



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MEDICINA REGENERATIVA EN DIABETES MEDIANTE
TEJIDOS DENTALES
(REVISIÓN SISTEMÁTICA).

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:

INGRID LIZBETH MEJÍA RAMÍREZ

TUTORA: Dra. LAURA ESTHER VARGAS ULLOA

MÉXICO, Cd. Mx.

2018



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.

A mi familia: Ustedes son pioneros de mi ser, pues han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme, a quienes me han dado todo sin escatimar algún esfuerzo, por todo su apoyo económico y emocional, por ayudarme a conseguir los primeros pacientes, a quienes nunca podré pagar todos sus desvelos, pero sin embargo siempre estaré agradecida por todo lo que me han dado, pues sin ustedes esto no hubiera sido posible.

A mi padre: Por estar presente en mi vida y apoyarme a lo largo de la carrera, porque el camino fue difícil y en ti encontré lo necesario para seguir adelante, por tu esfuerzo y compromiso, gracias padre.

A mi madre: A tí en especial por ser el pilar de mi vida pues me has enseñado con el ejemplo que todo es posible con base en esfuerzos, eres quien ha aportado a mi vida el don de la responsabilidad.

A mi hermana: Adriana Mejía Ramírez por hacerme creer que soy capaz de llegar hasta donde me lo proponga, te agradezco el ejemplo que me pusiste desde niña, por tu paciencia, amor y comprensión, gracias por escucharme pues no solo eres mi hermana si no mi mejor amiga.

Gracias por formar la familia que somos. Gracias a Damián García Mejía por llenarme de alegría.

A mis amigos: Y también a los que no lo fueron, de cada uno de ustedes me llevo una enseñanza que me ha hecho una mejor profesional, gracias a ellos que se convirtieron en mi segunda familia, Brenda, Jennifer, Ángel.

A mis profesores: Gracias por todos los conocimientos brindados, gracias por la sabiduría que me han brindado, en especial a la Dra. Laura Esther Vargas Ulloa y la Dra. Margarita García Garduño por su dedicación y empeño para la realización de este trabajo.

A la UNAM: Por haberme permitido formar parte de ella y regalarme el gran tesoro de la educación.

Finalmente gracias a **Dios** por el momento y el lugar donde me encuentro.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
OBJETIVO GENERAL	8
1 MEDICINA REGENERATIVA	9
1.1 Antecedentes	9
1.2 Generalidades.....	10
2 INGENIERÍA DE TEJIDOS	12
2.1 Definición	12
2.2 Regeneración.....	13
2.3 Reparación.....	13
2.4 Cicatrización	14
2.5 Generalidades.....	15
2.6 Células Madre.....	17
2.6.1 Telómeros.....	19
2.6.2 Generalidades de células madre	20
2.6.3 Clasificación de células troncales por su potencial de diferenciación.....	22
2.6.3.1 Totipotencial	22
2.6.3.2 Pluripotentes	22
2.6.3.3 Multipotenciales	22
2.6.3.4 Oligopotenciales	22
2.6.3.5 Unipotenciales	23
2.6.3.6 Pluripotentes inducidas.....	24
2.6.4 Clasificación de células por su origen	25
2.6.4.1 Célula madre embrionaria.....	25
2.6.4.2 Célula madre somática o adulta	25
2.6.4.3 Células madre clonadas	27
2.6.5 Matriz extracelular.....	27

3 ANDAMIOS	27
3.1 Definición	27
3.2 Características y tipos de andamios	28
3.3 Andamios para islotes pancreáticos en ratones.....	30
4 CÉLULAS MESENQUIMALES DENTALES	31
4.1 Generalidades.....	31
4.2 Células madre de pulpa dental	34
4.3 Células madre del periodonto	35
4.4 Células madre de la papila apical	36
4.5 Células madre del folículo dental	37
5 ANATOMÍA DEL PÁNCREAS Y PRODUCCIÓN DE INSULINA.....	38
5.1 Definición	38
5.2 Localización	38
5.3 Características	39
5.4 Acinos	42
5.5 Función del páncreas.....	44
5.5.1 Función endocrina	44
5.6 Insulina	44
6 DIABETES.....	47
6.1 Prevalencia	47
6.2 Generalidades de la diabetes	47
6.3 Clasificación de diabetes	48
6.3.1 Prediabetes.....	48
6.3.2 Diabetes tipo 1	49
6.3.3 Diabetes tipo 2.....	50
6.3.4 Diabetes Gestacional.....	51
6.4 Síntomas.....	52

6.5 Complicaciones de la diabetes	53
6.6 Diagnóstico	54
7 PULPA DENTAL	55
7.1 Generalidades.....	55
8 OBTENCIÓN DE CÉLULAS β A TRAVÉS DE PULPA DENTAL (MÉTODOS)	57
8.1 Método 1 por Govindasamy en 2011 (estudio in-vitro)	57
8.2 Método 2 por Elisalva Teixeira Guimarães en 2013 (in vivo en ratones)	60
8.3 Método 3 por J. SUCHÁNEK 2017 (in vitro)	60
CONCLUSIONES	63
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS DE IMÁGENES	74

INTRODUCCIÓN

Areteo de Capadocia era un médico griego que posiblemente estudió en Alejandría y residente en Roma describe las enfermedades clásicas como la tuberculosis, la difteria y la epilepsia; para él la Diabetes es una enfermedad fría y húmeda en la que la carne y los músculos se funden para convertirse en orina. Fue él quien le dio el nombre de Diabetes que en griego significa Sifón, refiriéndose al síntoma más llamativo por la exagerada emisión de orina.

La diabetes es una condición de salud multifactorial y multinivel que afecta no solo al que lo padece sino a toda la familia, esta afección es silenciosa pero prevenible, perjudica significativamente a los mexicanos y personas del mundo, según la OMS es una grave enfermedad crónica que se desencadena cuando el páncreas no produce suficiente insulina (una hormona que regula el nivel de azúcar, o glucosa, en la sangre), o cuando el organismo no puede utilizar con eficacia la insulina que produce.

Es un importante problema de salud pública y una de las cuatro enfermedades no transmisibles seleccionadas por las dirigencias mundiales para intervenir con carácter prioritario. En las últimas décadas han aumentado sin pausa el número de casos y la prevalencia de la enfermedad, 422 millones de adultos en todo el mundo tenían diabetes en 2014, frente a los 108 millones de 1980. La prevalencia mundial (normalizada por edades) de la diabetes casi se ha duplicado desde ese año, pues ha pasado del 4,7% al 8,5% en la población adulta.

Hay tres tipos principales de diabetes: tipo 1, tipo 2 y diabetes gestacional. La diabetes tipo 1 (DM1) se caracteriza por la destrucción de las células β productoras de insulina en el páncreas mediado por células T autoreactivas, la diabetes tipo 2 (DM2) se asocia con resistencia periférica a la insulina y secreción de insulina alterada y la gestacional se

presenta durante el embarazo. En la mayoría de los casos se relaciona con factores de riesgo modificables como la obesidad o el sobrepeso, la inactividad física, y las dietas con alto contenido calórico de bajo valor nutricional, sin embargo este riesgo es mayor en el caso de contar con familiares con esta condición y sobre todo si el padre o la madre lo presentan.

El tratamiento convencional incluye la dependencia de las inyecciones diarias de insulina en el caso de la diabetes tipo I y si es necesaria en la diabetes tipo II, el control de rutina de los niveles de glucosa en sangre son con punciones o de fármacos para su control.

Desafortunadamente existe escasez de órganos donantes y no significa un éxito en todos los casos cuando se realiza un trasplante de páncreas, lo que representa un gasto económico significativo para quién lo padece, que crea desequilibrios individuales, grupales y del país.

La medicina regenerativa representa una alternativa para mejorar, regenerar o sustituir órganos o tejidos, crear fármacos y terapias. En este caso la medicina regenerativa incluye la utilización de células troncales de la cavidad oral al ser utilizadas para tratar dicha condición.

OBJETIVO GENERAL

Revisar bibliográficamente los avances de medicina regenerativa en diabetes a través de tejidos dentales.

1 MEDICINA REGENERATIVA

1.1 Antecedentes

- 1963 McCulloch menciona la presencia de auto replicación de Célula Madre en la Médula Ósea de ratones.
- 1968 Primer Trasplante de Médula Ósea (TMO) y Ernst Haeckel dio el término stem cell.
- 1978 Las Células Madre Hematopoyéticas (CMH) son descubiertas en la sangre del cordón umbilical.
- 1985 Yamamura hablaba sobre la implantación de células mesenquimales (MSC) en diferentes tejidos.
- 1992 Células Madre Neurales son cultivadas *in vitro*.
- 1993 Denny y colaboradores hicieron estudios de células mesenquimales en glándulas salivales.
- 1997 La leucemia es la 1ª en evidenciar que las Células Madre Hematopoyéticas son la razón para el cáncer de Células Madre de la oveja Clonada "Dolly".
- 2000 Gronthos y colaboradores descubren células madre en pulpa de dientes permanentes (DPSC).
- 2003 Miura y colaboradores descubren células trocales en dientes temporales (SHED).
- 2004 Seo y colaboradores trabajan en células del ligamento periodontal (DLSC).
- 2005 Morzseck y colaboradores descubren células madre en folículo dental DFPSC.
- 2007 Izumi descubren células madre en mucosa oral.
- 2008 Sonoyama experimenta en células madre de la papila apical (SCAP).¹

1.2 Generalidades

La medicina regenerativa es una rama de la medicina que se ha desarrollado considerablemente en los últimos años. Los avances en este campo se han vinculado estrechamente con los nuevos conocimientos adquiridos sobre las células madre y su capacidad de convertirse en células de diferentes tejidos (figura 1). Los nuevos conocimientos contribuyeron significativamente a calificar a las células troncales humanas como el pilar central de la medicina regenerativa, que sustituye o regenera células humanas, tejidos u órganos con la finalidad de restaurar o establecer una función normal.²

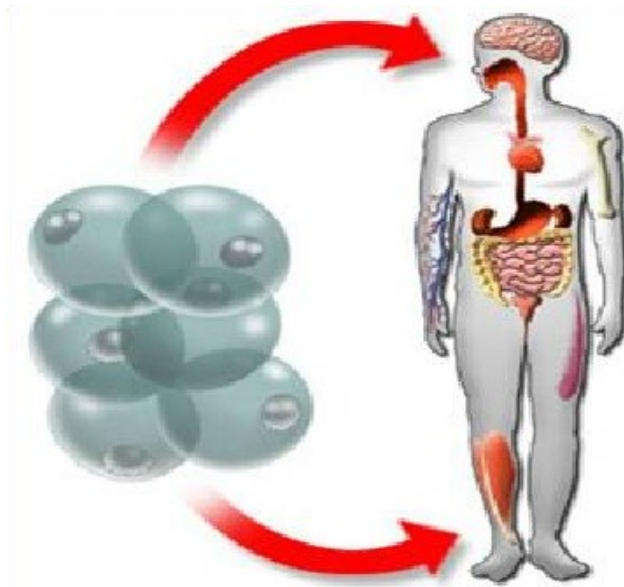


Figura 1. Células troncales y su capacidad para convertirse en células de diferente tejido.¹

Sustentada en la misma conducta que emplea el organismo humano para su auto reparación al reemplazar por células sanas a las dañadas como consecuencia de diversos procesos, sus cuatro pilares fundamentales descansan en el tratamiento con células madre, el uso de proteínas capaces de regenerar tejidos lesionados, la ingeniería de tejidos que

incluye ser realizada en el laboratorio (*in vitro*) y la practicada directamente en los individuos (*in vivo*), y el trasplante de genes.³

La medicina regenerativa es un campo amplio que incluye la ingeniería de tejidos, pero también incorpora la investigación sobre auto curación donde el cuerpo usa sus propios sistemas, algunas veces con ayuda de material biológico extraño, para recrear células reconstruir tejidos y órganos. Los términos "ingeniería de tejidos" y "medicina regenerativa" han llegado a ser intercambiables, ya que el campo intenta enfocarse en la cura en lugar de los tratamientos para enfermedades complejas y a menudo crónicas. Este campo continúa evolucionando. Además de las aplicaciones médicas, las no terapéuticas incluyen el uso de tejidos como biosensores para detectar agentes amenazantes biológicos o químicos, o chips de tejidos que se pueden utilizar para probar la toxicidad de un medicamento experimental.⁴

Es conocido de manera natural que los tejidos que forman parte de nuestro organismo tienen la capacidad intrínseca de renovarse, proceso que se produce gracias a las células que permanecen remanentes y con capacidad de renovación. Este fenómeno ha abierto una nueva era en la llamada medicina regenerativa al poder aprovechar los mecanismos de renovación celular para reparar los tejidos dañados.⁵

Las oportunidades de la medicina regenerativa son inmensas, particularmente en beneficio de los pacientes con enfermedades degenerativas e isquémicas, con disfunciones hormonales, como diabetes mellitus, o de hormona de crecimiento, enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer y Huntington), lesiones cardiovasculares (infarto de miocardio, isquemias periféricas), o lesiones en la córnea, piel, articulaciones y huesos, entre otras.⁶

La ingeniería de tejidos incluye en su área de estudio a la medicina regenerativa, pero su enfoque principal son los biomateriales.⁴

La medicina regenerativa es una rama médica multidisciplinaria relacionada con diferentes áreas de la biomedicina con las que mantiene estrechos vínculos como se observa en la figura 2.²



Figura 2. Carácter multidisciplinario de la medicina regenerativa.²

2 INGENIERÍA DE TEJIDOS

2.1 Definición

El término tissue engineering (ingeniería tisular) fue adjudicado a esta disciplina en 1987 durante una reunión de la Fundación Nacional de Ciencias, pero mucho de las técnicas utilizadas en ella habían sido desarrolladas en décadas anteriores.⁷

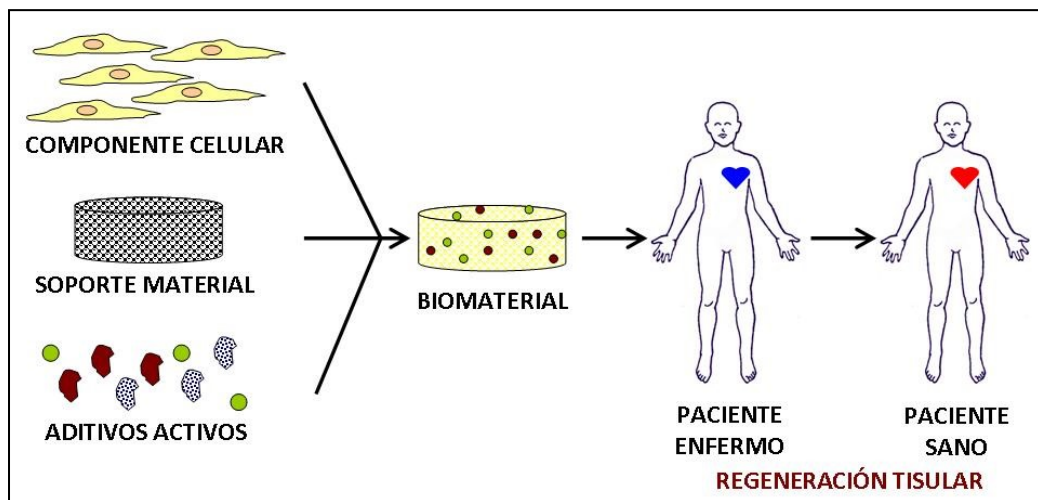


Figura 3. Ingeniería tisular.³

Se conoce como ingeniería tisular al área científica interdisciplinaria cuyo fundamento esencial es el uso de células vivas, manipulación del entorno extracelular, creación de sustitutos biológicos y su consecuente implantación en el cuerpo (figura 3). La intención de esta ciencia es reparar, reemplazar, mantener o mejorar la función de un órgano o tejido.⁷

2.2 Regeneración

Se entiende por regeneración, la sustitución de los tejidos dañados o muertos por otros nuevos con la misma función, como se sucede con las salamandras en la figura 4.⁸



Figura 4. Las salamandras tienen la capacidad de regenerarse.⁴

2.3 Reparación

La reparación es la sustitución de los tejidos lesionados por proliferación de los que sobreviven en la zona, tanto especializados como no especializados como se observa en la figura 5.⁸

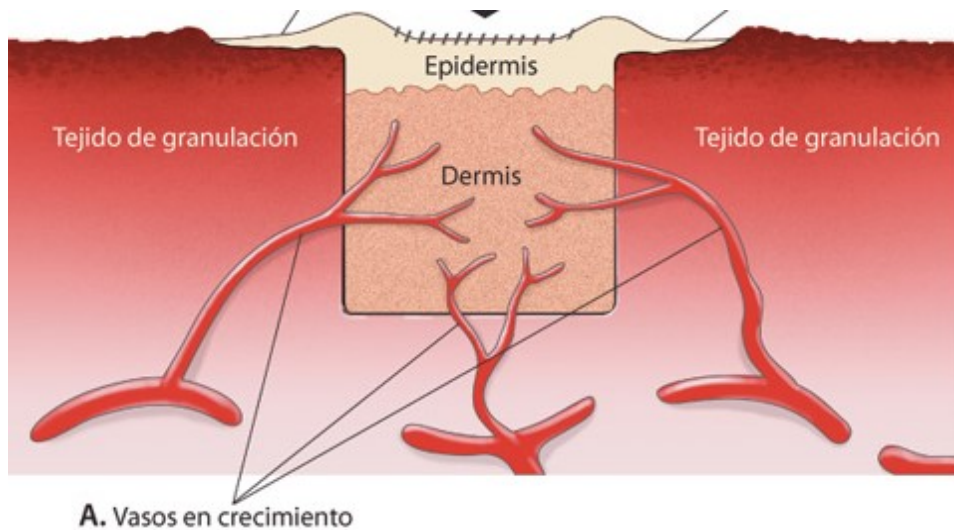


Figura 5. Reparación de heridas.⁵

2.4 Cicatrización

En la cicatrización como se observa en la figura 6 el tejido tendrá una respuesta linfoproliferativa que se encargará de reemplazar a las células en los tejidos incapaces de regenerarse, mientras que en la reparación se lleva a cabo por el depósito continuo de matriz extra celular (MEC).⁹

