



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**REGENERACIÓN PULPAR CON CÉLULAS MADRE.
NUEVOS MODELOS EXPERIMENTALES.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

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

P R E S E N T A:

ANGÉLICA GUADALUPE CERVANTES MALDONADO

TUTOR: Dr. LUIS FERNANDO JACINTO ALEMÁN

ASESORA: Mtra. CLAUDIA PATRICIA MEJÍA VELÁZQUEZ

MÉXICO, Cd. Mx.

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.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVO	5
CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES	6
CAPÍTULO 2 PULPA DENTAL	10
2.1 Componentes estructurales.....	10
2.2 Vascularización.....	16
2.3 Inervación.....	17
2.4 Funciones.....	18
CAPÍTULO 3 TRIADA DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS	19
3.1 Células madre.....	19
3.1.1 Definición.....	20
3.1.2 Clasificación.....	20
3.1.3 Células madre de la cavidad oral.....	24
3.2 Factores de crecimiento.....	29
3.3 Andamios.....	31
3.3.1 Naturales.....	32
3.3.2 Sintéticos.....	33
CAPÍTULO 4 EXPERIMENTACIÓN CON CÉLULAS MADRE PARA REGENERACIÓN PULPAR	35
4.1 Regeneración parcial.....	35
4.2 Regeneración de <i>novo</i>	35
CAPÍTULO 5 EXPERIMENTACIÓN <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i>	37
CONCLUSIONES	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41



En primer lugar quiero agradecerles a mis padres por apoyarme siempre, por confiar en mí, por aconsejarme y motivarme a continuar hasta cumplir mi meta.

Mamá, te agradezco por hacer hasta lo imposible para sacar adelante a la familia a pesar de todas las dificultades.

De igual manera agradezco a mis hermanos y a mi abuelita Blanca por aceptar ser mis pacientes y estar cuando los necesitaba.

A mi tía Elvira y a mi tío Pepe[†] por apoyarme y no dejarme sola cuando lo necesité.

Agradezco a mis suegros por abrirme las puertas de su casa y apoyarme en todo lo que estuvo en sus manos y tratarme como a una hija.

Le agradezco a Xchel, mi pareja por estar siempre conmigo incondicionalmente, por motivarme, por animarme cuando las cosas no salían bien, por apoyarme más allá de sus posibilidades, estando conmigo en mis éxitos y derrotas.

Agradezco a mis amigos, Fernanda, Ana, Alma, Mayra, Xóchitl y todos aquellos que confiaron en mí y me apoyaron con las herramientas necesarias para concluir la carrera.

A mi jefe, Alejandro Rosas por apoyarme y aconsejarme a lo largo de la carrera.

A mi tutor, el Dr. Luis Fernando Jacinto Alemán por brindarme su tiempo y guiarme durante este proceso.

A mi asesora, la Mtra. Claudia Patricia Mejía Velázquez por brindarme su apoyo para la elaboración de este trabajo.

A la Esp. Lilia Espinosa por aconsejarme y orientarme en esta etapa.



INTRODUCCIÓN

La necesidad de mejorar los tratamientos para patologías y daños irreversibles de tejidos, impulsaron el estudio de investigaciones basados en la medicina regenerativa y en la ingeniería de tejidos. La medicina regenerativa es el proceso de reemplazar o regenerar las células, tejidos u órganos en el organismo humano para recuperar su función normal. La ingeniería de tejidos tiene como objetivos la regeneración reparación o reemplazo bioartificial de tejidos y órganos dañados por diferentes motivos como traumas, quemaduras o enfermedades congénitas. Los componentes esenciales para la ingeniería tisular son andamios, factores de crecimiento y células madre. Las células madre son células clonogénicas con la capacidad de autorrenovación, proliferación y diferenciación. En la cavidad oral se encuentran células madre en: médula ósea de hueso orofacial, pulpa dental, dientes primarios exfoliados, ligamento periodontal, folículo dental, gérmenes dentales, papila apical, epitelio oral, encía, periostio y glándulas salivales.

En la odontología regenerativa, las terapias basadas en células madre representan un enfoque prometedor para reemplazar las estructuras dentales dañadas y restaurar las funciones de la pulpa dental afectada.

Se han realizado diversos estudios para aislar, proliferar y potencializar el multilínea diferencial, y la actividad de migración de las células madre pulpares con diferentes factores de crecimiento. Así mismo la capacidad de adhesión, crecimiento y proliferación de estas células en los diferentes tipos de andamios. Teniendo resultados positivos y prometedores.



OBJETIVO

Mediante una revisión bibliográfica conocer los antecedentes referentes a los conceptos básicos de la ingeniería tisular y su aplicación en regeneración pulpar. Revisar los estudios *in vitro* e *in vivo* más actuales de la regeneración pulpar relacionados al uso de células madre pulpares.



CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES

La medicina regenerativa es el proceso de reemplazar o regenerar las células, tejidos u órganos en el organismo humano para recuperar su función normal. El concepto de medicina regenerativa lo utilizó, inicialmente, Leland Kaiser, en 1992.¹

El inicio de la medicina regenerativa se da con la terapia de trasplante de médula ósea. En 1939, Rasjek y Osgood administraron a sus pacientes médula ósea intramedular y endovenosa para el tratamiento de leucemias y aplasia medular.

Los primeros trasplantes autólogos de médula ósea en humanos se realizaron en 1950 por Kurnick y cols y por McGovern y cols en 1959. Estos implantes parecían proteger contra la toxicidad medular, pero su beneficio clínico era incierto, debido a la inefectividad en la erradicación de la enfermedad de base. El trasplante autólogo fue utilizado exitosamente, primero en pacientes con linfomas en los años 70, y su uso se amplió en todo el mundo en la década de los 80.²

El primer intento de trasplante alogénico de médula ósea en humanos se llevó a cabo en los años 60 por E. Donnall Thomas, por lo que recibiría el premio Nobel de Medicina en 1990.

Las células madre embrionarias fueron aisladas por primera vez desde la masa celular interna de blastocistos de ratón en 1981 por Evans, Kaufman y Martin. Estos estudios preliminares fueron la base para que años más tarde se hayan logrado establecer líneas de células madre embrionarias a partir de otras especies como el hámster (Doetschman y col 1988), cerdo (Evans y col 1990, Vackoba y col 2007), bisonte (Sukoyan y col 1993), macaco de la India (Thomson y col 1995), marmota (Thomson y col 1996), pollo (Pain y col



1996), bovino (Stice y col 1996, Cibelli y col 1998, Wang y col 2005), humano (Thomson y col 1998)³.

James Thomson y col. describieron un método para el mantenimiento in vitro de células madre embrionarias derivadas de la masa celular interna de blastocistos humanos producidos mediante fecundación in vitro, donados para investigación por las clínicas de reproducción asistida. Este grupo consiguió 5 líneas de células madre embrionarias humanas a partir de 14 masas celulares internas, mediante la técnica de inmunocirugía (Solter y Knowles, 1975), y utilizando un cultivo sobre fibroblastos embrionarios de ratón. Todas las líneas fueron caracterizadas mediante métodos fenotípicos y genotípicos, confirmando entre otras características la capacidad de diferenciación de estas células a cualquier tipo celular.⁴ Al mismo tiempo, otro grupo, dirigido por John Gearhart, publicó experimentos similares, con la derivación de células embrionarias germinales, obtenidas de gónadas y tejido mesenquimático de fetos abortados de 5 a 9 semanas.

La utilización de células madre derivadas de embriones dio origen a una serie de problemas éticos. Por ello un año más tarde en los Estados Unidos, en 1999, la Comisión Asesora de Bioética (NBAC) sugirió el uso de células troncales de manera limitada. La situación cambió en la administración del presidente William Bill Clinton al autorizarse la investigación y la experimentación con estas células mediante financiamientos y dejando el campo libre a capitales privados.⁵ El 3 de Octubre de 1995, se decretó que las agencias gubernamentales debían informar al NBAC sobre las investigaciones con seres humanos con el objetivo prioritario de proteger los derechos y el bienestar de aquellos seres humanos sometidos a experimentación. En un principio, el NBAC se inclinaba por extender la moratoria decretada por Clinton en el uso de fondos federales para la llamada clonación terapéutica, con fines de investigación. Pero, más tarde, al advertir que esa política nunca frenaría la financiación privada, apoyaron la



investigación con fondos federales. Y así fue como, en el Informe de Junio de 1997 “*Cloning Human Beings*” se recomendó al Congreso la legislación en favor de la clonación, pero sólo con fines de investigación científica.⁶

En el año 2001, el presidente Bush hizo aprobar la ley del Congreso: *Human cloning prohibition Act*. El 30 de Julio de 2001, anunció su intención de crear un Consejo Asesor de Bioética, y comunicó la firme decisión de restringir fondos federales para investigar con células madre embrionarias.

En 2012 Gurdon y Yamanaka reciben el Nobel, por el descubrimiento de que las células maduras se pueden reprogramar para convertirse en pluripotentes.

