó en un 551%) en el andamio de colágeno bovino y 13.885 (el rango se elevó en un 1.064%) en el andamio de ácido poliláctico¹⁷.

Por tanto, se llegó a la conclusión de que el rango de proliferación vital de células pulpares depende de la composición química de cada andamio utilizado, en cuyo caso, el ácido poliláctico mostró los mejores resultados¹⁷ (Figura 14).

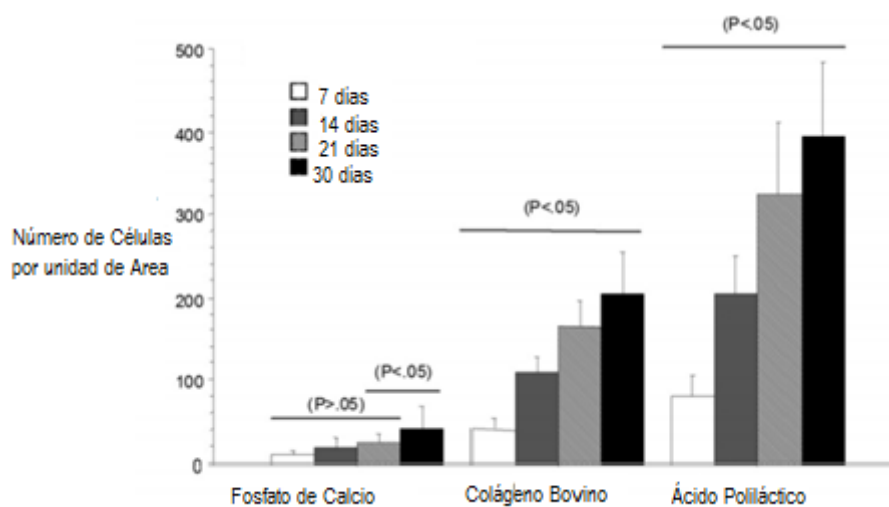


Figura 14. CHANDRAHASA S. Proliferation of Mature Ex Vivo Human Dental Pulp Using Tissue Engineering Scaffolds. 2012. Pp 1236- 1239.



Aunado a los factores que constituyen la triada de la Ingeniería Tisular, investigaciones recientes se han interesado también por el estudio de componentes que propicien un mejor medio proliferativo de células madre.

Al respecto, se realizó un estudio comparativo en el que se utilizaron 16 dientes premolares superiores de 4 perros Beagle respectivamente, los cuales habían recibido tratamiento de pulpectomía con una apertura apical a #80²³.

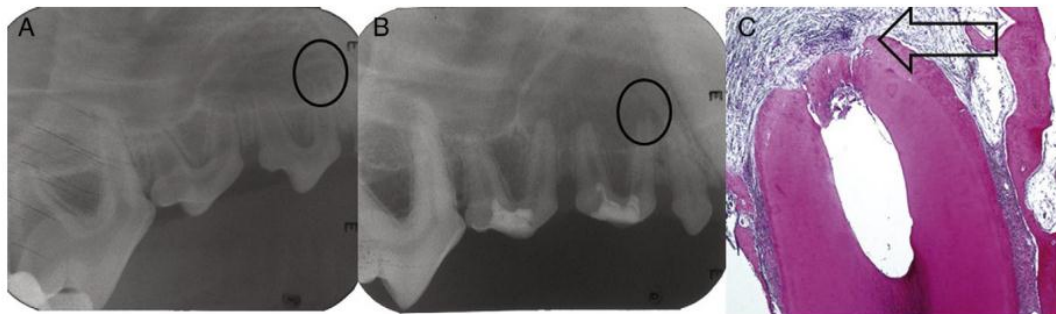
Se desarrollaron 4 grupos comparativos diferentes:

- Uso de un coagulo sanguíneo como factor regenerativo
- Células madre del tejido pulpar
- Plasma rico en plaquetas
- Una combinación de plasma rico en plaquetas y células madre del tejido pulpar

Doce semanas posteriores a los trasplantes de cada grupo se observaron los resultados histológicos y radiográficos. En la Figura 15 se observan las características encontradas en la examinación²³.

A su vez, se observó que 24 de 32 conductos experimentales utilizados en la investigación obtuvieron una ganancia de nuevo tejido. Todos los conductos con una inducción de coagulo sanguíneo mostraron una formación de tejido vital debida a las células madre autólogas que fueron

generadas durante el procedimiento . Sin embargo no se observó una diferencia notable entre dicho grupo y en los que se realizó una implantación de células madre y plasma rico en plaquetas²³.



A) Radiografía Preoperatoria. B) Doce semanas posteriores al procedimiento endodóntico, se detectó una zona radiolúcida periapical en el segundo premolar superior. C) En la examinación histológica se mostró una infiltración celular inflamatoria y pérdida ósea alrededor del ápice.