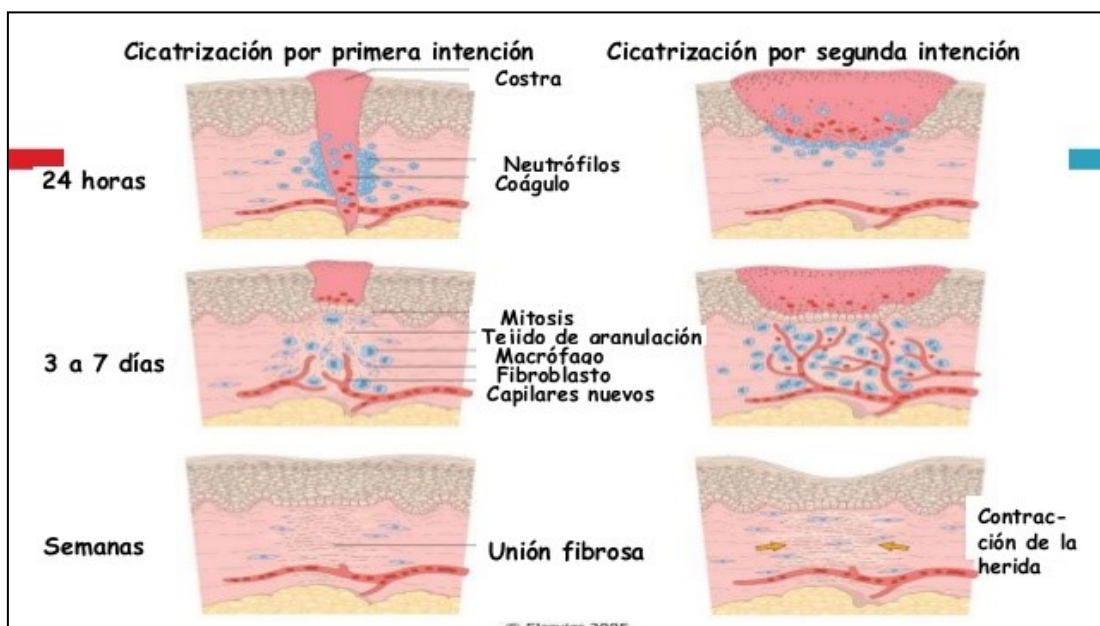


Figura 6 Proceso de cicatrización.⁶

2.5 Generalidades

Esta compleja estrategia terapéutica como ya se mencionó implica usar células vivas, en combinación con biomateriales. Los avances recientes en medicina regenerativa e ingeniería tisular son potenciales para sustituir tejidos u órganos generados a partir de sus propias células.¹⁰

Esta revolución en el campo de la biología, cuyo desarrollo ha permitido al área médica la implementación de nuevas herramientas para el estudio, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades que previamente eran intratables.¹¹

En el ser humano el término "regeneración" se ha usado clásicamente para describir el proceso mediante el cual un tejido especializado que se ha perdido es remplazado por la proliferación de células especializadas que no están dañadas. Este mecanismo se encuentra limitado a solo pocos tejidos, como es el caso del hígado.²

La pérdida total o parcial de un tejido, como así también la pérdida de la función de un órgano, es uno de los más graves y costosos problemas del ser humano. Esta creciente necesidad de órganos llevó a los investigadores a utilizar células antólogas para la reconstrucción de órganos o tejidos.⁷

Se retomaran algunos conceptos básicos para poder adentrarnos en esta nueva área; de acuerdo con las teorías más aceptadas respecto al origen y organización de la vida, se acepta que la vida se inició en organismos unicelulares quimiosintéticos capaces de soportar altas temperaturas y utilizar los nutrientes que tenían a su disposición; estos organismos unicelulares, conforme las condiciones ambientales, fueron cambiando y los nutrientes disminuyeron; algunos se adaptaron al utilizar la luz y los nutrientes disponibles y otros se volvieron depredadores de éstos; poco a poco estos organismos se vieron en competencia con otros y empezaron a organizarse en colonias, aumentando la complejidad de sus relaciones y funciones, dieron origen a los tallos, después a los tejidos y finalmente a los organismos complejos para poder garantizar su existencia y mejorar

sus mecanismos de adaptación; así mismo desarrollaron sistemas de recombinación genética que permitieran la supervivencia de la especie, presentándose la diversidad biológica como la conocemos actualmente y como lo hacen las células.¹¹

En el reino animal se conoce que las planarias pueden reconstruir totalmente su cuerpo a partir de cada una de sus partes que fueron seccionadas. Otros animales que poseen una notable capacidad regenerativa incluyen a las hidras, las estrellas de mar, los crustáceos y también a las salamandras. Es un conocimiento común la posibilidad que tienen los lagartos de regeneración de la cola. Así como la regeneración constante dental de los cocodrilos.²

El rol de la ingeniería química y biológica fue fundamental para la aplicación racional de los principios de los sistemas vivientes. La ingeniería regenerativa se basa principalmente en tres componentes, como se muestra en la figura 7, 1) Células, 2) Andamios y 3) Biomoléculas o inductores o factores de crecimiento.^{7 12}

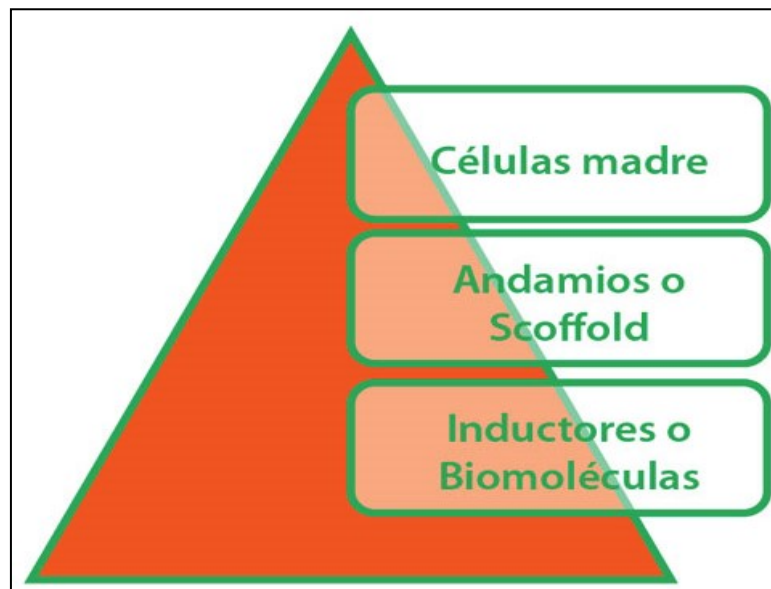


Figura 7. Componentes principales que se usan en ingeniería para formar nuevo tejido.⁷

2.6 Células Madre

El cuerpo humano posee aproximadamente 100 trillones de células, con aproximadamente 260 diferentes fenotipos que se asocian en el espacio y en el tiempo para formar los tejidos y los órganos, como se observa en la figura 8.¹²

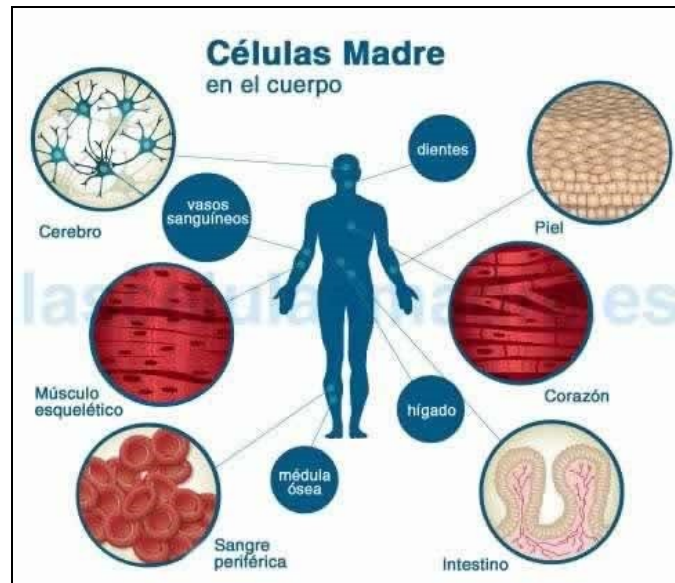


Figura 8. Células madre del cuerpo.⁸

Las células más próximas a una lesión pueden restaurar el daño por el denominado mecanismo de diferenciación. Se entiende por este último, la posibilidad que tiene una célula de diferenciarse, perder sus características originales y posteriormente adquirir propiedades nuevas.

Por otra parte, las células que participan en la construcción de un nuevo tejido, deben tener capacidad reproductiva; esto es, células en ciclo celular que no hayan entrado todavía en el proceso de diferenciación terminal.¹²

Ensayos clínicos en regeneración de tejidos se iniciaron con las células madre, tallo, troncales o stem, y han continuado con el uso de moléculas moduladoras para este tipo de células, y de diferentes componentes de la matriz extracelular; ejemplos de éstos, son las células madre hematopoyéticas, el factor de crecimiento de granulocitos y algunos

bioproductos, como la matriz extracelular dérmica descelularizada o algunos compuestos análogos del sulfato de heparán. En pocas oportunidades se han utilizado algunas bioconstrucciones tisulares para fabricar segmentos de órganos sencillos, con moldes estromales de tejidos alogénicos descelularizados, cuyas células son sustituidas por células autólogas.⁶

La célula es la unidad estructural y funcional de cualquier ser vivo (con membrana nuclear o sin ella); un tejido es la agrupación celular unida o no que desempeña una o más funciones, constituyente fundamental del cuerpo humano; un órgano se constituye por diferentes tejidos que conservan su estructura, vasculatura y función fisiológica de manera autónoma.⁹

Las células troncales se clasifican en embrionarias y somáticas o adultas. A pesar de que las células madre embrionarias de ratón se venían estudiando desde el inicio de los años 80, no fue hasta 1998 que se obtuvieron las primeras células madre embrionarias de procedencia humana, lo que abrió un nuevo campo de investigación y posibilidades de aplicación práctica.^{13 14}

La célula troncal por excelencia es el cigoto, que es la unión de dos gametos, los cuales, al fusionarse, forman una célula que dará origen a todo un organismo y sus anexos como se observa en la figura 9.¹¹

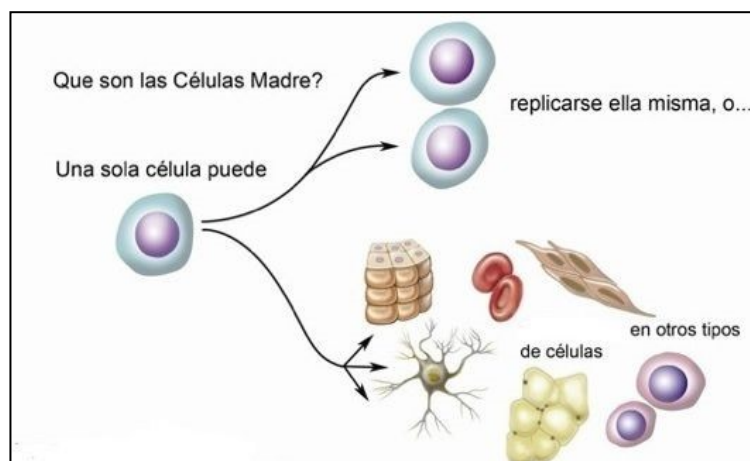


Figura 9. Las células madre pueden replicarse en ellas mismas o en otros tipos.⁹

La potencialidad de algunos tipos de células madre adultas es mayor de lo esperado, pues han mostrado en determinadas condiciones capacidad para diferenciarse en células de diferentes linajes, lo que las acercan a la potencialidad de las células embrionarias. Esto ha creado nuevas perspectivas para el tratamiento de diferentes enfermedades con células madre adultas, lo que inicialmente se pensaba solo podía hacerse con las embrionarias.¹⁴

Las células madre generalmente se definen como células clonogénicas capaces de autorrenovación; es decir son células no especializadas que se renuevan durante largos periodos de tiempo por división celular; y son capaces de diferenciación celular específica; esto hace referencia a que pueden ser inducidas por un estímulo adecuado a diferenciarse a células con funciones especiales como miocitos, osteoblastos, etc.¹⁵

2.6.1 Telómeros

Los telómeros son regiones de ADN no codificante ubicadas en los extremos de los cromosomas eucarióticos. Median importantes interacciones entre los cromosomas y la matriz nuclear, pudiendo además ejercer efectos sobre la transcripción de genes situados en regiones subteloméricas e interactúan con los mecanismos regulatorios del ciclo celular. Los telómeros sufren pérdidas progresivas de sus secuencias repetitivas durante las sucesivas divisiones celulares. Actualmente, se considera que se requiere un mínimo de longitud telomérica para mantener la función de los telómeros, y que cuando los mismos alcanzan un tamaño crítico tienen dificultades para separarse durante la mitosis, generando asociaciones teloméricas e inestabilidad cromosómica, como se observa en la figura 10.¹⁶

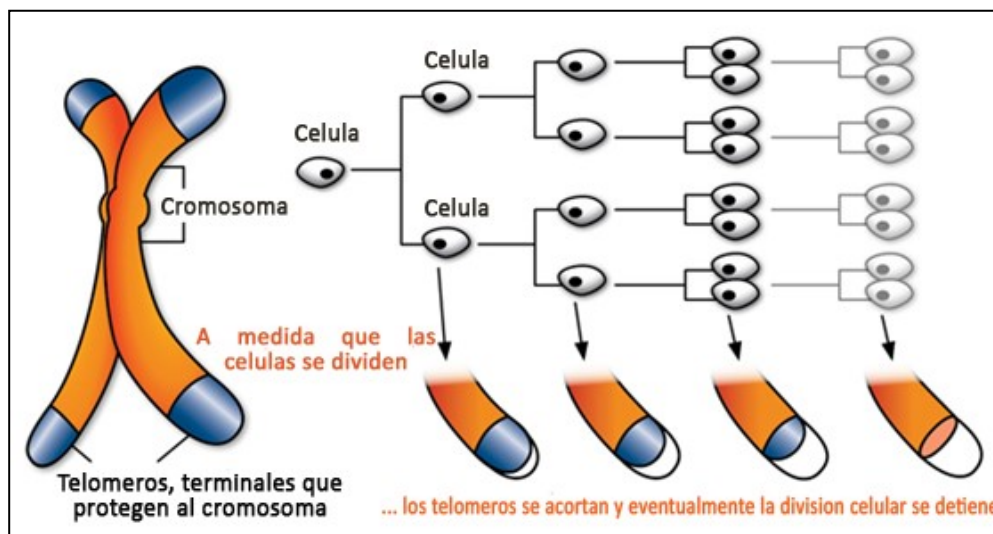


Figura 10. Acortamiento de telómeros.¹⁰

2.6.2 Generalidades de células madre

Inicialmente se utilizó el mismo término que en inglés: stem cells, pero posteriormente se han introducido diversos nombres que han dependido más bien del criterio del traductor. Así encontramos los de células troncales, células tronco, células precursoras, células progenitoras y células estaminales. Por otra parte, la célula progenitora o precursora puede considerarse una célula que ya ha alcanzado una diferenciación parcial y ha perdido la capacidad pluripotencial de la célula madre. Además, en su progresión evolutiva, puede comprometerse con un determinado linaje celular y dar lugar a células especializadas específicas.¹⁴

Con referencia al área dental existen reportes incipientes donde las células madre aisladas son a partir de extractos en toda la cavidad bucal, por ejemplo de ligamento periodontal y de pulpas de órganos dentarios primarios (SHED), papila apical, folículo dental, mucosa oral, mandibular, etc.¹⁵

Los estudios con células madre enfocadas al área dental han reportado que estas células pueden formar estructuras que parecen complejos pulpa-dentina y ligamento periodontal-cemento radicular respectivamente

al ser trasplantadas subcutáneamente en ratones inmunocomprometidos, o pueden participar en procesos de reparación periodontal en defectos creados en roedores. Así mismo, las células madre (SHED) son capaces de estimular la nueva formación de hueso, por lo que tienen posible aplicación en regeneración ósea craneofacial. Estos y otros datos experimentales, resaltan el potencial de las células madre para lograr la regeneración de tejidos dentarios humanos *in vivo*, sin embargo, no se conocen las señales necesarias para la diferenciación a un fenotipo celular específico, por lo que la investigación actual está encaminada a desentrañar como regenerar de manera óptima, funcional y mejorar los mecanismos moleculares involucrados en el tránsito de una población celular progenitora con característica de célula troncal a una población comprometida hacia un linaje dental o célula diferenciada. Por ello, el estudio de las células madre abre un panorama considerable desde su descubrimiento en el área biomédica y dental, aunado a su facilidad de obtención con la factibilidad de expandir el cultivo *in vitro* para su utilización terapéutica; convirtiendo a las células troncales en candidatas ideales para la investigación en el área de regeneración tisular e ingeniería de tejidos. Además la capacidad de implantación persistente tanto en tejidos dañados como en sanos, como se observa en la figura 11.^{14 15}

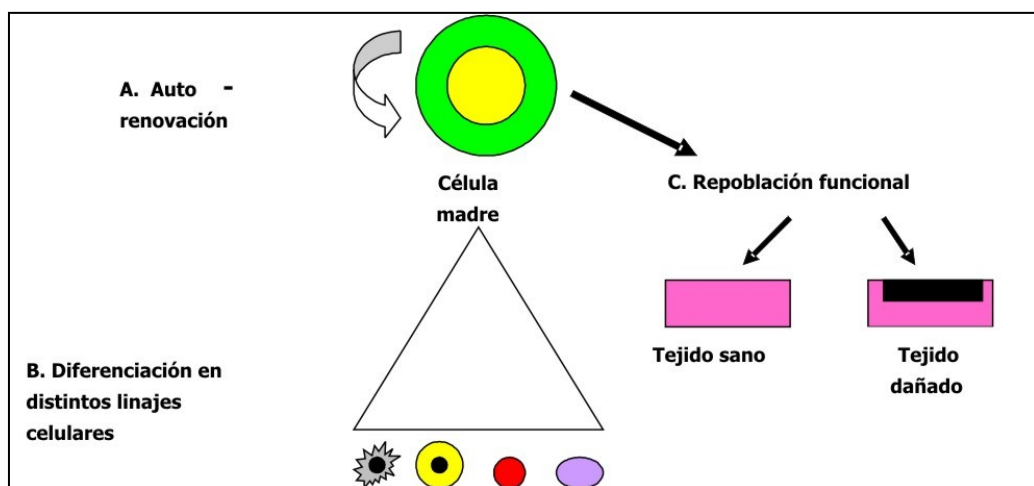


Figura 11. Propiedades de las células madre.¹¹

2.6.3 Clasificación de células troncales por su potencial de diferenciación.

De acuerdo al tipo de tejido que originan, existen varios tipos de células madre: totipotentes, pluripotentes, multipotentes, oligopotenciales y unipotentes, como se observa en la figura 12.¹⁷

2.6.3.1 Totipotencial

El término “totipotencial” (del latín totus, que significa completo) hace referencia al potencial que tienen estas células de generar un embrión completo (tejido embrionario y extraembrionario).¹⁷

2.6.3.2 Pluripotentes

“Pluri” (del latín plures, que significa muchos o varios) es utilizado para describir células madre pluripotentes que pueden dar origen a progenitores que forman cualquiera de las tres capas germinales embrionarias: mesodermo, endodermo y ectodermo. Estas células no pueden dar origen a un individuo completo, pero sí a los tejidos u órganos correspondientes. Pero no origina el tejido extra embrionario. Un ejemplo son las células pluripotenciales de la pulpa dental.^{17 18}

