



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

CÉLULAS MADRE EN ODONTOLOGÍA. REVISIÓN DE LA  
LITERATURA.

**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:

DENISE ZAPIEN BECERRA

TUTOR: Mtro. DAVID ALONSO TREJO REMIGIO

Cd. Mx.

2021



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.

## DEDICATORIAS

Quisiera agradecerles a todas las personas que han estado conmigo a lo largo de este camino por el apoyo, compañía, comprensión, por su reconocimiento en los días buenos y los consejos en los momentos difíciles, sin duda sin ustedes no lo hubiera logrado.

Primero que nada, a mi familia, a mis papas, mis abuelos, a Melisa, Alan, Ángel y Cynthia por siempre recordarme que puedo ser mejor cada día.

A Haymeé Millan mi amiga y confidente desde mi primer día en la facultad, gracias por siempre confiar en mí y por todo lo aprendido juntas.

A Lizbeth Martínez por su apoyo incondicional durante toda la carrera.

A Paulo por todo tu cariño y comprensión, por la luz que llegaste a darme cada día, siempre te lo agradeceré.

A Mariana y a Jacqueline por darle esa vibra bonita a las cosas y compartir conmigo el mejor año de mi carrera, la periférica.

A mis amigas de toda la vida Elizabeth y Ángeles que a pesar de la distancia siempre están al pendiente de cada paso que doy, mil gracias.

A todos mis profesores que gracias a el amor a su profesión han sembrado en mi inspiración y ganas de siempre querer aprender más. Gracias Dr. Héctor por confiar en mí, en mi capacidad y por todo lo que me enseñó sobre la Odontología y sobre la vida. A mi tutor el Mtro. David Trejo por guiarme en este proyecto.

Y sobre todo a mi amada Universidad cuna de mi aprendizaje y crecimiento profesional y personal. Por siempre UNAM.

# ÍNDICE

<b>DEDICATORIAS</b> .....	i
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	3
<b>1. CÉLULAS MADRE</b> .....	3
1.1 DEFINICIÓN.....	3
1.2 CLASIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN.....	4
<b>2. CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL</b> .....	9
2.1 CLASIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN.....	10
2.2 BANCO DE DIENTES .....	20
<b>3. INGENIERÍA TISULAR</b> .....	25
3.1 DEFINICIÓN.....	25
3.2 ELEMENTOS PARA LA INGENIERÍA TISULAR.....	25
<b>4. APLICACIÓN CLÍNICA EN ODONTOLOGÍA</b> .....	27
4.1 REGENERACIÓN EN PERIODONCIA.....	28
4.2 REGENERACIÓN EN ENDODONCIA .....	34
4.3 REGENERACIÓN EN CIRUGÍA.....	36
4.4 BIO-TOOTH.....	38
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	42
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	43
<b>OBJETIVOS</b> .....	44
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	45
<b>RESULTADOS</b> .....	46
<b>DISCUSIÓN</b> .....	47

**CONCLUSIÓN** ..... 49

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS** ..... 50

## INTRODUCCIÓN

La célula es la unidad anatómica y funcional principal de todos los organismos vivos, el cuerpo humano se compone de alrededor de 200 tipos de células que se desarrollan a partir de células madre. Las células madre son células indiferenciadas, inmaduras, autorrenovables y capaces de generar uno o más tipos de células diferenciadas, caracterizadas por propiedades esenciales como; su capacidad de autorrenovación, fundamentada en la proliferación ilimitada, en su conservación como células indiferenciadas, y su habilidad para generar diferentes tipos celulares (óseas, sanguíneas, epidérmicas, cutáneas, neuronas, etc.); se pueden clasificar de acuerdo a su potencial de diferenciación y de acuerdo a su origen.

Desde su descubrimiento, han ganado una gran atención por su capacidad de diferenciación y regeneración. La principal fuente de células madre se conocía como médula ósea. Sin embargo, se han descubierto diferentes fuentes para la obtención de células madre como por ejemplo las células madre de origen dental.