En el ámbito odontológico, procedimientos de regeneración dentaria tienen una larga historia, originalmente alrededor de 1952, cuando el Dr. B.W. Hermann describe la reacción de la pulpa dental al hidróxido de calcio (CaOH), luego de su amputación vital, observando necrosis superficial, y la formación de una escara firme y protectora que impide la penetración del cáustico, limitando así la profundidad de la lesión. Debajo de la zona necrótica, la pulpa cicatriza formando una nueva capa de dentina.^{7, 8}

Actualmente el uso más importante del CaOH es el tratamiento de dientes con desarrollo radicular incompleto, ya que éste induce al cierre del ápice radicular.⁹

El concepto de regeneración periodontal fue establecido y probado clínicamente en humanos por S. Nyman en 1982. El equipo de trabajo conformado por los investigadores T. Karring, S. Nyman y J. Lindhe fue el primero en aplicar la técnica de regeneración tisular guiada (RTG) en humanos mediante la utilización de un filtro de acetato de celulosa (papel) millipore de laboratorio, el cual fue interpuesto entre el colgajo mucoperióstico y la superficie radicular tratada, con el fin de promover la



selectiva repoblación con células del ligamento periodontal, para facilitar el proceso regenerativo. Esta fue la primera evidencia histológica en humanos de regeneración tisular en respuesta a la RTG.¹⁰

Posteriormente, Gottlow y colaboradores, en 1986 presentaron el estudio histológico de cuatro dientes humanos tratados con la técnica de RTG, en los cuales describieron nueva formación de cemento con inserción de fibras del tejido conjuntivo, que osciló entre 2,8 y 4,5 mm y con regeneración ósea de 3 a 6 mm limitada solo a aquellos defectos óseos angulares y no a los horizontales.¹⁰

Hammarstrom y col. en 1997 introducen el Emdogain, éste favorece la regeneración periodontal y consta de una matriz formada por proteínas del esmalte.¹¹

El 15 de Enero del 2008, se aplicó por primera vez el trasplante de células madre hematopoyéticas adultas autólogas, movilizadas a la sangre periférica con factor estimulador de colonias de granulocitos, en el tratamiento de defectos óseos periodontales a una paciente de 26 años de edad con historia de periodontitis agresiva.¹²



CAPÍTULO 2 PULPA DENTAL

La pulpa es un tejido conjuntivo laxo especializado, consta de una porción coronal y una porción radicular. Está formada por un 75% de agua y por un 25% de materia orgánica. Ésta última está constituida por células y matriz extracelular representada por fibras y sustancia fundamental.¹³ Es el soporte de las estructuras celulares, vasculares y nerviosas del diente como son los odontoblastos, fibroblastos y células mesenquimáticas indiferenciadas, factores de crecimiento, la cual se encuentra rodeada por la dentina.¹⁴

La pulpa posee células especializadas como son los odontoblastos, los cuales se encuentran dispuestos periféricamente en contacto directo con la matriz de la dentina. La relación que se establece entre los odontoblastos y la dentina es lo que se denomina complejo dentino-pulpar y es una de las razones por las cuales la pulpa y la dentina se deben considerar una unidad funcional. En general, la pulpa coronal sigue el contorno de la superficie externa de la corona. En la región cervical la pulpa coronal se une a la pulpa radicular. Con la edad la pulpa coronal disminuye de tamaño debido a la formación continua de dentina.¹⁵

La pulpa tiene una zona central y una zona periférica, que se observa tanto en la pulpa coronal como en la radicular. La zona central contiene arteriolas, venas y troncos nerviosos que entran en la pulpa desde el conducto apical y prosiguen hacia la cámara pulpar coronal.¹⁶

2.1 Componentes estructurales de la pulpa

Zonas Morfológicas de la Pulpa

En el tejido pulpar se describen zonas concéntricas, diferentes histológicamente: zona odontoblástica, zona acelular o subodontoblástica u



oligocelular de Weil, zona rica en células y zona de pulpa propiamente dicha o núcleo pulpar.

Zona odontoblástica

Es la capa más superficial de la pulpa, la cual se localiza debajo de la preentina. Está constituida por los odontoblastos dispuestos en empalizada. En consecuencia, esta capa se compone de los cuerpos celulares de los odontoblastos, además se encuentran también, capilares y fibras nerviosas. Cuando los odontoblastos están físicamente interconectados existe una unión comunicante, donde media la transferencia de señales químicas y eléctricas que permiten una respuesta y reacción coordinada.¹⁴

Zona acelular o subodontoblástica

Esta capa se encuentra situada por debajo de la zona odontoblástica, tiene aproximadamente 40µm de ancho. Es un estrato denso y capilarmente extenso. Se encuentra atravesada por los capilares sanguíneos y fibras nerviosas, en pulpas maduras y se puede reconocer el plexo nervioso de Raschkow.

Zona rica en células

Se caracteriza por su amplia densidad celular, donde se destacan las células mesenquimáticas y los fibroblastos que originan las fibras de Von Korff. Además esta capa puede contener un número variable de macrófagos, células dendríticas y linfocitos. Esta capa es mucho más predominante en la pulpa coronal que la radicular. Las células ectomesenquimáticas indiferenciadas y/o los fibroblastos son capaces de diferenciarse mitóticamente y producir una matriz de colágeno para servir de sustitutos funcionales en la reposición de células odontoblásticas u odontoblastos destruidos. Ellas son las responsables de la producción de dentina terciaria reparadora.¹⁴



Pulpa propiamente dicha

Es la masa central de la pulpa, está formado por el tejido conectivo laxo característico de la pulpa, con sus distintos tipos celulares, escasas fibras inmersas en matriz extracelular amorfa y abundantes vasos y nervios. El componente celular está formado principalmente por fibroblastos, células mesenquimáticas y macrófagos, pero proporcionalmente tiene menor cantidad de células por unidad de superficie que la zona rica en células.¹ Todos los componentes están formados y mantenidos por células fibroblásticas interconectadas.¹⁴

Elementos celulares de la pulpa normal

Odontoblastos

Son las células específicas del tejido pulpar, y están situadas en su periferia y adyacentes a la predentina. El desarrollo de éstos comienza en la punta más alta del cuerno pulpar y progresa en sentido apical.

Los odontoblastos conforman por su disposición en empalizada la capa odontoblástica, la cual es semejante a un epitelio cilíndrico pseudoestratificado en la región coronaria y un epitelio cilíndrico simple en la zona radicular. Los odontoblastos en la porción coronaria alcanzan la cifra de 45,000 células por mm², el cual va disminuyendo en la zona radicular.¹³

Los odontoblastos se asocian entre sí a través de sistemas de unión de distinta naturaleza: desmosomas, interdigitaciones, uniones gap, etc. para formar la capa odontoblástica. El proceso odontoblástico y sus pequeñas ramificaciones laterales son los responsables de transportar y liberar, por un mecanismo de exocitosis, los gránulos maduros al espacio extracelular. Los gránulos contienen glucosaminoglucanos, glucoproteínas y precursores del colágeno, componentes básicos de la matriz orgánica de la dentina.

El odontoblasto maduro es una célula muy diferenciada que ha perdido la capacidad de dividirse; esto es una célula postmitótica. Los nuevos odontoblastos que se originarán en los procesos reparativos de la dentina lo hacen a expensas de las células ectomesenquimáticas o células madre de la pulpa dental. La fibronectina desempeña un papel mediador importante en la diferenciación de las células ectomesenquimáticas en odontoblastos¹⁶

Figura 1.

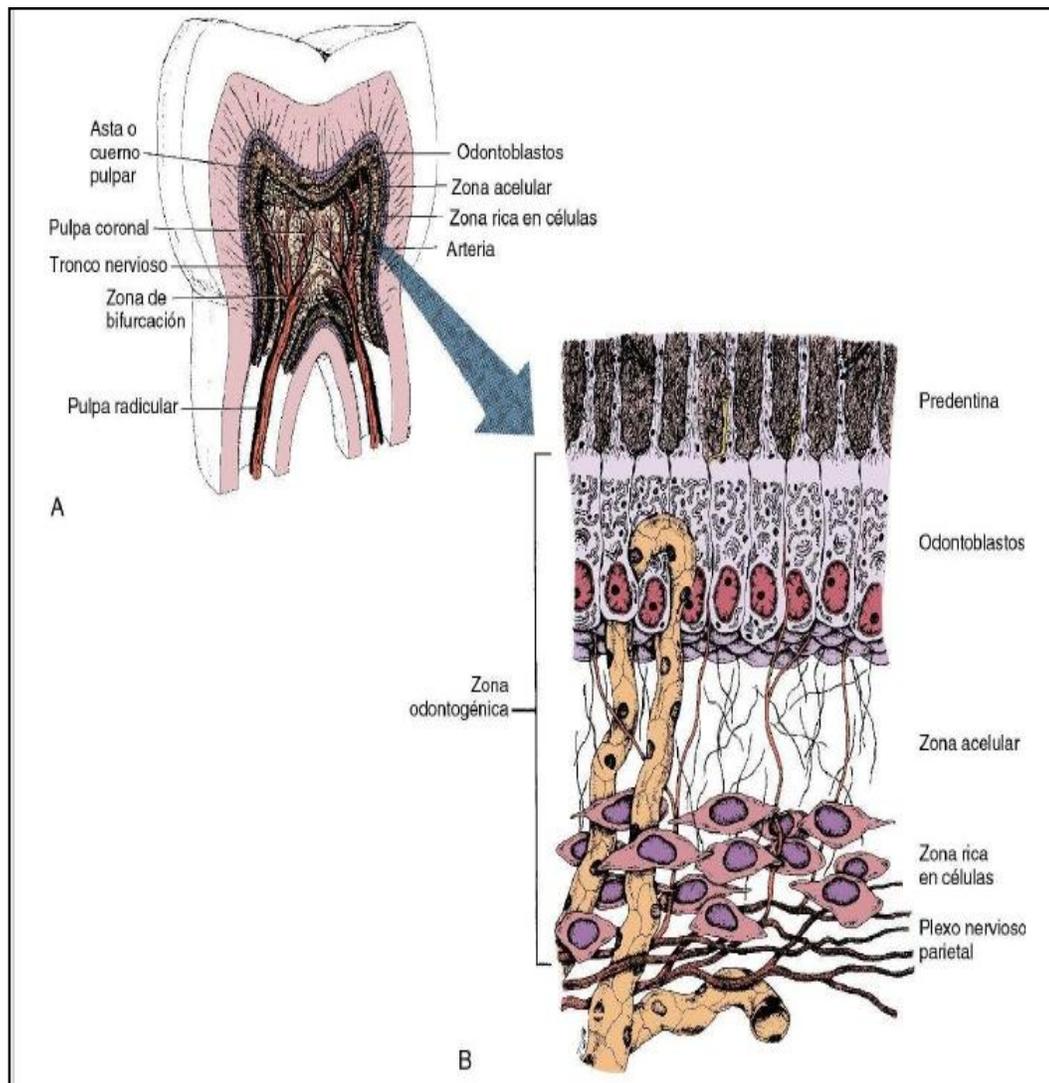


Figura 1 A) Se muestra la compleja organización de la pulpa periférica y la apariencia de troncos nerviosos (oscuro) y vasos sanguíneos (claro) localizados centralmente. **B)** Zona odontogénica de la pulpa. De arriba abajo: predentina, odontoblastos, zona acelular y rica en células y capa de nervios parietal.¹⁷



Fibroblastos

Son las células principales y más abundantes del tejido conectivo pulpar, especialmente en la corona, donde forman la capa rica en células. Los fibroblastos pulpares son células fusiformes con núcleos ovoides. Sintetizan y secretan la mayor parte de los componentes extracelulares, es decir, el colágeno y la sustancia fundamental.