2.6.3.3 Multipotenciales

Son células capaces de producir un rango limitado de linajes de células diferenciadas de acuerdo a su localización; por ejemplo, las CM del sistema nervioso central tienen el potencial de generar tres tipos celulares: neuronas, oligodendrocitos y astrocitos.¹⁹

2.6.3.4 Oligopotenciales

Células madre oligopotenciales son un tipo de células que 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.¹⁸

2.6.3.5 Unipotenciales

Corresponde a las células que solo pueden generar células hijas que se diferencian a lo largo de una sola línea celular, tal como su nombre lo refiere (del latín unus: uno). Son células capaces de generar un solo tipo de célula específica, por ejemplo, las CM en la membrana basal de la epidermis interfolicular, que producen únicamente escamas queratinizadas.^{17, 19}

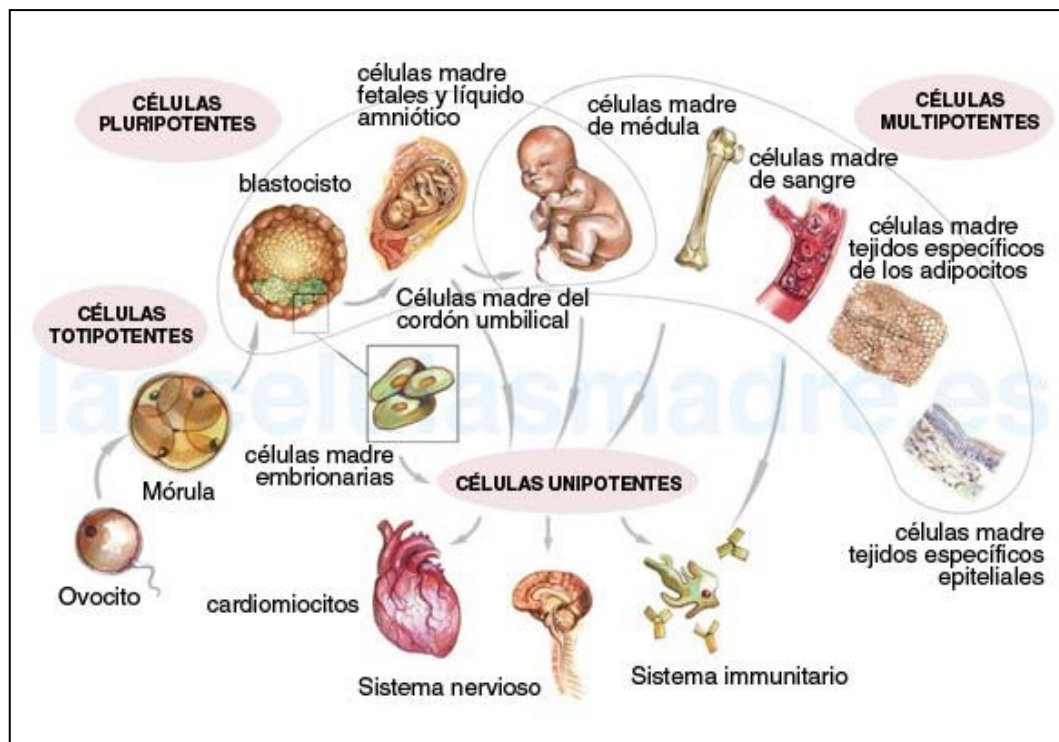


Figura 12. Clasificación de células según su potencial de diferenciación.¹²

En el año 2006, el Dr. Shinya Yamanaka logró un importante avance en la reprogramación celular al insertar cuatro genes de pluripotencialidad de las CM en células somáticas, dando lugar a células madre pluripotentes inducidas (iPSC). La importancia actual de las células troncales se vio reflejada en la entrega de los Premios Nobel de Medicina del año 2012 al científico británico John B Gurdon y al japonés Shinya Yamanaka, por sus investigaciones pioneras en células troncales.²⁰

2.6.3.6 Pluripotentes inducidas

Las principales células troncales con potencialidad terapéutica son las embrionarias, las fetales, las amnióticas, las de la sangre del cordón umbilical, las adultas y más recientemente, las células con características embrionarias que se han obtenido mediante la reprogramación de células adultas y que se han llamado células madre pluripotentes inducidas, como se muestra en la figura 13.²

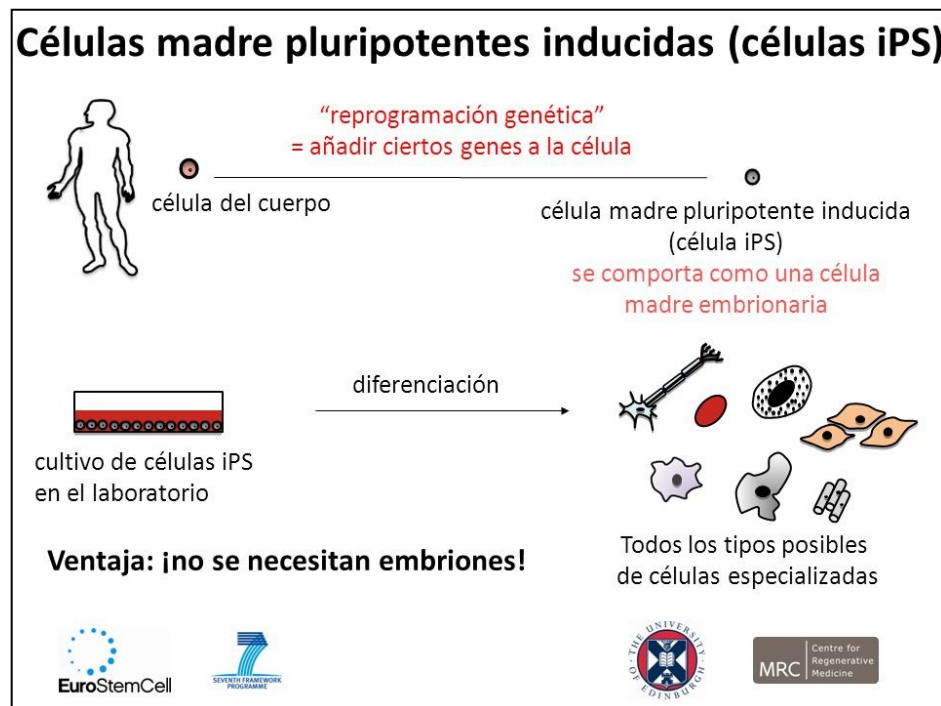


Figura 13. Células pluripotentes inducidas.¹³

Las células madre pluripotenciales, en sus diversas variedades, son la base fundamental para favorecer la regeneración celular, la reparación funcional tisular o para la construcción *ex vivo* de órganos. Se requiere un número suficiente de ellas para alcanzar la masa crítica celular específica que conforma cada órgano. Esto corresponde, en número, al 50% de las células parenquimatosas de cada órgano, y ser moduladas para entrar al proceso de diferenciación celular y obtener un estado celular terminalmente diferenciado.⁶

2.6.4 Clasificación de células por su origen

2.6.4.1 Célula madre embrionaria

Son las verdaderas células troncales, corresponden al 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 (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 blastocisto son pluripotenciales, no son en sí mismas células troncales 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. Cuando se extraen estas células del embrión y se cultivan *in vitro*, se convierten en células que son consideradas “inmortales” bajo ciertas condiciones experimentales, dotadas de autorrenovación, pluripotencia. De la misma manera, las células troncales 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.¹⁸

2.6.4.2 Célula madre somática o adulta

Clásicamente se ha definido como una célula especializada dentro de la organización de las células de un tejido específico de un organismo ya formado, que está restringida en su capacidad de diferenciación y es capaz únicamente de generar células del tejido que representa, a las que

debe recambiar de forma natural. Se ha señalado que en su evolución el organismo sitúa en los tejidos células troncales somáticas como se observa en la figura 14, como parte de los mecanismos que emplea para su renovación en condiciones fisiológicas.¹⁴

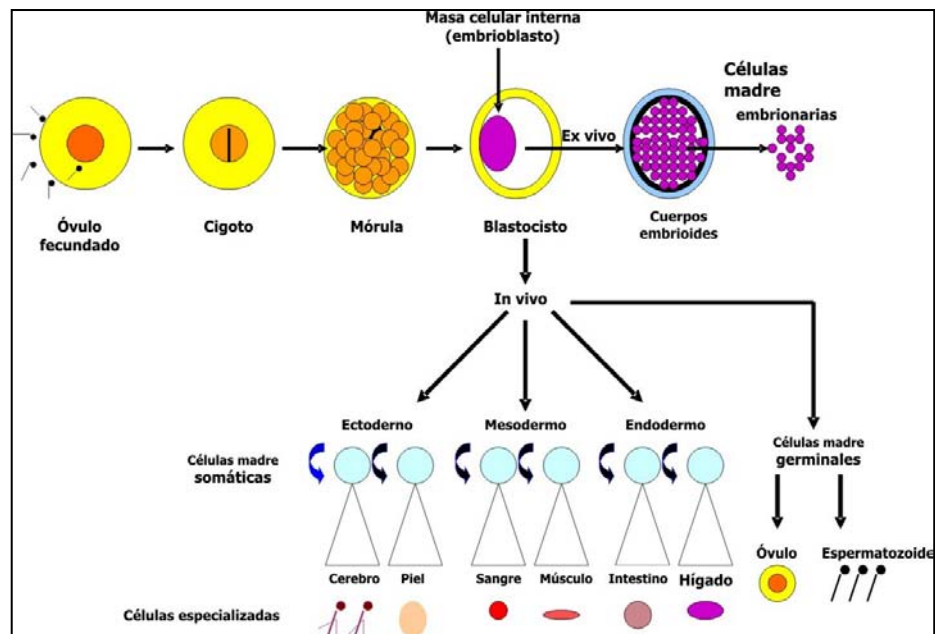


Figura 14. Célula madre embrionaria, somática, especializada.³

Se han identificado células troncales adultas que se pueden encontrar en la mayoría de los tejidos de un individuo totalmente desarrollado como la médula ósea, el sistema neuronal, el sistema gastrointestinal, el músculo esquelético, el músculo cardíaco, el hígado, el páncreas y el pulmón.⁹

Las células troncales adultas muestran notables ventajas sobre las embrionarias, pues su manipulación resulta más simple, pueden ser células autólogas y por lo tanto, no ocasionan trastornos inmunológicos, no presentan limitantes éticas ni legales, ni tampoco se ha comprobado que produzca neoplasias, lo que contrasta positivamente con las características de las células embrionarias, cuya obtención y expansión son más complejas, tienen potencial inmunogénico por ser alogénicas, enfrentan problemas éticos, legales y además tienen capacidad tumorigénica *in vivo*.¹³

2.6.4.3 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.¹⁸

En medicina regenerativa además de las células troncales es necesario los andamios, estructuras de soporte celular que imitan la matriz extracelular nativa del tejido, además de la señalización o inductores para llevar a cabo el proceso de regeneración.¹⁸

2.6.5 Matriz extracelular

Todos los tejidos están constituidos por células rodeadas de matriz extracelular, compuesta por material relativamente soluble (geles de proteoglicanos y polisacáridos) e insoluble que constituye un estroma estructural de soporte (proteínas fibrosas). Los principales componentes de la fracción soluble son los glicoaminoglucanos, heparán sulfato, condroitín sulfato, keratan sulfato y el ácido hialurónico. En la fracción soluble de la matriz extracelular se alojan los diferentes factores de crecimiento, citocinas y enzimas que degradan todos estos componentes que, en conjunto, regulan el crecimiento, renovación y diferenciación de las células troncales y las células diferenciadas de los tejidos; también modulan las respuestas inflamatoria y de cicatrización en el microambiente en condiciones de lesiones tisulares.⁶

3 ANDAMIOS

3.1 Definición

El químico Dr. Ricardo Vera Graziano investigador del Instituto de Materiales de la UNAM, adscrito al Sistema Nacional de Investigadores con nivel III, se dedica a la creación de los soportes, también llamados andamios. Los andamios simulan las funciones de la matriz extracelular donde las células tienen que llegar y adherirse. Para esto, el poro del

andamio tiene que ser del tamaño adecuado con materiales amigables con el que la célula pueda identificarse, reproducirse y vivir.²¹

3.2 Características y tipos de andamios

El término biomaterial designa a aquellos materiales utilizados en la fabricación de sistemas biológicos que se aplican en diversas ramas de la medicina. Entre las características de los materiales se encuentra la de ser biocompatibles, o biológicamente aceptables, también deben permitir una estructura de poros con el fin de favorecer la integración y vascularización del tejido, con adecuadas propiedades mecánicas y una superficie química apropiada que favorezca la adhesión, diferenciación y proliferación celular.^{12 22}

De este modo, en la evaluación de un material resulta fundamental examinar su capacidad de reabsorción; ya que permanecen en contacto con los tejidos vivos, por lo que resulta imprescindible que no se produzcan reacciones no deseadas en la interfase tejido-material y que mantenga sus propiedades durante el tiempo que tenga que desempeñar su función. En la Ingeniería Tisular, los biomateriales deben favorecer la función biológica y mecánica de las células ya que actúan como una matriz extracelular artificial. Como resultado, los biomateriales pueden proporcionar a las células un espacio en tres dimensiones para formar los tejidos nuevos con la estructura y función apropiada.¹²

Diseñar andamios adecuados implica fabricarlos con características similares (propiedades físico-químicas y biológicas adecuadas, entre otras) a las de la matriz que soporta las células en el cuerpo humano. En una primera etapa, se buscan que sean inertes, para que no haya ninguna propiedad química que afecte. Después se incorpora compuestos químicos como vía de señalización entre las células.²³

Materiales utilizados en la fabricación de andamios

Pueden ser de polímeros naturales, orgánicos o biodegradables: Son construidos a partir de componentes de la matriz extra celular, algunos de estos son derivados proteicos como el colágeno (p. ej., de piel de

subproductos pesqueros), el fibrinógeno, el ácido hialurónico (que se puede extraer de las crestas de gallos), los glucosaminoglucanos (GAGs), la hidroxiapatita (HA), la seda (fabricada por gusanos o arañas), quitosano (del caparazón de los crustáceos). etc.²⁴

Sintéticos, Inorgánicos o Permanentes: Se presentan los Polímeros, las Cerámicas y los Metales. Dentro de los Polímeros se encuentran: El ácido poliglicólico (PGA) y el ácido poliláctico (PLA) etc que son elejidos para fabricar andamios y se han usados ampliamente en el desarrollo de matrices sintéticas en 2 y 3-D. Estos materiales son hidrolíticamente degradables, se puede controlar con facilidad la tasa de degradación y además proporcionan versatilidad en la creación de microambientes.^{24 21}

Cerámicas: Algunas de ellas son los fosfatos de calcio, vidrios bioactivos y otras biocerámicas, estas 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.²⁴

Una vez que se logra la reproducción y proliferación celular, éstas empiezan a formar la matriz extracelular con la señalización adecuada al tejido para posteriormente trasplantarla a la persona. El soporte es biodegradable y el cuerpo lo absorberá poco a poco, mientras se crea un tejido nuevo.²¹

Recientemente, se ha demostrado que construcciones "sin andamiaje" diseñadas a partir de células troncales de la pulpa dental (hDPSC) pueden vascularizar de la pulpa, pero el alto requerimiento de densidad celular, manejo extensivo del material y la falta de caracterización de las células responsables de una estructura regenerada de complejo dentino-pulpar no superan de la clínica de andamios inyectables, más establecidos como los hidrogeles. Los hidrogeles inyectables combinan el beneficio de los andamios naturales y sintéticos y son prácticos para aplicaciones con jeringas. Un andamio de hidrogel inyectable optimizado apoya la viabilidad y propagación de las células madre de la pulpa dental

humana, sin embargo es importante que las células no migren a sitios no deseados.²⁵

Para ayudar al proceso de regeneración se utilizan también moléculas químicas, entre las que se encuentran los factores de crecimiento.²⁶

3.3 Andamios para islotes pancreáticos en ratones

De acuerdo con los investigadores Mijke Buitinga., Frank Assen., Maaïke Hanegraaf en el año 2017, pueden ser diseñados andamios para tratar de formar islotes pancreáticos con la finalidad de encontrar una cura para la diabetes. Los andamios pueden ser fabricados a partir de un copolímero de bloques de poli (tereftalato de etileno) / poli (tereftalato de butileno) con la composición 4000PEOT30PBT70 (PolayActive™, IsoTis Orthobiologics S.A., Irvine, Estados Unidos). Se preparó una solución de polímero al 15% (p / p) en 35% (p / p) de 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2isopropanol (Biosolve, Valkenswaard, Países Bajos) y 65% (p / p) de cloroformo (Merck, Darmstadt, Alemania). La solución de polímero se vertió en obleas de silicio a una altura de 200 µm, dando finalmente como resultado películas de ~ 15 µm de espesor. La película se colocó bajo flujo de nitrógeno durante 12 horas, se incubó en etanol durante la noche para eliminar el residuo de disolvente, y se secó en un horno de vacío (Heraeus, Hanau, Alemania) a 30 ° C durante 3 días. Los armazones de micropocillos consistían en una película delgada de polímero PEOT / PBT con micropocillos y una tapa porosa con ~ 40 µm de poros. Se usó microtermoforming para crear la estructura de micropocillos en películas de polímero fino PEOT / PBT. Se prensó una película de polímero calentado en un molde de acero inoxidable (producido por Lightmotif BV, Enschede, Países Bajos) usando películas de polietileno como material de soporte. La temperatura y la presión de moldeo fueron de 85 ° C y 45 kN, respectivamente. La geometría de poros y la arquitectura se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM, Philips XL 30 ESEM-FEG, Eindhoven, Países Bajos). Los andamios fueron cubiertos con oro para el análisis MEB (microscopía de barrido).²⁷

Los islotes se aislaron de ratón macho que pesaban > 28 g. Los ratones donantes se anestesiaron con isoflurano. Después de una incisión abdominal en la línea media, se canuló y perfundió el conducto biliar común con 3mL de colagenasa tipo 3mg / ml. Después del trasplante, los niveles de glucosa en sangre de los ratones se midieron en sangre total de la vena de la cola tres veces por semana. Los ratones se consideraron normoglucémicos cuando los niveles de glucosa en sangre fueron menor a 12 mM. Cuatro semanas después del trasplante, los ratones se sacrificaron y los injertos se recuperaron para el análisis histológico.²⁷

4 CÉLULAS MESENQUIMALES DENTALES

4.1 Generalidades

La investigación sobre células troncales de otros tejidos ha sido más reciente. Particularmente, el estudio de las células troncales mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés) comenzó en la década de los 70's y estuvo enfocado primordialmente al conocimiento de formación del estroma hematopoyético. Gracias a diversos estudios que han demostrado el amplio potencial de diferenciación de las MSC hacia tejidos neuronales y musculares, estas células han cobrado mayor importancia durante la última década.²⁸

