



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MEDICINA REGENERATIVA APLICADA A LA
ODONTOLOGÍA.

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:

LUIS ÁNGEL NAVARRETE CHÁVEZ

TUTORA: Dra. LAURA ESTHER VARGAS ULLOA

ASESORA: Esp. LUZ DEL CARMEN GONZÁLEZ GARCÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2017



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.

Agradezco primeramente a Dios por permitirme estar en éste mundo y hacer posible que el ser humano pueda adquirir éste conocimiento, pues un sabio rey ya lo dijo antes: “Lo que fue, eso será, y lo que se hizo eso se hará; no hay nada nuevo bajo el sol”.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de realizarme como profesionista y como persona por tantos años.

Agradezco la colaboración del equipo de Medicina Regenerativa de la UNAM: Dra. Laura Esther Vargas Ulloa, Esp. Luz de Carmen Gozález García, Esp. Margarita Vitoria Garduño, Esp. Paulina Ramírez Ortega, Esp. Rolando González López. Dra. Martha Patricia Oropeza Murillo Muchas gracias por su apoyo en esta tesina.

Agradezco infinitamente a mis padres que son la parte más importante en mi vida, los pilares de estas ruinas que a pesar de todo siempre están de pie y nunca los derriba nada; pues a las dificultades de todo tipo siempre me sacan adelante y me dan fuerzas para seguir, palabras y consejos sabios me acompañan siempre para poder llegar a tener la sabiduría que me regalan y me hacen tomar una dirección en mi vida, solo espero poder algún día llegar a acercarme un poco a ser un padre como los que tengo.

Agradezco a mis dos hermanos por todos los consejos y apoyo que me han brindado, me han instruido para prevenir errores en mi crecimiento y me han enseñado a desarrollar talentos que nunca me imaginé que tuviera; mis compañeros de escudo y espada que siempre sé que estarán ahí cuando los necesite.

Agradezco a mis pocos amigos, siempre he aprendido de ellos y han cambiado un poco mi forma de ver la vida, han sido un gran apoyo para que pueda concluir con mi carrera; que el ella infinidad de historias que nos han hecho crecer juntos.

Agradezco a todos mis mentores que me han dejado el conocimiento para poder realizar de una manera excelente mi profesión, pero agradezco más a ellos que no sólo me han enseñado ciencia; si no como ser mejor persona es admirable encontrar seres humanos siempre traten de ser excelentes en todos aspectos, he tenido pocos, pero son los que siempre voy a tomar de ejemplo, gracias, Esp. Luz del Carmen, Dra. Laura Ulloa, Esp. Margarita Victoria Garduño, Esp. Paulina Ramírez Ortega, Mtra. Olivia Espinoza, Esp. Víctor Casanova, Esp. Leonardo Reyes; “Hay plumajes que cruzan el pantano y no se manchan”.

A todos ellos.... gracias totales.

Glosario de términos.

(TOM): Trasplante de medula ósea.

(CMH): Célula hematopoyética.

(MCI): Masa celular interna.

(CMA): Células indiferenciadas adultas.

(IPS): Células pluripotenciales inducidas.

(ANTI-OAR): Reprogramación asistida del ovocito.

(CAD): Computer aided desing.

(PLA): Ácido poliláctico.

(PCL): Policaprolactona.

(PGA): Ácido poliglicólico.

(MSC): Células madre mesenquimales.

(VEGF): Factor de crecimiento endotelial vascular.

(DPSC): Células madre pulpares.

(PDLSC): Células madre del ligamento periodontal.

(SHED): Células madre de dientes exfoliados.

(SCAP): Células madre de la papila dental.

(DFPC): Células madre del folículo dental.

(maGsCs): Células madre germinales multipotenciales adultas.

(TGF- β): Factor de crecimiento

(Wnts): Factor de crecimiento.

(TGF- β -RII SIRNA): Small interferents RNA.

(FGFR2): Gen receptor tipo II del factor de crecimiento fibroblástico

(VSV-G): Pseudotipo de inmunodeficiencia felina.

Epimorfosis: El proceso por el que se recupera la estructura y la función de órganos o partes del cuerpo dañados.

Morfolaxis: Regeneración que involucra la transformación de partes del cuerpo o tejidos existentes en estructuras nuevas, esta reorganización del patrón está acompañado de un crecimiento nuevo limitado.

Xenopus: Un género de ranas carnívoras de la familia Pipidae naturales de África.

Aneuploides: Es una mutación cromosómica de tipo numérica que altera parte del juego cromosómico, es decir, la célula con esta mutación presenta cromosoma/s de más o de menos.

Androgenotes: El producto de la partenogénesis, desarrollo del ovulo fecundado.

Partenote: Es el producto de la partenogénesis, es decir, del desarrollo de un óvulo sin fecundar. Según la modalidad, la partenogénesis origina exclusivamente hembras.

Morfógeno: Es una sustancia que gobierna el patrón del desarrollo tisular y, en particular, las posiciones de varios tipos de células especializadas dentro de un tejido.

Partenote: Producto de la partenogénesis, es decir, del desarrollo de un óvulo sin fecundar.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	12
OBJETIVO	13
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES DE LA MEDICINA REGENERATIVA	14
1.1. Historia de las células madre	14
1.2. Cronología Histórica de la investigación de las células madre	16
1.3. Cronología Histórica de la investigación en la Regeneración	17
1.4. Historia de la medicina regenerativa	19
1.5. Gurdon y Dr. Shinya Yamanaka. (Reprogramación genómica como la base de la Medicina Regenerativa del futuro)	20
CAPÍTULO 2. GENERALIDADES	22
2.1. Células Madre Troncales	22
2.2. Clasificación de las células de acuerdo a su potencial de diferenciación Células madre totipotenciales	23
2.3. Las células troncales pluripotentes inducidas (Induced Pluripotent Stem Cells)	24
2.4. Desarrollo embrionario	25

2.4.1. Primeros estadios de desarrollo	25
2.4.2. Odontogénesis: desarrollo embrionario del complejo Dentinopulpar	26
2.4.2.1. Estadio primordio, botón o brote dental	26
2.4.2.2. Estadio de casquete	27
2.4.2.3. Estadio campana	28
2.4.2.4. Formación de la raíz	31
2.4.2.5. Vascularización e inervación durante el desarrollo embrionario	31
2.4.2.6. Desarrollo de los tejidos periapicales del diente (cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar)	32
2.4.2.7. Formación del cemento	33
2.4.2.8. Formación del hueso alveolar	33
2.4.2.9. Formación del ligamento periodontal	33
2.5. Órganos dentales	33
2.5.1. Componentes mineralizados	34
2.5.2. Histología del complejo dentinopulpar	34

2.5.2.1. Esmalte	34
2.5.2.2. Dentina.....	35
2.5.2.3. Dentina intertubular.....	36
2.5.2.4. Pulpa Dental.....	37
2.6. Cemento.....	39
2.7. Hueso alveolar.....	40
2.8. Estructura histológica del tejido óseo.....	41
2.9. Ligamento periodontal.....	42
CAPÍTULO 3. MEDICINA REGENERATIVA.....	44
3.1. Medicina Regenerativa.....	44
3.2. Terapia celular.....	44
3.2.1. Obtención de células madre.....	45
3.2.2. Técnicas de células madre en desuso.....	47
3.2.2.1. Obtención de células madre o similares a partir de embriones descongelados muertos.....	47
3.2.2.2. Obtención de células madre embrionarias a partir de embriones muy jóvenes.....	48

3.2.2.3. Creación de estructuras biológicas pseudoembrionarias por Transferencia nuclear somática alterada (ATN) a partir de las cuales se puedan obtener células similares a las embrionaria	49
3.2.2.4. Creación de estructuras biológicas psudoembrionarias por transferencia nuclear somática alterado con reprogramación asistida del ovocito (ANT-OAR).....	49
3.2.2.5. Creación de estructuras biológicas pseudoembrionarias por fusión de las células somáticas adultas genéticamente modificadas con células madre embrionarias	50
3.2.2.6. Obtención de células madre a partir de pseudoembriones	50
3.2.2.7. Obtención de células madre similares a la embrionarias a partir de células germinales.....	51
3.2.3. Técnicas actualmente en uso	51
3.2.3.1. Obtención de células similares a las células madre embrionarias por reprogramación directa de células somáticas adultas.....	51
3.2.3.2. Obtención de células mesenquimales derivadas de los dientes.....	52
3.2.4. Formas terapéuticas celulares.....	53
3.2.5. El microambiente de las células madre.....	54
3.2.6. Aplicación de las células madre dentales.....	56

3.3. Terapia génica	56
3.4. Ingeniería de tejidos (Bio-fabricación)	59
3.4.1. Materiales utilizados como andamios	60
CAPÍTULO 4. MEDICINA REGENERATIVA APLICADA A LA ODONTOLOGÍA	66
4.1. Terapia celular y odontología	66
4.2. Obtención de células mesenquimales derivadas de los dientes	67
4.3. Tipo de células madre	68
4.3.1. Células madre de la pulpa dental, DPSC (Dental Pulp Stem Cells)	68
4.3.2. Células del ligamento periodontal, PDLSC (Periodontal Ligament)	69
4.3.3. Células madre de dientes temporales exfoliados, SHED (Stem Cells from)	70
4.3.4. Células madre de la papila dental, SCAP (Stem Cells from the Apical Papilla)	72
4.3.5. Células madre del folículo dental, DFPC (Dental Follicle Precursor Cells)	72
4.4. Terapia con células madre	75

4.5. Terapia Génica aplicada a la odontología	78
4.6. Bioingeniería aplicada a la odontología	84
CONCLUSIONES	86
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

I NTRODUCCION.

A través de la historia, el ser humano se ha enfrentado a una serie de circunstancias dentro de su propio entorno que atentan contra su propia existencia y que lo han llevado a aplicar su conocimiento adquirido a través de la observación para sortear dichos retos, como el complejo acto de caza, hasta el desarrollo sistemático de la agricultura para alimentarse; desde el vivir expuesto a los cambios climáticos, hasta el buscar un refugio para poder protegerse de la naturaleza y el desarrollo de viviendas temporales, para el mismo propósito como tiendas; desde el hecho de pensar en la enfermedad y la muerte como una consecuencia inevitable del capricho de los dioses, hasta el desarrollo de curas para tratar de erradicar enfermedades infecciosas.

Hoy en día, el ser humano lucha para tratar de corregir y cambiar la historia natural de enfermedades genéticas, congénitas, adquiridas o traumáticas y degenerativas. Esto ha despertado el interés por otros conocimientos y otras ciencias que van más allá de la física, que le permitan sobrevivir y tener una mejor calidad de vida.

En los últimos 50 años, el ser humano se ha percatado que todas las disciplinas científicas son afines entre sí, haciendo uno el conocimiento. Asimismo, ha podido desarrollar o crear cosas, acciones que pensaba que estaban fuera de la realidad o que eran parte del campo de la ciencia ficción; del caso de la Medicina Regenerativa, una disciplina que conjuga conocimientos de Biología celular y Molecular, Genética, Medicina y Odontología, Ingeniería y Bioquímica, entre otros.

En la investigación científica han hecho posible restaurar, regenerar y crear modelos anatómicos, desde un órgano completo o tejido, hasta una célula.

En la actualidad la Medicina Regenerativa es una disciplina poco explorada que se está expandiendo poco a poco en todos los países, se espera que tenga un uso generalizado en pocos años, lo que se traduce en grandes avances médicos.

OBJETIVO.

Hacer una revisión de la literatura reciente para que el cirujano dentista esté actualizado con las nuevas disciplinas como la Medicina Regenerativa, que se ha aplicado en los campos de investigación para poder tener otra alternativa de tratamiento con mayor pronóstico en un futuro; cada día en odontología, es tendencia estimular la regeneración de tejidos y órganos. La terapia con células madre es un paso más allá y puede tener gran importancia en los tratamientos odontológicos. Por otra parte la pulpa dental puede ser una fuente de células mesenquimales y esto es un hecho, que todos odontólogos debemos saberlo.

CAPÍTULO 1.MEDICINA REGENERATIVA ANTECEDENTES.

1.1. Historia de las Células madre.

Cuando hablamos de células madre o troncales no es un término de actualidad, ya que, a través de la historia ha sido utilizado con términos diferentes pero de forma parecida.¹

- 384-322 a.c. Aristóteles Planteó las primeras interrogantes del desarrollo embriológico, por lo que es reconocido como el primer embriólogo.¹
- 1452-1519 Leonardo Da Vinci basándose en sus dibujos de embriones explica de una forma más detallada lo que es la naturaleza de un nuevo ser, sin embargo atribuye la formación de un ser completo con una célula única.¹
- 1493-1541 Alquimista Paracelso afirmó haber creado un "Homúnculo" al intentar encontrar la Piedra Filosofal (como se ve en la fig.1). El "homúnculo" se refiere a la antigua creencia que en la cabeza del espermatozoide se contenía un pequeño "hombrecito".¹



Figura 1, Homúnculo de Paracelso.²

- 1578-1657 William Harvey además del descubrimiento de la circulación de la sangre es el autor de "*Ex ovo omnia*", donde afirmaba que "*Todo ser vivo procede de otro*" (*omni vivium ex vivo*), lo que derriba la teoría de la generación espontánea.¹
- 1694 Nicolas Hartsoeker descubrió "el animalúnculo" en el espermatozoide de humanos y otros animales¹(como se ve en la figura 2).



Figura 2, Animalúnculo.³

- 1780 Goethe popularizó el término, ya que denominó "homúnculus" al pequeño ser que creó el antiguo alumno de Fausto; Wagner, mediante operaciones quirúrgicas.¹
- 1855 Rudolf Virchow fue el primer científico en la Historia Moderna de la Medicina quien traslada la teoría celular al campo de la patología, con su frase célebre "*omnis cellula e cellula*"; que significa "Toda célula se ha originado a partir de otra célula".¹

- 1980 En el área dental, Trowbridge y Kim, refieren que la vida media del odontoblasto coincide con la vida media de la pulpa viable.³
- 1985 Li Y Caufield PW, promedio las células de un individuo de talla media, es de 10^{14} y que las células en estas edades son producto de 45 generaciones. Que sólo el 10% del total de células son humanas y que el 90% restante son de bacterias que se encuentran principalmente en la superficie de la piel y de los intestinos viviendo en una armonía (simbiosis).⁴
- 1986 Se descubre la Muerte Celular Programada Autónoma (MCPA) o Programmed Cell Death PCD también conocida como apoptosis, la cual es necesaria para un desarrollo, por este trabajo Horvitz y Ellis fueron premiados con el premio Nobel.⁴
- 2011 Couve E. y Schmachtenberg O, sugieren que la actividad de autofagia en los odontoblastos como parte del reemplazo, es un mecanismo fundamental para asegurar el regreso y degradación de componentes subcelulares.⁵

1.2. Cronología Histórica de la investigación de las Células Madre.

- 1910 Carrel y Burrows, cultivan tejidos humanos.⁶
- 1963 McCulloch, descubren la presencia de auto réplica de Célula Madre en la Médula Ósea de ratones.⁶
- 1968 Primer Trasplante de Médula Ósea (TMO).⁶
- 1978 Las Células Madre Hematopoyéticas (CMH) son descubiertas en la sangre del cordón umbilical.⁶
- 1981 Las Células Madre Embrionarias son obtenidas de la masa celular interna.⁶
- 1992 En 1992 se cultivaron por primera vez progenitores/precursores neurales como neuroesferas.⁷
- 1995 Es aprobada la enmienda Dickey en EEUU, para uso de Dinero Federal Médico en las investigaciones donde las Células Madre son derivadas de la del embrión.⁸

- 1997 Se evidenció que en el caso de la leucemia, las Células Madre Hematopoyéticas son la razón para el cáncer de Células Madre de la oveja Clonada “Dolly”.⁹
- 1998 James Thompson establece las primeras Líneas Celulares Humanas Embriónicas.⁹
- 2000 Múltiples reportes de Células Madre Adultas Dentales son publicadas, incluso hasta en la actualidad.⁹
- 2003 El descubrimiento de nuevos orígenes de Células Madre son encontrados en los Dientes Primarios.⁸
- 2006 Son creadas nuevas líneas de células madre sin destruir el Embrión.¹⁰
- 2006-7 El presidente George W Bush veta el financiamiento Federal de investigaciones con Células Madre Embrionarias.
- 2009 Barack Obama pone fin al veto impuesto por su antecesor, en el financiamiento Federal de investigaciones con Células Madre Embrionarias.¹⁰
- 2013 La Universidad de Oregon había logrado la primera clonación de células madre embrionarias con fines terapéuticos, el cardenal de Boston y responsable del Comité “Provida” de la Conferencia de Obispos Católicos de Estados Unidos, Sean O’Malley advirtió que la técnica «va en contra de la dignidad de las personas porque trata a los seres humanos como productos».⁸

1.3. Cronología Histórica de la investigación en la Regeneración.

- 1686 Thevenot y Perrault demostraron por primera vez la regeneración de la cola de la lagartija.⁹
- 1712 Réamur presenta evidencia empírica sobre la regeneración de los cangrejos de río.¹⁰
- 1744 Trembley demuestra la regeneración en la hidra.
- 1750 Bonnet confirma la regeneración en los gusanos.

- 1768 Spallanzani estudia la capacidad de regeneración de gusanos de tierra, urodelos y anuros. Sin saberlo fue el primero en escribir la formación de un blastema (grupo de células que originan al ser humano).¹⁰
- 1823 Todd descubre la función del sistema nervioso en la regeneración de la extremidad de la salamandra.¹⁰
- 1844 Goodsir describe que en cada extremidad de los crustáceos existía un cuerpo parecido a una glándula que proporcionaba los precursores de las futuras patas.¹⁰
- 1860 Ernst Haeckel y Richard Greeff realizan experimentos de regeneración en organismos unicelulares.
- 1885 Paul Frasse define las características celulares del proceso regenerativo. Trabajó con la epidermis, las glándulas y órganos subepidérmicos, el sistema esquelético en vertebrados, sistema nervioso, el muscular y el vascular.¹⁰
- 1891 Mortiz Nussbaum y Dietrich Barfurth demostraron en protozoarios que tanto el núcleo como el protoplasma eran necesarios para la regeneración.
- 1894 Gustav Wolff realizó experimentos de la regeneración del lente en el ojo de la salamandra. Mostró que éste regenera a partir del iris (no de la superficie del ectodermo que es donde se desarrolla).¹⁰
- 1901 Morgan define la regeneración e introduce los términos epimorfosis y morfaxis.¹⁰
- 1911 Fritsch demuestra que la regeneración se debe a la formación de células del blastema indiferenciadas.¹⁰
- 1928 Godlewski proporciona evidencia sobre el origen epidérmico de las células del blastema.¹⁰
- 1930 Hellmich, siguiendo trabajos de Collucci (1884), propuso que el origen celular del blastema era sanguíneo.¹⁰
- 1933 Butler propuso que el blastema se formaba por capacidad del mesodermo del muñón a desdiferenciarse.