Desde el aislamiento de las células madre de la pulpa dental en el año 2000 la odontología ha despertado gran interés en el potencial terapéutico por su habilidad de diferenciarse en varios tipos de células como los odontoblastos, osteoblastos, adipocitos, condrocitos y células neurales. Existe evidencia científica in vivo e in vitro que ha mostrado la utilidad y viabilidad de estas células en el potencial terapéutico y regeneración de nuevos tejidos, así como también el aislamiento de otros tipos de células madre de origen dental siendo de las más importantes, las células madre de la pulpa dental (DPSC), células madre del ligamento periodontal (PLDSC), células madre de dientes deciduos exfoliados (SHED) células madre de la papila apical (SCAP) etc.

Por lo tanto, el presente trabajo busca mostrar el panorama de las investigaciones, estudios y experimentos científicos que buscan probar las posibles aplicaciones clínicas en el campo de la odontología regenerativa, así como el potencial terapéutico y la regeneración de nuevos tejidos, profundizando más en la regeneración periodontal, la regeneración en endodoncia y la regeneración ósea del complejo oro-facial.

# MARCO TEÓRICO

## 1. CÉLULAS MADRE

### 1.1 DEFINICIÓN

Por definición, una célula madre se refiere a una célula clonogénica relativamente indiferenciada que es capaz de autorenovarse y diferenciarse en múltiples linajes. Por lo tanto, se considera que una célula madre es capaz de propagarse y generar células madre hijas, mientras que su progenie tiene el potencial de diferenciarse y comprometerse con la maduración a lo largo de múltiples linajes, dando lugar a una variedad de tipos de células especializadas. Una célula madre puede sufrir una autorenovación prolongada o una diferenciación dependiendo de señales intrínsecas moduladas por factores extrínsecos en el nicho de las células madre. Las células madre se han aislado ahora de una amplia variedad de tejidos y tras su caracterización, estas poblaciones se han categorizado de acuerdo con su respectivo potencial de desarrollo.<sup>1</sup>

Recapitulando las principales características de las células madre son:

- Autorenovación (la capacidad de proliferar extensamente), para reemplazar células dañadas o para regenerar órganos.
- Clonalidad (generalmente derivada de una sola célula)
- Potencia (capacidad de diferenciarse en diferentes células).<sup>2</sup>



## 1.2 CLASIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN

Las células madre se clasifican de acuerdo a su potencial de diferenciación y basada en su origen.

Clasificación basada en el potencial de diferenciación: Las células madre se pueden clasificar de acuerdo con su potencia de diferenciación en 5 grupos: totipotentes, pluripotentes, multipotentes, oligopotentes y unipotentes.<sup>2</sup>

### Totipotentes

Las células totipotentes u omnipotentes pueden diferenciarse y dividirse en células de todo el organismo.<sup>3</sup> Son las células menos diferenciadas y se encuentran en el desarrollo temprano.<sup>2</sup> La totipotencia tiene el mayor potencial de diferenciación y permite que las células formen estructuras embrionarias y extraembrionarias.<sup>3</sup> El ovocito fertilizado y las células de las dos primeras divisiones son un ejemplo.<sup>2</sup>

### Pluripotentes

Las células madre pluripotentes pueden diferenciarse en células que surgen de las 3 capas germinales (ectodermo, endodermo y mesodermo) a partir de las cuales se desarrollan todos los tejidos y órganos. Las células madre pluripotentes llamadas células madre embrionarias (ESC) derivaron primero de la masa celular interna del blastocisto .<sup>2</sup>

### Multipotentes

Las células madre multipotentes se encuentran en la mayoría de los tejidos y se diferencian en células a partir de una sola capa germinal. Las células madre mesenquimales (MSC) son las células multipotentes más reconocidas. Pueden derivarse de una variedad de tejidos que incluyen médula ósea, tejido adiposo, hueso, sangre del cordón umbilical y sangre periférica. Las células

madre mesenquimales (MSC) se adhieren a las placas de cultivo celular y se caracterizan por marcadores celulares de superficie específicos. Estas células pueden diferenciar el tejido derivado del mesodermo, como el tejido adiposo, el hueso, el cartílago y el músculo.<sup>2</sup>