Las células mesenquimales son células adultas multipotentes, con morfología fibroblastoide y plasticidad hacia diversos linajes celulares como condrocitos, osteocitos y adipocitos, entre otros, como se muestra en la figura 15. Estas pueden ser aisladas y expandidas en medio de cultivo debido a sus propiedades de adhesión al plástico, diferenciación y proliferación *in vitro*.²⁸

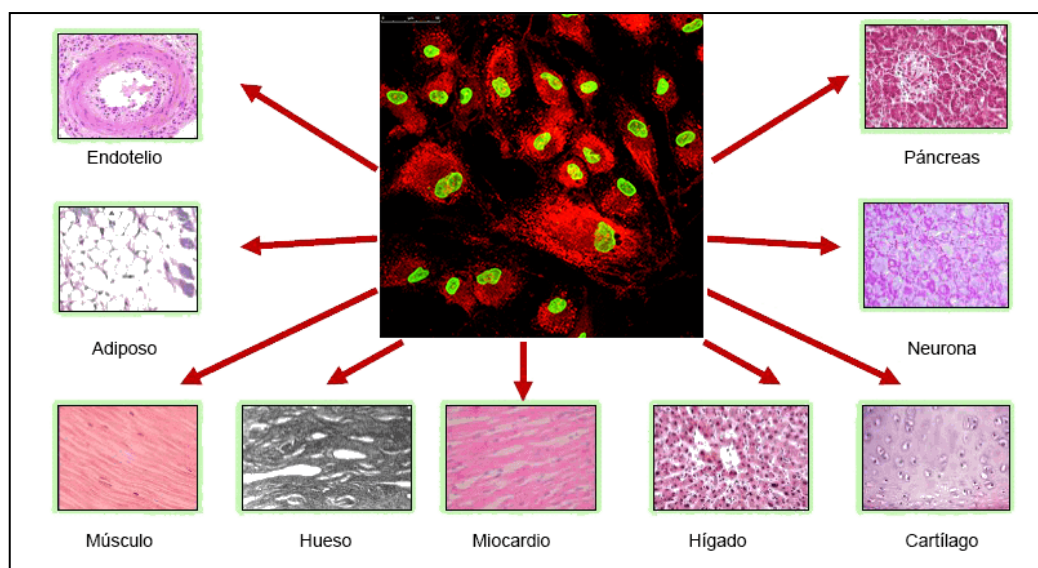


Figura 15. Células mesenquimales de tejido adiposo.¹⁴

Las células mesenquimales se definen por su capacidad para permanecer indiferenciadas durante largos periodos de tiempo, reteniendo el potencial para diferenciarse en una línea (unipotente) en múltiples líneas (multipotentes) o en láminas germinales (pluripotentes). Pueden aislarse de diferentes tipos de tejidos: periostio, cerebro, hígado, medula ósea, grasa, músculo, líquido amniótico, folículo piloso, sangre de cordón umbilical, corion de placenta, sangre periférica, hígado fetal, pulmón y dientes exfoliados primarios.²⁹

Morfológicamente, las células troncales mesenquimales se caracterizan por presentar una morfología espigada, en forma de huso, con la presencia de un núcleo alargado, central, que contiene de dos a tres nucléolos.²⁸

Debido a la capacidad inmunomoduladora que poseen estas células, pueden evitar el rechazo alógeno mediante diferentes mecanismos. Numerosos estudios han demostrado que las células troncales mesenquimales no permiten el reconocimiento de antígenos al interferir en la función de las células dendríticas y de los linfocitos T, por lo que tienen un efecto inmunosupresor local debido a su capacidad de secretar

citocinas. Este efecto se potencia cuando las células son expuestas a un medio con actividad inflamatoria o caracterizada por la presencia de altos niveles de interferón gamma.³⁰

Las células troncales de la cavidad bucal son células que poseen un potencial de multidiferenciación y por tanto pertenecen al grupo de células troncales adultas con la capacidad para formar células con carácter osteodontogénico, adipogénico y neurogénico.⁵

Al ser la célula troncales dental, una célula mesenquimal, puede utilizarse en la regeneración de tejidos no dentales, existe en la actualidad líneas de investigación abiertas, tratando de encontrar su aplicación clínica como tratamiento en diversas patologías de gran importancia y prevalencia como, Infarto Agudo al Miocardio, Regeneración de Tejido Nervioso, particularmente en Distrofia Muscular de Duchenne, Producción de insulina, Traumatismos Medulares, Alzheimer, Parkinson, Isquemia Cerebral (AVC), y Regeneración Ósea, como se observa en la figura 16.²⁹

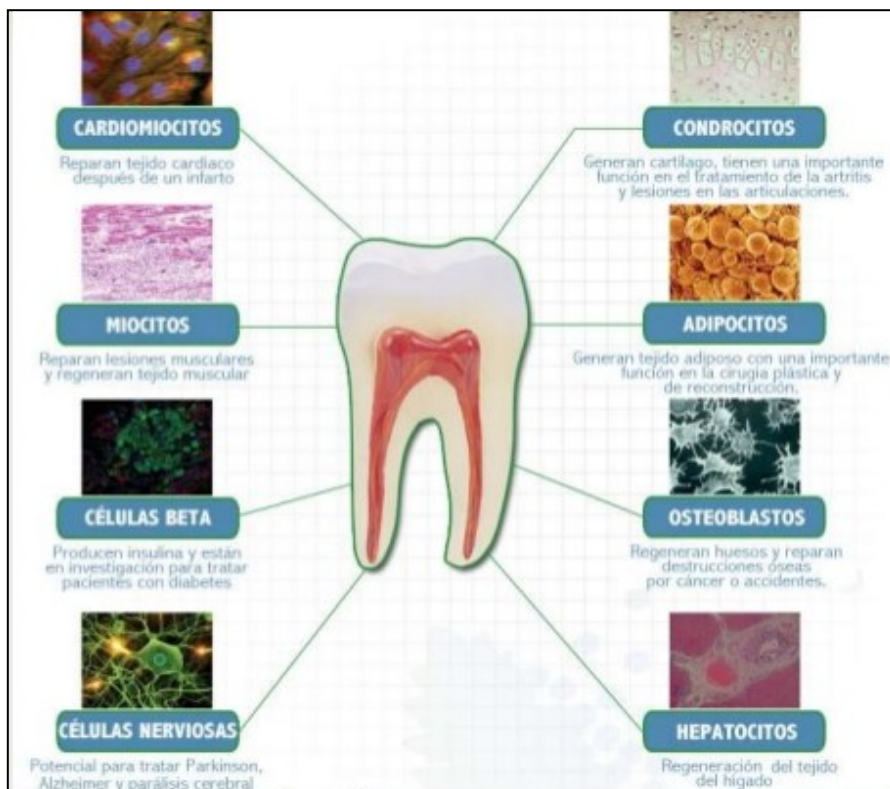


Figura 16. Las células madre de la cavidad bucal pueden convertirse en diferentes tejidos. ¹⁵

4.2 Células madre de pulpa dental

La presencia de células mesenquimales en la pulpa dental fue descrita en 1985 por Yamamura, más tarde, Caplan y col., demostraron que estas células presentan potencial odontogénico y condrogénico *in vitro* y también pueden diferenciarse en la dentina, *in vivo*.¹⁸

Las células madre que aparecen en pulpa de dientes temporales (SHED) manipuladas enzimáticamente y sometidas a factores tisulares de crecimiento son capaces de diferenciarse en células nerviosas, adipositas y odontogénicas.⁵

El Dr. Songtao Shi, investigador del Instituto Nacional de Salud (INS), descubrió en 2003, células madre pluripotenciales en dientes primarios, observando meticulosamente un diente exfoliado de su hija Julia de 6 años de edad, observó que de la pulpa de este diente, se podían extraer células troncales. Al cultivarlas posteriormente en el laboratorio, éstas tenían la habilidad de formar hueso, tejido adiposo e incluso células nerviosas, luego consiguió aislar células troncales vivas en ese tejido, como se observa en la figura 17.¹⁸



Figura 17. Obtención de la pulpa dental.¹⁶

A su vez, las que se encontraron en la pulpa de dientes permanentes (DPSC) se caracterizan por su capacidad de regenerar el complejo dentino-pulpar, además de expresar marcadores óseos como las sialoproteínas óseas y fosfatasas alcalinas, entre otros.⁵

Se ha utilizado el tercer molar, ya que es el último diente que se desarrolla en los humanos, está normalmente en una fase más temprana de desarrollo y es capaz de proporcionar una cantidad óptima de tejido de pulpa dental para el aislamiento de las células troncales adultas pluripotentes. Además, el tercer molar frecuentemente debe ser extraído por problemas en su erupción, por lo que se presenta ideal para el posible banco de tejidos.³¹

4.3 Células madre del periodonto

Las células madre postnatales del periodonto y la pulpa, se diferencian en odontoblastos, osteoblastos, cementoblastos, adipocitos y células neuronales. Estas residen en la periferia de la microvasculatura pulpar favoreciendo la angiogénesis y homeóstasis de los vasos sanguíneos.²⁴

Gronthos y col, en el año 2000, encontraron que cuando las células troncales pluripotenciales pulpares son trasplantadas con una mezcla de hidroxiapatita/ fosfato tricálcico en ratones inmunocomprometidos; éstas generan estructuras similares a la dentina, con fibras colágenas perpendiculares a la superficie mineralizada, como ocurre normalmente *in vivo*, con contenido de proteínas de la dentina como la sialoproteína dentinal.¹⁸

Las células troncales que se encuentran en los espacios periodontales se caracterizan por presentarse en la vecindad de los vasos sanguíneos. El ligamento periodontal tiene poblaciones de células que pueden diferenciarse tanto hacia cementoblastos como hacia osteoblastos. Los análisis *in vivo* con PDLSC realizados en ratones inmunocomprometidos, sugirieron la participación de estas células en la regeneración del hueso alveolar al propiciar la formación de una fina capa de tejido muy similar al

cimento que, además de contar entre sus componentes con fibras colágenas, se asociaron íntimamente al hueso alveolar próximo al periodonto regenerado (figura 18).²⁴

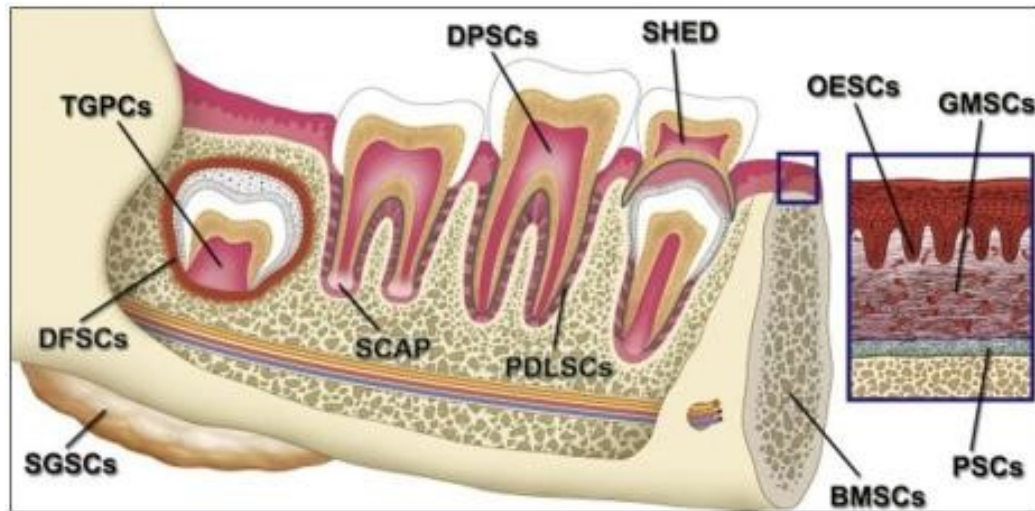


Figura 18. Células madre de cavidad bucal.¹⁷

4.4 Células madre de la papila apical

La papila apical hace referencia al tejido blando situado en los ápices de los dientes permanentes; las SCAP (células madre de la papila dental) son las precursoras de los odontoblastos primarios, responsables de la formación de la dentina radicular, mientras que las células madre de la pulpa son probablemente las precursoras de los odontoblastos encargados de formar dentina reparativa.²⁴

En el año 2006, investigadores de la Escuela de Odontología de la Universidad del Sur de California (Estados Unidos) consiguieron generar nuevas raíces dentales en cerdos gracias a células madre procedentes de dientes humanos. El equipo fue dirigido por el Dr. Songtao Shi; esto podría tener aplicaciones clínicas muy importantes en cirugía dental; para sustituir los dientes perdidos por órganos dentales (biocompatible) ya que hoy en día sólo se sustituyen con implantes; la investigación se centra en el uso de células madre de la papila apical de la raíz dental, este tejido

está conectado al ápice de la raíz del diente y es el responsable del desarrollo del mismo. Una vez identificadas las células madre apropiadas para crear una nueva raíz dental; estos investigadores reemplazaron un incisivo de un cerdo (mini-pig) por una estructura en forma de raíz, hecha de material cerámico de hidroxiapatita/fosfato tricálcico (HA/TCP) que servía de andamio y de vehículo portador de células madre de papilas apicales procedentes de los terceros molares de jóvenes de entre 18 y 20 años de edad. Tres meses después de implantar estas células se incorporó una corona sintética de porcelana sobre la nueva raíz remineralizada que contaba con nuevos ligamentos desarrollados ahí mismo. Se demostró que los nuevos tejidos formados eran humanos, después de seis meses de la implantación se comprobó que, aunque el nuevo diente no era tan resistente como los naturales, tenían la suficiente calidad como para cumplir su función.¹⁸

4. 5 Células madre del folículo dental

El folículo dental es un tejido ectomesenquimal que rodea al órgano del esmalte y la papila dental del germen del diente permanente en formación. Las DFPC (células troncales del folículo dental) han sido aisladas en terceros molares que muestran una morfología típica de fibroblasto *in vitro*, se demostró que después de la inducción su diferenciación es osteogénica. Los queratocitos CM de la mucosa bucal también han sido aislados y cultivados, expresan totipotencialidad y son capaces de reparar defectos de lesiones cutáneas de baja inmunogenicidad.²⁴

Científicos de todo el mundo se muestran entusiasmados con la posibilidad de usar las células madre de pulpa dental, mejor dicho pluripotenciales, en la regeneración del órgano dentario, de hueso y tejido blando de la cavidad oral como el periodonto, regenerar hueso para pacientes con labio y paladar hendido.¹⁸

5 ANATOMÍA DEL PÁNCREAS Y PRODUCCIÓN DE INSULINA

5.1 Definición

El páncreas es una glándula mixta endocrina y exocrina, cuyo papel es crítico en la homeostasis de la glucosa y la absorción de nutrientes. Sus células se agrupan formando lóbulos macroscópicamente visibles y separados entre sí por septos de tejido conjuntivo que contienen vasos sanguíneos, linfáticos y nervios.^{32 33}

5.2 Localización

Se encuentra localizado dentro del retroperitoneo, en la bolsa del omento a nivel de L2 y L3. Se extiende sobre el duodeno, a la derecha de la línea media abdominal y a la izquierda del bazo. La cabeza de la glándula está íntimamente relacionada con la segunda porción del duodeno. El cuello de la glándula está inferior al píloro. La pared posterior del estómago cubre el cuerpo, como se observa en la figura 19.³⁴

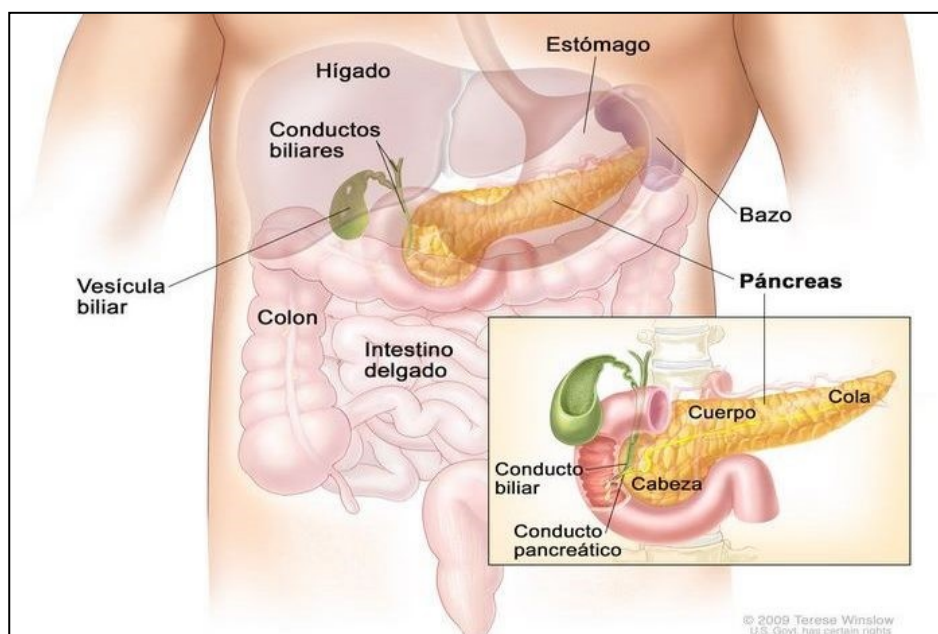


Figura 19. Localización del páncreas.¹⁸

5.3 Características

En adultos usualmente mide entre 15-20 cm de largo y pesa entre 85 y 120 g., es más largo en los hombres. El peso del páncreas disminuye con la edad a partir de los 40 años hasta llegar a pesar unos 70 g a los 90 años de edad. En el recién nacido pesa 2 a 3 g y llega a 7 g en el primer año de vida. Está compuesto de cuatro regiones anatómicas: cabeza, cuello, cuerpo y cola, como se observa en la figura 20. El páncreas es delgado, rosa o amarillo, uniformemente lobulado; la superficie anterior es lisa y está cubierta por una capa de peritoneo; el resto de la superficie está revestida por una lámina delgada de tejido fibroconectivo liso. No tiene cápsula, y presenta gran cantidad de tejido adiposo que varía en cada persona. La superficie muestra arborizaciones de pared delgada, que son ductos blancos que se extienden bien delimitados entre los lóbulos. El conducto de Wirsung varía de 1.8 a 9.0 cm, en un rango entre 3.0 cm de diámetro; gradualmente se amplía en la ampolla de Vater a través de la cual drena hacia el duodeno. En general, el conducto de Wirsung comienza en la cola, colecta de los conductos tributarios y pasa a través del cuerpo del cuello, hasta que llega a la cabeza.³⁴