- 1939 Weiss propuso que el origen celular del blastema era la existencia de reservas celulares, lo que implicaba la existencia de células indiferenciadas del tejido conjuntivo.¹⁰
- 1959 George Mathé realizó el primer trasplante de médula ósea.¹⁰
- 1961 Hay y Fischman confirman la función de la desdiferenciación en la formación del blastema mostrando la transición de las células musculares a células mononucleares.¹⁰

1.4. Historia de la Medicina Regenerativa.

William A. Haseltine acuñó el término Medicina Regenerativa. Haseltine fundó en 1992 la compañía Human Genome Sciences la primera empresa en el mundo que utilizó la medicina genómica con el propósito de diseñar medicinas basadas en los genes humanos no tóxicos y no alergénicos que reemplazarían a las drogas convencionales.⁶

En marzo del 2000 fundó e-biomed: The Journal of Regenerative Medicine (ahora una revista discontinuada) y en diciembre del mismo año presidió la primera conferencia anual sobre Medicina Regenerativa, "Regenerative Medicine: A Unique Approach to Healing" en Washington, D.C. Fue la primera reunión sobre esta nueva área de la investigación científica enfocada en la curación de las enfermedades mediante el uso de las células troncales, genes y proteínas del propio individuo para reparar sus órganos, tejidos y células.⁶

Desde que se propuso el término de Medicina Regenerativa por primera vez aún no existe un consenso en su definición, Mason y Dunhill señalaron que existen muchas definiciones, pero son largas y no apropiadas para que un científico, un emprendedor o un abogado las puedan citar cuando un funcionario de gobierno, un ejecutivo de la industria o alguien del público lo requiriera.⁵ Otra de las razones para que exista una definición clara de la Medicina Regenerativa es que además pueda ser considerada dentro de la terminología de los sistemas de salud y de la legislación. Hasta el momento una de las definiciones que se acercaría a dichos

objetivos es la que proponen Daar y Greenwood en 2007: “La Medicina Regenerativa es un campo emergente interdisciplinario de investigación y de aplicaciones clínicas enfocadas a la reparación, reposición o regeneración de células, tejidos u órganos para restaurar la función dañada resultante de cualquier causa, incluyendo los defectos congénitos, enfermedad, y trauma. Utiliza una combinación de abordajes tecnológicos que van más allá del tradicional trasplante y terapias de reemplazo. Estos abordajes pueden incluir, pero no están limitados a: el uso de células troncales, moléculas solubles, ingeniería genética, ingeniería de tejidos o terapia celular avanzada, en la medicina regenerativa incluye construcción de andamios o soportes celulares los cuales son utilizados para dar soporte o formar las estructuras.”^{7, 10}

1.5 Gurdon y Shinya Yamanaka. (Reprogramación genómica como la base de la medicina regenerativa del futuro).

Los nombres de los merecedores al Premio Nobel (2012) en Fisiología y Medicina, Dr. John Gurdon y Dr. Shinya Yamanaka, podrán no ser familiares para muchos, pero en el área de su investigación seguro sí, pues ha sido tema recurrente de discusión a nivel científico, social e incluso político desde hace décadas, especialmente en los últimos 15 años. La reprogramación del genoma de células diferenciadas de mamíferos, rama filogenética a la que pertenecen los humanos, ha motivado la realización de libros y películas, debates en diferentes niveles de gobierno, declaraciones por parte de las Naciones Unidas, y hasta lo más deplorable de nuestra sociedad, la charlatanería y los fraudes. Sin lugar a dudas los logros científicos del Dr. Gurdon y del Dr. Yamanaka representan avances de enorme trascendencia científica, que consolidan de manera definitiva conceptos respecto a los mecanismos que guían la especialización de las células durante la formación de un organismo. Al inicio de la década de los años sesenta, el Dr. Gurdon, mediante el trasplante de núcleos provenientes de células diferenciadas del adulto a ovocitos del sapo *Xenopus* a los que se les había eliminado su material genético, mostró evidencia contundente de que el proceso de

diferenciación celular, hasta alcanzar la madurez presente en las células del adulto, no involucra alteraciones en el contenido y estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN, componente químico que constituye el genoma, conjunto de genes de un organismo), y por lo tanto marca el nacimiento, ahora de moda, de la epigenética, donde el principio es que la diferencia entre las células, no se debe a cambios estructurales en el genoma, sino a cambios en la actividad de sus unidades funcionales (p. ej., los genes).¹¹

Yamanaka aporta innovaciones de importancia fundamental para revertir el proceso de diferenciación celular en los mamíferos, un fenómeno que avanza nuestro conocimiento de la biología del desarrollo y representa una gran promesa para el tratamiento de las enfermedades humanas y las mejoras prácticas en la agricultura.¹¹

CAPÍTULO 2. GENERALIDADES.

2.1. Células Madre Troncales.

La clasificación de las células madre según su origen y forma de obtención, las células madre embrionarias, son las verdaderas células madre, que corresponden al cigoto (óvulo fertilizado).

Las células totipotenciales: son capaces de dar origen a todo el organismo, al inicio el cigoto es una esfera compacta, que sufre múltiples divisiones hasta formar una mórula.^{12,13} A los pocos días comienza una primera especialización, de modo que se produce un blastocisto, con una capa superficial que dará origen al trofoblasto del que deriva la placenta y una cavidad casi “hueca” (rellena de fluido) en la que está la masa celular interna (M.C.I.). Las células de esta masa son pluripotenciales porque, aunque por sí solas no pueden dar origen al feto completo (necesitan el trofoblasto), éstas son capaces de originar todos los tejidos y tipos celulares del adulto. Aunque las células de la masa celular interna del blastocito son pluripotenciales, no son en sí mismas células madre dentro del embrión, porque no se mantienen indefinidamente como tales *in vivo*, sino que se diferencian sucesivamente en los diversos tipos celulares durante la fase intrauterina. Lo que ocurre cuando se extraen estas células del embrión y se cultivan *in vitro*, se convierten en células que son consideradas “inmortales”, bajo ciertas condiciones experimentales, éstas son dotadas de autorrenovación, pluripotencialidad y contribución a la línea germinal.^{12,13} De la misma manera, las células madre del cordón umbilical albergan células pluripotenciales, estas células se obtienen de la sangre que contiene éste mismo, y pueden producir principalmente células madre hematopoyéticas en el cuerpo humano.^{12,14}

Las CMA: Son células indiferenciadas, están en los tejidos adultos, éstas pueden renovarse a sí mismas y diferenciarse en células especializadas; su papel principal es mantener y reparar los tejidos donde se encuentran, ejemplo de ellas son las obtenidas de médula ósea y de la pulpa dental.

La utilización de células adultas no presenta problemas éticos a diferencia de las células madre embrionarias.^{13,14}

Las células madre clonadas, estas células se producen manipulando el material genético de una célula receptora y una donadora, en la primera se elimina el núcleo y se le transfiere el núcleo de la segunda, esta práctica en seres humanos tiene gran controversia bioética - científico - religiosa.^{12,13,14}

2.2. Clasificación de las células de acuerdo a su potencial de diferenciación.

Las células totipotenciales son capaces de originar un embrión y un individuo completo, diferenciándose hacia cualquier estirpe celular. Ejemplo de ello son el huevo fertilizado, capaz de dar lugar a todos los tejidos embrionarios y extra embrionarios.^{12,14}

Células madre pluripotenciales, estas células no pueden dar origen a un individuo completo, pero sí a los tejidos u órganos correspondientes a los tres estratos germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo). Pero no origina el tejido extra embrionario. Un ejemplo son las células pluripotenciales de la pulpa dental.^{13,12,14}

Células madre multipotenciales, son células que pueden originar un subconjunto de tipos celulares, de su misma capa o linaje de origen embrionario.^{13,14}

Células madre oligopotenciales, este tipo de células dan lugar a dos o más tipos celulares en un tejido. Ejemplo: célula madre neuronal que puede crear un subgrupo de neuronas en el cerebro.¹³

Células madre unipotenciales Estas células tienen la capacidad para diferenciarse en un único tipo celular; ejemplo de ello son las células germinales que solamente pueden dar origen a los gametos.¹³

2.3. Las células troncales pluripotentes inducidas ó iPS (induced Pluripotent Stem cells).

Takahashi y Yamanaka (2012), describieron una tercera vía para obtener células troncales pluripotentes. Hasta ese momento conocíamos esencialmente dos alternativas para obtener células troncales pluripotentes, obtenidas bien fuera a partir de embriones (blastocistos), las denominadas células troncales pluripotentes «embrionarias», bien fuera a partir de células somáticas, presentes en tejidos de fetos, recién nacidos o adultos, las denominadas células troncales pluripotentes «adultas».¹⁵

Los investigadores japoneses demostraron que la adición de un reducido número de genes posibilitaba la transformación, la inducción de células somáticas a células troncales pluripotentes. Por ello, a las células troncales obtenidas por este tercer procedimiento se les denominó pluripotentes «inducidas» o iPS, este tipo de células pueden desdiferenciarse, es decir que pueden ir de maduras a inmaduras.¹⁵

Cuadro 1. Tipos de células madre según su descripción de potencialidad de diferenciación y el período en las que éstas se pueden obtener.(Fuente directa 18/03/17)

TIPO DE CM	DESCRIPCION	EJEMPLO
TOTIPOTENCIAL	Las células totipotenciales son capaces de originar un embrión y un individuo completo, diferenciándose hacia cualquier estirpe celular.	Células Embrionarias (Mórula).

PLURIPOTENCIAL	Pueden dar origen a tejidos u órganos correspondientes a los tres estratos germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo).	Células a partir de Blastocitos.
MULTIPOTENCIAL	Son células que pueden originar un subconjunto de tipos celulares, de su misma capa o linaje de origen embrionario.	Células Madre Adultas (cordón umbilical, dientes) médula ósea, sangre, grasa, piel.
OLIGOPOTENCIAL	Este tipo de células dan origen a dos o más tipos celulares en un tejido.	Célula madre neuronal que puede crear un subgrupo de neuronas en el cerebro.
UNIPOTENCIAL	Estas células tienen la capacidad para diferenciarse en un único tipo celular.	Células germinales que solamente pueden dar origen a los gametos.
CÉLULAS. iPS	Estas células tienen la capacidad de dediferenciarse y llegar a ser células inmaduras, son muy similares a las embrionarias.	Se puede diferenciar en cualquier estirpe celular.

Fuente: Directa 18/03/17.

2.4. Desarrollo embrionario.

A partir de la sexta semana de desarrollo embrionario comienza la odontogénesis en los futuros maxilares.¹⁶

2.4.1. Primeros estadios de desarrollo.

En la tercera y cuarta semana, durante la fase de disco bilaminar, en el ectodermo aparece un engrosamiento que constituye la placa neural que se invagina para

formar el surco neural, cuyos extremos se elevan, plegándose hasta contactar y cerrar, formando el tubo neural. A partir de esta cresta o pliegue se originan unas células que emigran hacia una capa intermedia del disco bilaminar (mesodermo intraembrionario). Estas células forman el ectomesénquima y entre otras localizaciones, emigran a las regiones de la cara y del cuello, originan, entre otros elementos: la dentina, pulpa, el cemento, el ligamento periodontal y hueso.¹⁷

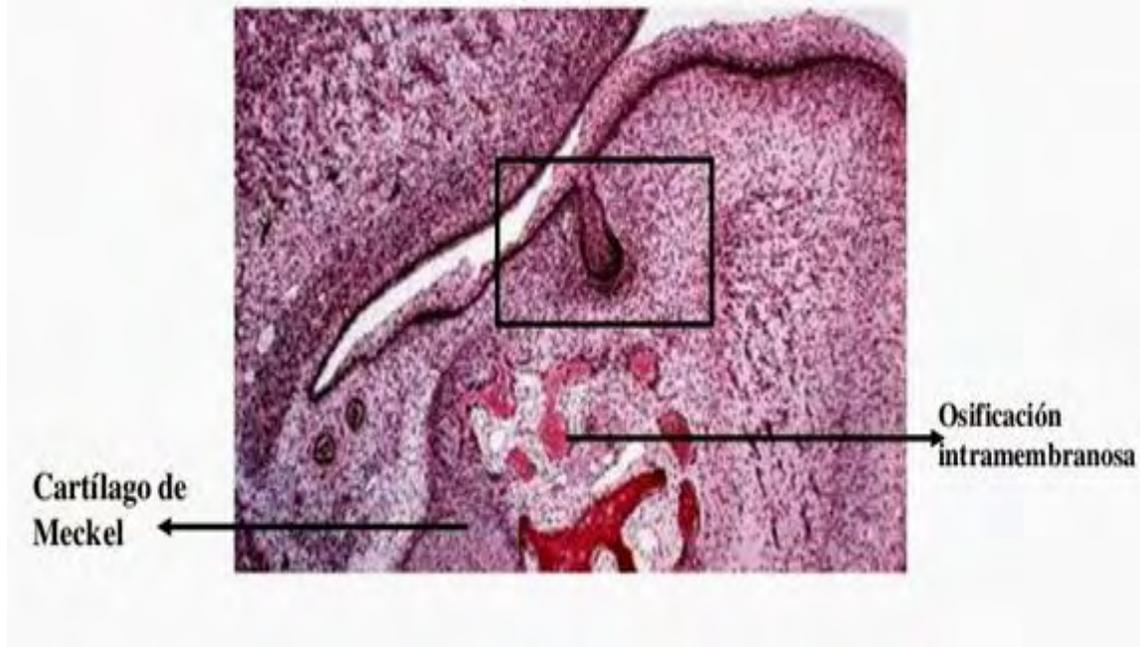
Una vez constituida la cavidad bucal primitiva, durante la sexta y séptima semana, a partir del ectodermo que tapiza los procesos maxilares, en el área que corresponderá a las futuras crestas alveolares, tanto maxilar como mandibular, se forma un engrosamiento continuo a lo largo, en forma de U, que constituye la banda epitelial primaria. Al mismo tiempo se origina, el ectomesénquima subyacente, una condensación de células que inducen a la proliferación del epitelio, formándose 10 láminas que invaden en profundidad y constituyen las láminas dentales, responsables de la formación de los diez dientes deciduos de cada arcada. A partir de este momento se establece una continua inducción recíproca epitelio-mesenchimática, que permitirá el desarrollo de estructuras que formarán a partir del epitelio ectodérmico esmalte y del ectomesénquima (dentina, pulpa, cemento, ligamento periodontal, y hueso).^{16,17,18}

2.4.2. Odontogénesis: desarrollo embrionario del complejo dentinopulpar.

2.4.2.1. Estadio primordio, botón o brote dental.

Según avanzan y proliferan células del epitelio de la lámina dental, se origina un engrosamiento del extremo más profundo que constituye el primordio, botón o brote dental, al mismo tiempo que el ectomesénquima que rodea a esta estructura se condensa formando un saco o folículo dentario. (Se observa estadio de brote fig.3).

1. ESTADIO DE BROTE



Figua3,Estadio de brote.¹⁹

2.4.2.2. Estadio de casquete.

Los primordios dentales se agrandan debido a la continua proliferación de células y permiten una invaginación del ectomesénquima que constituye la papila dental, futura pulpa del diente, dando al germen dentario en el desarrollo una morfología de casco de caperuza (estadio de casquete fig.4) en el que se observa un epitelio periférico externo constituido por células cúbicas que rodean a unas células poligonales en el interior.²⁰

ESTADIO DE CASQUETE

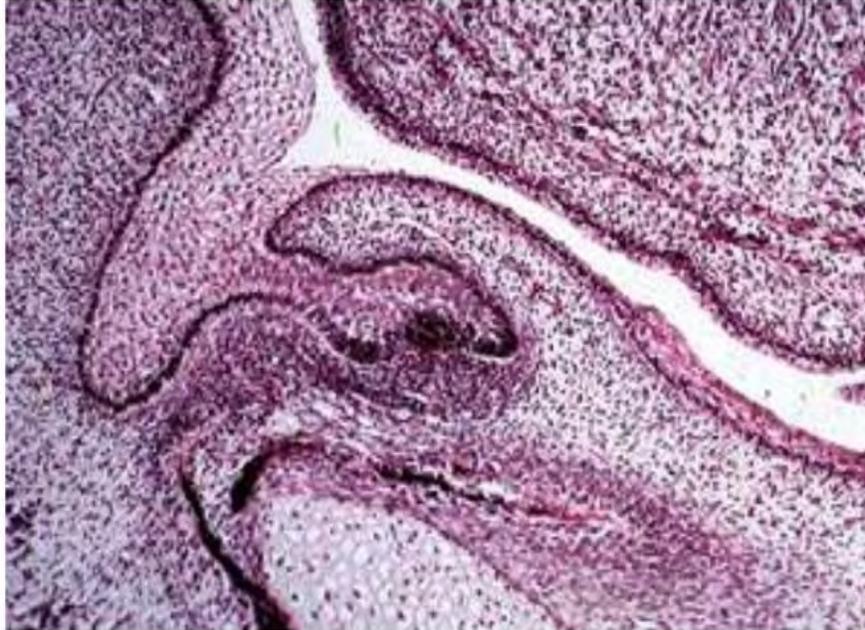


Figura4, Estadio de casquete.²¹

2.4.2.3. Estadio campana.

Al crecer el germen dentario se hace más profunda la invaginación de la papila dental observada en el estadio de casquete (como se observa en la fig.4), lo que condiciona un cambio en su morfología, que adquiere forma de campana, con unas características morfológicas que corresponden a las de la corona del diente específico en formación. En este estadio de campana se establecen los procesos histológicos y de morfodiferenciación de todos los elementos estructurales.²⁰

En el epitelio periférico se pueden distinguir dos áreas: una relacionada con la papila dental, que es el epitelio interno del esmalte y otra relacionada con el saco o folículo dentario, que es el epitelio externo del esmalte.¹⁷

El epitelio interno del órgano del esmalte está separado de la capa de células mesenquimatosas indiferenciadas más periféricas de la papila dental por una membrana basal dental constituida por una lámina compuesta por colágeno tipo IV y una matriz extracelular, correspondiendo a una zona acelular. Esta relación epitelio-mesenquimatosa está establecida por las moléculas de unión entre ambos elementos, las de adhesión celular y el sustrato.