### Oligopotentes

Las células madre oligopotentes pueden autorenovarse y formar 2 o más linajes dentro de un tejido específico; por ejemplo, se ha informado que la superficie ocular del cerdo, incluida la córnea, contiene células madre oligopotentes que generan colonias individuales de células de la córnea y la conjuntiva.<sup>2</sup>

### Unipotentes

Las células madre unipotentes pueden autorrenovarse y diferenciarse en un solo tipo celular específico y formar un único linaje, como las células madre musculares, dando lugar a células musculares maduras y no a otras células.<sup>2</sup>

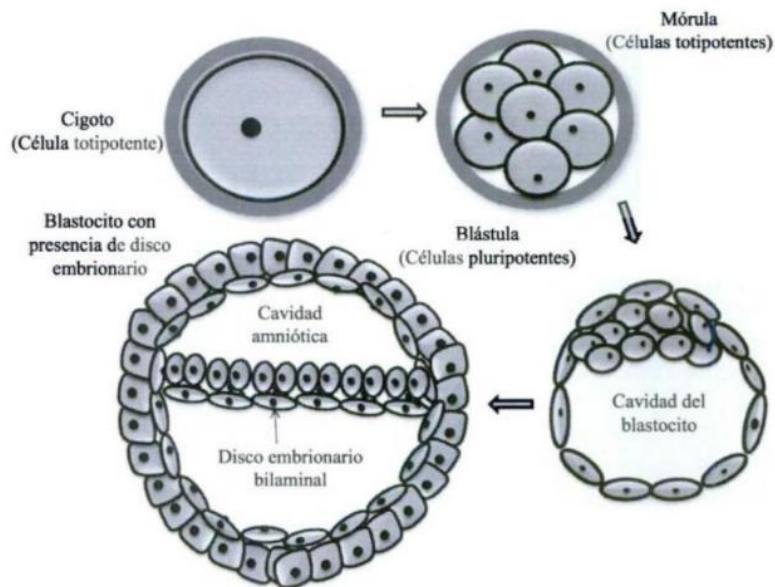


Fig.1 Etapas iniciales de la diferenciación embrionaria.<sup>4</sup>

Clasificación basada en su origen: Las células madre se pueden dividir a grandes rasgos en tres categorías: **células madre embrionarias**, **células madre adultas** (somáticas o posnatales) y más recientemente mediante manipulación genética, **células madre pluripotentes inducidas**.<sup>1</sup>

### Células madre embrionarias

Las células madre embrionarias (ESC) son pluripotentes, derivadas de la masa celular interna del blastocisto, una etapa del embrión preimplantacional, 5-6 días después de la fertilización. Estas células pueden diferenciarse en tejido de las 3 capas germinales primarias, pero también pueden mantenerse en un estado indiferenciado durante un período prolongado en cultivo. El blastocisto tiene 2 capas de células, es decir, la masa celular interna, que formará el embrión, y la masa celular externa, denominada trofoblastos, que formará la placenta. Las células de la capa celular interna se separan de los trofoblastos y se transfieren a una placa de cultivo en condiciones muy específicas para desarrollar líneas de células madre embrionarias (ESC).<sup>2</sup>

### Células madre adultas

Las células madre adultas se derivan de tejido adulto. Los ejemplos incluyen células madre mesenquimales (MSC), así como células madre derivadas de tejido de la placenta. Tienen una capacidad de diferenciación limitada, aunque estas células se han diferenciado en tejido de diferentes capas de células germinales in vitro. Las células madre adultas son una ventaja, ya que las células autólogas no plantean problemas de rechazo o controversias éticas.<sup>2</sup>

Las células madre mesenquimales (MSC) son células madre adultas capaces de dar lugar a múltiples tipos de células especializadas. Debido a su amplia distribución en muchos tejidos adultos, incluidos los de origen dental, las MSC se han convertido en un objetivo atractivo para su uso en la regeneración.<sup>1</sup>