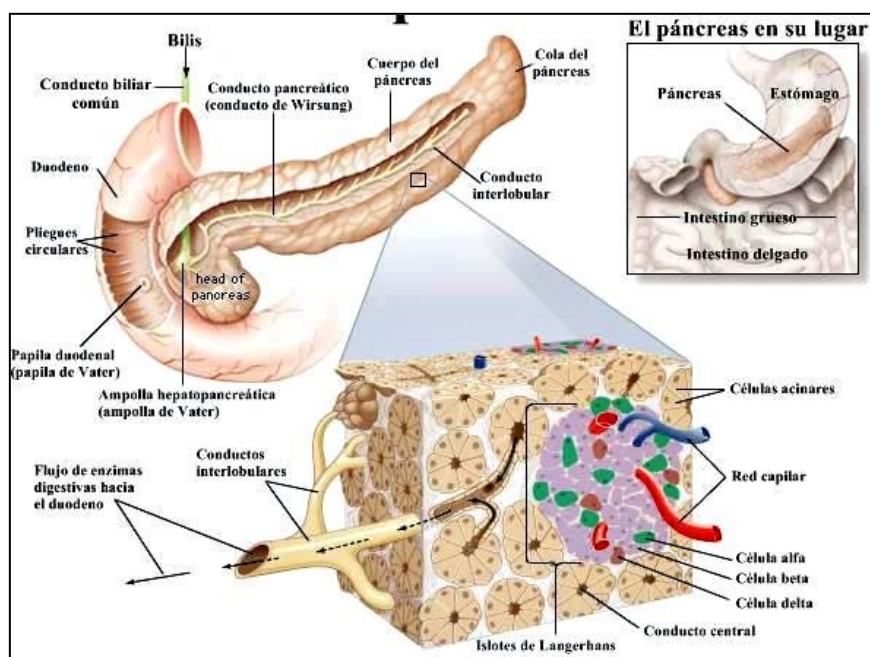


Figura 20. Anatomía del páncreas.¹⁹

Cuando el estómago, el duodeno y el mesenterio ventral rotan, el páncreas se sitúa a lo largo de la pared abdominal dorsal y se fija a ella, adquiriendo su posición retroperitoneal definitiva por medio de dos fascias: la retroduodenopancreática y la retropancreática o fascia de Toldt, que fija el cuerpo y parte de la cola.³³

El factor de crecimiento fibroblástico 2 (FGF2) y la activina (un miembro de la familia TGF-beta) producidos por la notocorda y el endotelio de la aorta dorsal reprimen la expresión de Sonic hedgehog (SHH) proteína, en el endodermo del tubo digestivo destinado a formar el esbozo pancreático dorsal. El esbozo pancreático ventral es inducido por el mesodermo esplácnico. Como consecuencia, la expresión del gen (PDX) es regulado positivamente. La expresión de los genes PAX4 y 6 apareados especifican el linaje celular endocrino, de modo tal que las células que expresan ambos genes pasan a ser células β (insulina), δ (somatostatina) y γ (polipéptido pancreático), mientras que aquellas que expresan solo PAX6 se convierten en células α (glucagón).³⁵

El páncreas se desarrolla principalmente a partir de células endodérmicas que se originan en la parte caudal del intestino anterior, aunque también participa el mesodermo esplácnico. El páncreas inicia su desarrollo en la quinta semana a partir de dos brotes o yemas que derivan de la porción caudal del intestino anterior a nivel del duodeno. Estas yemas surgen de las caras opuestas de la pared del duodeno: la yema pancreática dorsal, que es la primera en aparecer y que se proyecta hacia el mesenterio dorsal, y la yema pancreática ventral, muy próxima a la entrada del colédoco, que se introduce en el mesenterio ventral, como se observa en la figura 21. Se considera que la formación de la yema dorsal se debe a la inducción de la notocorda que secreta FGF-2 y activina; cuando esta yema está en contacto con la notocorda, se inhibe la expresión de Sonic Hedgehog en el endodermo del intestino anterior.³³

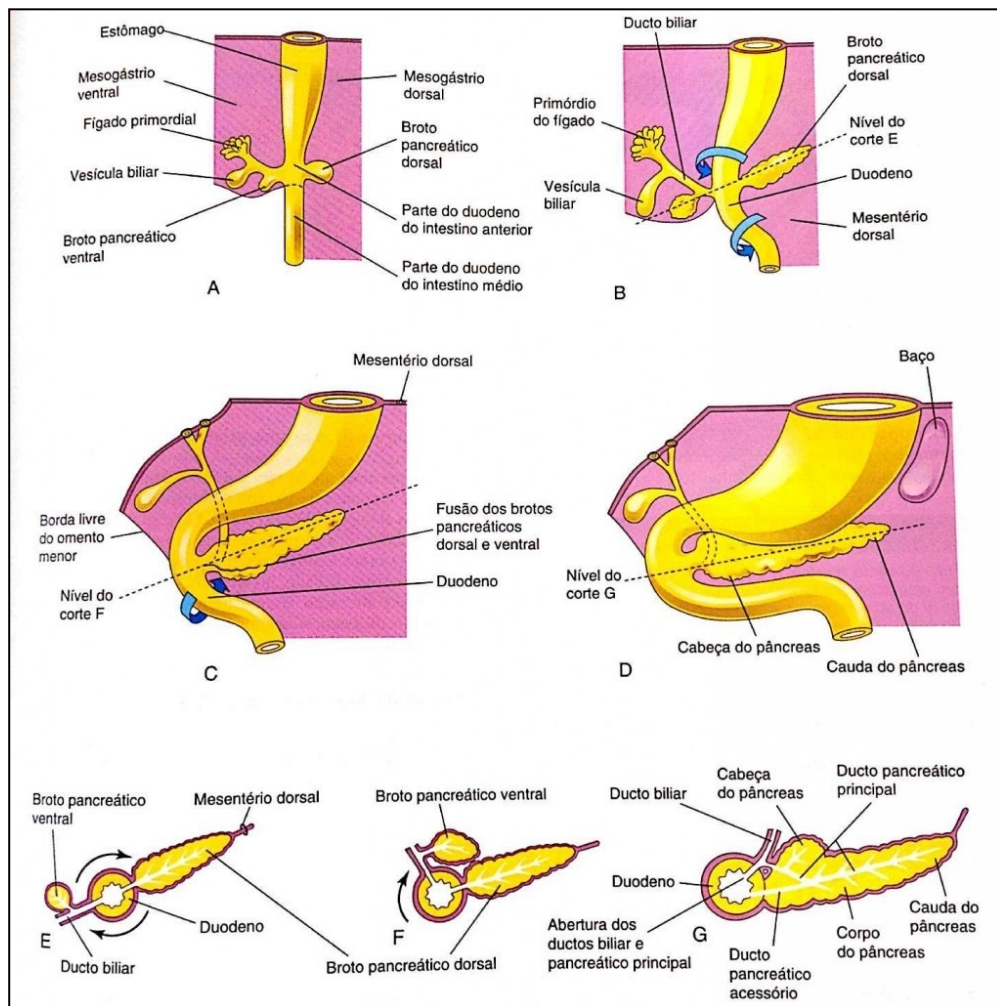


Figura 21. Embriología del páncreas, aparece en la 5ª semana.²⁰

Las dos yemas pancreáticas se extienden del mesodermo espláncnico que los rodea, que produce FGF-7 (yema ventral) y FGF-10 (yema dorsal), los cuales sirven para el crecimiento y proliferación de las células epiteliales pancreáticas. De la yema dorsal surge la parte superior de la cabeza del páncreas, así como su cuello, cuerpo y cola, todos ellos incluidos entre las dos capas del mesenterio dorsal. La yema pancreática ventral puede estar formada por una o dos yemas (derecha e izquierda), o incluso por múltiples primordios, y da lugar al proceso unciforme y a la parte inferior de la cabeza del páncreas.³³

Cuando el duodeno efectúa su rotación hacia la derecha y toma la forma de una C, el esbozo pancreático ventral se desplaza dorsalmente, de manera parecida al desplazamiento de la desembocadura del colédoco. Por último, el esbozo ventral se sitúa inmediatamente por debajo y detrás del esbozo dorsal. Más adelante se fusionan el parénquima y el sistema de conductos de los esbozos pancreáticos dorsal y ventral. El esbozo ventral forma el páncreas menor o apófisis unciforme y la parte inferior de la cabeza pancreática.³⁵

La pared endócrina del páncreas está formada por los islotes pancreáticos o de Langerhans, que aparecen a las 12 semanas. Se desarrollan a partir de las células que se separan de los túbulos y se distribuyen entre los acinos; estos están compuestos por células β que secretan insulina al principio del período fetal (décima semana). Finalmente, las células beta son rodeadas por las células alfa que secretan el glucagón, el cual se ha detectado en el plasma fetal a las 15 semanas. También hay células delta que secretan somatostatina y células F que secretan polipéptido pancreático. Estas hormonas se encargan de la regulación del metabolismo de los nutrientes y la homeostasis de la glucosa.³³

El resto de la glándula deriva del esbozo dorsal. La porción distal del conducto pancreático dorsal y la totalidad del conducto pancreático ventral constituyen el conducto pancreático principal (de Wirsung). La porción proximal del conducto pancreático dorsal se oblitera o persiste como un canal de pequeño calibre, el conducto pancreático accesorio (de Santorini). El conducto pancreático principal, junto con el colédoco, se introduce en el duodeno en el sitio correspondiente a la papila (carúncula) duodenal menor.³⁵

5.4 Acinos

Las células acinares constituyen aproximadamente el 85% de la masa total del páncreas, y componente exocrino. Su arquitectura histológica es de una sola capa de células poligonales que rodean una luz

central pequeña, confiriendo al acino una forma circular, como se observa en la figura 22. Las células acinares son de núcleo basal redondo, con gránulos apicales eosinofilos en el citoplasma. La eosinofilia del citoplasma se debe a los gránulos de cimógeno, que son basófilos, y la cantidad de granos depende del estado en el que encuentre el páncreas. El citoplasma basal de las células es basófilo, debido a la alta concentración de ribonucleoproteínas en el retículo endoplásmico rugoso. El núcleo es uniforme y presenta núcleo central, con cromatina blanda, estos acinos no contienen células mioepiteliales.³⁴

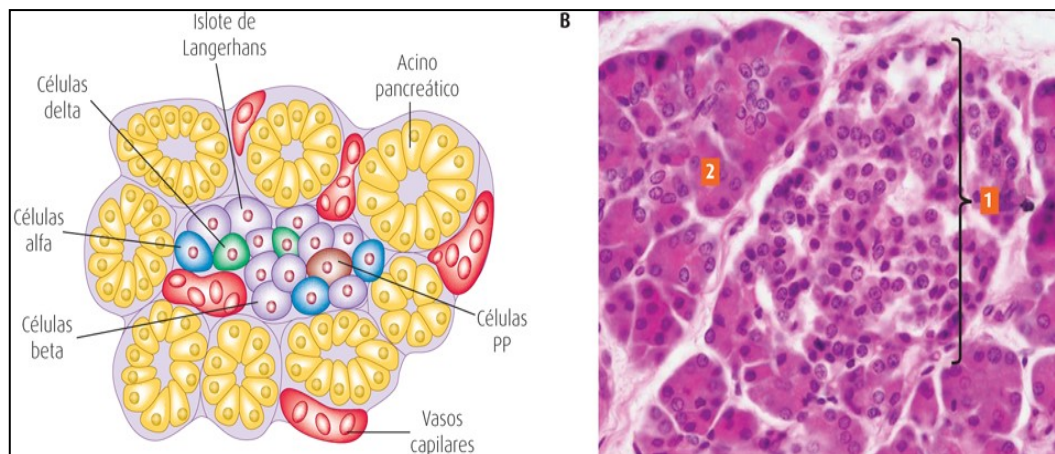


Figura 22. Histología de acinos, (A) núcleo basal redondo, gránulos apicales eosinofilos en el citoplasma. (B) células que lo conforman.²¹

La parte exocrina del páncreas está formada por los acinos pancreáticos, los cuales secretan enzimas digestivas que son trasladadas al duodeno a través de los conductos pancreáticos. Se empieza a desarrollar al inicio del período fetal, a partir de células que se encuentran agrupadas alrededor de los extremos de estos tubos.³³

Al igual que el hígado, el páncreas puede tener variaciones en su morfología o puede haber tejido accesorio pancreático en las paredes del estómago o del duodeno que no causan repercusiones en la función. La patología congénita del páncreas que si puede ocasionar problemas en la

vida de la persona es cuando el tejido pancreático rodea totalmente al duodeno provocándole obstrucción a este último.³³

5.5 Función del páncreas

5.5.1 Función endocrina

La más importante de ellas es la insulina, fundamental para la regulación de los niveles de azúcar en la sangre, como se observa en la figura 23.

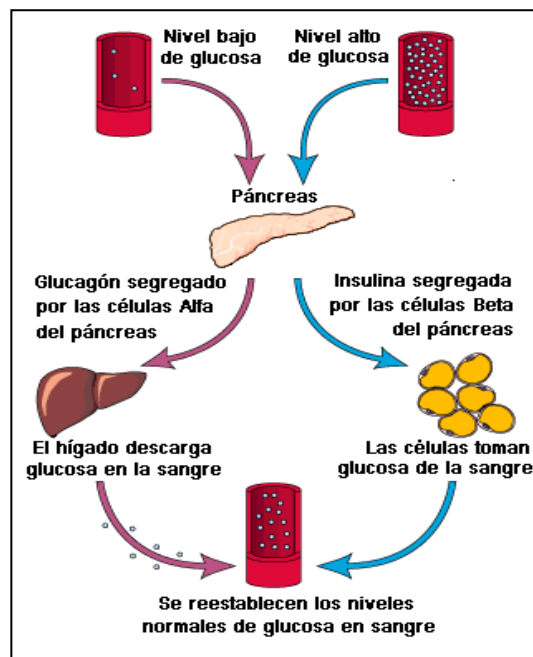


Figura 23. Función endocrina de páncreas.²²

Las células responsables de la producción de insulina no se encuentran distribuidas de forma homogénea por todo el páncreas, sino que se concentran en grupos de células que se denominan islotes de Langerhans. La función endocrina se concentra principalmente en el cuerpo y la cola del páncreas, si bien pueden hallarse islotes de Langerhans en todo el páncreas.³⁶

5.6 Insulina

El islote de Langerhans está compuesto de cuatro tipos de células, cada una de las cuales sintetiza y secreta una hormona polipeptídica

distinta: insulina en la célula β (B), glucagón en la célula α (A), somatostatina en la célula δ (D) como se observa en la figura 23, y polipéptido pancreático en la célula PP o F. Las células β conforman hasta 60 a 80% del islote y constituyen su centro. Las células α , β y F forman un manto discontinuo. Las células α , β y F forman un manto discontinuo, de una a tres células de grosor, alrededor de este centro.³⁷

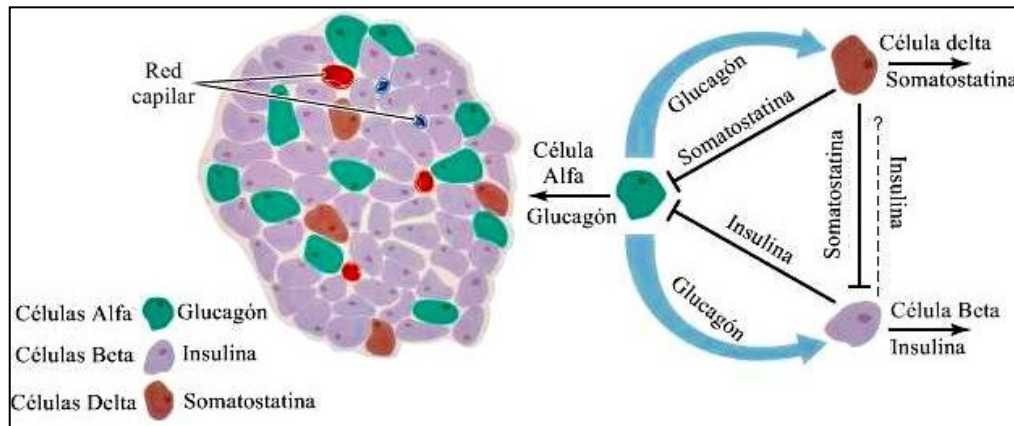


Figura 23. Células de los islotes de Langerhans.²¹

La insulina desempeña una función anabólica e incrementa el almacenamiento de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos. El glucagón tiene una función catabólica, pues moviliza los nutrientes de sus depósitos, y los hace pasar a la corriente sanguínea. El exceso de insulina causa hipoglucemia, que puede originar crisis convulsivas y coma. La deficiencia de la misma hormona, absoluta o relativa, ocasiona diabetes mellitus (aumento de la glucemia por largo tiempo), enfermedad compleja y debilitante que puede culminar en la muerte si no es tratada. La deficiencia de glucagón puede originar hipoglucemia, y el exceso de la hormona empeora la diabetes. La producción excesiva de somatostatina por el páncreas origina hiperglucemia y más manifestaciones de la diabetes.³⁸

La síntesis natural de la insulina comienza con la producción y procesamiento de una proteína precursora llamada proinsulina. Posteriormente, esta proteína sufre degradación en el centro, dando lugar

a dos proteínas (cadena A y B) unidas mediante dos puentes disulfuro; esta molécula es la insulina madura.³⁹

La insulina es una hormona polipeptídica que es secretada por las células β de los islotes pancreáticos. Se sintetiza como una sola cadena polipeptídica en el retículo endoplásmico rugoso; la preproinsulina. Esta proteína se encierra en microvesículas en las cisternas del retículo endoplásmico, donde sufre algunas modificaciones en su estructura, con el plegamiento de la cadena y la formación de puentes disulfuro. Se forma así la molécula que se transporta al aparato de Golgi, donde se empaqueta en gránulos de secreción. Durante la maduración de estos gránulos, la proinsulina es atacada por enzimas proteolíticas que liberan la molécula de insulina y el péptido C, como se observa en la figura 24.