Los fibroblastos tienen por función formar, mantener y regular el recambio de la matriz extracelular fibrilar y amorfa: además son células multifuncionales, pues tienen también la capacidad de degradar el colágeno como respuesta ante distintos estímulos fisiológicos del medio interno.¹ En los procesos de reparación o de naturaleza inflamatoria del tejido conectivo, los elementos fibroblásticos suelen variar en número y morfología, así como en el desarrollo de organelos en el seno de los mismos. En estas circunstancias se han identificado fenómenos de división celular y es por esto, por lo que algunos autores consideran que los fibrocitos aún conservan cierta capacidad de regeneración.¹⁶

Macrófagos

Son monocitos que han abandonado el torrente sanguíneo, entran en los tejidos y se diferencian en varias subpoblaciones, una de esta subpoblación son los macrófagos, los cuales desempeñan funciones activas de endocitosis y fagocitosis. Debido a su movilidad y actividad fagocítica, estos elementos celulares son capaces de actuar como reservorios, que eliminan hematíes extravasados, células muertas y sustancias extrañas presentes en los tejidos, todo el material ingerido por los macrófagos es destruido por la acción de enzimas lisosomales. Además otro grupo de macrófagos participan en reacciones inmunes mediante el procesamiento del antígeno y su presentación posterior a la célula T de memoria.¹³



Células dendríticas

Son elementos accesorios del sistema inmune. En la epidermis y en las membranas de las mucosas se encuentran células similares llamadas células de Langerhans. Las células dendríticas se hallan especialmente en los tejidos linfoides, pero también están ampliamente distribuidas por los tejidos conectivos, entre ellos el de la pulpa. Su función es similar al de los macrófagos.

Células mesenquimáticas indiferenciadas

Estas células derivan del ectodermo de las crestas neurales. Constituyen las células de reserva de la pulpa por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos o fibroblastos, según el estímulo que actúe. Se encuentran bajo los odontoblastos en la zona rica en células.¹⁸

Fibras

Fibras colágenas

Están constituidas por colágeno tipo I, el cual representa aproximadamente el 60% del colágeno pulpar. Su distribución y proporción difiere según la región. Son pocas y de forma irregular en la pulpa coronaria y en la zona radicular adquieren una disposición paralela y están en mayor concentración. Su densidad y diámetro aumenta con la edad.

Fibras reticulares

Están formadas por delgadas fibrillas de colágeno tipo III asociadas a fibronectina. Ambos tipos de colágeno I y III son sintetizados por los fibroblastos. Las fibras reticulares son fibras muy finas que se distribuyen de forma abundante en el tejido mesenquimático de la papila dental. Estas fibras se disponen al azar en el tejido pulpar, excepto a nivel de la región odontoblástica donde se insinúan entre las células y constituyen el plexo de



Von Korff. Además puede aumentar el diámetro con la edad, pero en menor proporción que las colágenas.¹⁸

Fibras elásticas

Son muy escasas en el tejido pulpar y se encuentran localizadas exclusivamente en las delgadas paredes de los vasos sanguíneos y su principal componente es la elastina.

Sustancia fundamental

La sustancia fundamental o matriz extracelular amorfa, está constituida principalmente por proteoglicanos y agua. Es de consistencia similar a un gel y constituye la mayor parte del órgano pulpar. La sustancia fundamental rodea y da apoyo a las estructuras. Se comporta como un verdadero medio interno, a través del cual las células reciben los nutrientes provenientes de la sangre arterial; igualmente los productos de desechos son eliminados en él para ser transportados hacia la circulación eferente.¹⁸

2.2 Vascularización

Los vasos sanguíneos penetran en la pulpa acompañados de fibras nerviosas sensitivas autónomas y salen de ella a través del foramen apical. Debido al reducido tamaño de la pulpa, los vasos sanguíneos son de pequeño calibre.¹⁹

Las arteriolas penetran en la pulpa por las foraminas apicales y en el centro de la pulpa forman un amplio plexo del que salen vasos de menor calibre hacia la periferia, formando el plexo capilar subdentinoblástico. La capa muscular de estas arteriolas es muy delgada con respecto a otras localizaciones. Las vénulas acompañan a los capilares y poseen una luz más amplia; existen anastomosis directas con las arteriolas sin interposición

capilar. También hay vasos linfáticos que se inician en el centro de la pulpa y salen por el foramen apical.²⁰

2.3 Inervación

La pulpa está ricamente inervada, y sus fibras nerviosas pueden penetrar por el foramen apical o por los conductos accesorios.

El tejido pulpar se caracteriza por tener una doble inervación, sensitiva y autónoma. La inervación está a cargo de fibras nerviosas tipo A (mielínicas) y C (amielínicas) que llegan a la pulpa junto con los vasos a través del foramen apical. Las fibras amielínicas tipo C simpáticas, son responsables del control del flujo vascular. La estimulación de estas fibras da origen a una sensación de dolor sordo mal localizado (difuso) y prolongado en el tiempo. Las fibras mielínicas tipo A, son las que perciben los movimientos de fluidos en la dentina. Estas fibras responden a estímulos hidrodinámicos, táctiles, osmóticos o térmicos que transmiten la sensación de un dolor agudo y bien localizado¹ Figura 2.

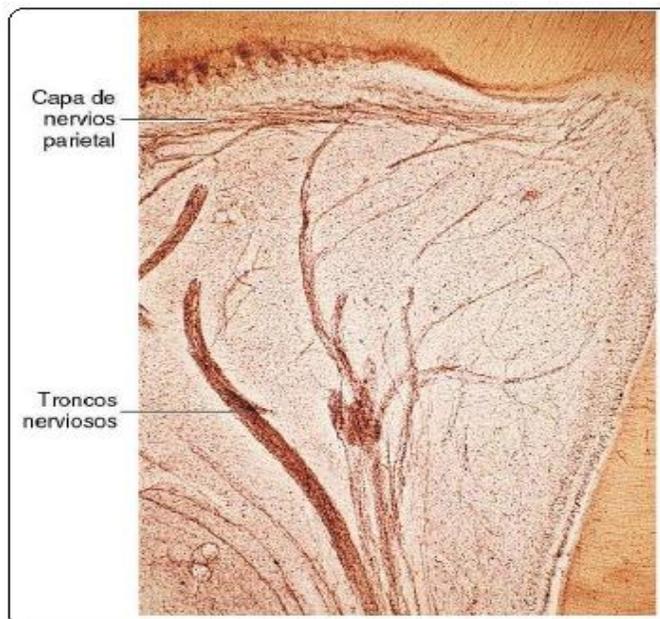


Figura 2 Troncos nerviosos que pasan desde la pulpa radicular hacia el interior del área coronal. Estos nervios se extienden hacia la periferia, donde forman un plexo nervioso adyacente a la zona odontogénica situada por encima.¹⁷



2.4 Funciones de la pulpa

Formativa

Esta función no solo se ha de contemplar durante el desarrollo embrionario, sino durante toda la vida del diente con la formación de dentina secundaria fisiológica o en situaciones patológicas de dentina secundaria reparativa o terciaria.

Nutritiva

Corre a cargo de los vasos sanguíneos existentes en la pulpa que penetran, fundamentalmente, por el foramen apical.

Sensitiva

Corresponde a los 3 posibles mecanismos de sensibilidad dentinaria que estimulan las fibras A y a la estimulación de las fibras C de la pulpa.

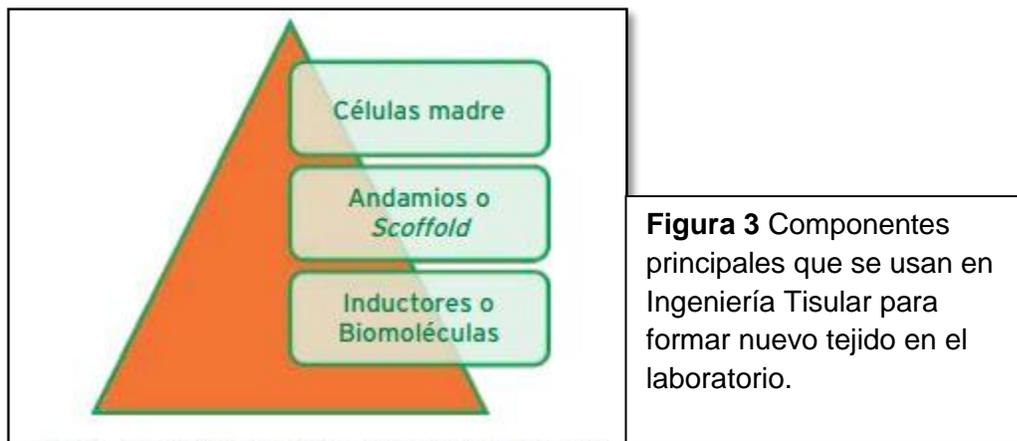
Protección

La pulpa realiza la protección mediante la formación de dentina reparativa o terciaria o por las células propias del tejido conectivo que responden ante un proceso, infeccioso o no.²⁰

CAPÍTULO 3 TRIADA DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS

En los últimos años se ha desarrollado dentro de la investigación médica y odontológica un nuevo campo de conocimiento altamente prometedor, conocido con el nombre de “Ingeniería Tisular”. Los principales objetivos de este novedoso campo están encaminados a la regeneración, reparación o reemplazo bioartificial de tejidos y órganos propios del cuerpo humano, que han sido dañados por diversos factores, tales como trauma, quemaduras, por enfermedades adquiridas como el cáncer o ciertas anomalías congénitas.

La ingeniería tisular se basa principalmente en tres componentes fundamentales: células, andamios y biomoléculas o factores de crecimiento (Figura 3).²⁰



3.1 Células madre

Las células madre (CM) han sido denominadas con diferentes términos entre los que se encuentran Stem cells, células troncales, células precursoras, células progenitoras entre otros, aunque parece ser que el de células madre es más universal o difundido.²¹



3.1.1 Definición

Desde el punto de vista de su capacidad reproductiva y funcional, las células madre se han definido como aquellas que pueden dividirse simultáneamente para mantener, por un lado, su autorrenovación con producción de otras semejantes a ellas y, por otro, generar células hijas que se diferencian en diversos tipos de unidades especializadas, tanto morfológica como funcionalmente.²²

Estas células están presentes en estadios de vida embriológica, fetal y adulta y dan lugar a células con características especializadas, las cuales originan tejidos y órganos.²³

3.1.2 Clasificación

Las células madre se clasifican según su origen, potencial de diferenciación y tejido donde se asientan.