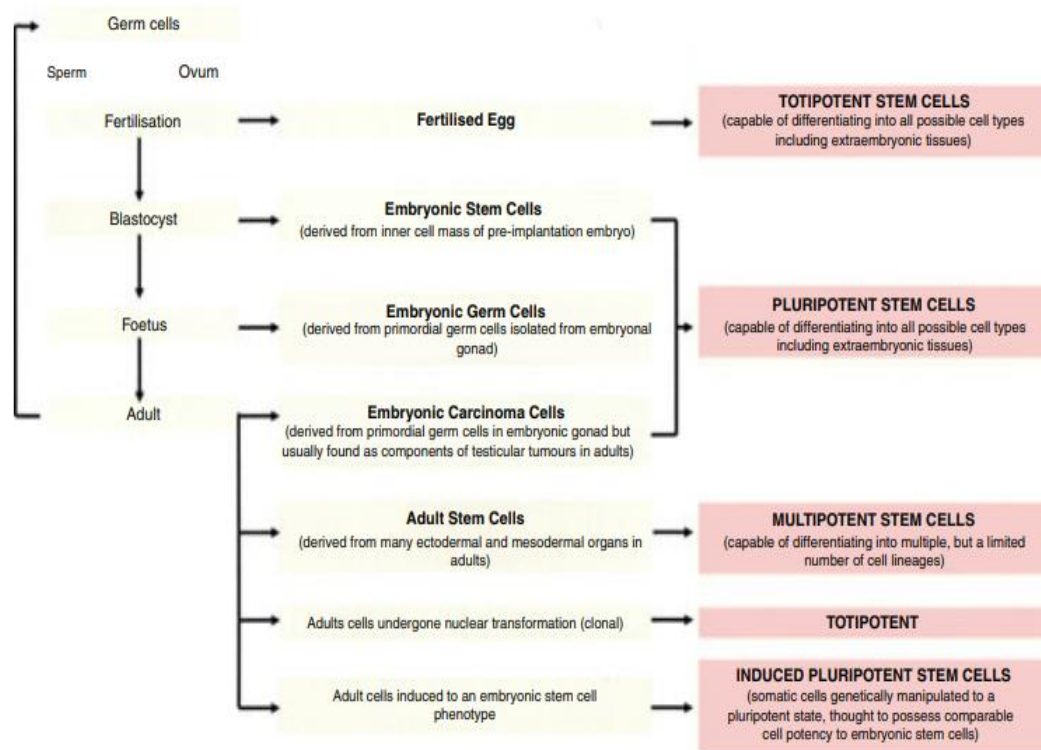


Fig. 2 Derivación de poblaciones de células madre. 1

## Células madre pluripotentes inducidas (iPSC)

Las células madre pluripotentes tienen la capacidad de convertirse en casi todos los tipos de células; sin embargo, carecen de la capacidad de contribuir al tejido embrionario adicional y, por lo tanto, no pueden convertirse en animales fetales o adultos. A pesar de su potencial de desarrollo, el uso de embriones para obtener líneas de células madre embrionarias humanas plantea serias preocupaciones éticas, que recientemente impulsaron esfuerzos para reprogramar genéticamente las células somáticas para volver a su estado pluripotente.<sup>1</sup>

En el año 2006, Shinya Yamanaka demostraba en ratones que la simple introducción de cuatro genes en células somáticas diferenciadas eran capaces de revertir todo el programa de diferenciación y reprogramar las células a un estadio embrionario.<sup>5</sup>

Estos esfuerzos dieron como resultado la generación de células madre pluripotentes inducidas (iPSC) que son funcionalmente similares a las células madre embrionarias. Estas células son comparables a las células madre embrionarias en su morfología, perfiles de expresión génica, capacidad de proliferación y diferenciación.