Las células mesenquimatosas de la papila dental emiten unas prolongaciones largas y delgadas que atraviesan la zona acelular y contactan con las del epitelio interno del esmalte, quedando entre ambos tipos celulares una membrana basal con una red de escasas y finas fibrillas aperiódicas. A partir de este momento se establece un proceso de inducción recíproca muy evidente, en el que la maduración celular se inicia y es más rápida en la capa del epitelio interno del esmalte o preameloblastos que en la de los preodontoblastos, diferenciándose en primer lugar los ameloblastos de los odontoblastos.²¹

Pese a este inicio de preferencia de la maduración en las células formadoras del esmalte, éstas no inician la formación hasta que no se ha formado la primera capa de matriz orgánica extracelular de la preodontina inicial que, una vez mineralizada, constituye la dentina. Se forma el tejido, las prolongaciones de los odontoblastos o prolongaciones Tomes, quedan englobadas en el interior de unos espacios que serán futuros túbulos dentinarios. Una vez constituida la primera capa de dentina, los ameloblastos formarán la primera capa de esmalte delimitando en el polo apical o secretor de la célula una prolongación o proceso de Tomes. Tanto los procesos de los ameloblastos como las prolongaciones de los odontoblastos se extienden en la dentina y en el esmalte en formación, respectivamente.²¹

El inicio de la diferenciación y maduración de los tejidos dentinarios comienza en los vértices cuspídeos y bordes iniciales de los futuros dientes.

Entre el epitelio externo e interno del órgano del esmalte quedan unas células de forma estrellada, debido al incremento de la sustancia intercelular, adquieren

características morfológicas de los tejidos mesenquimatosos y que se conocen como retículo estrellado. Las funciones de estas células no son tan claras, aunque se considera que mantienen el espacio que ocupará el esmalte en crecimiento y facilitan el paso de sustancias desde el epitelio externo al interno.

En relación con el retículo estrellado y con el epitelio interno del esmalte existe una capa de células, el estrato intermedio, que participa indirectamente en la amelogénesis. Los extremos más apicales del epitelio externo e interno del esmalte están en íntimo contacto y entre ellos no existen células del retículo estrellado; constituyen el asa cervical, todos estos elementos estructurales de fase de campana constituyen al órgano del esmalte.²¹

3. Estadio de campana

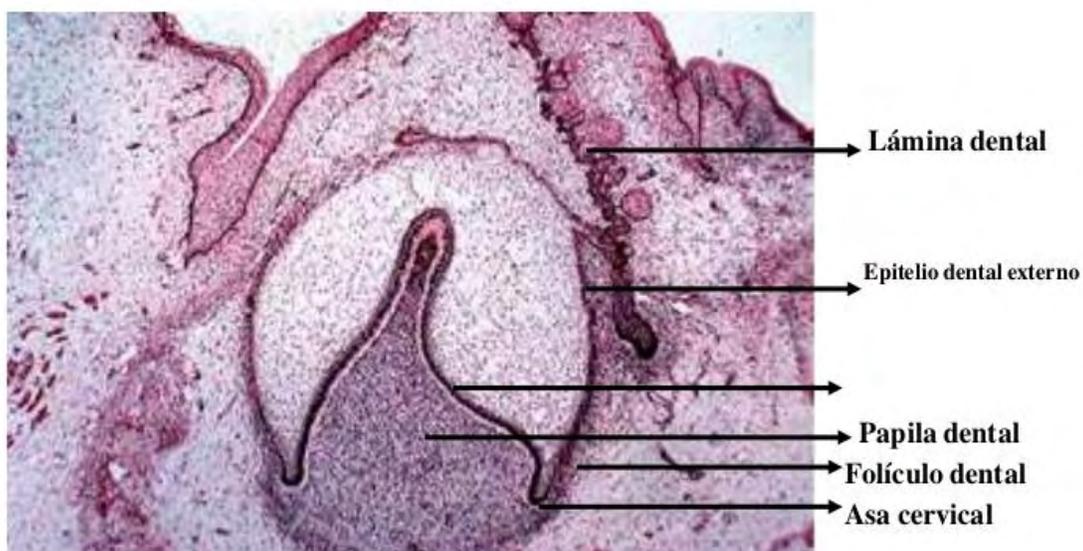


Figura5, Estadio de campana.²²

2.4.2.4. Formación de la raíz.

En su crecimiento y desarrollo posterior, el asa cervical forma la vaina epitelial radicular de Hertwig, que determinará la futura pulpa del diente y será responsable de la formación, número, tamaño y forma de las raíces, que iniciarán su formación una vez constituido el esmalte.¹⁷

Al mismo tiempo crece la vaina epitelial radicular, a partir de las células mesenquimatosas indiferenciadas del saco dentario se diferencian en osteoblastos, que producen un tejido osteoide que, una vez mineralizado, formará el hueso del proceso alveolar, en el que se produce una remodelación continua por procesos de aposición y reabsorción debidos al crecimiento y al cambio de posición del germen dentario.

Cuando la vaina epitelial radicular de Hertwig ha alcanzado su longitud máxima, se dobla hacia dentro circunferencialmente, constituyendo el diafragma epitelial, estructura que establece la longitud del diente y delimita el foramen apical. En este momento debe hablarse de pulpa dental en vez de papila dental.

Durante la formación y desarrollo de la vaina epitelial de Hertwig se pueden presentar pequeñas interrupciones que originan conductos laterales y accesorios, en caso de dientes multirradiculares, la vaina epitelial de Hertwig forma invaginaciones que dividirán el infundíbulo radicular en 2,3 o más raíces.¹⁷

2.4.2.5. Vascularización e inervación durante el desarrollo embrionario.

Existe una clara relación entre la vascularización y la inervación de estos estadios tempranos de la odontogénesis con los procesos de inducción epiteliomesenquimatosos, y se observa en las zonas donde se condensa el ectomesénquima y se induce al epitelio ectodérmico existe un marcado aumento del número de capilares.¹⁷

Los vasos sanguíneos que se localizan en el saco o folículo dental, en torno al germen dentario en desarrollo, forman ramas hacia la papila dental en el estadio de casquete, localizándose en las zonas donde se formarán las futuras raíces.

En el estadio de primordio o casquete comienza la formación de una extensa red de fibras nerviosas en el saco o folículo dentario, que no se penetra en la papila dental hasta que se inicia la odontogénesis.¹⁷

2.4.2.6. Desarrollo de los tejidos periapicales del diente (cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar).

Los tejidos periapicales del diente se desarrollan a partir del ectomesénquima que constituye el folículo o saco dental y que rodea al germen del diente en desarrollo.¹⁷

2.4.3.7. Formación del cemento.

La dentina radicular se forma progresivamente en sentido coronoapical, con la peculiaridad de que se deposita sobre la vaina epitelial radicular de Hertwig en lugar de sobre la capa de los ameloblastos, quedando posteriormente recubierta por cemento. La contracción que produce al mineralizarse la matriz de la dentina origina la fragmentación de la vaina epitelial. A partir de las células mesenquimatosas indiferenciadas existentes en el saco dentario, se diferencian en fibroblastos y cementoblastos que penetran en los huecos que existen entre los fragmentos de la vaina epitelial, formando la sustancia fundamental del precemento o cementoide. Al mismo tiempo se producen fibras colágenas tipo I que quedan incluidas en el precemento, que, al mineralizarse, ancla dichas fibras, que constituyen los llamados haces de fibras cementosas.¹⁷

La formación de los dos tercios superiores de la raíz se realiza de forma lenta, lo que permite que los cementoblastos se retiren, formándose un cemento acelular. Puesto que la formación del último tercio es más rápida y está condicionada por la erupción del diente, los cementoblastos quedan englobados en la matriz que

forman (cementocitos) y constituyen un cemento celular. El depósito del cemento por aposición se realiza durante toda la vida, por lo que su espesor aumenta con el transcurso de los años. Los fragmentos de epitelio de la vaina epitelial radicular de Hertwig que no se degeneran constituyen unos cordones o islotes celulares llamados restos epiteliales de Malassez. Estos restos irán desapareciendo progresivamente con la edad del individuo, aunque ante un proceso inflamatorio local pueden proliferar y originar quistes radiculares.¹⁷

2.4.2.8. Formación del hueso alveolar.

A partir de las células del ectomesénquima del saco o folículo dental se diferencian en osteoblastos que formarán el tejido óseo del alvéolo. Este hueso está en continua aposición y reabsorción, debido a las modificaciones que adopta el germen dentario en su desarrollo y crecimiento.¹⁷

2.4.3.9 Formación del ligamento periodontal.

A partir de las células mesenquimatosas o del saco o folículo dental empieza a diferenciarse un tejido conectivo muy rico en fibras colágenas y escaso en células y vasos sanguíneos. Las fibras forman un tejido conectivo denso y se disponen irregularmente constituyendo la membrana periodóntica, en el que se observan grupos de fibras ancladas al hueso (fibras de Sharpey), otras en cemento (fibras cementosas) y unas intermedias (plexo intermedio). Cuando un estadio maduro de la formación, las fibras se organizan en haces, reciben el nombre de ligamento periodontal.^{17,16}

2.5 Órganos dentales.

En el ser humano hay dos grupos de dientes: 20 deciduos que se sustituyen posteriormente por 32 dientes permanentes, están distribuidos de manera uniforme en el hueso maxilar y mandibular;

Los diversos dientes tienen características morfológicas, número de raíces y funciones diferentes, como retener el alimento, cortar trozos de porciones más

grandes y macerarlos para formar un bolo. Cada diente está suspendido en su hueso óseo, el alvéolo, por tejido conjuntivo denso irregular y colagenoso, el ligamento periodontal.¹⁷

La porción del diente que se ve en la cavidad bucal se conoce como corona, en tanto la región situada dentro del alvéolo se llama raíz, la sección entre la corona y la raíz es el cuello, todo diente se compone de tres sustancias calcificadas, que encierran un tejido conjuntivo blando, la pulpa, ubicada en un espacio continuo subdividido en la cámara de la pulpa y el conducto radicular; éste último se comunica con el espacio del ligamento periodontal a través de una abertura pequeña, el agujero apical, es la punta de cada raíz, a través de ésta abertura entran y salen vasos sanguíneos así como también los nervios.¹⁶

2.5.1 Componentes mineralizados.

Las estructuras mineralizadas del diente son esmalte, dentina y cemento. La dentina rodea la cámara de la pulpa y el conducto radicular y está recubierta en la corona por esmalte y en la raíz por cemento. El esmalte y el cemento se fusionan entre sí en el cuello del diente.

2.5.2 Histología del complejo dentinopulpar.

Aunque el complejo dentinopulpar se ha de estudiar en conjunto debido a su origen embriológico y fisiológico.

2.5.2.1 Esmalte.

El esmalte es la sustancia más dura del cuerpo, es translúcido y su tonalidad se debe al color de la dentina subyacente. El esmalte contiene 99% de material inorgánico y menos del 1% de material orgánico y 2% agua. La porción calcificada del esmalte se constituye con cristales grandes recubiertos con una capa delgada de matriz orgánica. Los constituyentes orgánicos del esmalte son las proteínas de peso molecular alto, parecidas a la queratina, enamelinas, ricas en tirosina, así como un grupo de proteínas relacionadas, las tuftelinas.¹⁶

El esmalte lo elaboran células conocidas como ameloblastos, que producen esmalte diariamente en segmentos de 4 a $8\mu m$, conocidos como segmentos en bastón, estos últimos se adhieren de manera sucesiva entre sí y forman bastones de esmalte (prismas). El esmalte es una sustancia muerta debido a que los ameloblastos mueren antes del brote del diente hacia la cavidad bucal, el cuerpo no puede reparar el esmalte, la calidad del esmalte producido varía con la salud de la madre durante las etapas prenatales o de la persona después del nacimiento. El bastón del esmalte refleja así el estado metabólico del individuo durante la época en que se forma el esmalte y tiene como resultado las secuencias de segmentos sucesivos de bastones de esmalte hipo calcificado y calcificado en forma normal. Estas sustancias se observan en plano histológico y se denominan estrías de Retzius. La superficie libre del diente recién brotado está recubierta por una sustancia basal similar a una lámina, la cutícula primaria del esmalte, elaborada por las mismas células que producen el esmalte. Esta cutícula se elimina poco después de brotar el diente hacia la cavidad bucal.¹⁶

2.5.2.2 Dentina.

La dentina es el segundo tejido más duro del cuerpo, es amarillenta y de gran elasticidad protege al frágil esmalte suprayacente de posibles fracturas.

La dentina se compone de 65 a 70% de hidroxapatita cálcica, 20 a 25% de materiales orgánicos y alrededor de 10% de agua unida. Casi toda sustancia orgánica es colágena tipo I relacionada con proteoglicanos y glucoproteínas.

Las células que producen dentina se conocen como odontoblastos. A diferencia de los ameloblastos, conservan sunexo con la dentina durante toda la vida del diente. Estas células se localizan en la periferia de la pulpa.

La dentina está constituida por una serie de túbulos dentinarios que la atraviesan y por una matriz o dentina intertubular: los túbulos dentinarios son estructuras cilíndricas, huecas, que se extienden desde la pulpa hasta el límite amelodentinario, delimitada por dentina peritubular, en el interior de estos túbulos

existen las prolongaciones de los dentinoblastos o prolongaciones de Tomes; entre el citoplasma celular y la pared del túbulo queda un espacio peridentinoblástico en el que se observa el fluido dentinario o linfa, así como las fibras nerviosas mielinicas, fibras colágenas y algunos cristales de hidroxiapatita.¹⁶

2.5.2.3 Dentina intertubular.

Esta es menos mineralizada, está constituida por una trama tridimensional de fibras colágenas sobre las que se depositan los cristales de hidroxiapatita.

En la dentina también se pueden ver otros elementos estructurales, como líneas incrementales o de crecimiento: mayores, o líneas de contorno de Owen, y menores, o líneas de Von Ebner, preferentemente en la dentina intertubular coronaria se observan áreas irregulares, menos mineralizadas, donde los calcoforitos no se fusionan; son dentina interglobular o espacios de Czermack.

Tipos de dentina: Según las características de la formación de la dentina, se pueden distinguir de 3 tipos.¹⁶

Dentina primaria: Se forma desde los primeros estadios del desarrollo embriológico hasta que el diente se pone en contacto con el antagonista, aunque se puede observar en dientes incluidos. En ellos se distingue la dentina del manto, que es la más superficial y la primera que se forma, y la dentina circumpulpar, que rodea toda cámara pulpar.

Dentina secundaria, secundaria fisiológica o regular, se forma durante toda la vida del diente una vez que éste se supone en contacto con el antagonista, aunque también se puede observar en dientes incluidos. Condiciona progresivamente la disminución de la cámara pulpar y los conductos radiculares y se caracteriza por poseer túbulos dentinarios rectos y paralelos.

Dentina terciaria, o secundaria reparativa o irregular. Se forma tras agresiones externas (caries, procesos destructivos no cariogénicos, fracturas, etc.), y su espesor depende de la duración e intensidad del estímulo, los que condiciona la

disminución irregular de la cámara pulpar se caracteriza por tener túbulos dentinarios irregulares y tortuosos.

2.5.2.4 Pulpa Dental.

La pulpa es un tejido conectivo laxo que está encerrado en el interior de la cámara pulpar y los conductos radiculares, lo que condiciona que su volumen vaya disminuyendo, en el transcurso de los años la pulpa reproduce generalmente la morfología externa del diente, y en ella pueden distinguirse varias áreas anatómicas. La unión cemento dentinaria es una zona de transición entre la dentina radicular y el cemento, muñón apical o periápice (zona de black), tiene forma de cono truncado con vértice hacia el conducto radicular y la base del hueso alveolar. Está ocupado por un tejido conectivo con una amplia capacidad de respuesta, con numerosas de células mesenquimatosas capaces de diferenciarse en diferentes líneas celulares (dentinoblastos, dentinoclastos, cementoblastos, cementoclastos, fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos).¹⁷

Composición. Está constituida por 25% de materia orgánica y un 75% de agua. La materia orgánica está compuesta por células (dentinoblastos, fibroblastos, fibrocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos, células mesenquimatosas indiferenciadas y mastocitos), fibras (colágenas reticulares y de oxitalano), sustancia fundamental (glucosaminoglucanos, proteoglucanos, colágeno, elastina, interleucina-I, fibronectina). En el tejido pulpar diferenciado se distinguen 4 áreas:

Zona de dentinoblastos: zona más superficial de la pulpa, constituida por una capa de células, los dentinoblastos se disponen formando una empalizada, en íntima relación con la predentina.

Zona subdentinoblástica, acelular, o capa basal de Weil, zona por debajo de la zona de dentinoblastos, se observa en la pulpa de la cámara pulpar y no existe en los conductos radiculares, en ella se distinguen el conducto nervioso de Raschkow, plexo capilar subdentinoblástico y fibroblastos, zona rica en células, en esta zona se encuentran numerosas células ectomesenquimatosas y

fibroblastos que producen las fibras de Von Korff, zona central de pulpa o pulpa propiamente dicha, constituida por un tejido laxo que se encuentran fundamentalmente, células ectomesenquimatosas, macrófagos de localización perivascular y fibroblastos entre otras.¹⁷

Células pulpares: Dentinoblastos. Son células responsables en la formación de la dentina; en su interior, en los túbulos dentinarios, dejan prolongaciones que se disponen en empalizada de la periferia de la pulpa en relación con la predentina, los cuerpos celulares de los dentinoblastos son altos, columnares, desarrollado aparato de Golgi supranuclear, numerosas mitocondrias y un retículo endoplásmico rugoso, éstos tienen la capacidad de sintetizar colágeno tipo I, así como proteoglucanos, fosfoproteína y fosfatasa alcalina entre otros elementos.

Fibroblastos. Son las células más numerosas de la pulpa preferentemente; se localizan en la zona rica en células y sintetizan colágeno tipo I y III. Se pueden encontrar en estado de reposo o actividad y muestran variabilidad del aparato de Golgi, en el retículo endoplásmico rugoso y en vacuolas secretoras.