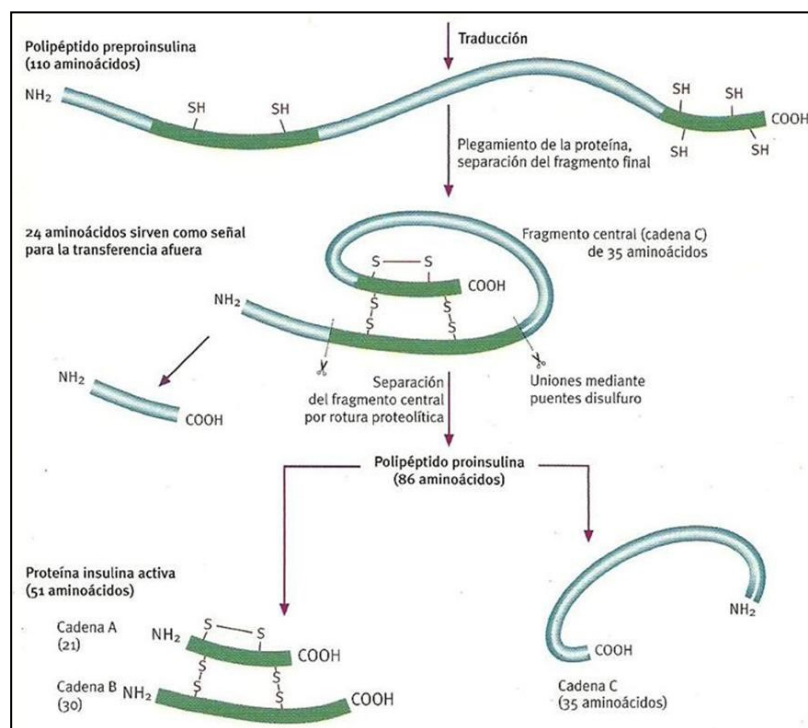


Figura 24. Esquema que representa la producción de insulina²³

Estos gránulos que contienen cantidades equimolares de insulina y péptido C, además de una pequeña proporción de proinsulina sin modificar, son expulsados por un complejo sistema de microtúbulos y microfilamentos hacia la periferia de las células β .^{40 41}

6 DIABETES

6.1 Prevalencia

La diabetes se está convirtiendo rápidamente en la epidemia del siglo XXI y en un reto de salud global. Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud indican que a nivel mundial, de 1995 a la fecha casi se ha triplicado el número de personas que viven con diabetes, con cifra actual estimada en más de 347 millones de personas con diabetes. De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, China, India, Estados Unidos, Brasil, Rusia y México, son en ese orden los países con mayor número de diabéticos.⁴²

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 exploró el estado de la diabetes en México, encontrando que la población es en mayores de 20 años de edad. Se encontró que la prevalencia de diabetes en el país pasó de 9.2% en 2012 a 9.4% en 2016, esto con base en un diagnóstico previo de la enfermedad.⁴³

Esta tendencia creciente concuerda con las proyecciones para prevalencia de diabetes diagnosticada, realizadas por Meza-Rodríguez y colaboradores, a partir de datos de las encuestas nacionales referidas; estimaron que, para 2030, dicha prevalencia alcanzaría de 12 a 18%, y para 2050, de 14 a 22%.⁴⁴

En México, la diabetes tipo 2 es una de las principales causas de ceguera, insuficiencia renal crónica y amputaciones no traumáticas, y es una de las 10 causas más frecuentes de hospitalización en adultos. Además, aumenta el riesgo de sufrir infarto al miocardio o cerebral, y explica el 30% de la mortalidad general.⁴⁴

6.2 Generalidades de la diabetes

La diabetes se define como una enfermedad crónico-degenerativa autoinmune, ocasionada por diversos factores, y entre sus diferentes tipos se toman en cuenta factores como la predisposición hereditaria, los

factores ambientales y estilos de vida, se caracteriza por hiperglucemia crónica (altos niveles de azúcar en sangre por período prolongado) debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo de los carbohidratos, proteínas y grasas. El término crónico degenerativo se entiende cuando la diabetes es una enfermedad que no es curable sino controlable. Si no es diagnosticada y tratada de manera oportuna, adecuada, integral y se mantiene un buen control de la misma, puede afectar a los demás órganos y alterar las funciones metabólicas normales del organismo, lo que ocasiona un deterioro anormal o prematuro del mismo. Esto ocasiona una serie de complicaciones de gran costo e impacto en la salud de la persona, así como discapacidad o muerte.⁴⁵

6.3 Clasificación de diabetes

6.3.1 Prediabetes

La prediabetes es un trastorno en el que la concentración de glucosa en sangre es demasiado alta para ser considerada normal, pero no lo suficiente para ser catalogada como diabetes. Se padece prediabetes cuando la glucemia en ayunas oscila entre 101 mg/dL y 126 mg/dL (figura 25). Detectar la prediabetes es importante porque esta afección conlleva un mayor riesgo de diabetes en el futuro, así como de cardiopatías.⁴⁶

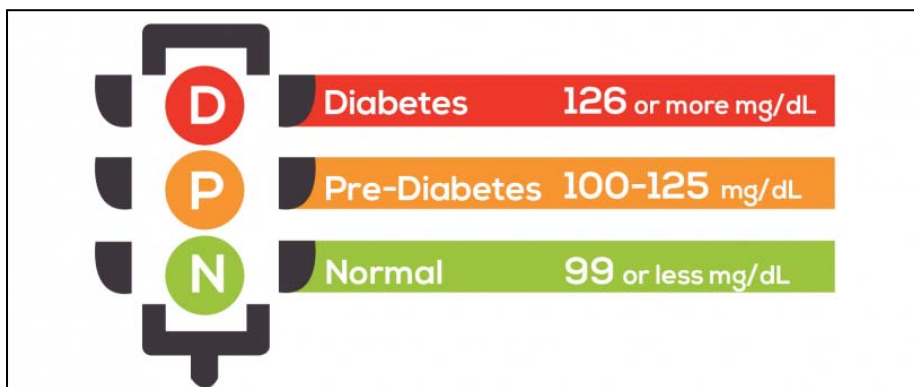


Figura 25. Valores de glucosa en sangre. ²⁴

6.3.2 Diabetes tipo 1

La diabetes tipo 1 (también llamada insulino dependiente o de inicio en la infancia), es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por una producción deficiente o nula de insulina desde la infancia temprana o adolescencia y, por lo tanto, se requiere la administración diaria de esta hormona (esto se logra mediante inyecciones o bombas de infusión), figura 26.

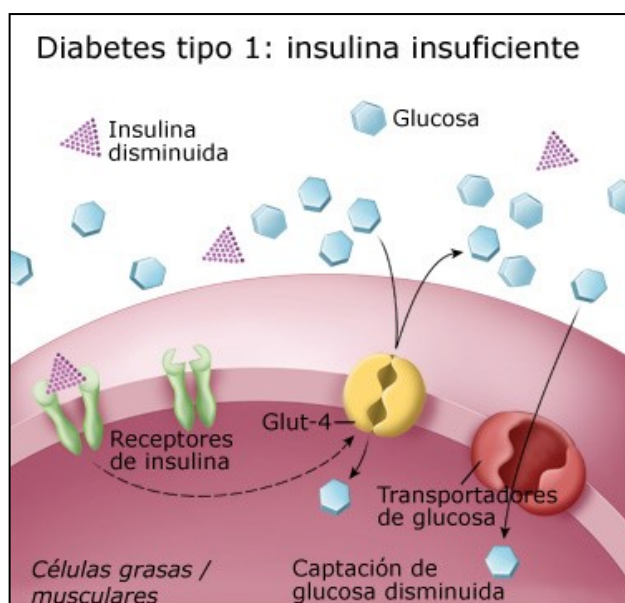


Figura 26. esquema que representa la diabetes tipo 1. ²⁵

Este tipo de diabetes no está asociado con la obesidad o los malos hábitos de alimentación. Los síntomas consisten en excreción excesiva de orina, sed y hambre constante, pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio. Estos síntomas pueden aparecer de forma súbita o de manera gradual, sin embargo, debido a la carencia de insulina, la falta de acceso a un oportuno tratamiento en esta enfermedad puede ser mortal.⁴⁷

6.3.3 Diabetes tipo 2

La diabetes tipo 2 (también llamada no insulino dependiente), se debe a una utilización ineficaz de la insulina en el organismo, figura 27.

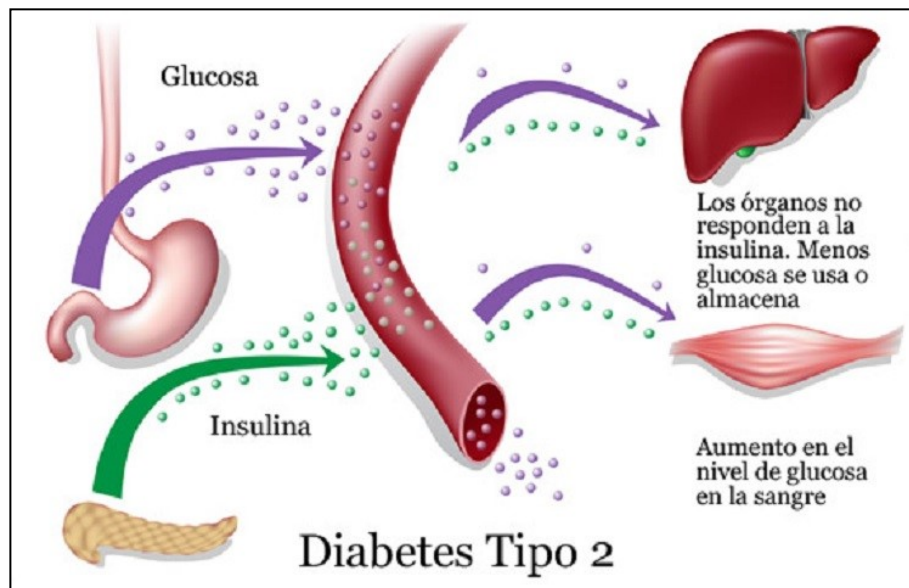


Figura 27. Diabetes tipo 2²⁶

Esta representa 90 % de los casos mundiales y se debe, en gran medida, a un peso corporal excesivo, los hábitos de alimentación inadecuados y a la inactividad física. Los síntomas pueden ser similares a los de la diabetes de tipo 1, pero a menudo menos intensos. En consecuencia, la enfermedad puede diagnosticarse sólo cuando ya tiene varios años de evolución y han aparecido complicaciones.

El papel que juega la ingesta de azúcares está relacionado en forma directa con el riesgo de diabetes tipo 2. El uso de fructosa en bebidas endulzadas aumenta el riesgo de diabetes hasta en 87 % y el consumo general de bebidas carbonatadas presenta un riesgo aproximado de 24 %.⁴⁵

6.3.4 Diabetes Gestacional

La diabetes gestacional es un estado hiperglucémico (con altos niveles de azúcar en sangre), que aparece o se detecta por vez primera durante el embarazo, figura 28. Sus síntomas son similares a los de la diabetes de tipo 1 y 2, pero suele diagnosticarse mediante las pruebas prenatales, más que por síntomas del paciente. Esto se puede deber a una mala alimentación previa y durante el embarazo, o por algunas hormonas que se liberan durante este proceso que pueden llegar a bloquear las funciones de la insulina. Todas las mujeres embarazadas deben recibir una prueba oral de tolerancia a la glucosa entre las semanas 24 y 28 del embarazo para detectar la afección. Las madres con diabetes gestacional también tienen mayor riesgo de sufrir hipertensión durante el embarazo.⁴⁵

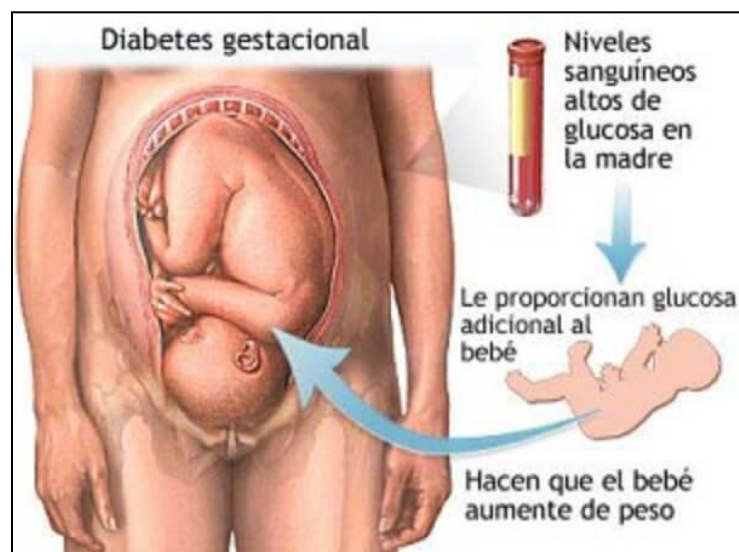


Figura 28. Diabetes gestacional.²⁷

6.4 Síntomas

Orinar más de lo habitual, este es uno de los síntomas más característicos de la diabetes. Se presenta porque los riñones tratan de eliminar rápidamente el exceso de glucosa en la sangre a través de la orina. Como consecuencia de la pérdida de líquidos por el aumento en la frecuencia de las micciones, la persona siente sed excesiva que es un mecanismo de defensa para intentar reponer los líquidos. Debido a la falta de insulina, el organismo no puede aprovechar el azúcar que se está acumulando en la sangre y las células lo usan como energía. Entonces, el cerebro manda señales al cuerpo para que coma más y así compensar la falta de energía. De esta manera la persona siente hambre intensa, come más pero no logra compensar por la falta o ineficacia de la insulina. Comer más de lo normal no evita la pérdida de peso que puede sufrir la persona adulta. Un adulto puede perder entre 5 a 10 kilos en dos o tres meses debido a la insuficiencia de insulina no se puede transformar la glucosa en energía. La pérdida de peso y líquidos se manifiesta en la persona a través de una sensación de fatiga o cansancio. El cuerpo realiza tareas adicionales para manejar el exceso de glucosa, lo cual incide en cansancio, somnolencia e incluso irritabilidad. Los altos niveles de azúcar en la sangre también conllevan a una disminución de la agudeza visual, tal como visión distorsionada, por edema del cristalino y si la enfermedad lleva muchos años y con mal control se puede afectar la retina, esto puede derivar en ceguera o en un daño permanente en la visión. Estos síntomas son parte de la cetoacidosis, una afección que surge cuando el organismo busca en las proteínas y las grasas otras fuentes de energía debido a que no hay suficiente glucosa. Las grasas se descomponen en ácidos denominados cetonas, que en grandes cantidades son tóxicas, se acumulan en la sangre y salen por la orina. Por ello existe dolor de estómago, vómito o náuseas, figura 33.⁴⁸



Figura 29. Síntomas de diabetes.²⁸

6.5 Complicaciones de la diabetes

La diabetes daña los vasos sanguíneos, haciendo que se estrechen y por lo tanto se restrinja el flujo sanguíneo. Muchos órganos pueden verse afectados, en particular los siguientes:

- Cerebro, riesgo de accidente cerebrovascular
- Ojos (retinopatía diabética), riesgo de ceguera
- Corazón, riesgo de ataque al corazón
- Riñones (nefropatía diabética), riesgo de insuficiencia renal
- Nervios (neuropatía diabética); puede causar sensibilidad en los pies.⁴⁶

La diabetes aumenta el riesgo de cardiopatía y accidente vascular cerebral, por lo que 50 % de los pacientes con diabetes, mueren de alguna enfermedad cardiovascular. En los pacientes con diabetes, el riesgo de muerte es al menos dos veces mayor que en las personas sin

diabetes, por lo que se ha estimado que la esperanza de vida de los individuos con este padecimiento se reduce entre 5 y 10 años.⁴

6.6 Diagnóstico

A1C

La prueba A1C mide la glucosa promedio en sangre durante los últimos 2 a 3 meses. Las ventajas de ser diagnosticado de esta manera, son que no tiene que ayunar ni beber nada. La diabetes se diagnostica con una A1C mayor o igual al 6.5%.

Resultado A1C

Normal menos del 5.7%

Prediabetes 5.7% a 6.4%

Diabetes 6.5% o más

Glucosa en plasma en ayunas (FPG)

Esta prueba verifica sus niveles de glucosa en sangre en ayunas. El ayuno significa después de no tener nada para comer o beber (excepto agua) durante al menos 8 horas antes de la prueba. Esta prueba generalmente se realiza lo más temprano posible antes del desayuno. La diabetes se diagnostica con una glucosa en sangre en ayunas mayor o igual a 126 mg / dl

Resultado

Glucosa en plasma en ayunas (FPG)

Normal menos de 100 mg / dl

Prediabetes 100 mg / dl a 125 mg / dl

Diabetes 126 mg / dl o más

Prueba de tolerancia oral a la glucosa (también llamada OGTT)

El OGTT es una prueba de dos horas que verifica los niveles de glucosa en sangre antes y 2 horas después de beber una bebida dulce

especial. La diabetes se diagnostica a las 2 horas de glucosa en sangre mayor o igual a 200 mg / dl

Resultado

Prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT)

Normal menos de 140 mg / dl

Prediabetes 140 mg / dl a 199 mg / dl

Diabetes 200 mg / dl o más

Prueba de Glucosa en Plasma Aleatoria (también llamada Casual)

Esta prueba es un análisis de sangre en cualquier momento del día cuando tiene síntomas graves de diabetes. La diabetes se diagnostica a una glucemia mayor o igual a 200 mg / dl.⁴⁹

7 PULPA DENTAL

7.1 Generalidades

La pulpa dental forma parte del complejo dentino-pulpar, que tiene su origen embriológico en la papila dental (tejido ectomesenquimático). La pulpa que se aloja en la cámara pulpar es la forma madura de la papila y tiene la particularidad de ser el único tejido blando el diente.⁵⁰

La pulpa está formada por: 75% de agua y 25% de materia orgánica, constituida por células y matriz extracelular (MEC) representada por fibras y sustancia fundamental. Dentro de la pulpa están los vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios, células de defensa, sustancia base y fibroblastos. Sin embargo, otra característica de la pulpa es la presencia de odontoblastos, necesarios para la producción de dentina, células dendríticas, mastocitos y células madre mesenquimáticas indiferenciadas (DPSCs). La pulpa y la dentina no deben considerarse como tejidos separados, sino más bien como uno solo, embriológica y anatómicamente, sino también en biológicamente.^{50 51}

Estructuralmente la pulpa es un tejido conectivo vascular laxo, rodeado de dentina, que contiene una población heterogénea de células entre ellas; fibroblastos: Son las células más abundantes con forma de estrella. Odontoblastos: Son células responsables para la síntesis y secreción de matriz extracelular de predentina y biomineralización de la dentina (La Proteína principalmente es la colágeno Tipo I), sustancia amorfa, ácido hialurónico, macrófagos, elástina (en las paredes de los vasos sanguíneos) Células sanguíneas, células de Schwann, células endoteliales, mesenquimatosas indiferenciadas.⁵²

La pulpa dental, es un tejido vivo en el interior del diente y recientemente se logró extraer células madre vivas a partir de la pulpa dental. Las células madre que se extraen de la pulpa dental son de tipo “mesenquimal”, distintas a las células madre que se extraen de la sangre del cordón umbilical, que son de tipo “hematopoyético”. La diferencia entre ambas es que las células madre hematopoyéticas al reproducirse, solamente se transforman en células de la sangre (glóbulos rojos, glóbulos blancos o plaquetas), y por lo tanto, sirven para tratar enfermedades de la sangre como leucemia, algunos tipos de anemias, etc. Y las células madre de tipo mesenquimal tienen la característica única que, dependiendo el medio donde estén, se transforman en células de cualquier parte del cuerpo, por lo tanto, este tipo de células son útiles para la medicina regenerativa, ya que pueden usarse para reparar huesos, músculo, tejido cardíaco, cartílago, etc.⁵³

Se han estudiado sobre todo las células que provienen de terceros molares y dientes supernumerarios. Cabe destacar que, si son aisladas durante la formación de la corona, las DPSC son más proliferativas que si se aíslan más adelante. Las células madre de la pulpa dental (DPSCs), 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.⁵⁴

La pulpa posee células mesenquimáticas indiferenciadas que derivan del ectodermo de la cresta neural, constituyendo una verdadera reserva celular, poseen capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos o fibroblastos según el estímulo que actúe sobre ellas (Murray et al., 2008, Yen & Yelick, 2011, Suzuki et al., 2011).