Según su origen

Embrionarias

Son las verdaderas células madre, derivan del cigoto (óvulo fertilizado). Son células totipotenciales, capaces de dar origen a todo el organismo, al inicio el cigoto es una esfera compacta, que sufre múltiples divisiones hasta formar una mórula. 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. 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.²⁴



El estudio de este tipo de células ha enfrentado una fuerte oposición de su manipulación y destino en diferentes países, basada principalmente en aspectos éticos, religiosos y políticos.

Células madre adultas o posnatales

Poseen notables ventajas sobre las antes mencionadas, pues su manejo resulta más simple, pueden ser autólogas y, por tanto, no ocasionan trastornos inmunológicos ni presentan limitaciones éticas o legales, así como tampoco se ha comprobado que produzcan cáncer, lo cual contrasta positivamente con las características de las células embrionarias, cuya obtención y expansión es más compleja, inducen una respuesta inmunitaria por ser alogénicas y provocan numerosos tumores en animales de experimentación.

Según su potencial de diferenciación

Totipotenciales

Son aquellas células que en las condiciones apropiadas son capaces de formar un individuo completo, pues pueden producir tejido embrionario y extraembrionario.²²

Pluripotentes

Pueden generar células de las tres capas germinativas: ectodermo, mesodermo y endodermo.

Multipotentes

Pueden diferenciarse en distintos tipos celulares procedentes de la misma capa embrionaria, lo que las capacitaría para la formación de tipos celulares diferentes.²¹ Éstas pueden formar tejido adiposo, hueso o cartílago.²³



Oligopotentes

Al igual que las anteriores, tienen capacidad para desarrollar un conjunto de tipos celulares, pero mucho más reducido. 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.²⁴

Unipotentes

Se diferencian en un único tipo celular.²¹

En la actualidad se detallan una gran cantidad de fuentes de células troncales aisladas y caracterizadas de tejidos fetales y adultos, los cuales incluyen cordón umbilical, placenta, tejido adiposo, dermis, líquido amniótico y sinovial así como periostio. Así mismo, de sangre periférica movilizada, pulmón fetal, membrana sinovial, endometrio, hueso compacto y trabecular. Las células madre hematopoyéticas de la médula ósea son las más conocidas y empleadas en la clínica en estos momentos, al presentar la capacidad de diferenciarse a células maduras de la línea hematopoyética y a tejidos no hematopoyéticos como músculo, hígado, vasos, tejido nervioso y piel. En la actualidad se obtienen importantes avances en el estudio y aplicación de las células madre adultas, ya que ellas muestran notables ventajas sobre las embrionarias.²² En cavidad oral se han reportado varias fuentes de estas células indiferenciadas, de muy fácil obtención para el cuerpo odontológico, incluyendo: médula ósea de hueso orofacial, pulpa dental, dientes primarios exfoliados, ligamento periodontal, folículo dental, gérmenes dentales, papila apical, epitelio oral, encía, periostio y glándulas salivales²³ Tabla 1.

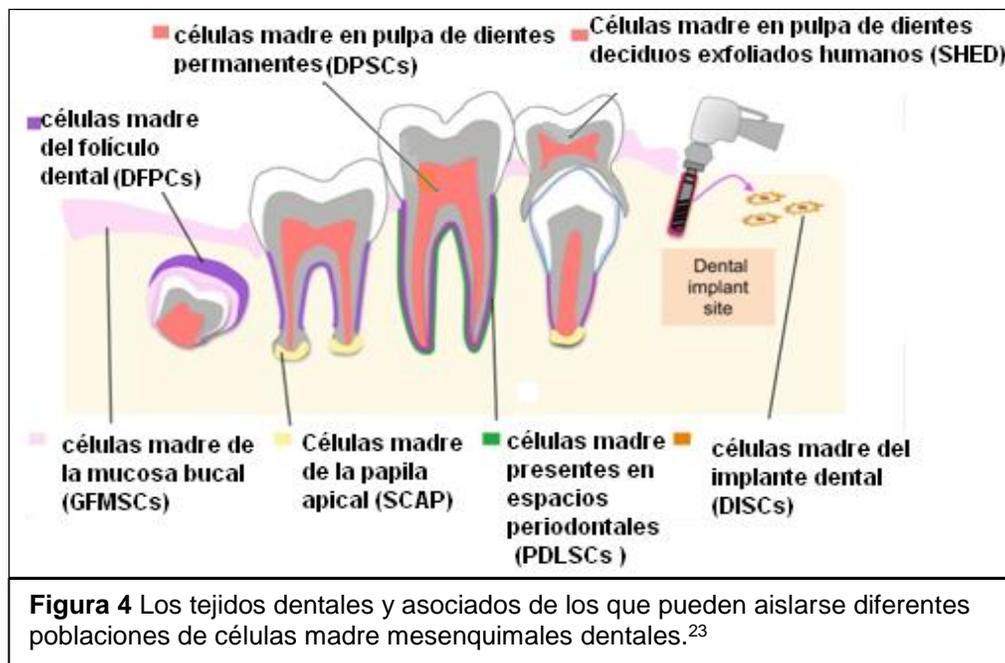
Tabla 1 Ventajas y desventajas de células madre adultas y embrionarias²¹

	Ventajas	Desventajas
CM Embrionarias	Poseen el potencial de formar cualquier célula del cuerpo, es inmortal.	La obtención es más compleja, tiene potencial inmunogénico por ser alogénicas, enfrentan problemas éticos y legales, además, producen un alto porcentaje de tumores en los animales de experimentación.
CM Adultas	Su manipulación es más simple, pueden ser autólogas, no presentan limitantes éticas ni legales, ni tampoco se ha comprobado que produzcan neoplasias.	Es difícil obtenerla en grandes cantidades, poca duración en los cultivos experimentales y las CM pueden llevar consigo mutaciones que causen enfermedades o que puedan dañarse durante la experimentación.

Las células madre de la cavidad bucal poseen un potencial de multidiferenciación y, por ende, pertenecen al grupo de las unidades adultas capaces de formar células con carácter osteodontogénico, adipogénico y neurogénico.²¹

3.1.3 Células madre de la cavidad oral

Varios autores entre los que se encuentra González Horta, han dedicado especial atención al estudio de los principales grupos de células madre de la cavidad bucal, identificando cuatro grupos. Células madre en pulpa de dientes deciduos exfoliados humanos SHED por sus siglas en inglés (stem cells from human exfoliated teeth SHED), células madre en pulpa de dientes permanentes DPSCs por sus siglas en inglés (Dental pulp stem cells DPSCs), células madre presentes en espacios periodontales PDLSCs por sus siglas en inglés (periodontal stem cells PDLSCs), células madre de la mucosa bucal GFMSCs por sus siglas en inglés (Gingival fibroblastic stem cells GFMSCs). Por su parte Huang y Liu coinciden con lo planteado por González Horta, llegando a la conclusión en sus investigaciones sobre de la existencia de dos nuevos grupos de células madre en la cavidad bucal. Células madre de la papila apical SCAP por sus siglas en inglés (Stem cells from apical papila SCAP) y células madre del folículo dental DFPCs por sus siglas en inglés (Dental follicle stem cells DFPCs)²² Figura 4.





Células madre mesenquimales derivadas de los ligamentos periodontales (PDLSCs)

Una vez cultivadas en condiciones apropiadas, las PDLSCs son capaces de diferenciarse en células parecidas a cementoblastos, adipocitos y células con capacidad para formar colágeno.

En un estudio reciente realizado por Wada, examinaron las propiedades inmunomodulatorias de las PDLSCs como candidatas para nuevas terapias alogénicas basadas en células progenitoras. Se sugiere que PDLSCs y GFSCs poseen propiedades inmunosupresivas mediadas, en parte por factores solubles producidos por células mononucleares sanguíneas activadas.²⁷

Se ha probado que el trasplante autólogo de PDLSCs en un modelo de periodontitis en porcinos miniatura ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la enfermedad periodontal, dando como resultado la regeneración del tejido periodontal en un defecto periodontal creado quirúrgicamente.²⁶

La población adulta de PDLSCs puede utilizarse para procedimientos terapéuticos potenciales relacionados a regeneración periodontal en defectos óseos en proximidad con órganos dentarios, e inclusive para implantes dentales.²⁷

Células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED)

Los dientes deciduos son abundantes y se exfolian naturalmente. Las SHED tienen mayor tasa de proliferación en comparación con las células madre de los dientes permanentes, además de facilidad de crecimiento *in vitro* y alta plasticidad.²⁸ El cultivo del tejido fino de pulpa de diente, da como resultado una rápida expansión de células que tienen las características *in vitro* de



células madre mesenquimales, expresando marcadores apropiados y siendo capaces de diferenciarse a células mesenquimales multilinaje como osteoblastos, condrocitos y adipocitos mediante estimulación apropiada. A nivel dentario dan lugar a dentina, pulpa y hueso alveolar. Al ser trasplantadas son capaces de diferenciarse en vasos sanguíneos. También pueden ser estimuladas para formar células con propiedades que se asemejan a los odontoblastos y producir un mineral tipo dentina.²⁸ Otra aplicación clínica importante reportada en investigaciones, es la eficacia terapéutica de las células SHED en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.²⁹

Células madre de la papila apical (SCAP)

Estas células probablemente actúan como una fuente de odontoblastos a medida que crece la raíz. Las células aisladas del saco folicular, un tejido conectivo suelto que rodea el órgano del esmalte de los terceros molares humanos tienen propiedades similares a células madre mesenquimales. Estas células pueden diferenciarse en cementoblastos y pueden formar cemento y estructuras similares al ligamento periodontal cuando se cultivan con células de la vaina radicular epitelial de Hertwig *in vitro*.²⁸

Células madre del folículo dental (DFPCs)

El folículo dental es un tejido ectomesenquimal que rodea al órgano del esmalte y la papila dental del germen del diente permanente en formación. Estas células madre han sido aisladas de folículos dentales de terceros molares y tienen la forma típica de fibroblastos *in vitro*; pero después de la inducción, su diferenciación es osteogénica.²⁸ Algunos de los usos de estas células han sido para desarrollar modelos de regeneración de tejido periodontal *in vivo*.