Figura 15. XIAOFEI Z. Transplantation of Dental Pulp Stem Cells and Platelet- rich Plasma for Pulp Regeneration. Journal of Endodontics. 2012. Pp. 1604- 1609.

Como conclusión de esta investigación es preciso mencionar la importancia de los factores coadyuvantes que permitan el desarrollo óptimo de la proliferación celular; aunque el plasma rico en plaquetas mostro tener diversos factores de crecimiento y al mismo tiempo funcionar como andamio no proporciona el medio ideal para mejorar las condiciones ya mencionadas²³.

Por último, cabe mencionar que dentro de las diversas ventajas que pudiera ofrecer la terapia regenerativa de la Ingeniería Tisular Endodóncica se han desarrollado investigaciones relacionadas a la regeneración en perforación ya sea de furca o en perforación de conductos.

Una de esas investigaciones se dio a la tarea de utilizar la triada o “concepto diamante” que constituyen en conjunto a la Ingeniería Tisular y se llevaron a perforaciones simuladas en ratones los siguientes elementos¹⁸.

- Colágeno (andamio)
- Proteína- 1 de la matriz de la dentina (factor de crecimiento)

Después de seis semanas, las perforaciones fueron evaluadas mediante un microscopio de luz. Una organización de nuevo tejido pulpar se observó en cada área en donde se habían colocado los materiales antes mencionados¹⁸ (Figura 16).

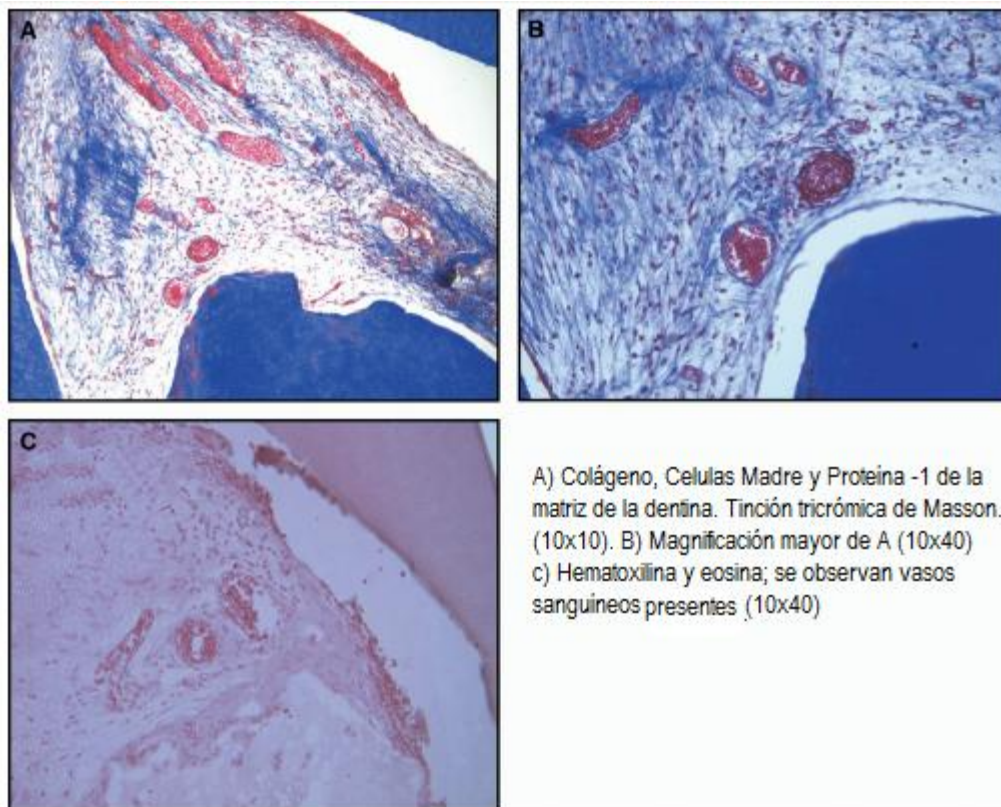


Figura 16. PRESCOTT. In vivo Generation of Dental Pulp- like Tissue by Using Dental Pulp Stem Cells, a Collagen Scaffold, and Dentin Matrix Protein 1 and Subcutaneous Transplantation in Mice. Journal of Endodontic.2009. Pp 421- 426.

Por tanto, se concluyó en dicha investigación que el uso de los factores correspondientes favoreció a la inducción de una matriz organizada similar al tejido pulpar, la cual condujo posteriormente a la formación de tejido duro¹⁸.