Existen criterios mínimos para definir células madres mesenquimales humanas, tanto para investigaciones científicas basadas en experimentación *in vitro*, como para estudios pre-clínicos según The International Society for Cellular Therapy position statement. Dentro de estos criterios podemos mencionar: Adherencia al plástico en condiciones estándar de cultivo, morfología celular fibroblastoide, expresión de antígenos (marcadores) de superficie específicos, que comprende que más de un 95% de la población celular exprese fenotipo positivo para CD73, CD90 y CD105 y menos de un 3% de la población exprese fenotipo negativo para CD34 (marcador de célula endotelial), CD45 (leucocitario), CD14 y CD11 (marcadores de macrófagos y monocitos), CD79 y CD19 (marcadores de células B) y HLA-DR (clase II), capacidad multipotencial de diferenciación hacia linaje osteogénico, condrogénico y osteogénico, bajo condiciones *in vitro* estándar y demostradas con tinción específica.⁵⁵

8 OBTENCIÓN DE CÉLULAS β A TRAVÉS DE PULPA DENTAL (MÉTODOS)

8.1 Método 1 por Govindasamy en 2011 (estudio *in-vitro*)

Muestras

Se extraen molares primarios sanos intactas de niños (n = 5, edades 7-11 años) que se sometieron a una extracción en serie planificada para el manejo de la oclusión en el Departamento de Odontología y Ortodoncia Infantil de la Facultad de Odontología de la Universidad de Malaya (Malasia). Las muestras se obtuvieron mediante

un protocolo que fue aprobado por el Comité de Ética Médica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Malaya (Número de Autorización de Ética Médica: DFCD0907 / 0042 [L]). El estudio se realizó con estas muestras, y todos los experimentos se repitieron de forma independiente para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

Cultivo de células

El tejido de pulpa se trituró en pequeños fragmentos antes de la digestión en una solución de 3 mg / ml de colagenasa tipo I. Durante 40 min a 37°C. Después de la neutralización con 10% de suero bovino fetal (FBS). Las células se centrifugaron y luego se sembraron en matraces de cultivo con medio de cultivo que contenía α -MEM (Invitrogen), 0.5% 10,000 mg / ml de penicilina / estreptomina (Invitrogen), 1% 1x Glutamax (Invitrogen) y 10% de SFB, con atmósfera humidificada de 95% de aire y 5% de CO₂ a 37° C. Las células no adherentes se eliminaron 48 horas después de la siembra inicial. Cuando el cultivo primario llegó a ser confluyente, las células se recogieron mediante tripsinización y se procesaron para pasajes posteriores. Todos los experimentos se realizaron en DPSCs cultivadas en el pase 2 (P2). Los DPSC se comprobaron para determinar su expresión de marcador de superficie celular (CD44, CD45, CD73, CD90, CD166 y HLA-DR) con citometría de flujo como se describió previamente.

Diferenciación *in vitro* de DPSC (células troncales de la pulpa dental) en ICA (islotos pancreáticos)

La diferenciación de DPSC en ICA se llevó a cabo en 3 etapas, con ligeras modificaciones como se muestra en la figura 31. En resumen, DPSCs indiferenciadas se resuspendieron en medio sin suero (SFM) -A y se colocaron en placas de Petri [1 x 10⁶ células / cm²], 1% BSA Cohn fracción V, libre de ácidos grasos, 1x insulina-transferrina-selenio (ITS),

Activina A 4 nM, butirato sódico 1 mM y 2-mercaptoetanol 50 μ M. Las células se cultivaron en este medio durante 2 días. El tercer día, el medio se cambió a SFM-B, que contenía DMEM-KO, BSA al 1%, ITS y taurina 0,3 mM, y finalmente se cambió a SFM-C en el quinto día. SFM-C contenía DMEM-KO, 1,5% de BSA, ITS, 3 mM de taurina, 100 nM de péptido similar al glucagón (GLP) -1 (fragmento ambide 7-36; Sigma Aldrich), 1 mM de nicotinamida y 1x de amino no esencial ácidos (NEAA). Las células se alimentaron con SFM-C nuevo cada 2 días durante otros 5 días.⁵⁶

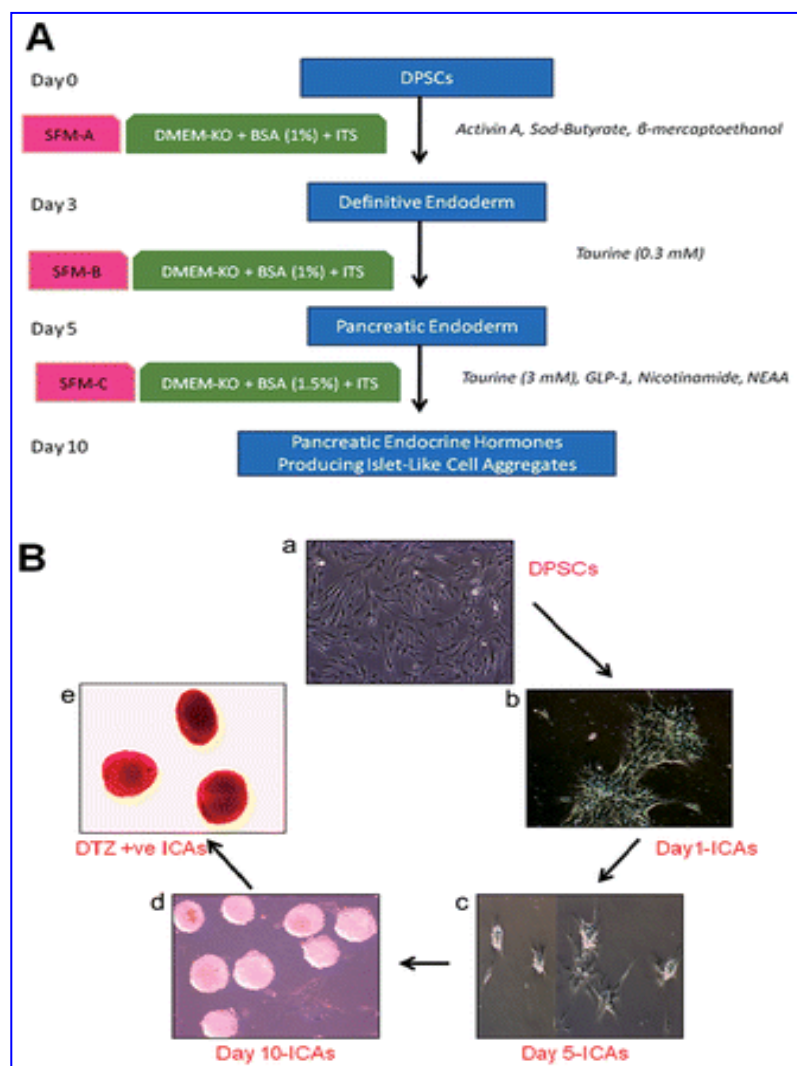


Figura 30: Generación de ICAs de DPSCs. **(A)** Representación esquemática del protocolo paso a paso para generar ICA. **(B)** Cambios_ fenotípicos en DPSCs durante el procedimiento de diferenciación de 10 días. Barra de escala 100 μ m.³⁰

El análisis de PCR en tiempo real del día 10 ICA mostró una mayor transcripción de abundancia de marcadores de células β pancreáticas. Los números de ICA obtenidos el día 10 (placa celular inicial: 2×10^6 células) fueron 156 ± 23 , lo que indica que las ICA pueden ser lo suficientemente producido a partir de DPSC para trasplante.

8.2 Método 2 por Elisalva Teixeira Guimarães en 2013 (in vivo en ratones)

Aislamiento de mDPSCs

Los dientes incisivos se disecaron cuidadosamente de las mandíbulas de ratones C57BL / 6 transgénicos macho EGFP. El tejido de pulpa dental se recolectó suavemente, y los explantes se cultivaron en placas de 24 pocillo, en medio de Eagle modificado de Dulbecco. Suplementado con 10% de bovino fetal suero, bicarbonato de sodio 23,8 mM, ácido 4- (2-hidroxietil) -1-piperazinaetanosulfónico 10 mM, piruvato de sodio 1 mM, 2 mM de L-glutamina, 0,05 mM β -mercaptoetanol, 50 mg / ml de gentamicina y se incubaron a 37° C / 5% de CO₂. Cuando se logró la confluencia usualmente después de 15-20 días, las células adherentes se liberaron con una solución de tripsina al 0,25% (Invitrogen / Molecular Probes).

Los ratones diabéticos trasplantados con mDPSCs presentan un mayor número de islotes pancreáticos en comparación con ratones diabéticos no trasplantados. La inmunotinción para la insulina confirmó el aumento en la producción de insulina, en el área del páncreas de mDPSC-trasplantado ratones, tenían parénquima renal similar a los de ratones no diabéticos.⁵⁷

8.3 Método 3 por J. SUCHÁNEK 2017 (in vitro)

Se obtuvieron dos dientes natales humanos vitales de una mujer sana de 2 días de edad bajo anestesia local y condiciones asépticas

completas. Los dientes extraídos se desinfectaron y se transportaron al laboratorio de cultivo a 4°C, totalmente sumergidos en un medio de transporte compuesto por 1 ml de solución salina equilibrada de Hank (HBSS) (Invitrogen, Waltham, MA), 9 ml de agua para inyección y antibióticos para proteger contra cualquier contaminación. Los antibióticos añadidos incluyeron: 20 µg / ml de gentamicina (Invitrogen), 100 µg / ml de estreptomicina (Invitrogen), 2.5 µg / ml de anfotericina (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO) y 100 U / ml de penicilina (Invitrogen).

Los tejidos pulpaes se recuperaron a través de los agujeros apicales anchos, se cortaron en trozos pequeños y se disociaron enzimáticamente en una solución de enzimas colagenasa (0.2 mg / ml; Sevapharma, Praga, República Checa) y dispasa (2 mg / ml; Gibco, Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA), PBS (Invitrogen) y HBSS en la relación 1: 1: 1: 1 durante 50 min a 37° C. Después de la centrifugación (600 g), el sedimento celular obtenido se resuspendió, se sembró y se cultivó en matraces de cultivo tisular, en un medio cuya composición se basa en α -MEM (Invitrogen) con un 2% de plasma rico en plaquetas (PRP). Para mejorar la tasa de proliferación, el medio de cultivo se complementó con 10 ng / ml de factor de crecimiento epidérmico (PeproTech, Londres, RU), 10 ng / ml de factor de crecimiento derivado de plaquetas (PeproTech) y 50 mM dexametasona (Bieffe Medital). Se añadieron 10 µl de ITS / ml (Bieffe Medital) para aumentar la utilización de nutrientes y se añadió ácido L-ascórbico 0,2 mM (Bieffe Medital) para proteger contra el estrés oxidativo y los radicales libres de oxígeno. El medio de cultivo se suplementó con aminoácido esencial glutamina (Invitrogen en concentración final 2% y antibióticos - 100 U / ml de penicilina, 100 µg / ml de estreptomicina (Invitrogen), 20 µg / ml de gentamicina (Invitrogen) para proteger contra la infección bacteriana. Las placas de cultivo se incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂. El medio de cultivo se cambió cada tres días hasta que las células alcanzaron una confluencia del 70%.

Las células se cultivaron en un medio compuesto por DMEM (Sigma-Aldrich) y DMEM / F12 (Sigma-Aldrich) en proporción 1: 1, complementado con glucosa en una concentración final de 25 mM, suero de ternera fetal al 10% (FCS) y péptido similar al glucagón 10 nM (Sigma Aldrich). Tinción inmunocitoquímica La fijación de las células que se cultivaron durante 10 días en los medios de diferenciación de células β pancreáticas en 2 pocillos Perminox Chamber Slides Nunc (Sigma-Aldrich) se realizó en metanol frío durante 15 minutos. Después de la fijación, los cultivos celulares se permeabilizaron con 0,1% de Triton-X100 (Sigma-Aldrich) en PBS. Las muestras se incubaron con anticuerpos primarios. Anticuerpo monoclonal de conejo insulínico (C27C9, Cell Signaling Technology, Danvers, Massachusetts, #3014) a diluciones 1: 400 para 24 horas y anticuerpo policlonal de conejo C-péptido (Cell Signaling Technology, #4593) a diluciones 1:100 durante 24 h, ambos, con reactividad de especies humanas, de ratón y de rata, se aplicaron. Después de lavar con solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco que contiene Tween 20, las células se incubaron con anticuerpos secundarios durante 45 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Como anticuerpos secundarios, se usaron anti-conejo conjugado con cianina 3 (Cy3) (Jackson Immuno Research, Europe Ltd, Newmarket, Reino Unido). DAPI (0,1 mg / ml).⁵⁸

Durante el estudio, no se observó ningún signo de diferenciación espontánea, y el cultivo finalizó dentro del decimoquinto pasaje. Las células cultivadas mantuvieron su morfología durante todo el estudio. El análisis fenotípico se realizó en el quinto pasaje y mostró una alta positividad para todos los marcadores de superficie de células madre analizados.⁵⁸

CONCLUSIONES

En esta revisión bibliográfica podemos concluir que la medicina regenerativa representa una esperanza de cura para los pacientes que sufren de diabetes. Es necesario conjuntar esfuerzos con las diferentes áreas del conocimiento para establecer terapias seguras, eficaces y éticas.

De todos los sitios de la cavidad bucal se ha utilizado principalmente las células troncales de la pulpa dental para estudios en diabetes. El grupo de la maestra Flor Yohana Flores Hernández y colaboradores de los laboratorios del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) trabajan en un proyecto basado en células troncales de origen pulpar, que podría sentar las bases para un tratamiento contra la diabetes.

Así mismo la Universidad Nacional Autónoma de México campus Nuevo León creó su propio banco de células troncales extraídas de dientes, lo cual tiene como objetivo el aislamiento, cultivo, caracterización y criopreservación de las células mediante métodos estandarizados a nivel nacional e internacional.

En Monterrey en el Hospital Universitario "José Eleuterio González" la Dra. Olga Cantú Rodríguez y colaboradores, han logrado regenerar la hormona de la insulina a través de un tratamiento inmunosupresor y autotrasplante de células troncales, necesaria en los pacientes con diabetes tipo 1.

Las células troncales derivadas de tejidos dentales son buenas candidatas para la terapia celular porque son accesibles, pluripotentes, con plasticidad significativa y diversos efectos inmunomoduladores. Los avances en la terapia celular han demostrado un gran interés en identificar métodos para dirigir la diferenciación de células troncales de pulpa dental *in vitro* hacia islotes pancreáticos.

Otro de los puntos importantes es la creación de andamios con propiedades físico-químico, biológicamente funcionales y biocompatibles.

Lo que se necesita es perfeccionar las técnicas incluyendo sistemas de protección inmunológico para que las nuevas células producidas por la medicina regenerativa no sean rechazadas y puedan ser funcionales a largo plazo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1.- Valencia R., Espinosa R., Saadia M. Velasco Neri J., Nario H., Panorama Actual de las Células Madre de la Pulpa de Dientes Primarios y Permanentes., RODYB., Volumen II. Número 2. Mayo-Agosto 2013. Disponible en: <http://www.rodyb.com/wpcontent/uploads/2013/05/Celulas-Madre-de-la-Pulpa-de-Dientes-Primarios-y-Permanentes3.pdf>

2.- Hernández P., Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas., Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter v.25 n.1., 2009. Disponible en: <file:///F:/Medicina%20regenerativa%20y%20células%20madre.%20Mecanismos%20de%20acción%20de%20las%20células%20madre%20adultas.html>

3.- Orfilio Peláez., Medicina Regenerativa., Granma., 20 de enero de 2017. Disponible en: <http://www.granma.cu/ciencia/2017-01-20/medicina-regenerativa-20-01-2017-21-01-53>

4.- National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering., Ingeniería de tejidos y medicina regenerativa., Julio de 2013. Disponible en: <https://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/ingenier%C3%ADa-de-tejidos-y-medicina-regenerativa-0>

5.- Kenia Betancourt Gamboa., Julio Barciela Calderón., Julio Guerra Menéndez., Nereyda Cabrera Carballo., Uso de células madre en el

complejo bucofacial., AMC., Vol.16 no.5., Camagüey., Sep-Oct. 2012.
Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552012000500015

6.- Víctor Manuel Valdespino Gómez., Patricia Margarita Valdespino Castillo., Víctor Edmundo Valdespino Castill., Estrategias para la regeneración de tejidos: células, inductores bioquímicos, bionanomateriales y bioconstrucciones. Alcances clínicoquirúrgicos., Cir Cir 2014 pp 579. Disponible en:

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66231760016>

7.- German F., Falke., Anthony Atala., Reconstrucción de tejidos y órganos utilizando ingeniería tisular., Arch.argnt.pediatr., 2000; 98(2) p.p. 103. Disponible en: <file:///F:/Ingeniería%20de%20tejidos%201.pdf>

8.- María Isela Garrigo Andreu., Carolina Valiente Zaldívar., Efectos biológicos de la radiación láser de baja potencia en la reparación hística., Rev Cubana Estomatol Vol.33 N.2., Mayo-ago. 1996 p.p. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75071996000200002

9.- Vargas Burgoa Oscar Alexandro., Regeneración y Cicatrización., Rev. Act. Clin. Med., Vol.43., 2014 p.p. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400003&script=sci_arttext

10.- Gómez V., Valdespino M. Valdespino V., Estrategias para la regeneración de tejidos: células, inductores bioquímicos, bionanomateriales y bioconstrucciones. Alcances clínicoquirúrgicos., Cir 2014 pp 579. Disponible en:

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66231760016>

11.- Gamaliel Benítez A., Medicina regenerativa y terapia celular., Rev Mex Med Tran., Vol. 4, Núm. 2., 2011 p.p. 70. Disponible en: <file:///F:/art%20medicina%20regenerativa%201.pdf>

12.- Raúl Rosales-Ibáñez., Keila Neri Alvarado-Estrada., Francisco Ojeda-Gutiérrez., Ingeniería Tisular en Odontología., Revista ADM., Vol. LXIX N. 4., 2011 p.p. 164-167. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2012/od124d.pdf>

13.- Porfirio Hernández Ramírez., Elvira Dorticós Balea., Medicina regenerativa II. Aplicaciones, realidad y perspectivas de la terapia celular., Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter., Vol.22 N.1., 2006 p.p. disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892006000100002

14.- Porfirio Hernández Ramírez., Elvira Dorticós Balea., Medicina regenerativa. Células madres embrionarias y adultas., Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter., Vol.20 N.3., 2004 p.p. disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000300001

15.- Miriam Magallanes Fabián., Bruno Carmona Rodríguez., Marco Antonio Álvarez Pérez., Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental., Rev. Odont. Mex., Vol.14 No.1., 2010 p.p. disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2010000100015

16.- Alejandra s. h., Cottliar, Irma R., Slavutsky., Telomeros y Actividad De Telomerasa: Su Participación En El Envejecimiento y El Desarrollo Neoplasico., Medicina., Volumen 61 - Nº 3., 2001., p.p 335-342.