Macrófagos o histiocitos. Estas células son los monocitos de la sangre que se localizan en el tejido extravascular. Tienen una gran capacidad de endocitosis y fagocitosis, e intervienen en las reacciones inmunológicas al procesar antígeno y presentarlo a los linfocitos.

Células dentríticas. Se localiza en la capa de dentinoblastos, tiene escasa actividad fagocitaria e interviene en la respuesta inmunológica de la pulpa, ya que tienen antígenos clase II en la superficie celular.

Linfocitos. En la pulpa normal se encuentran linfocitos T, fundamentalmente T8.

Mastocitos. Son células que poseen gránulos con histamina heparina y anticoagulante, suelen encontrarse en tejidos con inflamación crónica, aunque también se describen en pulpas sanas.¹⁷

Función de la pulpa dental:

Formativa. Esta función no solo se ha de contemplar durante el desarrollo embrionario, si no durante toda la vida del diente con la formación de dentina secundaria reparativa o terciaria.

Nutritiva. Corre a cargo de los vasos sanguíneos que existen en la pulpa y que penetran, fundamentalmente, por foramen apical.

Sensitiva. Corresponde a los mecanismos de sensibilidad dentinaria que estimulan las fibras A-delta y la estimulación de las fibras C.

Protección. La pulpa realiza la protección mediante la formación de dentina secundaria reparativa o terciaria o por las células propias del tejido conectivo que corresponden ante un proceso, infeccioso o no.¹⁷

2.6. Cemento.

El cemento es un tejido mineralizado que cubre y protege la superficie externa radicular, crece en la vascularización e inervación y está relacionado con el espacio y el ligamento periodontal, está constituido por un 46% de materia inorgánica, un 22% de materia orgánica y un 32% de agua, la materia inorgánica está compuesta por cristales de hidroxiapatita y orgánica, por colágeno tipo I y una sustancia fundamental (proteínas de naturaleza no colágena).¹⁷

Células. Los cementoblastos son células formadoras de cemento que están adosados a la superficie del cemento en relación con un ligamento periodontal; pueden estar en fase selectiva o inactiva. Los cementocitos son cementoblastos en fase inactiva que han quedado englobados en la matriz mineralizada formando lagunas o cementoblastos.

Matriz extracelular. Contiene un 46-50% de materia inorgánica, fundamentalmente hidroxiapatita y los cristales son de menor tamaño que en el esmalte y la dentina.

La materia orgánica está presente en un 22% y, el 90% de ella corresponde a colágeno tipo I.

Tipos de cemento. El cemento forma ciclos, y existen fases de formación y de reposo lo que da lugar a líneas de imbricación o incrementales. Pueden distinguirse tres tipos.

Cemento acelular o primario. Se forma antes de que el diente erupcione, se deposita lentamente y se localiza en los dos tercios coronales de la raíz.

Cemento celular o secundario. Comienza a depositarse cuando el diente entra en oclusión, se engloba con mayor rapidez y forma cementoblastos en su interior, transformándolos en cementocitos, este cemento se sigue depositando durante toda la vida.

Cemento fibrilar y afibrilar. Depende de la existencia o no de fibras colágenas, el cemento afibrilar se localiza en el cuello del diente, cuando el cemento cubre el esmalte, el anclaje de fibras cementosas del ligamento periodontal es bajo; el control de la anchura del ligamento periodontal se forma mediante la aposición o reabsorción del cemento, manteniendo fibras colágenas; transmisión de fuerzas oclusales por el impacto masticatorio al ligamento periodontal; reparación de la superficie radicular, cuando se produce fractura o reabsorción, y compensación del desgaste del diente debido a atrición, produciendo formación de cemento para compensar la pérdida.¹⁷

2.7. Hueso alveolar.

Composición. El hueso alveolar contiene un 71% de materia inorgánica, un 21% de materia orgánica y un 8% de agua. La materia inorgánica está constituida por un 80% de cristales de hidroxapatita, con un 15% de carbonato de calcio y un 5% de otras sales minerales. La materia inorgánica está constituida en el 90% de colágena tipo I y el resto por sustancias no colágenas (8% glucoproteínas, fosfoproteínas y proteoglicanos).²⁰

Células. Las células osteoprogenitoras son células como las mesenquimatosas indiferenciadas de las que se originan los osteoblastos, los osteocitos, los monocitos y los osteoclastos.

Los osteoblastos son células formadoras de hueso que revisten el tejido óseo que se está formando por una capa epiteliode, dejando entre ésta y el hueso un área de matriz no mineralizada llamada sustancia o tejido osteoide.

Los osteocitos corresponden a osteoblastos que quedan englobados en medio de la matriz formada y se alojan en unas lagunas denominadas osteoplastos u osteoceles. Los osteocitos emiten múltiples prolongaciones que contactan con las de otros osteocitos a través de unos conductillos calcóforos que permiten constituir un sistema canaliculolacunar o sistema de microcirculación ósea. Las moléculas se liberan en cuanto la matriz se degrada por acción de los osteoblastos, atraen a los monocitos que se van a transformar en preosteoclastos, los cuales fusionarán sus citoplasmas con otros, constituyendo los osteoclastos, células multinucleadas destructoras de hueso. Las células bordantes óseas, derivan de los osteoblastos una vez que ha cesado el proceso de formación. Constituyen una capa de células fusiformes, aplanadas, que intentan delimitar, un microambiente que facilite la actividad funcional del tejido óseo.²⁰

2.8. Estructura histológica del tejido óseo.

Tiene doble origen:

En el alvéolo. La capa externa compacta o cortical es de origen periodóntico, mientras que la zona interna es de origen medular. En el estudio radiológico, la capa compacta se observa aquí como una lámina fina, más radioopaca que el resto del hueso y se conoce como la lámina dura. En esta capa compacta se distingue un tejido óseo laminar, en donde se insertan las fibras de Sharpey y que recibe el nombre de hueso fasciculado o de inserción. El resto del tejido óseo se denomina hueso de sostén. También se le llama lámina cribosa o placa cribiforme,

debido a los orificios de los conductos de Volkmann, por donde entran y salen los vasos sanguíneos del hueso.

En el periostio. La capa más externa compacta cortical es de origen perióstico que mientras la zona interna es de origen medular.

Tejido óseo compacto. Constituido por sistema de Havers, se localiza en capas corticales.

Tejido óseo esponjoso o medular. Constituido por trabéculas, espículas y espacios medulares, se localiza en los tabiques alveolares.²⁰

2.9. Ligamento periodontal.

El ligamento periodontal es un tejido conectivo fibroso, localizado en el espacio periodontal, que ancla los dientes, al hueso alveolar, está constituido por materia orgánica, fundamentalmente por fibras colágenas, fibras elásticas, fibras oxitalánicas y por una sustancia fundamental.²²

Células. Hay células formadoras (fibroblastos, osteoblastos y cementoblastos), células resorptivas (osteoclastos y cementoclastos), células defensivas (macrófagos, mastocitos y eosinófilos), células o restos epiteliales de Malassez y células mesenquimatosas indiferenciadas.

Fibras. Hay fibras colágenas, reticulares, elásticas, oxitalánicas. Las fibras colágenas se disponen en haces denominados crestalveolares, u oblicuas ascendentes, horizontales o de transición, oblicuas descendentes, apicales o interradiculares.

Sustancia fundamental. Está compuesta por ácido hialurónico, condroitín 4-sulfato, condroitín- 6 sulfato, dermatán sulfato y heparán sulfato; dermatán sulfato es el glucosaminoglucano más abundante en el ligamento periodontal.²²(Se observan las diferentes zonas del órgano dental en la Fig.6).

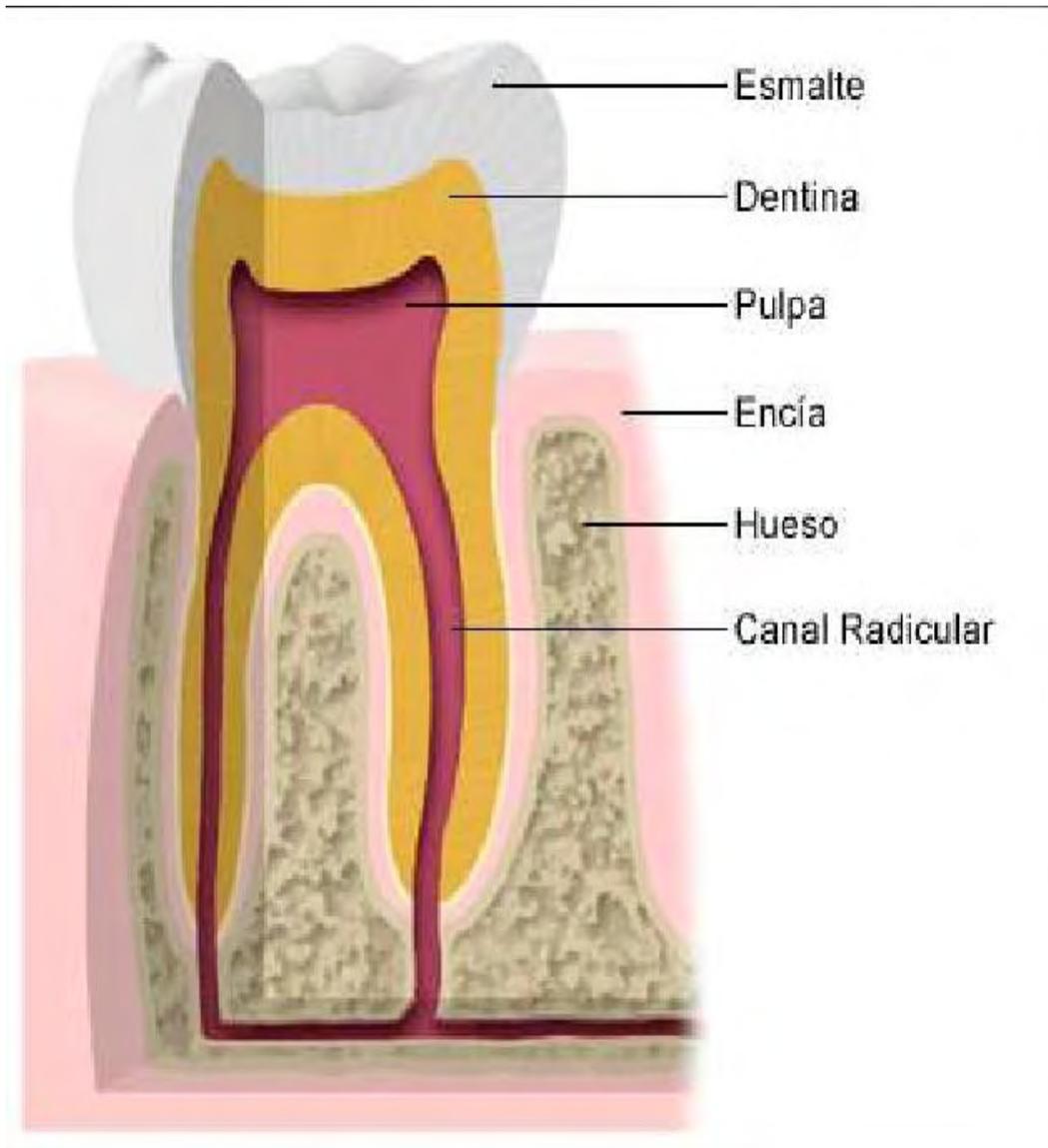


Figura6."Estructuras dentales".²³

CAPÍTULO 3. MEDICINA REGENERATIVA.

3.1. Medicina regenerativa.

La medicina regenerativa es un campo multidisciplinario de investigación y aplicaciones clínicas: La cual se centra en la reparación, sustitución o regeneración de las células, tejidos u órganos para restaurar funciones biológicas alteradas por diversas causas, incluyendo malformaciones congénitas enfermedades y traumatismos. La medicina regenerativa utiliza varios enfoques tecnológicos, que van más allá del trasplante tradicional y las terapias de reemplazo. Estos enfoques pueden incluir el uso de células troncales, moléculas solubles, ingeniería genética, ingeniería de tejidos y terapia celular avanzada.²⁴

El avance de la ciencia y la tecnología es exponencial, y la terapia celular así como la medicina regenerativa, son los pilares de la Medicina y la Odontología del siglo XXI.

Cada día más, en la Odontología, se observa que la tendencia es la de estimular la regeneración de tejidos y órganos. La terapia con células madre es un paso más allá y puede tener gran importancia en los tratamientos odontológicos futuros. Por otra parte, la pulpa dental puede convertirse en fuente de salud para el resto del cuerpo, y esto todos los dentistas debemos conocerlo.²⁴

3.2. Terapia celular.

Fue creada por el Dr. Paul Niehans, en los años 30 definiéndola como la inserción de cientos de millones de células a nuestro organismo y diminutos conjuntos celulares con la finalidad de producir la regeneración y revitalización de nuestros órganos. Aunque los fundamentos de la terapia no se han modificado, se han mejorado y refinado en gran medida las técnicas de la aplicación práctica. En los últimos 60 años se han tratado con éxito a más de 100.000 pacientes empleando la terapia celular. Aunque sigue siendo un misterio el porqué de su

funcionamiento, lo que está claro es que funciona. Esto se ha comprobado de manera irrefutable en más de mil estudios científicos.²⁵

La terapia celular, se basa en el uso de células madre de distinto origen que, mediante diferentes procedimientos, se diferencian en una estirpe celular deseada. De esta manera, bien a través de un embrión, de una célula madre adulta o de una especializada, los investigadores han podido derivar cada una de ellas a otro tipo celular con la idea de generar un tejido sustituto a otro enfermo o dañado. La mayor experiencia en este terreno se ha hecho en los trasplantes de médula ósea que pueden salvar la vida de personas con leucemia al sustituir sus células enfermas por otras de un donante.²⁵

Pero más allá de las células hematopoyéticas (de la sangre, las que proceden de la médula), los científicos han probado la plasticidad de las células madre embrionarias y recientemente, la posibilidad de conseguir otras similares a partir de la piel, las células mesenquimales de los órganos dentales, las iPS, que también han demostrado en numerosos estudios que son capaces de convertirse en otros linajes como neuronas, cardiomiocitos, hueso, etc.

También se han mostrado eficaces para curar en el laboratorio, varias enfermedades como la hemofilia, o la anemia de Fanconi. De hecho, estas mismas células han sido capaces de generar mini órganos como hígado, cerebro y riñón. Toda una promesa para poder, en un futuro, conseguir órganos para trasplantes o injertos para reparar partes dañadas de un tejido, o también para probar fármacos específicos para enfermedades propias de esos órganos.²⁵

3.2.1. Obtención de células madre.

Al principio la fuente de células madre por definición era el blastocisto, etapa temprana del embrión que se forma a los pocos días de la fertilización. Las aproximadamente 200 células del blastocisto son muy especiales, pues pueden generar todas las células del organismo. Por ser capaces de generar células de cualquier tipo, a las células madre embrionarias, se les considera pluripotenciales.

Se obtiene a partir del blastocisto, por lo que la investigación con células madre pluripotenciales está sujeta a un apretado esquema de lineamientos éticos y constante vigilancia a nivel mundial.²⁶

Por fortuna, en las últimas dos décadas se han descubierto reservas de células madre en el organismo adulto, lo que podría permitir sacarle la vuelta al problema de obtenerlas de embriones. La desventaja es que las células madre de adulto son pocas y no son tan flexibles ni duraderas como las de embrión.²⁶

Las células madre se encuentran en la médula espinal, la pulpa de los dientes, la retina, la sangre, la placenta, tejido adiposo y el cordón umbilical, por mencionar algunas fuentes.²⁷

En relación con las células madre embrionarias (fig.7) son dos las posibilidades para obtenerlas: de embriones congelados sobrantes de las técnicas de fecundación *in vitro* o de embriones humanos generados por transferencia nuclear somática, la denominada donación terapéutica.

Pero también hay que dejar establecido que, en el momento actual, para obtener las células embrionarias procedentes del embrión del cual se extraen, de un embrión congelado o un embrión obtenido por donación, lo que condiciona que su uso vaya acompañado de graves dificultades bioéticas, religiosas y legales.²⁷



Figura7."Mórula".²⁸

3.2.2. Técnicas de obtención de células madre en desuso.

3.2.2.1. Obtención de células madre o similares a partir de embriones descongelados muertos.

Estas células se obtienen a partir de embriones congelados sobrantes de las técnicas de fecundación *in vitro*. Pero cuando nos referimos al embrión humano, establecer su muerte es más dificultoso que en el sujeto adulto, al no poder utilizarse el criterio neurológico, pues como es sabido, en ese momento evolutivo del embrión aún no se ha desarrollado el sistema nervioso. Por tanto, habrá que utilizar otros parámetros.

Tratando de certificar sí un embrión descongelado de 4 a 8 células, que es el estadio de mórula en el que los embriones sobrantes de la fecundación *in vitro* suelen congelarse.²⁹

Criterios para valorar embriones congelados: en un primer paso, los embriones congelados que no se dividen a las 24 horas de su descongelación, tras el subsiguiente caldeamiento, son desechados para fines reproductivos, por considerarlos inviábiles. Estos embriones deberán ser observados con intervalos de pocas horas, durante las 24 siguientes. Los embriones que no se han dividido en este periodo de tiempo adicional, ya no se dividirán más, por lo que se les puede considerar orgánicamente muertos. Sin embargo, estos embriones muertos podrían tener hipotéticamente células vivas útiles para experimentaciones biomédicas.²⁹

Pero además a estos interrogantes, hay que añadir que las células a que nos estamos refiriendo son embriones de 4 a 8 células, estas células, como se sabe, en este estadio evolutivo de división celular suelen tener estas células sobrantes de fecundación *in vitro*. Pero dado de se conoce que las células embrionarias útiles para obtener células madre son obtenidas de los blastocistos, es decir las células fecundadas de unos cinco días, y tienen entre 64 y 200 células, difícilmente pueden servir las células de humanos de 4 a 8 células para los fines

experimentales que se persiguen, por lo que estas células descongeladas habría que posteriormente ser calentarlas y cultivarlas hasta la fase de blastocisto, procedimiento que indudablemente conlleva la revitalización celular , por lo que las células embrionarias serían siempre obtenidas de un ovulo fecundado.²⁹

Una última dificultad metodológica es que la eficacia de la técnica es muy baja, pues no más del 5% de las células fecundadas pueden ser adecuadas para investigaciones biomédicas (The Lancet, 2004). Por ello, si actualmente se utilizaran todas las células fecundadas existentes en Estados Unidos, al menos 400.000, para la obtención de células madre, solamente se podrían conseguir 275 líneas celulares útiles.