4.2 RETOS FUTUROS

Los avances Endodóncicos, llevados a cabo en Ingeniería Tisular y los logros obtenidos, hacen pensar que con el tiempo, todo aquello que se pretendía podrá ser posible. No obstante, hoy en día, son muchos los aspectos que quedan por mejorar. Por un lado resulta fundamental elevar la calidad y biocompatibilidad de los materiales y las propiedades de las células, de modo que los sistemas terapéuticos desarrollados sean más duraderos.

Así mismo, es necesario mejorar las condiciones de cultivo de las líneas celulares y su producción a media escala, con el objeto de que esta tecnología llegue a un mayor número de pacientes. Es también una prioridad investigar en el campo de las células madre, llevando a cabo más estudios experimentales que refuercen el conocimiento de los investigadores especialmente en el área de la diferenciación celular. Y por último, es necesario desarrollar una producción a escala que asegure unas condiciones de bioseguridad y esterilidad adecuada.



DISCUSIÓN

La ingeniería tisular es el reto más grande de un programa regenerativo. Aunque, sin duda una de las dificultades presentes en la Ingeniería Tisular Endodóncica se debe a que el tejido pulpar posee dimensiones menores en relación a otros tejidos del cuerpo humano. Por lo tanto, la idea de una regeneración de tejido pulpar en un diente se ha convertido en un proyecto de consideración entre otras investigaciones odontológicas. La regeneración de tejido en el sistema dentino - pulpar debe contener las siguientes cualidades:

- Propiciar una revascularización.
- Poseer una densidad celular similar y una arquitectura de las Células Madre.
- Dar origen a una nueva línea de odontoblastos.
- Producir nuevas matrices de dentina mineralizadas e innervadas.

El desarrollo de la Ingeniería Tisular en Endodoncia es un aspecto interesante en su totalidad, con un largo número de estudios desarrollados durante muchos años atrás. Aunque, aún no ha sido capaz de permitir procedimientos clínicos rutinarios en animales o humanos.

La manufactura debe ser capaz de producir materiales, sintéticos y biológicos, que sean fiables y seguros. Al expandir una población celular se debe considerar la posibilidad de una inestabilidad genética, por lo que



un mejor entendimiento del complejo dentino- pulpar, es posible dirigirse a una exitosa era de desarrollo en el aprovechamiento de ingeniería celular.

A la vez, que han aparecido otros retos como resultado de un largo número de estudios que involucran células madre, factores de crecimiento, y progresivamente una reparación y regeneración tisular. Un aspecto interesante de dichos retos es la necesidad de producir una revascularización, la cual no ha sido estudiada por completo y ha dado lugar a diversas dudas.

Sin embargo, los componentes citados anteriormente involucrados en la Ingeniería Tisular Endodóncica junto con una adecuada vascularización pueden convertirse en un óptimo conjunto que produzca una reparación y regeneración del complejo dentino - pulpar.

Los Endodoncistas tienen en la actualidad un rango mayor a 90 % de éxito, pero, existe un mayor rango de pacientes con implantes-restaurativos coronales que procedimientos con tratamiento de conductos. Por lo tanto, de acuerdo a lo anterior existe una necesidad de las especialidades clínicas en odontología para llegar a un acuerdo en una fórmula de estándares definitivos que permitan a los endodoncitas exitosos tratamientos y retratamientos en sistemas de conductos, a los prostodoncistas el desarrollo de materiales que involucren restauraciones pertinentes, y a los periodoncistas la habilidad de colocar implantes cuando estos sean necesarios.

El desarrollo de la Ingeniería Tisular en Endodoncia puede propiciar en instancias futuras que procedimientos como las extracciones y la colocación desmedida de implantes no sean necesarios, ya que con el



tiempo, la Ingeniería Tisular en Endodoncia Regenerativa pudiera convertirse en un procedimiento de gran éxito.



CONCLUSIONES

- La Ingeniería Tisular es una ciencia en continuo desarrollo que presenta innumerables posibilidades terapéuticas.
- Las terapias regeneradoras en Ingeniería Tisular Endodóncica pueden llegar a ser una realidad como tratamiento en años futuros.
- Los endodoncistas podrían mirar hacia el futuro otra alternativa que les permita satisfacer la necesidad de los pacientes de tener nuevamente sus dientes sanos.
- El desarrollo de dichos procedimientos exigirá investigaciones extensas que permitan ofrecer una técnica segura y confiable.
- Es preciso establecer un estándar de los protocolos que pudieran ser utilizados como tratamiento regenerativo en la Ingeniería Tisular Endodóncica, debido a las discrepancias existentes en el mejor desarrollo de la aplicación terapéutica.
- La evaluación de los paradigmas costo-beneficio es de suma importancia para que esta técnica pueda llevarse a la práctica cotidiana, puesto que los materiales empleados juegan un rol muy importante en dicha terapia.