Células madre gingivales (GMSCs)

El tejido gingival se compone de células epiteliales y mesenquimales, de las cuales se han cultivado células semejantes a células madre a partir de tejido gingival. La reparación de la herida gingival muestra similitudes con la reparación de la herida fetal sin cicatrices y la heterogénea población celular de fibroblastos gingivales juega un papel crucial en el proceso.²⁸

Los GMSCs conservan una capacidad potente para la diferenciación de múltiples linajes, su expresión génica relacionada y la formación ósea *in vivo*. Los GMSCs han demostrado direcciones osteoblásticas, adipocíticas, condrocíticas, endoteliales y neurales cuando se incuban en condiciones de cultivo inductivo *in vitro*. Los fibroblastos gingivales son también una fuente conveniente de células para la generación de células madre pluripotentes inducidas, y las células epiteliales gingivales son capaces de formar dientes cuando se combinan con células mesenquimales de los dientes embrionarios. Las posibles áreas de aplicación incluyen la reparación de heridas en piel, regeneración del tendón, regeneración de defectos óseos, regeneración periodontal, peri-implantitis, efecto antitumoral, mucositis oral, artritis inducida por colágeno e hipersensibilidad de contacto.³⁰

Las células madre aisladas del epitelio oral se han utilizado con éxito para tratar trastornos severos de la superficie ocular y se ha introducido un tratamiento conocido como trasplante epitelial de mucosa oral cultivada.²⁹

Células madre en pulpa de dientes permanentes (DPSCs)

Las DPSCs humanas son una población adherente y heterogénea de células madre con potencial de diferenciación multilinaje que puede aislarse mediante digestión enzimática o crecimiento del tejido pulpar. Los DPSCs humanas expresan los marcadores superficiales CD73, CD90 y CD146 pero



no expresan CD34, CD14, CD45, o antígeno-leucocito humano HLA-DR. Estas características clasifican las DPSCs como células madre mesenquimales de acuerdo con las directrices de la Sociedad Internacional de Terapia Celular.³¹

Las primeras células madre fueron aisladas en dientes adultos obtenidas de terceros molares permanentes. Estas expresan marcadores de pluripotencia como OCT3 / 4, SOX2 y NANOG. Tienen dos tipos de patrones de crecimiento: división celular simétrica y asimétrica. En cultivos a largo plazo, estas células pueden perder su naturaleza de célula madre principalmente debido a la dificultad de simular un medio de cultivo similar al de los nichos donde se encuentran.²⁹

Gronthos y col; caracterizaron estas células por medio de marcadores específicos de células madre mesenquimales y observaron su capacidad de autoregeneración, diferenciación a múltiples linajes y su capacidad clonogénica (de una sola célula madre puede generar un grupo de células genéticamente idénticas); hallando DPSCs capaces de formar dentina asociada con tejido pulpar *in vivo*. Iohara y cols, confirmaron la diferenciación de DPSCs en odontoblastos al ser estimuladas por proteínas morfogenéticas óseas. Las DPSCs se pueden diferenciar en odontoblastos, osteoblastos, condrocitos, miocitos, neurocitos, adipocitos, células epiteliales de la capa córnea, melanocitos, y en células madre pluripotentes inducidas.³²

Las DPSCs pueden ser criopreservadas y recombinadas, son inmunoprivilegiadas y parecen poseer habilidades anti-inflamatorias. Cuando se combinan con plasma rico en plaquetas tienen la capacidad de formar hueso; útil para la osteointegración de los implantes dentales con buenos niveles de contacto hueso-implante.²⁹



3.2 Factores de crecimiento

Son proteínas que se unen a receptores de la célula e inducen proliferación celular o citodiferenciación. Muchos de estos factores tienen la capacidad de estimular en mayor o menor grado la división celular en numerosos tipos de células, mientras que otros son más específicos a un solo tipo celular. Además son utilizados para controlar la actividad de las células madre: aumentando la tasa de proliferación, induciendo la diferenciación de las células en otro tipo de tejido, estimulando las células madre para sintetizar y secretar matriz y para inducir la regeneración de tejidos lesionados.³³

Los factores de crecimiento tienen una vida media muy corta en soluciones acuosas a 37°C, esto implica que su actividad biológica necesite ser protegida para ser eficaz durante períodos prolongados de aplicación, por esta razón se deben aplicar sistemas de entrega de moléculas bioactivas como portadoras para su liberación controlada. Por lo tanto, el uso potencial de factores de crecimiento en odontología en combinación con las células madre podrá proporcionar el reemplazo pulpar de un diente necrótico a través de la ingeniería de tejidos.³⁴

Entre los principales factores de crecimiento en odontología se encuentran: los factores de crecimiento transformante beta (TGB- β), las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) y el factor de crecimiento fibroblástico (FGR), aunque existen otros más (Tabla 2).³⁴

Abreviatura	Factor	Fuente primaria	Actividad	Utilidad
BMP	Proteína morfogenética ósea	Matriz ósea	BMP inducen a la diferenciación osteoblástica y mineralización del hueso	Usadas para sintetizar células madre y secretar matriz mineral
CSF	Factor estimulante de colonias	Amplio rango de células	CFS como las citoquinas que estimulan la proliferación específica de células madre pluripotencial óseas	Pueden ser usadas para incrementar el número de células madre
EGF	Factor de crecimiento epidermal	Glándulas submaxilares	Promueve la proliferación de células mesenquimales y epiteliales	Pueden ser usadas para incrementar el número de células madre
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico	Amplio rango de células	Promueve la proliferación de muchas células	Pueden ser usadas para incrementar el número de células madre
PDGF	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas	Plaquetas, células endoteliales, placenta	Promueve la proliferación del tejido conectivo y células del músculo liso.	Pueden ser usadas para incrementar el número de células madre
TGF Beta	Factor de crecimiento transformante beta.	Matriz dental, activación de células TH, células T ayudadoras y las células asesinas naturales(NK)	Promotor antiinflamatorio, promueve la reparación, inhibe la proliferación de macrófagos y leucocitos	Esta presente en la matriz de la dentina y ha sido usada para promover la mineralización del tejido pulpar

Tabla 2 Principales factores de crecimiento en odontología

TGF-B Factor de crecimiento transformante beta

Es importante en la señalización celular para la diferenciación de los odontoblastos, y en la estimulación de la secreción de matriz de dentina. Se encuentran en alta concentración en los tejidos mineralizados. Son secretados por los odontoblastos y depositados dentro de la matriz de la dentina.



BMP las proteínas morfogenéticas óseas

Se ha encontrado que estimulan la diferenciación de células madre postnatales pulpares, estimulan la regeneración de tejidos periodontales e inducen la diferenciación de osteoblastos y la mineralización ósea.

FGR Factor de crecimiento fibroblástico

Ejerce una influencia inhibitoria en la proliferación de células inmaduras óseas, ya que su función principal es limitar la osteogénesis.³³ Estimulan la mitosis y migración de las células endoteliales y por otro lado la estimulación y coordinación de la mitogénesis de múltiples tipos celulares como células de origen mesenquimatoso, como los fibroblastos, los osteoblastos, condrocitos, células musculares lisas y mioblastos esqueléticos.³³

3.3 Andamios

Microambiente tridimensional para el crecimiento y diferenciación celular, promueve la adhesión y la migración celular, facilitando la formación de tejidos funcionales u órganos. Las matrices deben cumplir con las siguientes características: alta porosidad y un adecuado tamaño del poro, necesario para facilitar el cultivo y la difusión de nutrientes a través de la estructura de las células, gran área de superficie, buena degradación; esto significa que la velocidad de degradación debe ocurrir dentro de lo posible con la misma velocidad de formación de los tejidos, biocompatibles y deben interactuar positivamente con otras células de adhesión, crecimiento y migración, además deben presentar buena resistencia física y mecánica.³⁴ Según su composición las matrices pueden ser: naturales (orgánicas o biodegradables) y sintéticas (inorgánicas o permanentes).



3.3.1 Naturales

Son construidas a partir de componentes de la matriz extra celular, algunos de estos derivados proteicos son el colágeno, el fibrinógeno, el ácido hialurónico, los glucosaminoglucanos (GAGs), la hidroxiapatita (HA). Presenta como ventajas ser bioactiva, biocompatible y presenta propiedades mecánicas similares a las de un tejido natural. Algunas desventajas son: control limitado sobre las propiedades fisicoquímicas, dificultad en la tasa de degradación y dificultad en la esterilización y purificación de patógenos cuando es aislado de diferentes fuentes.³⁴

Matriz de colágeno

Los colágenos, particularmente el tipo I, son los principales constituyentes de la dentina y se han utilizado para proporcionar un ambiente de cultivo 3D de varios tipos de células, incluyendo las células madre de la pulpa dental. Los andamios de colágeno poseen adecuadas propiedades para favorecer la regeneración endodóntica: biocompatibilidad, fácil manipulación, el tiempo de degradación y su estructura. Estas matrices en su mayoría, son de origen bovino, esta matriz sintética pero de origen natural se reabsorbe aproximadamente en 60 días permitiendo la organización celular y formando una estructura tridimensional dentro del conducto radicular.³⁵

Matriz de plasma rico en plaquetas (PRP)

Los concentrados de plaquetas son productos derivados de la sangre donde las plaquetas se concentran en un volumen limitado de plasma. Se dice que contiene factores de crecimiento, estimula la producción de colágeno, recluta otras células al sitio de la lesión, produce agentes anti-inflamatorios, da inicio al crecimiento vascular, induce a la diferenciación celular, controla la respuesta inflamatoria local, y mejora los tejidos blandos y duros en la cicatrización de las heridas; por esto se afirma que el uso de PRP con



compromiso de las células madres apicales (dentales, óseas, pulpares o del ligamento periodontal) en los dientes con pulpas necróticas y ápices abiertos, son capaces de regenerar los tejidos dentro del conducto radicular que causa la deposición continua de tejido duro, la formación radicular, el sellado apical, y la respuesta de sensibilidad térmica.³⁵

3.3.2 Sintéticos

Entre estas matrices se presentan los polímeros, las cerámicas y los metales.

Polímeros: El ácido poliglicólico (PGA) y el ácido poliláctico (PLA), usados ampliamente en el desarrollo de matrices sintéticas en 3-D o electro-hilado. Estos materiales son hidrolíticamente degradables, se puede controlar con facilidad la tasa de degradación y además proporcionan versatilidad en la creación de microambientes tridimensionales. Dentro de las desventajas se encuentra su escasa bioactividad.