3.2.2.2. Obtención de células madre embrionarias a partir de embriones muy jóvenes.

La segunda posibilidad es obtener las células madre a partir de embriones generados por fecundación *in vitro*, que estén en una fase muy temprana de su desarrollo.²⁹

En efecto, si a un grupo de 4 o 8 células se le extrae una célula, ésta se puede cultivar para generar células madre, y este embrión, aún con una célula menos, puede sobrevivir si se implanta en el útero.

Esta técnica fue utilizada por primera vez por Strelchenko N, Verlinsky O, en el año 2004, los cuales consiguieron obtener diversas líneas celulares a partir de una célula pluripotente extraída de un embrión de 4 días (de 60 a 70 células) generado por fecundación *in vitro*, es decir inmediatamente cuando el embrión alcance la etapa de mórula, que como ya se ha referido se alcanza a los cinco días de la vida del embrión. Cuando se utilizaba esta técnica, la célula extraída iba a servir para generar las células madre, con esta técnica no se elimina el embrión.²⁹

3.2.2.3. Creación de estructuras biológicas pseudoembrionarias por transferencia nuclear somática alterada (ATN) a partir de las cuales se puedan obtener células similares a las embrionarias.

Como se sabe la transferencia nuclear somática, la también denominada donación terapéutica, consiste en extraer el núcleo de una célula somática, es decir, de una célula adulta de cualquier parte del cuerpo humano, y transferirlo a un ovocito, al que previamente también se le ha extraído el núcleo. Así la célula generada será una célula híbrida compuesta por el citoplasma del ovocito (lo que queda de él después de extraerle el núcleo) y el núcleo de la célula adulta. Esta célula, debidamente activada, puede generar un embrión.²⁹

3.2.2.4. Creación de estructuras biológicas pseudoembrionarias por transferencia nuclear somática, alterada con reprogramación asistida del ovocito (ANT-OAR).

Una de las más prometedoras posibilidades para conseguir células similares a las embrionarias, sin tener que recurrir a un embrión humano, sería poder reprogramar células madre de tejidos adultos hasta convertirlas en células madre pluripotentes, de las cuales se pudieran obtener células de todo tipo de tejidos, pero sin que la reprogramación llegara nunca a convertirlas en células madre totipotentes, de las que si se pudiera desarrollar un embrión humano completo. Esto es lo que se trata de conseguir con la denominada transferencia nuclear somática, alterada con reprogramación asistida del ovocito (ANT-OAR).²⁹

Como se sabe, cada una de las células de nuestro organismo, contienen todo el genoma completo. Es ésta una manifestación de la exuberante generosidad de la naturaleza, sin duda encaminada al adecuado mantenimiento de la especie. Sin embargo, no a partir de todas las células, aún a pesar de contener un genoma completo, se puede generar un embrión. Ello es debido a que el ADN se encuentra en el núcleo celular conformado de distintas maneras. En las células totipotentes todos los genes mantienen su capacidad de expresarse, por lo que a

partir de ellos se podría obtener un embrión completo (células totipotentes) o células de todos los tejidos del cuerpo humano (células pluripotentes). Pero a medida que las células embrionarias se van diferenciando los genes contenidos en su genoma van perdiendo su capacidad de expresión, de forma tal que el genoma de las células adultas solo puede generar células de un tipo de tejido específico.²⁹

Para conseguir que la célula somática adulta genéticamente modificada, se re programe y active su programa de desarrollo, se utiliza la capacidad que para ello tiene el citoplasma de los ovocitos. Así pues, el núcleo genéticamente modificado de la célula adulta se transfiere a un ovocito.²⁹

3.2.2.5. Creación de estructuras biológicas pseudoembrionarias por fusión de las células somáticas adultas genéticamente modificadas con células madre embrionarias.

Para solventar el grave problema del uso de ovocitos humanos, consistente en fusionar el núcleo de las células somáticas adultas genéticamente modificadas con células madre embrionarias, en lugar de hacerlo con ovocitos, pues las células madre embrionarias producen en el genoma de la célula somática adulta el mismo efecto diferencia que produce el citoplasma de los ovocitos en la transferencia nuclear somática. Incluso, según comenta Azim Surani M en un reciente artículo de la prestigiosa revista Cell (2005), es posible que las células madre embrionarias sean incluso más eficientes para reprogramar el material cromosómico de las células somáticas adultas que el propio citoplasma de los ovocitos. De esta forma, las células somáticas adultas son resultantes de híbridos. Verlinsky y Cols (2006).²⁹

3.2.2.6. Obtención de células madre a partir de pseudoembriones.

Estructuras biológicas que no pueden dar lugar a un embrión viable. Entre ellas se encuentran: los embriones aneuploides, los androgenotes y los partenotes.

Como se sabe, los cigotos normales tienen dos pronúcleos, uno procedente del padre y otro de la madre. Sin embargo, tras la fecundación *in vitro* se pueden

obtener accidentalmente cigotos que tienen uno o tres pronúcleos, a estos cigotos se les denomina aneuploides y son generalmente inviábiles. Pues bien, recientemente se ha comprobado que de blastocistos de embriones aneuploides se pueden obtener células madre de tipo embrionario normales (2004), que podrían ser utilizadas para investigaciones biomédicas.²⁹

3.2.2.7. Obtención de células madre similares a las embrionarias a partir de células germinales.

Se encarga de obtener células madre similares a las embrionarias a partir de células madre testiculares, las cuales son pluripotentes y, por tanto, pueden comportarse como células madre embrionarias, al confirmar la pluripotencialidad y plasticidad de las células germinales masculinas inmaduras de ratones adultos, en las condiciones adecuadas de cultivo, pueden adquirir propiedades biológicas similares a las de la célula madre embrionaria. A estas células, los autores del trabajo Clarke y Cols (2000), las denominan “células madre germinales multipotentes adultas”, o células (MAGSCs), por las siglas inglesas de su nombre.

A partir de las células (ma GSCs) los autores obtienen células madre similares a las embrionarias de las que han conseguido derivar células nerviosas, de corazón, hepáticas o intestinales.²⁹

3.2.3. Técnicas actualmente en uso.

3.2.3.1. Obtención de células madre por reprogramación directa de células somáticas adultas.

Existen actualmente para tratar de conseguir células madre o similar a ellas, sin tener que destruir al embrión del cual se obtienen.

Las células troncales pluripotentes inducidas ó iPS (del inglés, induced Pluripotent Stem cells) han revolucionado la biología de las células troncales y sus posibles aplicaciones terapéuticas en medicina regenerativa. Los experimentos pioneros de Takahashi y Yamanaka, realizados inicialmente con células de ratón, en 2006, y

posteriormente refrendados, un año más tarde, por el mismo laboratorio, en células humanas, describieron una tercera vía para obtener células troncales pluripotentes. Hasta ese momento conocíamos esencialmente dos alternativas para obtener células troncales pluripotentes: obtenidas a partir de embriones (blastocistos), las denominadas células troncales pluripotentes «embrionarias», a partir de células somáticas, presentes en tejidos de fetos, recién nacidos o adultos, las denominadas células troncales pluripotentes «adultas». Los investigadores japoneses demostraron que la adición de un reducido número de genes posibilitaba la transformación, la inducción de células somáticas a células troncales pluripotentes. Por ello, a las células troncales obtenidas por este tercer procedimiento se las denominó pluripotentes «inducidas» o iPS. En este capítulo resumiré las investigaciones publicadas en los tres últimos años en este campo, subrayando los descubrimientos, las innovaciones científicas y tecnológicas y las continuas variaciones metodológicas que se suceden en la literatura, en la búsqueda de técnicas de obtención y uso de células pluripotentes inducidas cada vez más eficaces y robustas. Finalmente, es importante resaltar la credibilidad y relevancia de estos trabajos, validados y refrendados por múltiples laboratorios de de Luis Montoliu independiente en todo el mundo, frente a los recientes casos de fraude que habían contaminado lamentablemente el campo de investigación de las células troncales pluripotentes humanas.²⁸

3.2.3.2. Obtención de células mesenquimales derivadas de los dientes.

Hasta la fecha hay 5 tipos de tallos progenitores dentales principales; células dentales madres de la pulpa, células madre exfoliadas de dientes (temporales), células madre del ligamento periodontal, células madre apicales de la papila y células madre foliculares dentales. Estas células tienen la cualidad de ser pluripotenciales, incluyendo capacidad de renovación, son capaces de diferenciarse en varios linajes de células, tales como osteogénicos, condrogénicos, adipogénicos, miogénico y neurogénico.

También otra técnica es la obtención de células madre de la médula ósea, grasa, cordón umbilical, piel, sangre, por mencionar algunas.²⁹

3.2.4. Formas terapéuticas celulares

Existen diferentes tipos de terapia celular, aun que no todas están avaladas científicamente puesto que ciertas terapias se han utilizado con fines fraudulentos sin un soporte científico.³⁰

Inyección intramuscular: Se inyectan células madre o de un órgano o grupo de órganos extraídos de fetos especialmente preparados por laboratorios especializados y controlados por Salud Pública de los distintos países. Es esencial la anamnesis del paciente y los análisis efectuados antes de la aplicación y el cuidado post-implante.³⁰

Oral o rectal: Se utilizan extractos de órganos que se administran por vía oral o en forma de supositorios que se insertan en el recto del paciente.

Dinamizada: Los extractos de órgano son dinamizados homeopáticamente y se aplican ya sea por boca, por supositorio o inyección intramuscular.

Trasplantes: Tanto de células madre que son autólogas (del paciente) o alogénico (de un donante), de células funcionales maduras, xenotrasplante de una célula que no sea humana, para producir una sustancia necesitada (por ejemplo, tratar pacientes diabéticos al introducirles insulina producida de células de cerdo directamente en el músculo). O trasplantes de células transdiferenciadas derivadas de una célula diferenciada del mismo paciente (por ejemplo, el uso de insulina produciendo células beta transdiferenciadas de hepatocitos aislados como tratamiento de la diabetes).³⁰

Células madre y clonación terapéutica: actualmente en desuso por cuestiones bioéticas.³⁰

3.2.5 El micro ambiente de las células madre.

El uso de una capa de soporte de fibroblastos mitóticamente inactivos para el cultivo de células madre ha permitido mantener líneas celulares indiferenciadas para su investigación; sin embargo, la diferenciación espontánea de estos linajes, ocurre con facilidad por lo que en estas investigaciones, es necesario la creación de subcultivos de células que permanezcan indiferenciadas.³¹ A pesar de la capacidad para cultivar estas células, la verdadera naturaleza de las células madre solo puede ser reconocida descubriendo los mecanismos que las regulan.³² Por esto el estudio del microambiente o nicho particular que rodea a las células madre, permitiéndoles permanecer en su estado indiferenciado y de autoperpetuación, es de gran importancia. Sin embargo estos nichos han sido solo parcialmente inferidos debido a la dificultad de manipular e identificar células madre individuales.³³

Un nicho se reconoce porque aunque las células madre que contiene desaparezcan, éste se mantiene y el destino de las células madre es irrelevante para el mismo. Además el nicho específico de cada linaje, va a definir de manera precisa la forma de dividirse de la célula madre y el destino que las células hijas tendrán. Por ejemplo, los nichos pueden orientar la división de sus células multipotentes permitiendo que solo una de las células hija herede las moléculas de unión de la membrana basal del nicho, colocando una célula que se libere del nicho y proceda a diferenciarse; por el contrario, si el nicho permite que las dos células hijas hereden las moléculas de contacto, entonces la población de células madre se mantendrá estable.³³ Estos tipos de divisiones en un nicho son divisiones asimétricas, que han sido denominadas asimetría invariable y asimetría poblacional respectivamente.³⁴ Durante una división celular asimétrica cada una de las células hijas puede adquirir un potencial diferente de desarrollo,³³ posiblemente el nicho de las células madre en la mayoría de los tejidos de los mamíferos presente un tipo de división asimétrica poblacional, esta

división, a diferencia de la división invariable permite la generación de un continuo de células madre y progenitoras permitiendo que la asimetría se alcance a partir de la población y no de divisiones celulares individuales.³⁴

El nicho también ejerce control sobre la célula madre mediante factores secretados. La secreción de factores de crecimiento y mantenimiento fue descrita inicialmente en la hematopoyesis.

En este sistema la función de los factores secretados parece ser selectiva,³⁴ mientras que en las células madre de la cresta neural los factores pueden jugar un papel instructivo en la diferenciación.^{33,34} Dos familias de factores presentan una función conservada entre especies y tejidos. El factor transformante de crecimiento relacionado (TGF- β) y la vía de señalización el factor Wnts. Estos factores activadores de la transcripción participan en la diferenciación de células madre de diferentes nichos.³⁴ En el nicho germinal, las células de Sertoli producen el factor TGF- β el cual afecta la proliferación de células germinales pre-meióticas, incluyendo a las células madre.³³ En el nicho epidermal los factores TGF- β RII la vía de señalización Wnt parecen inducir la generación de folículos pilosos, además el factor Wnt también permite la diferenciación de las células foliculares y no queratinocitos,³³ por lo menos dos miembros de la familia TGF- β son importantes en la regulación de la diferenciación de las células madre de la cresta neural.³⁴

La adhesión de las células madre de la membrana basal del nicho es mediada por moléculas de adhesión, siendo las integrinas las más ampliamente caracterizadas. Las integrinas mantienen a las células madre en posición y la pérdida o alteración de estas moléculas causa que las células madre se diferencien o inicien la apoptosis, además las integrinas pueden activar receptores de factores de crecimiento.³⁴ Las integrinas α y β se encuentran sobre-expresadas en la capa basal del nicho germinal de los mamíferos, lo cual permite que las células madre de las espermatogonias se mantengan unidas al nicho.³³ El nicho del epiblasto pluripotente, en el embrión humano, es proporcionado por los tejidos extraembrionarios, como el trofoblasto y el endodermo visceral. La región anterior

del endodermo visceral secreta una señal relacionada con el factor TGF- β el cual controla la diferenciación de la parte más anterior de los linajes embrionarios. Las células de la línea germinal y mesodérmica son inducidas por el factor Bmp4 producido por las células del trofoblasto.³⁴

3.2.6. Aplicación de las células madre dentales.

Cuadro 2. Aplicaciones de células madre.³⁵

Regeneración dentaria
Regeneración de huesos y estructura craneofacial
Regeneración cardíaca, Regeneración de cornea, Regeneración de piel, Regeneración cardíaca, Regeneración hepática
Regeneración muscular y cirugía plástica
Enfermedades autoinmunes
Problemas neurológicos
Diabetes

Cuadro 2. Aplicaciones de células madre.³⁵

3.3. Terapia Génica.

El segundo gran campo de la medicina regenerativa es la terapia génica, que consiste en la inserción de un gen en una célula para sustituir o bloquear un gen defectuoso o ausente en las células.³⁶ La investigación en este campo está enfocada a conocer la forma por la cual los genes controlan la función celular para

que cuando alguno de ellos falle, se puedan introducir al organismo nuevos genes que funcionen de manera normal. Las modificaciones pueden ser realizadas fuera de las células cultivadas y luego administradas al paciente mediante un vector (procedimientos “*ex vivo*”) o pueden ser involucradas como modificaciones en las células del individuo directamente.³⁶

Corregir un defecto genético o para dotar a las células de una nueva función que les permita superar una alteración. Con la ayuda de vectores adecuados, que son generalmente virus, se introduce el gen correcto y se integra en el ADN de la célula enferma mediante técnicas de recombinación genética. La modificación del genoma de las células diana con el fin que sinteticen una proteína de interés terapéutico permite compensar una insuficiencia debida a la alteración de un gen celular, estimular una mejor respuesta inmunitaria contra un tumor o conferir resistencia a la infección producida por un virus; En principio existen tres formas de tratar enfermedades con estas terapias.³⁷

Sustituir genes alterados: Se pueden corregir mutaciones mediante terapia génica, sustituyendo el gen defectuoso o reparando la secuencia mutada. (Fig. 8)

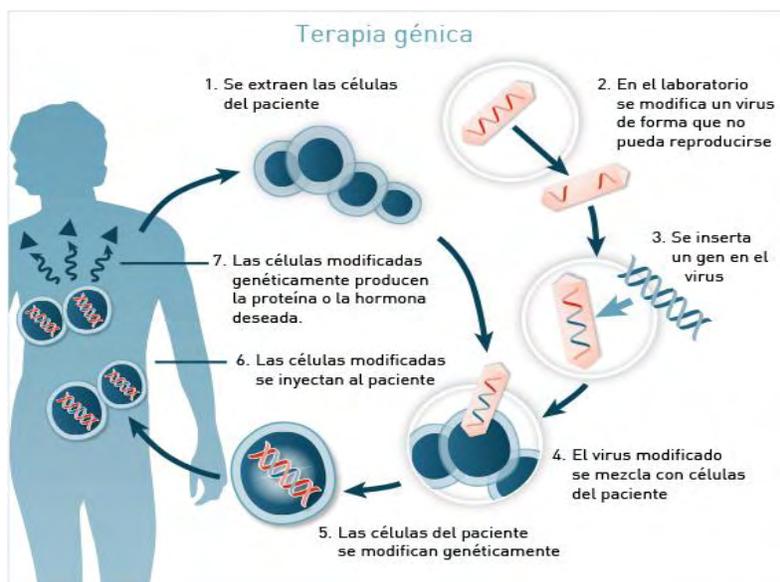


Figura 8. "Terapia génica".³⁸

Inhibir o contrarrestar efectos dañinos: Se lleva a cabo mediante la inhibición dirigida de la expresión génica. Este proceso se desarrolla bloqueando promotores, interfiriendo con los mecanismos de expresión génica mediante RNAs anti-sentido que son complementarios de mRNA y se unen a ellos bloqueándolos, o, más recientemente, mediante siRNA ("small interfering RNA", "RNAs pequeños interferentes"), que bloquean secuencias específicas de RNA, por lo que pueden inhibir cualquier gen bloqueando sus mRNA³⁷

Insertar genes nuevos: Se realiza por supresión dirigida de células específicas. Se insertan genes suicidas que destruyen a la propia célula que los aloja o genes estimuladores de la respuesta inmune. También se puede introducir una copia de un gen normal para sustituir la función de un gen mutante que no fabrica una proteína correcta.³⁸ (Fig.9)