Sin embargo, las manipulaciones genéticas fundamentales para la generación de células madre pluripotentes inducidas (iPSC) pueden alterar su crecimiento y desarrollo, lo que obstaculiza la predictibilidad de su comportamiento y, como tal, limita su uso con fines de regeneración de tejidos. Además, las células madre embrionarias y las células madre pluripotentes inducidas (iPSC) tienen propiedades tumorigénicas, lo que plantea un importante desafío de seguridad en el uso de estas células para terapias regenerativas.<sup>1</sup>

Las células madre pluripotentes inducidas (iPSC) fueron objeto del Premio Nobel de Fisiología o Medicina de 2012 otorgado a Shinya Yamanaka y John Gurdon, quienes demostraron que las células madre pluripotentes inducidas (iPSC) recuperan muchos aspectos de las células madre embrionarias. Esto abrió la puerta de par en par a la futura terapia con células madre; sin embargo, en este momento, las células madre inducibles todavía se encuentran en desarrollo clínico y, aunque se están realizando ensayos clínicos en Japón, puede pasar mucho más tiempo antes de que estén disponibles tratamientos internacionales de iPSC más amplios.<sup>6</sup>

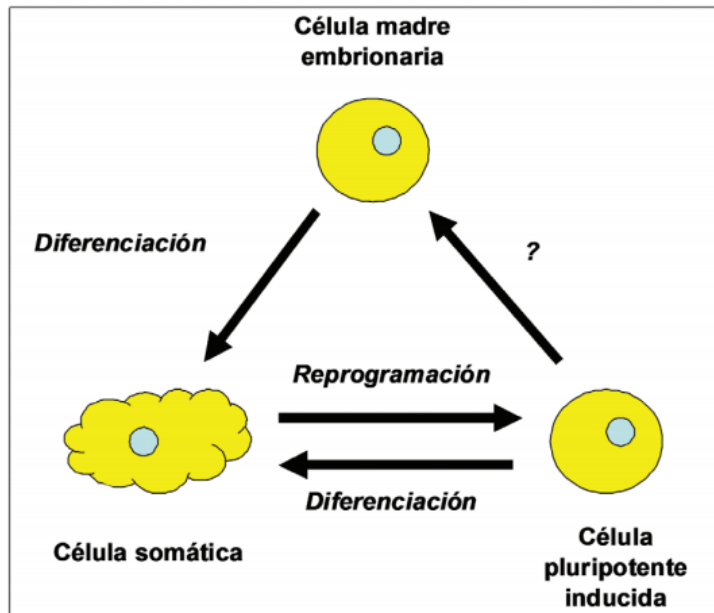


Fig. 3. Comportamiento de una célula madre embrionaria tras diferenciación a célula somática y posibilidad de reprogramarse a célula pluripotente inducida, así como transdiferenciación posterior de estas células a otros tipos de células somáticas.<sup>5</sup>

## 2. CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL

Las células madre son células indiferenciadas ubicadas en diferentes partes del cuerpo. El papel principal de las células madre es restaurar los tejidos lesionados. Desde el descubrimiento de las células madre, han ganado una gran atención por su capacidad de diferenciación y regeneración. La principal fuente de células madre se conocía como médula ósea. Sin embargo, se descubrieron diferentes fuentes para la obtención de células madre. Los tejidos dentales, una nueva fuente de células madre, proporcionan células que tienen características de células madre mesenquimales, capacidad de regeneración, capacidad de diferenciación multilínea y características inmunomoduladoras.<sup>7</sup>

Las células madre mesenquimales (MSC) en los dientes se han explorado como células vitales para la medicina dental basada en células madre. Hasta la fecha, se han aislado varias poblaciones de células madre mesenquimales (MSC) originadas a partir de tejido odontogénico y se han caracterizado por su expresión de marcadores de superficie de células madre mesenquimales (MSC) y su capacidad de diferenciación multilineaje.<sup>8</sup>