Electrospinning o electro-hilado es la producción de fibras poliméricas empleando fuerza electrostática. Es una técnica que permite la creación de micro y nanofibras a través de un chorro de solución polimérica eléctricamente cargada o de polímero en estado fundido. Estos imitan físicamente (biomimetizan) a una matriz extracelular natural, y es por ello que estos andamios actúan como buenos soportes para la adhesión y desarrollo celular.

El equipo de electrospinning en su forma más básica, consiste en una pipeta o reservorio para contener una solución polimérica (cuya punta debe ser un capilar metálico muy delgado a través del cual descenderá el polímero), dos electrodos (formando una configuración punta-placa), y una fuente de voltaje de corriente continua en el rango de los kilovoltios (Figura 5).³⁶

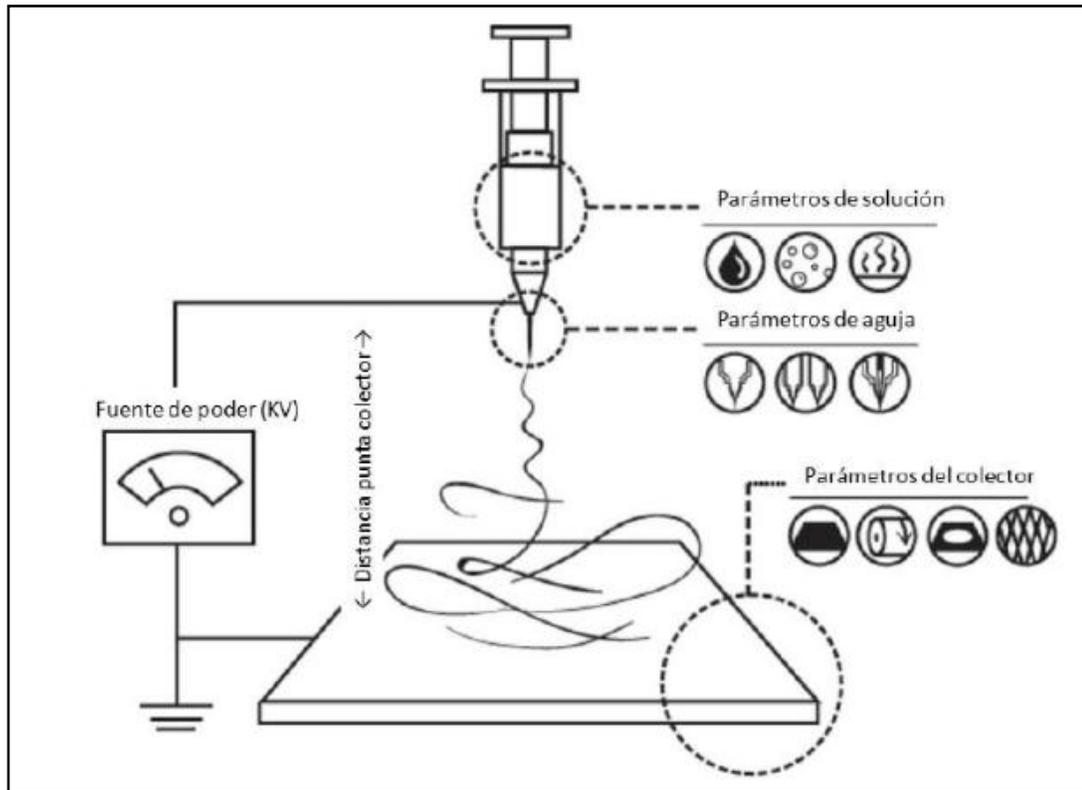


Figura 5 Diseño básico de un equipo de electrospinning (vertical) y variables de proceso.

Cerámicas: Algunas de ellas son los fosfatos de calcio, vidrios bioactivos y otras biocerámicas, éstas favorecen la osteogénesis ya que pueden integrarse con facilidad al tejido óseo a diferencia de los biomateriales blandos, mejorando la mineralización y formación de la matriz.

Metales: El titanio posee gran biocompatibilidad y alta sinergia con el tejido óseo, usado ampliamente en ortopedia y cirugía oral. Dentro de las desventajas se encuentra su escasa bioactividad.³⁵



CAPÍTULO 4 EXPERIMENTACIÓN CON CÉLULAS MADRE PARA REGENERACIÓN PULPAR

Dependiendo de las situaciones clínicas, se pueden considerar dos tipos de regeneración de la pulpa:

4.1 Regeneración parcial de la pulpa

Se ha observado que la infección pulpar y la inflamación se compartimentan hasta que todo el tejido pulpar experimenta necrosis. Antes de la necrosis pulpar completa, el tejido pulpar restante puede recuperarse después de la desinfección y ayudar a regenerar la porción perdida. Para mejorar la regeneración, se pueden insertar tejidos pulpares modificados en el espacio pulpar para facilitar la recuperación completa del tejido pulpar y la generación de nueva dentina.³⁷

4.2 Síntesis de *novo* de la pulpa

Cuando se pierde todo el tejido pulpar, debe producirse una síntesis *de novo* de la pulpa para regenerar el tejido. El volumen del tejido pulpar maduro es muy pequeño (~ 10-100 μ l), por lo tanto, la regeneración de la pulpa debe ser relativamente más simple que la de los órganos o tejidos más grandes. Sin embargo, se ha considerado una tarea difícil la ingeniería y regeneración de toda la pulpa y su producto, la dentina, debido a las siguientes situaciones: 1) ubicación anatómica única del tejido pulpar encapsulado dentro de la dentina que tiene principalmente un foramen apical para permitir la angiogénesis para la ingeniería del tejido; 2)



microestructura única del tejido pulpar, es decir, diferentes tipos de células (por ejemplo, odontoblastos) en diferentes capas o zonas e innervación compleja y ubicación específica de la dentina situada periféricamente del tejido pulpar y la estructura misma de la dentina que es altamente organizada con túbulos dentinarios bien alineados.³⁷

Con el fin de crear pulpa funcional para la aplicación clínica, deben considerarse varias cuestiones: en primer lugar, el tejido pulpar regenerado debe ser vascularizado, considerando que el suministro de sangre se produce solo a partir del agujero apical; en segundo lugar, los odontoblastos recién diferenciados deben adherirse y formarse en la pared dentinaria existente del espacio del conducto radicular; y finalmente, la nueva dentina debe ser producida por los odontoblastos diferenciados sobre la dentina existente.³⁸



CAPÍTULO 5 EXPERIMENTACIÓN *IN VITRO* E *IN VIVO*

Existen varios estudios experimentales *in vivo* e *in vitro* donde se comprueba la posibilidad de regeneración parcial y total de la pulpa dental, para poder llegar a la aplicación dental, existen reportes previos sobre la diferenciación y utilidad celular. Diversos autores concuerdan con lo reportado, reafirmando que las células madre de pulpa tienen alta proliferación, actividad de migración y potencial multilinaje de diferenciación (odontoblastos, osteoblastos, neurocitos) y angiogénesis. S. Gronthos *et al* 2000, Yang *et al*, 2009, Srisuwan *et al*, 2012, Demarco *et al*, 2010, Nam *et al* 2011, Wang *et al*, 2011.^{39, 40, 41, 42, 43, 44}

Existen muchos reportes sobre modelos de regeneración pulpar en animales (ratones, conejos, perros y porcinos miniatura), tales como los publicados por Srisuwan *et al* 2012, 2013, Gonçalves *et al*, 2007, Backly *et al*, 2008, Nakashima *et al*, 2005, Konadas *et al* 2012.^{41, 45, 46, 47, 48, 49}

Nakashima y cols. fueron capaces de demostrar la regeneración parcial de la pulpa con células de pulpa porcina a través de estimulación con la proteína morfogenética ósea humana recombinante (BMP2rh), ya que ésta estimula la diferenciación de las células pulpares en el linaje odontoblástico.⁵⁰ Iohara y cols. En el año 2008 aislaron una subfracción altamente vasculogénica de células de población lateral SP (side population SP) procedentes de pulpa dental porcina. Esta subfracción celular mostró alta proliferación, actividad de migración y potencial multilinaje de diferenciación, incluyendo el potencial vasculogénico.⁵¹

Iohara y cols. realizaron un modelo experimental de remoción parcial de la pulpa canina y trasplante de células madre de pulpa derivadas de células de población lateral SP suplementadas con BMP2 humana recombinante. Los resultados de esta investigación fue que BMP2 indujeron formación de osteodentina en defectos quirúrgicos creados en pulpa dental amputada.⁵²



Prescott y cols. midieron la efectividad de DPSCs de molares humanos en conjunción con un andamio de colágeno y la proteína de matriz de dentina 1 (DMP1) para formar tejido pulpar organizado, su formación de matriz colágeno y vasos sanguíneos específicos en el área del sitio de perforación en un trasplante subcutáneo en ratones.⁵³

También la investigación sobre andamios ha confirmado que son un elemento básico en la ingeniería tisular. Alsanea y cols. utilizaron DPSC, DMP1 y un andamio de colágeno en un modelo de perforación simulado. La presencia de DMP1 promovió la diferenciación de DPSCs dentro del armazón de colágeno en células similares a odontoblastos capaces de formar una matriz vascularizada altamente celular, pero con una rápida contracción de la matriz de colágeno.⁵⁴ Zheng y cols. trabajaron con DPSC porcinas autólogas y se combinaron con un andamiaje de β -fosfato tricálcico (β -TCP) para la cobertura de defectos dentinales. Demostraron que es factible utilizar células madre mezcladas con un andamio para la regeneración de la dentina.⁵⁵