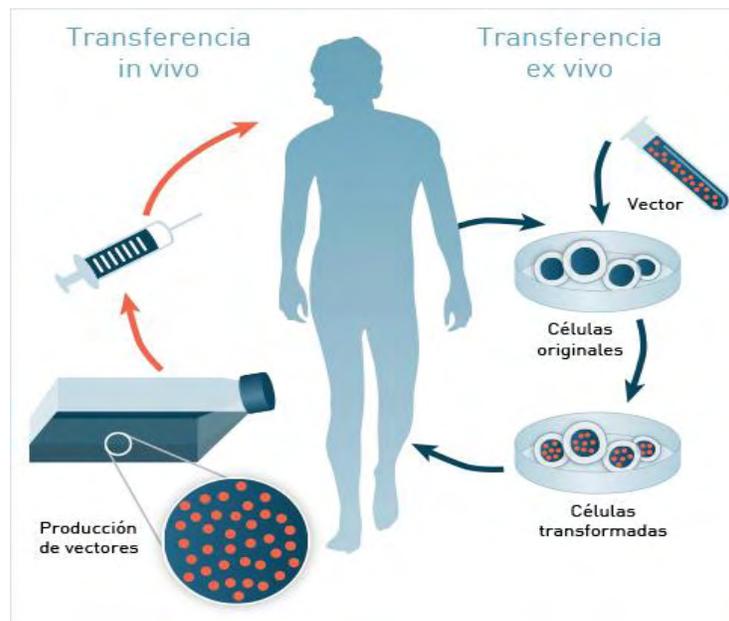


Figura 9. "Terapia génica".³⁹

En el desarrollo de dicha terapia hay que tener en cuenta diversos factores:

Es necesario saber cuál es “tejido diana”, es decir, el que va a recibir la terapia, conocer si es posible tratar *in situ* el tejido afectado, cuál es el vector adecuado que servirá para introducir el gen en el tejido, cuál es la eficacia del gen nuevo y saber qué respuesta tendrá el órgano o tejido «hospedador», con la entrada del gen modificado.⁴⁰

3.4. Ingeniería de tejidos (Bio-fabricación).

Esta es la tercera disciplina de la medicina regenerativa, la Bio-fabricación es llevada a cabo por la disciplina que lleva el nombre de ingeniería de tejidos. La ingeniería de tejidos, es una rama de la ingeniería biomédica cuyo objetivo es la producción de células, tejidos y órganos funcionales con el objetivo de reparar, reemplazar o mejorar funciones biológicas, lo anterior con aplicaciones en medicina regenerativa. El método convencional de la ingeniería de tejidos para la creación de estructuras vivas es mediante el uso de andamios celulares,^{41,42} los cuales son estructuras de materiales Bio-compatibles como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, materiales basados en hidroxiapatita y materiales basados en hidrogeles entre otros muchos otros que existen y otros que se encuentran en desarrollo para tejidos y técnicas específicas.⁴²

Estos andamios son creados en condiciones asépticas con diferentes propiedades químicas y biológicas, después de creados, son cubiertos con células vivas y diversos factores de crecimiento, de esta manera las células implantadas en el andamio se reproducen y adquieren la morfología del andamio (scaffold en inglés). Una vez adaptadas las células, el andamio es colocado en la parte de cuerpo en la que se requiere una regeneración del tejido. Un ejemplo muy conocido de esta técnica se puede apreciar en los experimentos realizados por el Dr. Charles Vacanti y sus colegas (2011) de la Universidad Médica de Massachusetts, quienes fabricaron un andamio en forma de oreja y lo implantaron en el dorso de un ratón.⁴³

Las raíces de la manufactura aditiva datan de hace 150 años con las técnicas de topografía y foto-escultura, las cuales pueden categorizarse como procedimientos manuales. Las técnicas de manufactura aditiva moderna pueden rastrearse hasta 1951 con la creación del proceso actualmente conocido como estereolitografía.⁴⁴

El principio básico de la manufactura aditiva es que un modelo inicialmente creado digitalmente mediante software de CAD (Computer Aided Design) pueda ser fabricado directamente sin la necesidad de un proceso de planeación,⁴⁴ lo anterior a través de una extracción de coordenadas del modelo tridimensional para ser usadas en robots que fabrican automáticamente el modelo, esta fabricación se da mediante la adición de material en capas en el plano horizontal, esta consecutiva adición en capas da como resultado la construcción final del producto impreso.

3.4.1. Materiales empleados como andamios

La utilización de materiales adecuados son de suma importancia, ya que mediante estos se puede mejorar un proceso o sino también puede influir de manera negativa en el destino celular de la persona a la cual se le implante. Debe ser como un traje a la medida para cada sitio.

Para este caso han sido investigados diferentes tipos de materiales (naturales y sintéticos, biodegradables y permanentes) para la implementación en la impresión 3D.

Por lo tanto, la mayoría de estos materiales han sido conocidos en el campo de la medicina antes de la llegada de la ingeniería de tejidos como un tema de investigación, ya que se emplean como biorreabsorbibles (suturas). Ejemplos de estos materiales son el colágeno y algunos poliésteres.⁴⁵

Un material sintético utilizado es PLA (ácido poliláctico). Este es un poliéster que se degrada en el cuerpo humano para formar ácido láctico, una sustancia química de origen natural que se elimina fácilmente en el cuerpo. Materiales similares son el ácido poliglicólico (PGA) y policaprolactona (PCL): su

mecanismo de degradación es similar a la de PLA, pero que presentan, respectivamente, menor velocidad de degradación en comparación con el PLA, recientemente se ha utilizado la hidroxiapatita como material de andamio, utilizado preferentemente en la medicina regenerativa aplicada a la odontología.⁴⁵

Un estudio realizado en 2009 por Ratmir y Cold, dirigido a mejorar las condiciones de un ser vivo, para el tejido 3D a través de "apilamiento de capas de papel impregnado con suspensiones de células en la matriz extracelular de hidrogel, por lo que es posible controlar los gradientes de oxígeno y de nutrientes en 3D, y para analizar las respuestas moleculares y genéticas".⁴⁵ Es posible manipular los gradientes de moléculas solubles, y caracterizar las células en estos cultivos complejos con mayor eficacia que los cultivos 3D convencionales basados en hidrogeles, esferoides celulares, o reactores de perfusión 3D.⁴⁵ Los diferentes grosores de papel y tipos de medio pueden soportar una variedad de entornos experimentales. La construcción de estas hojas, pueden ser útiles con base en células cultivadas de alto rendimiento y el descubrimiento de fármacos aplicados a estos, es de alta relevancia tener un andamio ideal para que las células puedan diferenciarse en el andamio y que no migren a otra parte fuera del andamio o del cuerpo.⁴⁵

Cuadro 3. Andamios con polímeros naturales “producidos por seres vivos” (Fuente Directa 18/03/17).

Polímeros de origen protéico	Polisacáridos
Colágeno Gelatina Fibrina Fibropectina ADN Lana Aminoácidos	Quitosano Almidón Alginato Hiluronidasa Celulosa Glucógeno

Fuente Directa 18/03/17.

Cuadro 4 de andamios con polímero sintéticos. (Fuente Directa 18/03/17)

Polímeros Sintéticos
PGA(Ácido 3-Fosfoglicérico) PLGA(Glicelaldehído-3-fosfato) Polifumaratos Polihidroxiakenolatos Poliglicerosebacatos PAA Poliuretanos Pluronic F-127 Poliortoester Polifosfosenos Polianídridos Polipirrol

Fuente: Directa 18/03/17..

Cuadros 5. Las técnicas más utilizadas para la fabricación de andamios celulares junto con sus características, ventajas y desventajas se presentan en la tabla mostrada a continuación (Fuente Directa 18/03/17).

Técnicas de bioimpresion		
Técnica	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Deshidrocongelación	Simples pasos del proceso Alta porosidad Alta interconectividad de los poros.	Control limitado de tamaño del poro y geometría. Tiempo de uso.
Electrohilado	Pueden ser usados diversos materiales.	Usa solventes La geometría del poro es incontrolable.
Formación de gas	Proceso simple Libre de disolvente.	Tamaño del poro y geometría incontrolables Limitada interconectividad de

		los poros.
Formación de gas y lixiviación de partículas	Alta porosidad Libre de solventes.	Tamaño del poro y geometría incontrolables Limitada interconectividad de los poros.
Formación de gas y lixiviación de partículas colada con disolvente y lixiviación de partículas	Proceso simple Alta porosidad.	Uso de solvente Espesor limitado en la estructura Limitada interconectividad de los poros.
Sinterización selectiva por laser	Controlable porosidad y morfología.	Proceso a alta temperatura.
Estereolitografía	Libre de solvente Geometría y porosidad controlable.	Requiere materiales foto-reticulables.
Modelado por deposición fundida	Porosidad controlable Buena integridad estructural Libre de solventes.	Necesidad de alta temperatura Solo materiales termoplásticos.

Fuete: directa 18/03/17.

Sin embargo, existen limitaciones técnicas, tejidos pueden ser creados mediante estas técnicas. Otras de las limitaciones del enfoque de andamios celulares con las técnicas de fabricación convencionales son las siguientes: Mala distribución celular en las estructuras 3D, especialmente debajo de la superficie del andamio, difícil e impreciso el posicionamiento de múltiples tipos de células, la composición del andamio en diferentes posiciones, concentración local de factores de

crecimiento específicos, dificultad de introducción de complejas redes sanguíneas, escaso control en la biodegradación del andamio.

En el intento de superar estas limitaciones se creó el concepto de Bio-impresión alrededor del año 2003, científicos como el Dr. Gabor Forgacs, Dr. Vladimir Mironov y El Dr. Thomas Boland entre otros, imprimieron células vivas en una impresora de inyección convencional y demostraron que las células sobrevivían al proceso de impresión.⁴⁵ Este fue el inicio del concepto y práctica de la Bio-impresión 3D.

Anthony Atala es un urólogo y cirujano pediatra y dirige el Instituto Wake Forest de Medicina Regenerativa en Carolina del Norte, Estados Unidos; Junto a su equipo y en un trabajo de más de dos décadas ha implantado con éxito en pacientes humanos una variedad de tejidos y órganos regenerados a partir de células del propio paciente;

Las células del paciente son cultivadas y crecen sobre una estructura de biomateriales (FIG.10), una vez implantada en el cuerpo humano se desintegra como los puntos después de una cirugía.⁴⁶

En 2006, Atala y su equipo, anunció el primer trasplante de órganos de bioingeniería exitoso, una vejiga que había sido implantada en siete pacientes en 1999. A principios de 2014 se anunció el éxito del seguimiento de cuatro mujeres que recibieron vaginas entre 2005 y 2008,⁴⁶ sí como lo ha hecho la doctora Atlantida Raya del hospital Federico Gómez, por importantes avances por la doctora Velasquillo del Instituto Nacional de Rehabilitación.



Figura10."Andamio en forma de oreja".⁴⁷

CAPÍTULO 4. MEDICINA REGENERATIVA APLICADA A LA ODONTOLOGÍA.

4.1. Terapia celular y odontología.

Es el primer campo en el que se puede beneficiar directamente la odontología de la Medicina Regenerativa es la terapia celular, ya que se han hecho investigaciones enfocadas en las células madre obtenidas de estos dientes y realizadas investigaciones con capacidad de diferenciación de todos los tejidos encontrados en el órgano dental, estas investigaciones han sido aplicadas a diferentes especies, entre ellas ratones murinos y porcinos, teniendo un resultado favorable para futuras terapias celulares aplicadas a la odontología, entre ellos grandes investigadores que le han dado soporte a esta nueva disciplina.

Después de Gronthos (2000), el Dr. Songtao Shi (2003), utilizó células madre de los dientes primarios. Utilizando los dientes de leche de su hija de seis años de edad pudo aislar y reproducir estas células y preservarlas para que en un futuro se pueda utilizar su potencial regenerativo.⁴⁸

Algunos científicos han reportado que los dientes temporales de los niños se comienzan a exfoliar alrededor de los 6 años, contienen en la pulpa dental, una fuente rica en células madre. Los investigadores dicen que este descubrimiento podría tener implicaciones importantes porque las células madre se mantienen vivas dentro del diente por un corto tiempo luego de que se exfolia.⁴⁸

En el año 2006, se descubrió que las células madre mesenquimatosas (MSC)-equivalente a las células madre de la médula ósea son capaces de regenerar el tejido dañado tales como el corazón, el hígado, cerebro y piel. En el 2008, se comenzó a utilizar las células madre mesenquimatosas (MSC) derivadas de los dientes permanentes para el tratamiento de enfermedades hepáticas en modelos animales. A partir de esto se descubrió que las MSC provenientes de los terceros molares (muelas del juicio) son capaces de formar las células del hígado, de

prevenir la progresión de la fibrosis hepática, además de suprimir la inflamación del hígado y mejorar la función hepática general.⁴⁸

Gracias a estos importantes avances, los investigadores y especialistas comenzaron a trabajar en investigaciones similares pero ahora con las células madre provenientes de dientes temporales, dando como resultado que estas últimas son superiores a las de las muelas de juicio por su alta capacidad de diferenciación.⁴⁸

El 15 de agosto de 2011, en Tokio, Japón, Takashi Tsuji, creó con éxito nuevos gérmenes dentales que fueron regenerados y trasplantados a partir de células madre dentales. La investigación comenzó con la obtención de células madre de los dientes de ratones, después estas células fueron colocadas en un molde para poder controlar así el crecimiento y la forma de los dientes a regenerar. Después los investigadores trasplantaron las unidades dentales completas dentro de las mandíbulas de unos ratones de un mes de nacidos. Los resultados obtenidos fueron que los dientes se fusionaron con los huesos y los tejidos maxilofaciales y se observó que las fibras nerviosas crecían dentro de los nuevos dientes.⁴⁸

4.2. Obtención de células mesenquimales derivadas de los dientes.

Hasta la fecha hay varios tipos de tallos progenitores dentales; células dentales madres de la pulpa, células madre exfoliadas de dientes primarios (temporales), células madre del ligamento periodontal, células madre apicales de la papila y células madre foliculares dentales. Estas células tienen la cualidad de ser pluripotenciales, incluyendo capacidad de renovación, son capaces de diferenciarse en varios linajes de células, tales como osteogénicos, condrogénicos, adipogénicos, miogénico y neurogénico.⁴⁹

4.3. Tipos de células madre.

4.3.1 Células madre de la pulpa dental, DPSC (Dental Pulp Stem Cells).

Estas fueron las primeras células madre dentales que se aislaron en comparación con las células madre de la médula y se consideró que había una comunidad de células madre multipotenciales en el tejido pulpar de dientes maduros. En los siguientes estudios se les relacionó con ciertas características endoteliales y vasculares, pero después de un tiempo se aislaron y se determinaron sus características.⁵⁰

El origen y localización exacta de estas células es incierto. Se han estudiado principalmente las células que proviene de terceros molares y dientes supernumerarios, cabe destacar que si son aisladas durante la formación de la corona. Las DPSC (Dental Pulp Stem Cells) son más proliferativas si se aíslan más adelante. Las células madre de la pulpa dental (DPSC) han demostrado que pueden ser una promesa para aplicaciones clínicas: el acceso al lugar donde se encuentran estas células es fácil y de escasa morbilidad, su extracción es altamente eficiente, tienen una gran capacidad de diferenciación, y su demostrada interacción con biomateriales las hace ideales para la regeneración tisular. La capacidad de diferenciación de las DPSC quedó demostrada en estudios experimentales en murinos, donde se pudo observar su potencial terapéutico para la reparación de un infarto de miocardio, siete días después, estas células fueron inyectadas en el miocardio de los animales y después de haber transcurrido las cuatro semanas, los murinos que fueron sometidos a ese tratamiento celular mostraron una mejora en su función cardíaca.⁵⁰ (FIG. 11).

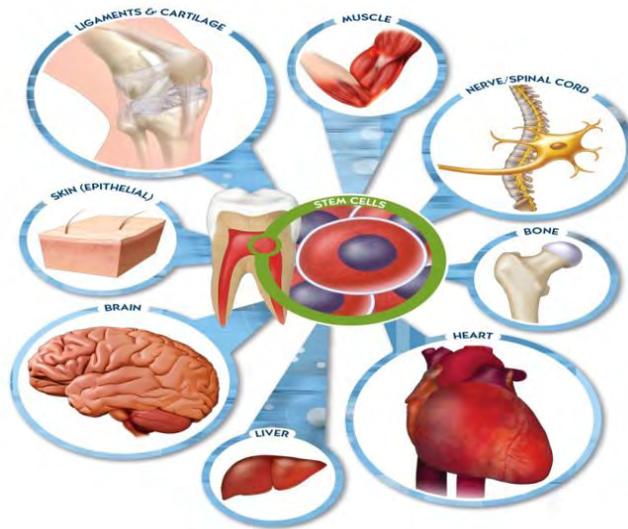


Figura11. "Aplicaciones de las células de la pulpa en la medicina regenerativa".⁵¹

4.3.2. Células del ligamento periodontal, PDLSC (Periodontal Ligament).

Se ha comprobado que el ligamento periodontal tiene poblaciones de células que pueden diferenciarse tanto hacia cementoblastos como hacia osteoblastos. La presencia de muchos tipos de células en el periodonto, refiere que este tejido tiene células madre PDLSC (Periodontal Ligament Stem Cells) que mantienen la homeostasis y la regeneración del tejido periodontal.

Los análisis *in vivo* con PDLSC realizados en ratones inmunocomprometidos, sugirieron la participación de estas células en la regeneración de hueso alveolar al propiciar la formación de una fina capa de tejido muy similar al cemento que, además de contar entre sus componentes con fibras colágenas, se asociaron íntimamente al hueso alveolar próximo al periodonto regenerado. Las fibras de colágeno que se desarrollan *in vivo* en humanos, son capaces de unirse a la nueva estructura formada de cemento, pareciéndose a sí a la unión fisiológica de las fibras de Sharpey.⁵⁰ (Fig.12 ligamento periodontal).