BIBLIOGRAFÍA

1. MUNÉVAR N. Aspectos celulares y moleculares de las células madres involucrados en la regeneración de tejidos con aplicaciones en la práctica clínica odontológica. Rev Acta Odontológica Venezolana. 2009.
2. FALKE F. Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando Ingeniería Tisular. Rev Arch. Argent. Pediatr. 2009; (2).
3. FORRIOL F. Ingeniería tisular: aplicación de las células troncales pluripotenciales en cirugía ortopédica y traumatológica. Rev Trauma. Vol. 19. No 2. 2009. 101.
4. BETANCOURT K. Uso de células madre en el complejo bucofacial. Rev Arch med Camaguey. Vol 16. 2012.
5. ROSALES R. Ingeniería Tisular en Odontología. Rev ADM. 2012. Pp 164-167.
6. GOMEZ de F. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3ª ed. México. Editorial Médica Panamericana. 2009.
7. ESTRELA C. Ciencia Endodóntica. 1ª Edición. Editorial Panamericana. 2002.
8. SOARES I. Endodoncia: Técnica y Fundamentos. Editorial Panamericana. Segunda Edición. 2012.
9. DEEPAK. B. Tissue Engineering. Is it the future of Endodontics? People's Journal of Scientific Research. 2011. Pp 73-83.



10. HARI. K. Regenerative endodontics. Indiana Journal of dental advancements. 2010. Pp 203-209.
11. BERLI D. Tissue Engineering Using Adult Stem Cells. Methods in Enzymology. 2009. 287- 302.
12. MISAKO N. The Application of Tissue Engineering to Regeneration of Pulp and Dentin in Endodontics. Pp. 495- 520
13. Zhang L. Review scaffold design and stem cells for tooth regeneration. Elsevier. 2012.
14. ORAPIN V. Stem Cell and Biomaterials Research in Dental Tissue Engineering and Regeneration. Elsevier. 2012. Pp. 14- 26.
15. YUANYUAN W. Preliminary Study on Dental Pulp Stem Cell-mediated Pulp Regeneration in Canine Immature Permanent Teeth. Journal of Endodontics. 2013. Pp. 195- 201.
16. NUSSENBAUM B. The role of gene therapy for craniofacial and dental tissue engineering. Elsevier. 2009.
17. CHANDRAHASA S. Proliferation of Mature Ex Vivo Human Dental Pulp Using TissueEngineering Scaffolds. 2012. Pp 1236- 1239.
18. PRESCOTT. In vivo Generation of Dental Pulp- like Tissue by Using Dental Pulp Stem Cells, a Collagen Scaffold, and Dentin Matrix Protein 1 and Subcutaneous Transplantation in Mice. Journal of Endodontic.2009. Pp 421- 426.
19. MALHOTRA N. Current Strategies and Applications of Tissue Engineering in Dentistry- A Review Part 2, Dental Update. 2009. Pp 639- 646.



20. MARTÍNEZ J. Regeneración Tisular Guiada. Revista Nacional de Odontología México. 2009. Año 1. Vol. I. Pp. 17-21.
21. RENDÓN J. Células madre en odontología. Rev. CES Odont. 2011. Pp 51-58.
22. JORGENSEN C. Tissue engineering through autologous mesenchymal stem cells. Elsevier. 2004. Pp 406- 410.
23. XIAOFEI Z. Transplantation of Dental Pulp Stem Cells and Platelet- rich Plasma for Pulp Regeneration. Journal of Endodontics. 2012. Pp. 1604- 1609.
24. NOZOMU Yamauchi. Tissue Engineering Strategies for Immature Teeth with Apical Periodontitis. Journal of Endodontics. 2011. Pp. 390- 397.
25. FALKE F. Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando ingeniería tisular. Arch. Argent. Pediatr. 2000. Pp 103-115.
26. MURRAY P. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and Call for Action. Journal of Endodontics. 2008. Pp 377- 390.
27. FABRES C. Técnicas del future: Ingeniería de tejidos y uso de células madre en medicina reproductiva. Rev. Med. Clin. Condes. 2010.
28. ESTRADA C. Ingeniería de Tejido Óseo: Consideraciones Básicas. Revista EIA, ISSN. 1794- 1237. Número 5. Junio 2009.



29. Matías G. Ingeniería tisular y medicina regenerativa en cirugía pediátrica. Rev. Chilena de Cirugía. Vol. 63. 2011. PP 635- 640.
30. Minoru. U. Nueva Técnica de tejidos periodontales con células madre mesenquimales y plasma rico en plaquetas mediante tecnología de ingeniería tisular: Caso clínico. Revista Internacional de Odontología Restauradora & Periodoncia. Pp. 371- 377.