La investigación multidisciplinaria ha demostrado que en diversos niveles se puede determinar que las DPSCs son buenos candidatos para la regeneración pulpar. Kim JY. y cols. examinaron la adhesión, crecimiento y diferenciación de DPSCs humanos en tres andamios naturales: colágeno, gelatina y quitosano.⁵⁶ Un año después Kim JY. y cols. trabajaron endodóticamente sobre incisivos maxilares y mandibulares extraídos, para la implantación in vivo de un andamio de colágeno para su posterior implantación en el dorso de ratón, con suministro del factor de crecimiento de fibroblastos básico y / o factor de crecimiento endotelial vascular (bFGF y / o VEGF). Se observó que la administración combinada de bFGF, VEGF o factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) con un conjunto basal de factor de crecimiento nervioso (NGF) y proteína morfogenética 7 (BMP7) generó tejidos celularizados, vascularizados y aparente neo-dentina sobre la



superficie de la pared dentinaria en algunos dientes de este modelo ectópico.⁵⁷

Todas estas investigaciones tienen como objetivo poder ser llevadas al ser humano. En este tópico, Huang y cols. realizaron un estudio donde se probó la posibilidad de regenerar la pulpa dental humana vascularizada en el espacio del conducto vacío y producir nueva dentina en las paredes dentinarias existentes usando un enfoque mediado por células madre con un fragmento de raíz humana y un modelo de ratón inmunocomprometido.⁵⁸

Iohara y cols. demostraron por primera vez que las células CD105⁺ de pulpa con factor derivado de células estromales-1 (SDF-1) inducen una regeneración completa de la pulpa repleta de neurogénesis y vasculogénesis *in vivo* en el perro adulto después de una pulpectomía experimental.⁵⁹

Iohara y col. realizaron una investigación que representa la primera demostración preclínica de la eficacia y seguridad tras el trasplante de células madre de pulpa de grado clínico junto con receptores de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y andamios de colágeno para regeneración de pulpa y de dentina en el diente de perro con pulpectomía.⁶⁰



CONCLUSIONES

La regeneración pulpar con células madre es un tratamiento que representaría muchos beneficios sobre el tratamiento de conductos convencional ya que con este tratamiento la pulpa recuperaría las funciones sensoriales, sensitivas, nutritivas y de protección mientras que en el tratamiento convencional la pulpa pierde todas sus funciones, además de que provoca cambios en la estructura dental, tales como, modificaciones en la anatomía de los conductos radiculares, cambios en la arquitectura dental y deshidratación, lo que debilita el diente incrementando su fragilidad por lo que puede conllevarlo a la fractura.

En el área odontológica el uso de células madre pulpares para la regeneración pulpar, es una opción de tratamiento que promete a futuro buenos resultados en un uso clínico.

Las desventajas de este procedimiento es el complejo aislamiento de las células madre, así como su difícil obtención en el mercado, ya que aún se encuentran en fase experimental, además del impacto económico que este representaría, dificultaría en un inicio el acceso a este tratamiento a algunos sectores de la población, solo hasta que realmente sea comercializado podría considerarse accesible.



Referencias Bibliográficas

1. Valdespino VM, Valdespino PM, Valdespino VE. Estrategias para la regeneración de tejidos: células, inductores bioquímicos, bionanomateriales y bioconstrucciones. Alcances clínico quirúrgico. [revista en internet] 2014 [citado 2 de septiembre de 2017]; 82:578-589. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66231760016>.
2. Fagundo JCJ, Dorticós E, Pavón V, Cortina L. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: tipos, fuentes e indicaciones. Rev. cubana Scielo.sld.cu. [revista en Internet] 2004 [citado 25 Sep. 2017]; 2(2):1561-2996 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200002&lng=es.
3. Arias, ME, Felmer R. Biología de las células madre embrionarias (ES cells) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. Scielo.sld.cu. [revista en internet] 2009 [citado 11 Sep. 2017]; 41(3):185-196 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4452737>
4. Cortés J, García J. Células madre embrionarias y células pluripotentes inducidas: ¿pasado, presente y/o futuro en la medicina regenerativa? Revista Asebir. [revista en Internet]. 2011 [citado 11 Septiembre 2017]; 16(1):55-61 Disponible en: <http://revista.asebir.com/celulas-madre-embrionarias-y-celulas-pluripotentes-inducidas-pasado-presente-yo-futuro-en-la-medicina-regenerativa/>



5. González N. Células madre o troncales: su itinerario jurídico en México [PDF] [citado 12 Septiembre 2017]. Disponible en: <https://archivos.juridicas.unam.mx/www/bjv/libros/5/2252/13.pdf>
6. Jurdado M. La controversia en la investigación con células madre embrionarias. Anuario de Derechos Humanos. [revista en Internet] 2008 [citado 12 Septiembre 2017]; 9:403-430 Disponible en: <file:///C:/Documents%20and%20Settings/USUARIO.1/Mis%20documentos/Downloads/21625-21644-1-PB.PDF>
7. Camejo M. Ingeniería de tejido en la regeneración de la dentina y la pulpa. Acta odontológica. [revista en Internet] 2010 [citado 12 Septiembre 2017]; 48(1) Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/1/art-19/>
8. Monjes J, Maresca M. Hidróxido de calcio. Endoregenerativa.com.ar. [revista en Internet] [citado 13 Septiembre 2017] Disponible en: <http://www.endoregenerativa.com.ar/index.php/articulos/26-hidroxido-de-calcio>
9. Rodríguez GG, Álvarez LIM, García BJ, Arias HS, Sarabia M. El hidróxido de calcio: su uso clínico en la endodoncia actual. Revista Archivo Médico de Camagüey. [revista en internet] 2005 [citado 13 septiembre 2017]; 9(3):143-152. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552005000300016
10. Calzada BA, Mora PC. Terapia periodontal regenerativa: antecedentes y perspectivas. Scielo.sld.cu. [revista en Internet] 2013 [citado 11 Septiembre 2017]; 11(5):518-526 Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2013000500006&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2013000500006&lng=es)



11. Vives T, Calvo J, Santos A. Derivado de proteínas del esmalte (Emdogain ©) para el tratamiento de defectos infraóseos. A propósito de un caso. revista odontológica de especialidades. [revista en internet] 2005 [citado 14 septiembre 2017]; 5(34). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2013000500006
12. Pérez BA, Ilisástigui OZ, Hernández RP, Domínguez RL, González IA, Martínez de Pinillo M *et al.* Historia de la aplicación de la terapia celular en periodoncia. Scielo.sld.cu. [artículo en Internet] 2009 [citado 13 Septiembre 2017]; 8(5). Disponible en:
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000500002&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000500002&lng=es)
13. Navarro M. Conceptos Actuales sobre el Complejo Dentino-Pulpar. Carlos Bóveda, Endodoncia. [revista en internet] 2006 [citado 13 Septiembre 2017]. Disponible en:
http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_49.htm
14. Figueroa M., Gil. M. Órgano dentino-pulpar sensibilidad dentinaria. Fac. Odontología. UCV. Caracas. [PDF]. 2013 [citado 13 Septiembre 2017]. Disponible en:
http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_odontologia/Imagines/Portal/Odont_Operatoria/%C3%93rgano_Dentino-Pulpar_Sensibilidad_Dentinaria_01.pdf
15. Yaguana D. Pulpa Dental. Academia.edu. [PDF] 2015 [citado 13 Septiembre 2017]. [aprox 16 p.] Disponible en:
http://www.academia.edu/13131335/Pulpa_Dental



16. Herrera M., Mera C., Neyra I., Soto N., Vélez N. Pulpa dental complejo dentino pulpar I. Academia.edu. [PDF] [citado 22 Septiembre 2017]. Disponible en: http://www.academia.edu/9665038/Tutoria_Embriolog%C3%ADa_Pulpa_Denta
17. Chiego JrD. Principios de histología y embriología con orientación clínica. Academia.edu.4 ed Elsevier [libro en Internet] 2014[citado 22 Septiembre 2017]. Disponible en:http://www.academia.edu/16061354/Principios_de_Histolog%C3%ADa_y_Embriolog%C3%ADa_Bucal_con_Orientaci%C3%B3n_Cl%C3%ADnica
18. Navarro M. Conceptos Actuales sobre el Complejo Dentino- Pulpar. Fisiología Pulpar. Academia.edu. [PDF] 2001[citado 14 Septiembre 2017]. Disponible en:http://www.academia.edu/9067039/Conceptos_Actuales_sobre_el_Complejo_Dentino- Pulpar. A
19. Gómez de Ferraris M, Campos Muñoz A. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. México: Medica Panamericana. [libro en internet] 2009 [citado 14 Septiembre 2017]. Disponible en: http://www.academia.edu/8172519/Histologia_y_Embriologia_Bucodental_Gomez_de_Ferraris
20. Canalda C, Brau E. Endodoncia. técnicas clínicas y bases científicas. 3rd ed. España: Elsevier Masson [libro en internet] 2014[citado 14 Septiembre 2017].Disponible en: http://www.academia.edu/14955166/Carlos_Canalda_-_Endodoncia_Tecnicas_Clinicas_y_Bases_Cientificas_3ra_Ed
21. Santiago DE, LaO SN, Urgellés PY, Riesgo CY, Alí PN. Ventajas y usos de las células madre en estomatología. Scielo.sld.cu [artículo



- en Internet] 2014 [citado 26 Septiembre 2017]; 18(9) Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192014000900014
22. Betancourt GK, Barciela CJ, Guerra MJ, Cabrera CN. Uso de células madre en el complejo bucofacial Scielo.sld.cu [artículo en Internet] 2012 [citado 26 Septiembre 2017]; 16(5):651-656. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552012000500015
23. Sharpe P. Dental mesenchymal stem cells. Develop. [revista en Internet]. 2016 [citado 26 Septiembre 2017]; 143: 2273-2280 Disponible en:
<http://dev.biologists.org/content/143/13/2273.short>
24. Cortés GA, Cortés VT, Duque RA, Rodríguez SÁ, Munévar NJ. Células troncales mesenquimales de la papila apical y su papel prometedor en la biología radicular. Revista Mexicana de Estomatología [revista en Internet]. 2016 [citado 26 Septiembre 2017]; 3(2):62-71. Disponible en:
<https://www.remexesto.com/index.php/remexesto/article/view/72/119>
25. Soto NE, Vargas UL, Oropeza MM, Cano SP, Morán RA, García GM. Células pluripotenciales de la pulpa dental humana. Odontología Actual [revista en Internet] 2014 [citado 27 Septiembre 2017](130) Disponible en:
http://handbook.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/SALUD_10/Laboratorio_Clinico/84.pdf
26. Pasha SMA, Quanzhou Z. Applications of Mesenchymal Stem Cells in Oral and Craniofacial Regeneration [revista en Internet] 2017 [citado 27 Septiembre 2017]; 29(1):19-25 Disponible



en:<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1042369916300747?via%3Dihub>