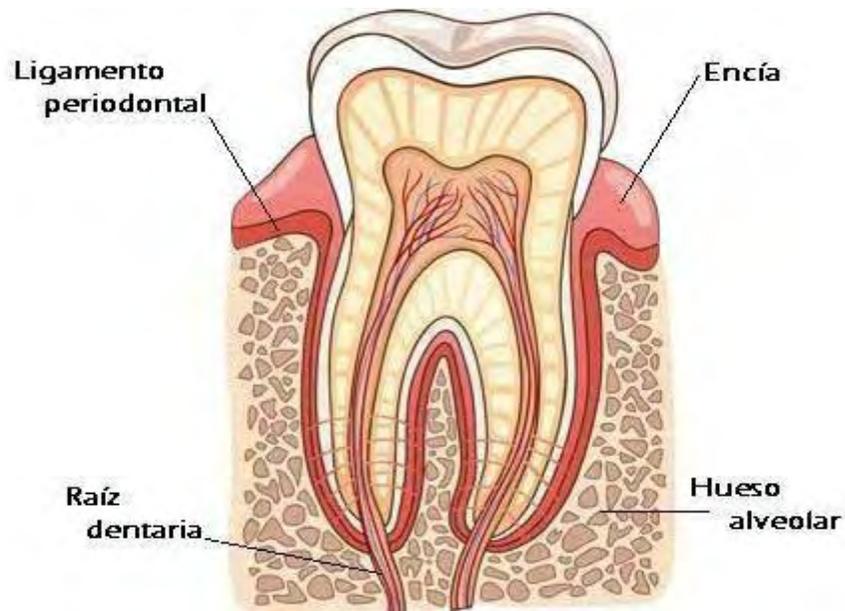


Fig12."Imagen del ligamento periodontal y zonas del diente".⁵²

4.3.3. Células madre de dientes temporales exfoliados, SHED (Stem cells from).

Cuando se aíslan las células de la pulpa remanente de los dientes temporales (Fig. 13), denominadas SHED. Los resultados revelan que la pulpa tiene una gran cantidad de células multipotenciales muy diferentes a las células aisladas anteriormente de la pulpa de los dientes permanentes.⁵⁰

Las SHED conservadas son una importante fuente de células madre fáciles de obtener. Los dientes temporales y permanentes son muy diferentes en cuanto a su función, proceso de desarrollo y estructura tisular. En la comparación de las SHED con las DPSC se encontró una mayor velocidad de proliferación y una mayor capacidad de especialización, un ejemplo muy importante es que existen células epiteliales en la pulpa de estos dientes por su origen. En cuanto las células mesenquimales son aisladas de una forma exitosa, se estudia la posibilidad de que jueguen un papel importante en la composición epitelial para la reparación o regeneración del diente, ya que sus características morfológicas corresponden al tipo de células madre epiteliales, que llegan a demostrar marcadores epiteliales.

También se ha comprobado el potencial de las SHED para diferenciarse de células angiogénicas, que tienen la capacidad de introducirse, es importante para cualquier tipo de regeneración con tejido conjuntivo. Es necesario el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) para que las SHED se diferencien en células endoteliales. En lo que se refiere a la capacidad osteoinductora, se comprueba en ratones, que las SHED pueden llegar a reparar defectos de formación ósea. De este modo, los dientes deciduos no sólo participan en la guía eruptiva de los dientes permanentes, sino que también pueden estar involucrados en la inducción ósea durante la erupción de los dientes permanentes. En una investigación con microscopio electrónico, el tejido y las estructuras pulpaes que fueron implantadas dentro de dientes tratados endodónticamente, se llegó a la conclusión que es posible implantar estas estructuras pulpaes creadas gracias a la ingeniería tisular dentro de los dientes después de su limpieza y conformación para su regeneración.⁵⁰



Figura13."Imagen de diente primario exfoliado con pulpa dental expuesta".⁵³

4.3.4. Células madre de la papila dental, SCAP (Stem Cells from the Apical Papilla).

La papila apical se refiere al tejido blando que se encuentra en los ápices de dientes permanentes que se están formando. Hay una zona rica en células entre la papila apical y la pulpa. Es importante mencionar que si no hay estimulación neurológica, las SCAP se vuelven positivas para varios marcadores neurológicos, pero cuando se estimulan neurológicamente, el número de marcadores aumenta de una forma considerable. Pareciera que las SCAP son las precursoras de los odontoblastos primarios, responsable de la formación de la dentina radicular, mientras que las células madre de la pulpa (DPSC) son, las precursoras de los odontoblastos que forman la dentina reparativa. Además, estas células, contienen un mayor componente vascular y celular que las SCAP.⁵⁰

4.3.5. Células madre del folículo dental, DFPC (Dental Follicle Precursor Cells).

El folículo dental es un tejido ectomesenquimal (Fig.13) que rodea el órgano del esmalte y la papila dental del germen del diente permanente en formación. Este tejido contiene, células madre, que son las que forman el periodonto, que a su vez está constituido por cemento, ligamento, hueso alveolar y encía. Las DFPC se aíslan de los folículos dentales de los terceros molares impactados. Son semejantes al resto de células madre de origen dental pero forman menos células clonogénicas que los demás tipos de células madre dentales. *In vitro*: estas células tienen una morfología muy parecida a la de los fibroblastos. Después de inducción, se ha demostrado diferenciación osteogénica. Se ha identificado el antígeno STRO-1 en los folículos dentales. El trasplante de estas células genera una estructura constituida de tejido fibroso rígido. No se ha observado ni dentina, ni cemento, ni formación ósea en el trasplante *in vivo*. Morzseck (2005) ha

explicado la posibilidad de que sea debido a la reducida cantidad de células en los cultivos.⁵⁰

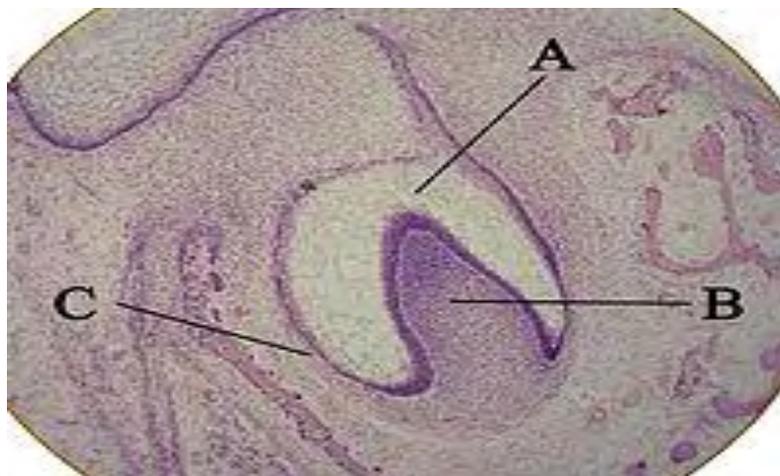


Figura14. "Imagen de un primordio dental que muestra el folículo dental". A) Órgano del esmalte, B) Papila dental, C) Folículo dental.⁵⁴

Cuadro 5. Con tipos de células y características de diferenciación provenientes de los dientes. (Fuente Directa 18/03/17).

TIPO DE CELULA	ABREVIATURA	CARACTERISTICAS IN VITRO	CARACTERISTICAS IN VIVO	DESCUBRIMIENTO
C.M. DE LA PULPA	DPSC	Multipotencialidad con capacidad: Osteo/dentinogénica. Adipo/neurogénica. Condro/miogénica.	Formacion de tejido ectópico: Complejo dentino/pulpar. Células similares a odontoblastos. Tejido óseo similar al original.	Gronthos y Colds. 2000-2002

C.M. DEL LIGAMENTO PERIODONTAL	PDLSC	Multipotencialidad capacidad: Osteo/cementogénica. Adipo/neurogénica. Condro/miogénica.	con	Formación de tejido ectópico: Tejido similar al cemento. Células similares a odontoblastos.	Seo.2004
C.M. DE DIENTES EXFOLIADOS	SHED	Multipotencialidad capacidad: Dentinogénica Osteoconduccion Osteo/cementogénica Adipo/neurogénica. Condro/miogénica.	con	Formación de tejido ectópico: Tejido similar al dentino/pulpar. Células similares a odontoblastos. Formación ósea.	Miura.200 3
C.M. DE LA PAPILA DENTAL	SCAP	Multipotencialidad capacidad: Dentinogénica. Adipo/neurogénica. Condro/miogénica.	con	Formación de tejido ectópico: Similar al dentino/pulpar. células similares a odontoblastos.	Sonoyam a.2008

Fuente: Directa 18/03/17.

C.M DEL FOLICULO DENTAL	DFPC	Multipotencialidad con capacidad: Odontogénica Cementogénica. Adipo/condrogénica.	Formación de tejido ectópico: Similar al ligamento periodontal. Formación de matriz cementaria.	Morzseck.2005
--------------------------------	-------------	--	--	----------------------

4.4. Terapias con células madre.

Las células madre dentales se pueden diferenciar en tejidos dentales como la dentina y la pulpa teniendo la posibilidad de generar piezas dentales completas para reemplazar dientes perdidos y utilizar dientes naturales o biológicos en lugar de implantes artificiales.⁵⁵

Así también, las células madre dentales se pueden utilizar para tratar problemas con tejidos dentales específicos como problemas relacionados a la dentina.

Utilizando las células madre dentales de una rata (Fig.14), se demuestra la posibilidad de formar dientes creados por medio de la bioingeniería.⁵⁵



Figura15. "Imagen de la regeneración dentaria en dientes de una rata".⁵⁶

Utilizando las células madre dentales de cerdos se crea la formación de un diente que tenga dentina y esmalte. Esto da la posibilidad de crear dientes de bioingeniería para personas que requieren reemplazar dientes perdidos.

Al poder lograr una reproducción rápida de las células, se da a conocer la posibilidad de llegar a tratar problemas de la dentina en un futuro. Las células madre dentales pueden ser utilizadas para regenerar tejidos dentales *in-vivo*.

Las células madre dentales son la fuente más accesible de células madre. Éstas tienen las características de multipotencialidad y se reproducen en grandes cantidades por lo que son una buena opción para la regeneración de tejidos.⁵⁶

Las células madre dentales pueden ser diferenciadas en osteoblastos (células óseas) y pueden ser utilizadas para corregir defectos cráneo faciales. Al combinar las células madre con matrices de colágena se ha demostrado que las heridas y los defectos cráneo faciales pueden ser corregidos de forma más rápida y con estructuras óseas mejor formadas, esperando la regeneración natural de los tejidos. Todas las estructuras cráneo faciales son derivadas del tejido mesenquimal.⁵⁶

Las células madre dentales pueden regenerar varios tejidos craneofaciales por lo que pueden representar un significativo avance en la odontología regenerativa. Las células madre dentales se pueden utilizar para la regeneración de hueso por lo que representan un gran potencial para revolucionar la implantología dental.

Las células madre dentales son una herramienta prometedora para la regeneración de estructuras corporales.⁵⁵ (Fig.15).



Figura16. "Radiografía donde se muestra la regeneración ósea por medio de células madre dentales".⁵⁷

Las células madre dentales pueden ser utilizadas para corregir grandes defectos craneofaciales en ratas, Hasta ahora indica que pueden ser una forma para un futuro prometedor para la reconstrucción de problemas craneofaciales en humanos. Con este estudio se puede demostrar que las células madre dentales y las matrices de colágena pueden llegar a corregir completamente los defectos de la mandíbula así como de otros tejidos y órganos. Aplicación de las células madre en pacientes con enfermedades periodontales con resultados favorables.⁵⁶

Las Células Madre pueden ayudar a tratar enfermedades periodontales (Fig.16) .Hasta el momento la inyección de células madre a nivel de la encía, se ejecuta mediante un tratamiento estomatológico, en el cual se prepara la zona y aplican las células madre, previamente obtenidas del paciente, que por ser del propio organismo no tiene riesgos y en ninguno de los casos hasta ahora se han presentado manifestaciones secundarias, pero hay que tomar siempre en cuenta su capacidad de diferenciación.⁵⁶



Figura17."Imagen de un paciente con enfermedad periodontal".⁵⁷

4.5. Terapia Génica aplicada a la odontología.

Uno de los campos de la odontología que puede beneficiarse directamente de este tipo de terapias lo constituye las alteraciones craneofaciales y dentales. El 5% de todos los nacidos en Estados Unidos cada año tiene algún defecto congénito y por lo menos 1/800 presenta una malformación que afecta la cabeza, la cara o el cuello. De las cerca de 5.500 patologías heredadas que presentan malformaciones, cerca de 700 involucran la región craneofacial y alrededor de 300 se manifiestan con labio y/o paladar fisurado.⁵⁸

El odontopediatra y el ortodoncista frecuentemente deben prestar atención a los pacientes que padecen este tipo de patologías. Algunas craneosinostosis como los síndromes de Apert, Pfeiffer y Crouzon, que afectan el crecimiento craneofacial normal, debido al cierre prematuro de las suturas, son producidos por una mutación en el gen FGFR2 (receptor tipo II del factor de crecimiento fibroblástico). La investigación actual en biología de las suturas, está dirigida a conocer las funciones de los genes que se expresan en este tejido, los

mecanismos de señalización celular, las actividades de los factores de transcripción específicos y las interacciones celulares. Cuando se conozcan estos procesos será posible prevenir o intervenir tempranamente mediante terapia génica perinatal las patologías relacionadas con cráneosinostosis o con otros síndromes que afectan el crecimiento craneofacial. Al respecto Kyrkanydes y Millar (2002), vienen desarrollando una modalidad de terapia génica para la transferencia de genes terapéuticos a animales y pacientes utilizando un virus de pseudotipo de inmunodeficiencia felina (VSV-G) y han demostrado niveles de expresión génica estable en varios órganos y estructuras examinadas.⁵⁸

Otra área de la odontología que podría beneficiarse con la terapia génica está relacionada con las enfermedades que afectan las glándulas salivales. Sin embargo, la mayor limitación para el uso de la terapia génica, en este campo, radica en la elección del vector utilizado para transferir los genes, ya que actualmente los vectores disponibles inducen reacciones inmunes y otros efectos indeseables que impiden establecer con seguridad este tipo de terapias.⁵⁸

La terapia génica puede ser utilizada también para el tratamiento del dolor crónico severo. Se han demostrado que los genes pueden ser transferidos a células del sistema nervioso central de los modelos animales. Por ejemplo la transferencia del gen β -endorfina produce analgesia efectiva en ratas. Este procedimiento podría ser de gran utilidad en un futuro para el tratamiento de la "neuralgia del trigémino".⁵⁸

La matriz extracelular en el hueso alveolar, periodonto y diente se relaciona con la localización de los morfógenos en la reparación ósea. En este proceso, los tejidos como el colágeno, son importantes en grandes defectos de hueso y mandíbula; dándose procesos de osteo-conducción. Se reporta que en defectos periodontales se pueden utilizar sistemas de osteoinducción (membranas periodontales) y al tiempo osteoconducción (terapia génica). La combinación de estas dos terapias en la utilización de las BMPs, permitiría obtener mejores resultados.⁵⁹

Se tomaron fibroblastos que codificaban para BMP7, y se transplantaron en ratas que tenían grandes defectos óseos a nivel mandibular. Las lesiones tratadas con BMP7 demostraron condrogénesis, osteogénesis, y cementogénesis en la reparación de defectos óseos periodontales. BMP 4 recombinante codifica para heparan sulfato, heparina, colágeno tipo I y IV de la matriz extracelular. Los componentes de la matriz extracelular activan morfógenos para permitir funciones proteolíticas. Las BMP4 en estado soluble, al entrar a ser componente de la matriz extracelular, se convierte en un estado sólido, en el cual puede iniciar sus funciones. La interacción entre la señal inducida por morfógenos y la respuesta celular es modulada por la matriz extracelular.⁵⁹

Las BMPs 2, 4, 7 pueden iniciar la cascada de osteogénesis y por esta razón tienen posibilidades terapéuticas en defectos craneofaciales, en trauma de cabeza y cuello y en defectos causados por neoplasias. Las BMPs 2 y 4 logran corregir defectos de 100 ug/g, mientras que las BMPs 7 corrigen defectos de 1.000 ug/g. La utilización de BMP, junto con implantes metálicos, pueden estimular el crecimiento óseo alrededor de los implantes, para lograr una integración óptima del implante. Sin embargo se requieren altas concentraciones para inducir regeneración tisular con BMP. La producción de morfógenos en la transducción de tejidos, aplicados directamente a la proteína podría ser más efectiva. Los estudios realizados en células mesenquimales de roedores y de humanos, utilizan el gen BMP 2 ó BMP 7 para formación de hueso nuevo *in vivo* e *in vitro*. Los ligandos también han sido incorporados dentro de la superficie de los vectores virales para permitir procesos celulares específicos, los cuales son menos riesgosos que otros métodos (inyección directa).⁵⁹

La accesibilidad y observación visual de la cavidad oral, hace que estos tejidos sean más favorables para la transferencia de genes que los órganos y tejidos viscerales. Métodos como la electroporación o sonoporación han sido usados para transferir el gen Gdf11 (que codifica para la proteína BMP11) en la pulpa dental amputada, y estimula la formación y reparación de dentina. En estos métodos se

aíslan las células madres de la pulpa dental con genes que codifican para las BMP, y luego se implantan las células dentro de la pulpa injuriada. Este procedimiento *ex vivo* para transferir genes, que podrían estimular la reparación y formación de dentina más rápidamente.⁵⁹

Sin embargo uno de los mayores campos de acción de la terapia génica en odontología, lo constituyen las técnicas usadas para la transferencia de genes en el tratamiento primario, o como terapia adjunta en los pacientes que presentan cáncer de cabeza y cuello. Podhajcer (2002) reportó la inmunización de ratones contra distintos tipos de cáncer (colon, mama y sarcoma) mediante terapia génica. Este experimento abre un nuevo camino hacia una terapia contra el cáncer.⁵⁸

Uno de los tratamientos para el cáncer utilizados hoy en día, consiste en marcar genéticamente a las células tumorales de un cáncer para que el organismo las reconozca como extrañas y pueda luchar contra ellas, estimulando la respuesta inmune. Otras estrategias que se siguen en la actualidad contra el cáncer son: inactivar oncogenes, introducir genes supresores de tumores, introducir genes suicidas, e introducir genes que aumenten la sensibilidad a los fármacos.⁵⁸

En un estudio reciente, Wang y col (2001), sugieren que la terapia génica con IL-12 combinada con la inmunización de la mucosa oral, puede inducir inmunidad sistémica antitumoral. Por otra parte Fukui y col (2001), proponen que la sensibilización de las células tumorales con “ganciclovir” (antiviral), utilizando como vector el virus asociado al adenovirus, podría ser utilizado con éxito en la terapia génica para el carcinoma oral escamo-celular.⁵⁸

Estos procedimientos permiten cambiar el gen defectuoso por un gen normal en etapas tempranas del desarrollo embrionario, o en otras etapas de la vida del individuo, impidiendo en esta forma que se desarrolle la enfermedad. Sin embargo este tipo de tratamientos al igual que todos los tratamientos generados a partir del proyecto genoma humano generan una serie de implicaciones de tipo bioético y legal que no son objeto de estudio.⁵⁸

Con la capacidad de diferenciación celular y la manipulación del genoma, se puede llegar a manipular la diferenciación de las células madre para aplicarlas posteriormente a la clínica. (Fig.17).