Disponible en: <http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol61-01/3/telomeros.htm>

17.- Viviana Marcela Rodríguez Pardo., Células Madre: Conceptos Generales y Perspectivas de Investigación., Revista de la Facultad de Ciencias., Vol. 10, No. 1., 2005 p.p. 5-14. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/499/49910101/>

18.- Estefanía Soto Navarrete., Laura E. Vargas Ulloa., Martha Patricia Oropeza Murillo., Patricia Cano Sánchez., Alejandra Morán Reyes., Margarita V. García Garduño., Células pluripotenciales de la pulpa dental humana., Odontología Actual / año 11, núm. 130, Febrero de 2014., p.p. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Patricia_Cano-Sanchez/publication/261993666_Celulas_pluripotenciales_de_la_pulpa_dental_humana/links/00463538362a4716e8000000/Celulas-pluripotenciales-de-la-pulpa-dental-humana.pdf

19.- Maribel Mata Miranda., Gustavo J Vázquez Zapién., Virginia Sánchez Monroy., Generalidades y aplicaciones de las células madre., Perinatol. Reprod. Hum., Vol.27 No.3., México Ene. 2013., p.p. disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-53372013000300009&script=sci_arttext

20.- Reflexiones sobre la introducción y desarrollo de la terapia celular en Cuba., Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter., Vol.29 No.3., 2013 p.p. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892013000300011

21.- Marytere Narváez., De los Biomateriales a la Ingeniería de Tejidos., Agencia Informativa Conacyt., Mérida, Yucatán. 7 de abril de 2016. Disponible en:

<http://www.conacytprensa.mx/index.php/tecnologia/materiales/6079-de-los-biomateriales-a-la-ingenieria-de-tejidos-reportaje>

22.- Gladys Velazco., Ingeniería de Tejidos y Andamios de Regeneración Celular., Acta Bioclinica., Volumen1, N°1., Enero Junio 2011., p.p. Disponible en:

<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/viewFile/3357/3258>

23.- Fernando Guzmán., Crean Andamios Celulares en Tercera Dimensión., Gaceta Digital Unam., Número 4,805., 18 de agosto de 2016., p.p. disponible en: <http://www.gaceta.unam.mx/20160818/crean-andamios-celulares-en-tercera-dimension/>

24.- Jaime Rendón., Lina Patricia Jiménez., Paola Andrea Urrego., Células madre en odontología., Rev. CES Odont., 2011;24(1)51-58. Disponible en:

<http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/1475/970>

25.- T. D. Jones., A. Kefi., S. Sun., M. Cho., S. B. Alapati., An Optimized Injectable Hydrogel Scaffold Supports Human Dental Pulp Stem Cell Viability and Spreading., Advances in Medicine., Vol 2016., 2016, Article ID 7363579, 8 pages. Disponible en:

<https://www.hindawi.com/journals/amed/2016/7363579/>

26.- Elena Fernández Burguera., Ingeniería de Tejidos., Centro de Investigación Biomédica en Red, Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina. Disponible en: <http://www.ciber-bbn.es/programas-transversales/programa-de-difusion-e-internacionalizacion/biomedicina-con-y-para-la-sociedad/miniserie-de-tv/ingenieria-de-tejidos>

27.- Mijke Buitinga., Frank Assen., Maaïke Hanegraaf., Paul Wieringa., Janneke Hilderink., Lorenzo Moroni., Roman Truckenmüller., Clemens van Blitterswijk., Gert-Willem Römer., Françoise Carlotti., Eelco de Koning., Marcel Karperien., Aart van Apeldoorn., Micro-fabricated scaffolds lead to efficient remission of diabetes in mice., *Biomaterials.*, 21 March 2017.

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961217301801?via%3Dihub>

28.- Eugenia Flores Figueroa., Juan José Montesinos., Héctor Mayani., Células troncales mesenquimales: historia, biología y aplicación clínica., *Rev. Invest. Clín.*, Vol.58 no.5 México sep./oct. 2006. Disponible en:

http://scielo.unam.mx/scielo.php?pid=S0034-83762006000500011&script=sci_arttext&tlng=es

29.- Concepción Gross de Bethencourt., Aplicaciones Clínicas de Células Madre de Origen Dental., Master Universitario De Ortodoncia Y Ortopedia Dentofacial., 2012-2013. Disponible en:

<http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/20291/3/C.GrossCELULA SMADRE.pdf>

30.- Bertha Beatriz Socarrás Ferrer., Lázaro Orlando del Valle Pérez., Karelys de la Cuétara Bernal., Vianed Marsán Suárez., Miriam Sánchez Segura., Consuelo Macías Abraham., Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa., *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.*, Vol.29 no.1., Ciudad de la Habana Ene-Mar. 2013. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892013000100003

31.- Clínica Universitaria de Odontología., La UIC descubre una célula madre pluripotente extraída de la pulpa dental adulta capaz de regenerar

tejido., Portal Odontologos.mx., 13 de Diciembre de 2012. Disponible en:
<https://www.odontologos.mx/odontologos/noticias/345/la-uic-descubre-una-celula-madre-pluripotente-extraida-de-la-pulpa-dental-adulta-capaz-de-regenerar-tejido>

32.- J. Sastrea., L. Sabaterb., L. Aparisic., Fisiología de la secreción pancreática., Artículo 99.646., Gastroenterol Hepatol. 2005;28(Supl 2):3-9. Disponible en:
file:///C:/Users/chapi_000/Downloads/13071380_S300_es.pdf

33.- Embriología Humana y Biología del Desarrollo., Sebastián Manuel Arteaga Martínez., María Isabel García Peláez., Editorial Medica Panamericana., 2017 (LIBRO)

34.- Histología Básica: Fundamentos de Biología Celular y del Desarrollo Humano., Ponce Bravo Santa., México, D.F., Editorial Medica Panamericana., 2015 (LIBRO)

35.- Embriología Médica: con orientación clínica., Sadler Langerman., 10 ed., Buenos Aires: editorial Medica Panamericana., 2007 (LIBRO)

36.- Sánchez Cabús., Cirugía del Páncreas., Grup Hospital Clinic., 5 de Julio de 2016

37.- Stephen N. Davis., Insulina, Hipoglucemiantes Orales Y Propiedades Farmacológicas Del Páncreas Endocrino., capítulo 60., pp 1613- 1645. Disponible en. file:///C:/Users/chapi_000/Downloads/capitulo_muestra.pdf

38.- Ganong Fisiología Médica., Kim E. Barrett., Susan M. Barman., Scott Boitano., 23 edición., MC GRAW HILL., 2010. (LIBRO)

39.- Beatriz Flores., Producción De Insulina Humana Por Tecnicas De ADN Recombinante., Instituto De Fisiología Celular, UNAM., PP 60-61

40.- Álvaro José Fortich Revollo., Fisiología De La Secreción De Insulina y Glucagón., pp 7- 11

41.- Histología., Finn Geneser., Editorial Médica Panamericana., 1992., pp 433-439 (LIBRO)

42.- Mauricio Hernández Ávila., Juan Pablo Gutiérrez., Nancy Reynoso Noverón., Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia., Scielo., Instituto Nacional de Salud Pública Cuernavaca - Morelos – México., 2012. Disponible en:
<https://www.scielosp.org/article/spm/2013.v55suppl2/s129-s136/es/>

43.- Redacción OMENT., Últimas cifras de diabetes en México – ENSANUT MC 2016., 27 diciembre, 2016. Disponible en:
<http://oment.uanl.mx/ultimas-cifras-de-diabetes-en-mexico-ensanut-mc-2016/>

44.- Rosalba Rojas Martínez., Ana Basto Abreu., Carlos A Aguilar Salinas., Emiliano Zárate Rojas., Salvador Villalpando., Tonatiuh Barrientos Gutiérrez., Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo en México., Vol 60., 24 de mayo de 2017., pp 1-9. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/html/106/10653403004/>

45.- Abel Armando Arredondo López., Simón Barquera Cervera., Nelly Cisneros González., Iván de Jesús Ascencio Montiel., Luis Manuel Encarnación Cruz., Montserrat Larrañaga Flota., Asumiendo El Control De La Diabetes., Fundación Mídete., México 2016., pp 3-53. Disponible en:
http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/11/FMidete_Asumiendo-Control-Diabetes-2016.pdf

46.- Preeti Kishore, MD., Albert Einstein., Diabetes mellitus (DM)., Manual MSD. Disponible en: <http://www.msmanuals.com/es/hogar/trastornos-hormonales-y-metab%C3%B3licos/diabetes-mellitus-dm-y-otros-trastornos-del-metabolismo-de-la-glucosa-sangu%C3%ADnea/diabetes-mellitus-dm>

47.- Organización Mundial de La Salud., Diabetes., 2018. Disponible: http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/

48.- Colsanitas., ¿Cómo Puedo Reconocer Si Estoy Sufriendo De Diabetes? Descubre Tu Salud., 1 diciembre, 2017 Disponible: <http://descubretusalud.com/7-sintomas-indicarte-sufres-diabetes/>

49.- American Diabetes Associaton., Diagnosticar la diabetes y aprender sobre la prediabetes., 21 de noviembre de 2016. Disponible en: <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diagnosis/?loc=db-slabnav>

50.- ECU RED., Pulpa Dentaria., 27 de febrero de 2018. Disponible en: https://www.ecured.cu/Pulpa_dentaria

51.- Juan Carlos., Pulpa Dental., Scribd., Nov 25 DE 2007. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/521958/Pulpa-Dental>

52.- Valencia R., Espinosa R., Saadia M. Velasco Neri J., Nario H., Panorama Actual de las Células Madre de la Pulpa de Dientes Primarios y Permanentes., RODYB., Volumen II. Número 2. Mayo-Agosto 2013. Disponible en: <http://www.rodyb.com/wp-content/uploads/2013/05/Celulas-Madre-de-la-Pulpa-de-Dientes-Primarios-y-Permanentes3.pdf>

53.- Células madres de la pulpa dental., Clinica Abordo, odontología integral., julio 2007. Disponible en: <https://www.clinicaabarno.com/celulas-madres-la-pulpa-dental/>

54.- Luis Jesús González Orta., Investigación con células madre de origen dentario. Actualización.,Gaceta dental., 19 de septiembre de 2011. Disponible en: <https://www.gacetadental.com/2011/09/investigacin-con-clulas-madre-de-origen-dentario-actualizacin-25547/>

55.- Claudia Brizuela C., Sussy Galleguillos G., Flavio Carrión A., Carolina Cabrera P., Patricia Luz C., Carolina Inostroza S., Aislación y Caracterización de Células Madre Mesenquimales Provenientes de Pulpa y Folículo Dentario Humano., Int. J. Morphol. vol.31 no.2 Temuco jun. 2013. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022013000200063

56.- V. Govindasamy., VS Ronald., AN Abdullah., KR Ganesan Nathan., ZAC Ab Aziz., M. Abdullah., S. Musa., NH Abu Kasim., RR Bhonde., Diferenciación de las células madre de la pulpa dental en agregados de tipo islote., Revista SAGE Journals., Vol 90, Issue 5., 18 de febrero de 2011. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034510396879>

57.- Guimarães E., Silva G., Farias T., Freitas B., Martins C., Fraga J., Conrado W., Ribeiro R., Flora C., Pereira M., El trasplante de células madre obtenido a partir de pulpa dental murina mejora el daño pancreático, la función renal y la neuropatía diabética dolorosa en el modelo diabético tipo 1 de ratón., Trasplante de células.,Vol 22., Issue 12, pp. 2345 – 2354., 1 de diciembre de 2013. Disponible en; <http://journals.sagepub.com/doi/10.3727/096368912X657972#articleCitationDownloadContainer>

58.- J. SUCHÁNEK., S. A. NASRY., T. SOUKUP., The Differentiation Potential of Human Natal Dental Pulp Stem Cells into Insulin-Producing Cell., Vol. 63., October 3, 2017., Pp 133- 138

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS DE IMÁGENES

1.- Dr. Wil Sam., Medicina regenerativa., Aesthetic and Antiaging., 2013. Disponible en: <http://www.drwilsam.com/2011/01/medicina-regenerativa.html>

2.- Hernández P., Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas., Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter v.25 n.1., 2009. Disponible en: <file:///F:/Medicina%20regenerativa%20y%20células%20madre.%20Mecanismos%20de%20acción%20de%20las%20células%20madre%20adultas.html>

3.- José Antonio Uranga., Ingeniería tisular., ENCIENDE. Disponible en: <http://enciende.cosce.org/index.asp?item=111&idiomaNum=1&emp=en-ciende>

4.- El pensante., La maravillosa regeneración de las salamandras ¿podría aplicarse en seres humanos? Bogotá: E-Cultura Group., 4 noviembre, 2015. Disponible en: <https://www.elpensante.com/la-maravillosa-regeneracion-de-las-salamandras-podria-aplicarse-en-seres-humanos/>

5.- Steven F. Swain., Técnicas De Reparación De Heridas Injertos de piel en tiras., volumen 7 numero 5., mayo 2013. Disponible en: http://www.vetmedicineespanol.com.mx/articulo/798.tecnicas_de_reparacion_de_heridas_injertos_de_piel_en_tiras

6.- Sergio Duran., PROCESO DE CICATRIZACIÓN., 4 de diciembre de 2010. Disponible en:

<http://sadamanualsuturas.blogspot.mx/2010/12/proceso-de-cicatrizacion-de-una-herida.html>

7.- Raúl Rosales-Ibáñez., Keila Neri Alvarado-Estrada., Francisco Ojeda-Gutiérrez., Ingeniería Tisular en Odontología., Revista ADM., Vol. LXIX N. 4., 2011 p.p. 164-167. Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2012/od124d.pdf>

8.- Células madre., Ciencias Naturales. Disponible en:
<http://www.areaciencias.com/celulas-madres.htm>

9.- Células madre., Ciencias Naturales. Disponible en:
<http://www.areaciencias.com/celulas-madres.htm>

10.- Los genes, los telómeros y las hormonas., 30 de septiembre de 2013. Disponible en: <http://www.medicina-antienvejecimiento.net/todos-los-articulos/los-genes-los-telomeros-y-las-hormonas>

11.- Obokata, H., Stimulus-triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency., Nature 505, 641–647 (2014). Disponible en: <https://mariecuriesnews.wordpress.com/2014/02/07/revolucion-en-la-medicina-regenerativa/>

12.- Emaze., Medicina regenerativa. Disponible en:
<https://www.emaze.com/@AOWZTLWW/Presentation-Name>

13.- Medicina regenerativa., Mediterranea Medica. Disponible en:
<http://www.mediterraneamedica.com/medicina-regenerativa/>

14.- Universidad Autónoma de Chihuahua., Células madre., Salud y medicina. Disponible en: <https://es.slideshare.net/BioedenVzla/dpsc-therapy-agosto-2010>

15.- Las células madre en odontología., Jaitt odonto social., lunes, 20 de mayo de 2013. Disponible en:

<http://jaittodontosocial.blogspot.mx/2013/05/las-celulas-madre-en-odontologia.html>

16.- Store a cell., Células madre a partir de la pulpa dental. Disponible en: <http://www.storeacell.com/sitio/index.php/2-uncategorised/74-celulas-madre-a-partir-de-la-pulpa-dental>

17.- Dónde está el páncreas., Cuerpo humano y biología. Disponible en: <https://yosedondeesta.com/donde-esta-el-pancreas/>

18.- CZ Andy., Anatomía del páncreas: partes, funciones digestivas y endocrinas., Agosto., 2017. Disponible en:

<https://www.anatolandia.com/2017/08/anatomia-del-pancreas-partes-funciones-digestivas-endocrinas.html>

19.- Serafin A., Pancreas: embriología, anatomía e histología., 14 de noviembre de 2015. Disponible en:

<https://sedicemedico.blogspot.mx/2015/11/pancreas-emrbiologia-anatomia-e.html>

20.- Glándulas anexas del aparato digestivo., Access Medicina Capítulo 18. Disponible en:

<https://accessmedicina.mhmedical.com/Content.aspx?bookId=1506§ionId=98184211>

21.- Función nacional del páncreas., Animaciones sobre enfermedades del páncreas., Mechanisms in medicine., 2015. Disponible en: <http://www.pancreasanimado.com/es/insuficiencia-pancre%C3%A1tica-exocrina-ipe-presentaci%C3%B3n-de-diapositivas.phtml>

22.- Morrow Jaso., el páncreas., 2011. Disponible en: <http://pancreas5.blogspot.mx/p/funcion-endocrina.html>

23.- Guagnelli Mtz Miguel Ángel., Todo en la diabetes tiene que ver con insulina. Disponible en: <https://endocrinologopediatra.mx/todo-en-la-diabetes-tiene-que-ver-con-la-insulina/>

24.- Prediabetes: What's Next for Your Lifestyle?., Pharmeasy., 2017. Disponible en: <https://pharmeasy.in/blog/prediabetes-whats-next-for-your-lifestyle/>

25.- ¿Qué es la Diabetes tipo 1?., UCSF. Disponible en: <https://dtc.ucsf.edu/es/tipos-de-diabetes/diabetes-tipo-1/compreension-de-la-diabetes-tipo-1/que-es-la-diabetes-tipo-1/>

26.- PDM., diabetes tipo 2., diciembre 17. Disponible en: <http://pdm.com.co/la-diabetes-tipo-2-podria-curarse-una-dieta-baja-calorias/>

27.- Que es diabetes., Diabetes Gestacional – Bebés de Madres Con Diabetes. Disponible en: <https://queesdiabetes2.com/diabetes-gestacional-bebes-de-madres-con-diabetes/>

28.- Castell Angeles., 11 síntomas de diabetes., Barcelona alternativa., 2012. Disponible en: <https://barcelonalternativa.es/11-sintomas-la-diabetes-tipo-2/>

29.- V. Govindasamy., VS Ronald., AN Abdullah., KR Ganesan Nathan., ZAC Ab Aziz., M. Abdullah., S. Musa., NH Abu Kasim., RR Bhone., Diferenciación de las células madre de la pulpa dental en agregados de tipo islote., Revista SAGE Journals., Vol 90, Issue 5., 18 de febrero de 2011. Disponible en:

<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034510396879>

30.- Guimarães E., Silva G., Farias T., Freitas B., Martins C., Fraga J., Conrado W., Ribeiro R., Flora C., Pereira M., El trasplante de células madre obtenido a partir de pulpa dental murina mejora el daño pancreático, la función renal y la neuropatía diabética dolorosa en el modelo diabético tipo 1 de ratón., Trasplante de células., Vol 22., Issue 12, pp. 2345 – 2354., 1 de diciembre de 2013. Disponible en;

<http://journals.sagepub.com/doi/10.3727/096368912X657972#articleCitationDownloadContainer>