27. Afrashtehfara K, Zerónb A. Potencial de regeneración periodontal por medio de células progenitoras obtenidas del ligamento periodontal [artículo en Internet] 2012 [citado 26 Septiembre 2017]; 55(4) Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2012/un124b.pdf>
28. Yu T, Volponi A, Babb R, An Z, Sharpe P, Stem Cells in Tooth Development, Growth, Repair, and Regeneration [artículo en Internet]. 2015 [citado 27 Septiembre 2017]; 115:187-212 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.07.010>
29. Eceizabarrena GII, García RMJ, González CS. Células madre de la pulpa dentaria rev. Reduca [revista en Internet]. 2014 [citado 27 Septiembre 2017]; 6 (1): 175-179 Disponible en:<http://www.revistareduca.es/index.php/reduca/article/view/1677>
30. Venkatesh D, Kumar KPM, Alur J. Gingival mesenchymal stem cells JOMFP [revista en Internet] 2017 [citado 26 Septiembre 2017] ; 21 (2): 296-298 Disponible en: <http://www.jomfp.in/article.asp?issn=0973-029X;year=2017;volume=21;issue=2;spage=296;epage=298;aulast=Venkatesh>
31. Lambrichts I, Driesen R, Dillen Y, Gervois P, Ratajczak J, Vangansewinkel T, *et al.* Dental Pulp Stem Cells: Their Potential in Reinnervation and Angiogenesis by Using Scaffolds JOE. [artículo en Internet] 2017 [citado 27 Septiembre 2017]; 43, (9):12-16 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.001>
32. Munévar NJ, Becerra CA, Bermúdez OC. Aspectos celulares y moleculares de las células madres involucrados en la regeneración de tejidos con aplicaciones en la práctica clínica odontológica a.a. odont.vene. [artículo en Internet].2008 [citado 27 Septiembre 2017];



46(3):1-12

Disponible

en:

https://www.actaodontologica.com/ediciones/2008/3/aspectos_celulares_moleculares_celulas_madres.asp

33. Murakami E. Anexo al tema 3: Factores de crecimiento [homepageInternet] 2007 [actualizado en Enero de 2008; citado 27 Septiembre 2017] Disponible en: http://eusalud.uninet.edu/apuntes/tema_03C.pdf
34. Rendón J, Jiménez LP, Urrego PA. Factores Células madre en odontología Rev. CES [artículo en Internet] 2011[citado 27 Septiembre 2017]; 24(1):51-58 Disponible en: <http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/1475>
35. Camargo PA, Sossa H. Revascularización pulpar mediante la utilización de plasma rico en plaquetas autólogo o en combinación con una matriz colágena, como posibilidades terapéuticas para dientes con ápice abierto, pulpa necrótica y/o patología periapical: revisión narrativa de la literatura. a. a. odont.Col. [artículo en Internet] 2014 [citado 27 Septiembre 2017]; 4(1): 113-129 Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actaodontocol/article/view/44609/45922>
36. Sabino MA, Loiaza M, Dernowsek J, Lopes JV. Techniques for manufacturing polymer scaffolds with potential applications in tissue engineering. Rev. LatinAm. Metal. Mat [artículo en internet] 2017 [citado: octubre 3, 2017]; 37 (2) Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/317003912_TECHNIQUES_FOR_MANUFACTURING_POLYMER_SCAFFOLDS_WITH_POTENTIAL_APPLICATIONS_IN_TISSUE_ENGINEERING.
37. Huang G. Dental Pulp and Dentin Tissue Engineering and Regeneration – Advancement and Challenge. Pubmed [artículo en



- internet]. 2011[citado 1 octubre 2017]; 3:788–800. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3289134/#R57>
38. Sun H, Jin T, Yu Q, Chen F. Biological approaches to regeneration of the dental pulp by tissue engineering. *J.TissueEngRegenMed* [artículo en internet] 2011[citado 2 octubre 2017]; 5 (4): 1-16 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21413154>
39. Gronthos S, Mankan M, Brahim J, Robey GP, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Pubmed* [artículo en Internet] 2000 [citado 2 octubre 2017]; 5(25):13625–13630. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC17626/>
40. Yang X, Van der Kraan PM, Bian Z Fan M, Walboomers XF, Jeansen JA. Mineralized Tissue Formation by BMP2-transfected Pulp Stem Cells. *J Dent Res* [artículo en Internet] 2009 [citado 4 octubre 2017]; 88(11):1020-1025. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.948.4727&rep=rep1&type=pdf>
41. Srisuwan T, Tilkorn DJ, Al-Benna S, Vashi A, Penington A, Messer HH, Abberton KM, Thompson EW. Survival of rat functional dental pulp cells in vascularized tissue engineering chambers. *Epub* [artículo en Internet] 2012 [citado 10 octubre 2017]; 44(2):111-21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22301418>
42. Demarco FF, Casagrande L, Zhang Z, Dong Z, Tarquinio SB, Zeitlin BD, et al. Effects of morphogen and scaffold porogen on the differentiation of dental pulp stem cells. *J Endod.* [artículo en Internet] 2010 [citado 4 octubre 2017]; 36(11):1805-11. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20951292>
43. Nam S, Ganó JE, Kim CH, Kim HW. Odontogenic differentiation of stem cells from human dental pulp stimulated by porous calcium phosphate granules. *J Tissue Eng.* [artículo en Internet] 2011



- [citado 8 octubre 2017]; 2011: 812547 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21772958>
44. Wang J, Ma H, Jin X, Hu J, Liu X, Ni L, Ma PX. The effect of scaffold architecture on odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells. *BioM*. [artículo en Internet] 2011 [citado 4 octubre 2017]; 32(31):7822-30. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21663962>
45. Srisuwan T, Tilkorn DJ, Al-Benna S, Abberton K, Messer HH, Thompson EW. Revascularization and tissue regeneration of an empty root canal space is enhanced by a direct blood supply and stem cells. *DentTraumatol*. [artículo en internet]. 2013 [citado 5 octubre 2017]; 29(2):84-91. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22520279>
46. Gonçalves S.B, Dong Z, Bramante C.M, Holland G.R, Smith A. J, NörJ.E. Tooth Slice–Based Models for the Study of Human Dental Pulp Angiogenes. *Jour Endod* [artículo en internet] 2007 [citado 2 octubre 2017]; 33(7):811-814 Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239907003044#>
47. Backly R. M, Massoud A.G, Badry A. M, Sherif R.A, Marei M. K. Regeneration of dentine/pulp-like tissue using a dental pulp stem cell/poly(lactic-co-glycolic) acid scaffold construct in New Zealand white rabbits. *AustEndod J*. [artículo en internet]. 2008 [citado 6 octubre 2017]; 34(2):52-67. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18666990>
48. Nakashima M, Akamine A The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod*. [artículo en Internet] 2005 [citado 7 octubre 2017]; 31 (10): 711 – 718 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16186748>



49. Kodonas K, Gogos C, Papadimitriou S, Kouzi-Koliakou K, Tziafas D. Experimental formation of dentin-like structure in the root canal implant model using cryopreserved swine dental pulp progenitor cells. J Endod. [artículo en internet] 2012 [citado 6 octubre 2017]; 38(7):913-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22703653>
50. Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. J Dent Res. [artículo en internet]. 2004[citado 5 octubre 2017]; 83(8):590-5 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15271965>
51. Iohara k, Zheng L, Wake H, Ito M, Nabekura J, Wakita H, Nakamura H, Into T, Matsushita K, Nakashima M. A Novel stem cell source for vasculogenesis in ischemia: subfraction of side population cells from dental pulp. pubmed. [artículo en internet] 2008 [citado 5 octubre 2017]; 26(9):2408-18. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18583536>
52. Iohara K, Zheng L, Ito M, Ishizaka R, Nakamura H, Into T, Matsushita K, Nakashima M. Regeneration of dental pulp after pulpotomy by transplantation of CD31(-)/CD146(-) side population cells from a canine tooth. RegenMed. [artículo en internet] 2009 [citado 2 octubre 2017]; 4(3):377-85. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19438313>
53. Prescott R.S, RajaaA, Fayad M. I. Johnson B. R, WenckusCh.S, hAO J, John A.S, George A. In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. J Endod. [artículo en internet] 2008 [citado 3 octubre 2017]; 34(4):421-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18358888>



54. Alsanea R, Ravindran S, PhD, FayadMI, Johnson BR, WenckusCHS,HaoJ, George A. Biomimetic Approach to Drilling Repair Using Dental Pulp Stem Cells and Dentine Matrix Protein 1. J Endod. [artículo en Internet] 2011[citado 9 octubre 2017]; 37(8):1092-1097. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3139150/>
55. Zheng Y, Wang XY, Wang YM, Liu XY, Zhang CM, Hou BX, Wang SL. Dentin regeneration using deciduous pulp stem/progenitor cells. J Dent Res. [artículo en Internet] 2012 [citado 3 octubre 2017]; 91(7):676-82. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22660968>
56. Kim NR, Lee DH, Chung PH, Yang HC. Distinct differentiation properties of human dental pulp cells on collagen, gelatin, and chitosan scaffolds. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod. [artículo en internet]. 2009 [citado 3 octubre 2017]; 108(5):94-100. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19836718>
57. Kim J. K, Xin X, Moili E.K, Chung J, Hun Lee Ch ,Chen M. Regeneration of Dental-Pulp-like Tissue by Chemotaxis-Induced Cell Homing. TissueEngPart A [artículo en Internet] 2010 [citado 6 octubre 2017]; 16(10): 3023–3031. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2947424/>
58. Huang G,Yamaza T, Shea L. D, Djouad F, Kuhn N. Z., Tuan R.S, Shi S, Stem/Progenitor Cell–Mediated De NovoRegeneration of Dental Pulp with Newly Deposited Continuous Layer of Dentin in an In Vivo ModelTissueEng Part A. [artículo en Internet] 2009 [citado 6 octubre 2017]; 16(2):605–615. Disponible en:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19737072>
59. Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, Matsushita K, Nakamura H, Nakashima M. Complete Pulp



Regeneration After Pulpectomy by Transplantation of CD105+ Stem Cells with Stromal Cell-Derived Factor-1. Tissue Engineering Part A. [artículo en internet] 2011[citado 8 octubre 2017];17(15-16): 1911-1920.Disponible en: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0615>

60. Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R., et al. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. Transl Med [artículo en internet]. 2013[citado 6 octubre 2017]; 2(7):521-33. Disponible en:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23761108>