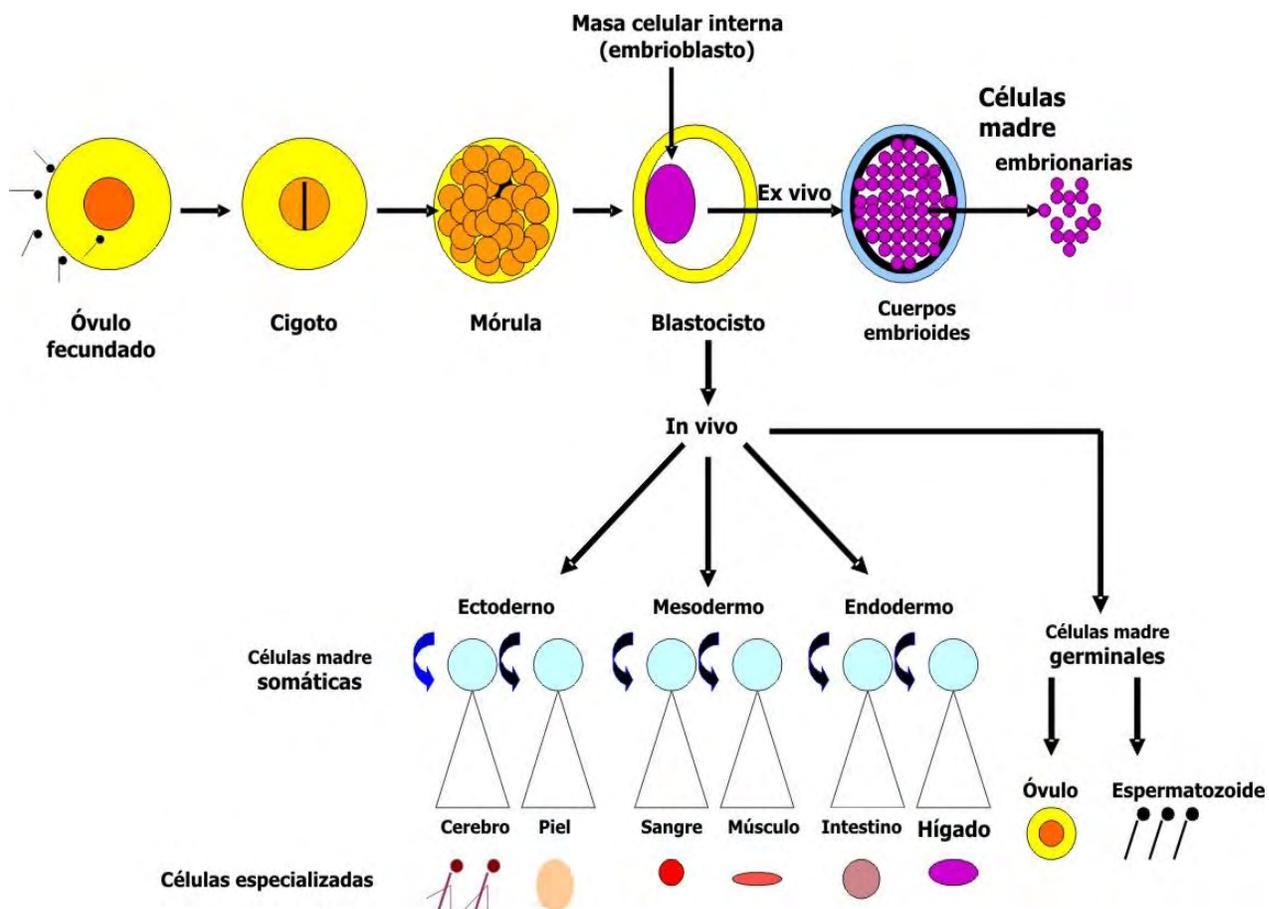


Figura18. "Imagen de capacidad de diferenciación de las células".⁵⁹

Cuadro 6. Investigaciones de la terapia génica y la odontología. (Fuente Directa 18/03/17)

APLICACION CLÍNICA
Perfil genético. Prevención de aparición y desarrollo de la enfermedad.
Desarrollo de genes terapéuticos mutados.
Inducción de agenesia (terceros molares). Formación de nuevos dientes.
Inducción de neoformación de tejidos normales en enfermedades que generen daño o pérdida de estos tejidos. Manipulación del crecimiento óseo. (Inhibición y promover).
Inhibir Síndromes y maloclusiones esqueléticas.

INVESTIGACIÓN BÁSICA
Conocimiento de los genes involucrados con el desarrollo de la caries, enfermedades periodontales, cáncer, y síndromes que afecten cabeza y cuello
Conocimiento de los genomas de los microorganismos involucrados en la etiología de la caries y las peridontopatías.
Conocimiento de genes involucrados al desarrollo dental.
Conocimiento de genes involucrados en el desarrollo de: hueso, mucosa y cartílago.

Fuete: Directa 18/03/17.

4.6. Bioingeniería aplicada a la odontología.

El último campo en el que la odontología puede beneficiarse de la Medicina Regenerativa es con la aplicación de la Ingeniería de Tejidos acompañada de la terapia celular y terapia génica; empezó a utilizarse esta técnica en la odontología con el principio básico de la manufactura aditiva es que un modelo inicialmente creado digitalmente mediante software de CAD (Computer Aided Design), este fue aplicado para la producción de prótesis dentales precisas y con gran detalle, modelos funcionales, guías quirúrgicas y modelos ortodónticos, pero este no cumple los requisitos para formar un andamio, estructura u órgano anatómico para aplicar la Medicina Regenerativa, por eso se empezó a utilizar la tecnología de manufactura aditiva más actual que es el uso de impresoras 3D o como se denomina en el área bio-impresión, con esta tecnología se pueden combinar materiales más biocompatibles y se puede llegar a crear andamios, estructuras u órganos anatómicos personalizados para cada tratamiento o paciente siempre acompañado de la terapia celular y la terapia génica.⁶⁰



Figura.19."Modelos anatómicos creados por impresora 3D"⁶¹

Cuadro 7. Ingeniería de Tejidos aplicada en el campo odontológico. (Fuente Directa 18/03/17).

Ingeniería de tejidos aplicada a la odontología
Creación de andamios para cultivo de fibroblastos, ameloblastos, odontoblastos, cementoblastos, Reemplazo de tejidos perdidos por caries o periodontopatías, Regenerar la pulpa dental.
Creación de andamios para la regeneración dental, creación de andamios para la regeneración de cartílago.
Creación de modelos anatómicos personalizados (dientes, maxilares, glándulas salivales, huesos craneales).
Creación de prótesis dentales precisas y con gran detalle, modelos funcionales, guías quirúrgicas y modelos ortodónticos personalizados.

Fuente:Directa 18/03/17.

CONCLUSIONES.

El desarrollo de nuevos tratamientos y trasplantes para diferentes enfermedades como son genéticas, congénitas, adquiridas, traumáticas y degenerativas va más allá de medidas farmacológicas o del campo clínico exclusivamente. Además de los autotrasplantes de médula ósea para tratamiento de leucemias, trasplantes de piel para regeneración en quemaduras, trasplantes orgánicos concretos como riñón, corazón, pulmón e hígado, existen nuevas técnicas y avances científicos en nuevas terapias innovadoras con el surgimiento reciente de la llamada medicina regenerativa, que tiene como objetivo aportar al profesional otro tipo de tratamiento que va más allá de todo lo que conocemos en la actualidad con avances científicos muy importantes que permitirán adquirir una mejor calidad de vida. En la odontología es de alta relevancia abordar este tipo de disciplina ya que la mayoría de las investigaciones están enfocadas a la odontogénesis donde las células multipotenciales de estos órganos están presentes y activos por mucho tiempo, es considerable una gran fuente para conseguir las también llamadas células madre que actúan junto con las nuevas tecnologías de ingeniería como principales protagonistas de esta disciplina; Por parte de la odontología podría abrir una nueva modalidad de tratamiento, rompiendo el paradigma de que siempre está presente el tratamiento reconstructivo permitiendo un tratamiento regenerativo con mayor pronóstico de éxito. Sin embargo, no existen muchas publicaciones de estudios clínicos y hay poca literatura acerca de esta disciplina, hasta la fecha existen algunos problemas que hay que superar como son la falta de comprensión detallada de algunos órganos y tejidos humanos, complejidad de protocolos, tecnologías costosas, requerimiento de manipulación muy precisas y comprensión en la productividad de sistemas. En la actualidad es una disciplina prácticamente nueva en el área que se está expandiendo poco a poco en todos los países, se espera que tenga un uso clínico generalizado en pocos años, lo que se traduce en grandes avances médicos, cuidados y buenas prácticas, a pesar de todos obstáculos es un camino abierto para el futuro.

Referencias Bibliográficas.

1. <http://www.rodyb.com/panorama-actual-de-las-celulas-madre-de-la-pulpa-de-dientesprimarios-y-permanentes>.
2. <http://conlamenteabierta.files.wordpress.com/2010/07/homunculo.jpg>
3. http://www.efn.uncor.edu/departamentos/divbioeco/anatocom/Biologia/Index_arc
4. Caufield.L “The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers”. J Dent Res. 1995 Feb; 74(2):681-5.
5. Schmachtenberg E . “Autophagic activity and aging in human odontoblasts”. J Dent Res. 2011 Apr; 90(4):523-8. Epub 2011.
6. Romero, Aldape B. C. “Bioingeniería Dental, ¿El Futuro de la Terapia en Odontología?” ADM. 2011; 4(LXVIII):169-174.
7. Horst O,Chavez M., Jheon A, Desai T., Klein O. “From Stem Cell and Biomaterials ResearchDental Tissue Engineering and Regeneration”.Am Dent North Am. 2012;56(3):495-520.
8. http://www.elconfidencial.com/sociedad/2013-05-16/el-vaticano-sobre-la-clonacion-de-celulas-madre-ldquo-va-contr-la-dignidad-de-las-personas-rdquo_391588/
9. Munévar. C, Becerra A. P, Hernández Díaz A. M. “Biología de las Células Stem”.
10. Pelayo R, Santa-olalla J, Velasco I. “Células troncales y medicina regenerativa”, Primera edición 2011, Cd. México, Universidad Nacional Autónoma de México, programa universitario de investigación en salud.pag52.

11. Covarrubias. L. "El Premio Nobel en fisiología o medicina 2012 reconoce a la reprogramación genómica como la base de la medicina regenerativa". Greenwood, H.L., et al., Regenerative medicine and the developing world. PLoS Med, 2006. 3(9): p. e381.
12. Mason, C. and P. Dunnill, "A brief definition of regenerative medicine". Regen Med, 2008. 3(1): p. 1-5
13. "Parcial de células madre de pulpa dental". Clínica de Odontopediatría, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, UNAM. 2010; 14(1):15-20
14. González M. "Aspectos Generales en Relación al Estudio de las Células Madre".lado en:<http://www.scielo.org.mx/pdf/facmed/v56n2/v56n2a9.pdf>
15. Takahashi K y Yamanaka S (2006) "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors". Cell 126, 663-676.
16. Davis WL. "Odontogénesis: Desarrollo del diente y las estructuras relacionadas". En: Davis WL, Editor. Histología y embriología bucal. México inter americana McGraw- Hill; 1998.p.38-55.
17. Ten Care A. "Development of the tooth and its supporting tissues". En: Ten Care AR. Editor. Oral Histology. Development ,structure and function.5th ed San Luis :Mosby 1998.p.78-103.
18. Tow bridge O,Kim S. "Desarrollo de la pulpa, estructura función" ,En: Cohen S, Burns RC, Editors. Los caminos de la pulpa. Madrid: Harcourt Brace ;1999.p.362-400.

19.<http://4.bp.blogspot.com/L6oQQcpcfKVA/VzFAJvcNI/AAAAAAAAAPw/lep4SMOwiS4/s1600/odontogenesis-16-728.jpg>

20. Gartner.L “Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular.GARTNER”, L. P. y J. L. HIATT ... Elsevier, 3^a ed., 2006.p371-374.

21<https://image.slidesharecdn.com/odontogenesisluis-110619121120-phpapp01/95/odontogenesis-17-728.jpg?cb=1308485575>

22. <https://image.slidesharecdn.com/odontogenesisluis-110619121120-phpapp01/95/odontogenesis-26-728.jpg?cb=1308485575>

23.http://3.bp.blogspot.com/-K0Hqrdgqdw/T3rp_zRO-MI/AAAAAAAAAEM/jl0EWdu09I8/s1600/image-4.jpg

24.Pelayo R, Santa-olalla J, Velasco I. “Células troncales y medicina regenerativa”, Primera edición 2011, Cd. México, Universidad Nacional Autónoma de México, programa universitario de investigación en salud.pag52.

25. Iglesia,M,A. “La terapia celular y la medicina regenerativa van a ser los pilares de la Medicina y la Odontología del siglo XXI” Revista Gaceta Dental | 30 Abr., 2013

26. http://vacunaantiedad.com/terapia_celular.php

27. López. A. “¿Qué es la medicina regenerativa?” Hallado en:
<http://www.elmundo.es/salud/2013/11/18/52864e610ab740fa418b4575.html>

28. Takahashi K y Yamanaka S (2006) “Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors”. Cell 126, 663-676. 2. Kennedy D (2006) Editorial Retraction of Hwang et al. Papers. Science 311, 335.

29. Aznar, j. “Alternativas para la obtención de células madre similares a las embrionarias”.:<http://www.observatoriobioetica.org/wp-content/uploads/2013/12/ALTERNATIVAS-PARA-LA-OBTENCI%C3%93N-DE->

[C%89LULAS-MADRE-SIMILARES-A-LAS-EMBRIONARIAS-SIN-TENER-QUE-DESTRUIR-A-LOS-EMBRIONES-DE-LOS-QUE-SE-OBTIENEN.pdf](#)

30. Yoshito Ikada .”Challenges in tissue engineering” (en inglés). J. R. Soc. Interface. pp. 589-601. [doi:10.1098/rsif.2006.0124](#).
31. Temple S.”The development of neural stem cells”. Nature 2001; 414:
32. Reubinoff B.”The clinical potential of human embryonic stem cells. En reproductive medicine in the twenty-first century”. Eds. D.L. Healy, G. Kovacs, 33. Watt F, Hogan BL. Out of eden: stem cells and their niches. Science 2000; 287: 1427- 1430.
34. <http://www.celulasdentales.com/articulos-cientificos-celulas-madre-dentales/>
35. <http://www.fundacionmencia.org/es/enfermedades-geneticas/terapia-genica/>
36. Nakashima M. et al. “The application of bone morphogenetic proteins to dental”
37. Night I”tissue engineering. Nature Biotechnology vol. 21” Núm. 9 Setp. 2003.
38. Image/jpeg;base64,/9j/4AAQSkZJRgABAQAAQABAAD//CQB/
- 39 <http://www.fundacionmencia.org/wp-content/uploads/2015/11/terapia-genica-transferencia-cura-enfermedades-raras-fundacion-mencia-esp.jpg>
40. R. McLachlan , O. Rodriguez Armas. “The Parthenon publishing group”. 2001. pp 454-461.
41. Leu and D.W. Rosen, “A brief history of additive manufacturing and the 2009 Road map for additive manufacturing”: Looking Back and Looking Ahead,” in workshop on rapid technologies. US-TURKEY 2009.
42. P. Ma, “Bio materials and medicine regenerative”, Cambridge: Cambridge, 2014. Y. Cao, J. P. Vacanti, K. T. Paige, J.

43 Upton and Vacanti, "Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer-cell construct to produce tissue-engineered cartilage in the shape of a human ear," *Plastic and reconstructive surgery*, vol. 2, no.

44. Anonyms, "Tissue engineering" [online]. Organ Printing, 2007, Disponible en: http://en.wikipedia.org/wiki/Tissue_engineering 100, pp. 297-302, 1997.

45. Songtao Shi en 2003, I Dr. Japonés investigador del National Institute of Health (NIH).

46. http://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/03/160315_atala_impresora_organos_am

47: https://ichef.bbci.co.uk/news/ws/624/amz/worldservice/live/assets/images/2016/03/15/160315174852_atala1_624x351_wakeforestinstituteforregenerativemedicine

48. http://www.bioedendominicana.com/index.php?option=com_content&task=view&id=27&Itemid=1

49. Rosenthal N. "Prometheus's vulture and the stem-cell promise". *N Engl J Med* 2003;349:267-74.

50. <https://clinicadentalmurcia.files.wordpress.com/2014/01/cc3a9lulas-madre-pulpa-dental-murcia.jpg>

51. http://static.wixstatic.com/media/0c8738_9b952e299d9f4a058b94e4b00f9ad0f0.png_srz_p_355_413_75_22_0.50_1.20_0.00_png_srz

52. http://static.wixstatic.com/media/0c8738_9b952e299d9f4a058b94e4b00f9ad0f0.png_srz_p_355_413_75_22_0.50_1.20_0.00_png_srz

53. <http://www.gacetadentalcom/noticia/8337/CIENCIA/investigaci%25C3%25B3nc>

54. <http://www.gacetadentalcom/noticia/8337/CIENCIA/investigaci%25C3%35ksc>

55. <http://www.gacetadentalcom/noticia/83372/CIENCIA/%2343asd>

56. <http://altatecnicadental.com.mx/basico/anatomiadental1.htm5>

57 <http://www.google.com.mx/imgres?q=foliculo+dentalm/>

58. Körbling M, Estrov Z. "Adult stem cells for tissue repair" - A new therapeutic.

59. <http://scielo.isciii.es/img/asisna/v26n3/colaba1.gif>⁵⁹

58. http://implantadococlear.blogspot.com/2009_08_01_archive.html

61. http://oralmax.mex.tl/524660_Servicios.html.