## **2.1 CLASIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN**

Las células madre de origen dental se encuentran principalmente en la pulpa dental de los dientes deciduos o adultos, el tejido conectivo circundante y el hueso alveolar, aunque otros sitios orales también contienen poblaciones de células madre.<sup>6</sup> Hasta ahora, se han aislado seis tipos diferentes de células madre dentales (DSC).<sup>9</sup>

Se clasifican en dos grupos principales, células madre relacionadas con la pulpa dental y células madre relacionadas con el periodonto. Las células madre relacionadas con la pulpa dental son: células madre de la pulpa dental (DPSC); células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED); células madre de la papila apical (SCAP) .<sup>9</sup>

Los relacionados con el periodonto son: células madre del ligamento periodontal (PDLSC), células madre de folículos dentales (DFSC), células madre mesenquimatosas gingivales (GMSC).<sup>9</sup>

Zeitlin menciona también el aislamiento de células madre de hueso alveolar (ABSC) y células progenitoras de gérmenes dentales (TGPC).<sup>6</sup>

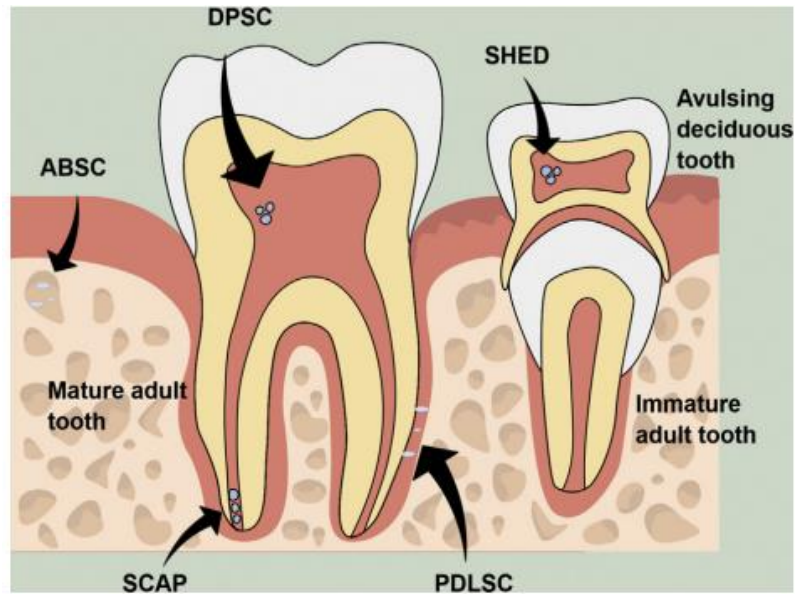


Fig.4 Fuentes de tejido dental de células madre terapéuticamente relevantes. SHED células madre de dientes deciduos exfoliados humanos; DPSC, células madre de pulpa dental; SCAP, células madre de la papila apical; PDLSC, células madre del ligamento periodontal; ABSC, células madre de hueso alveolar; TGPC, células madre de gérmenes dentales; DFSC, células madre de folículos dentales. 6

### Células madre de la pulpa dental (DPSC).

Las células madre de la pulpa dental (DPSC) fueron aisladas por primera vez de la pulpa dental en el año 2000.<sup>7</sup> El primer informe sobre las células madre de la pulpa dental (DPSC) reveló que sus propiedades de células madre son comparables a las de las células estromales de la médula ósea (BMSC) in vitro e in vivo. <sup>10</sup> Además los marcadores de células madre embrionarias como TRA1-60, nanog, Oct-4 y TRA-1-80-1 se expresan en células madre de la pulpa dental (DPSC).<sup>7</sup>

Las células madre de la pulpa dental (DPSC), son células adherentes, poseen una morfología de fibroblastos y tienen capacidad de diferenciación en multilínea.<sup>7</sup> Entre sus características destacan el alto potencial de crecimiento, la capacidad de diferenciarse en tejidos del ectodermo y del mesodermo, así



como regenerar dentina y pulpa in vivo,<sup>11</sup> pueden sufrir diferenciación odontogénica, miogénica, adipogénica, osteogénica y neurogénica,<sup>7</sup> comparadas con las células de la médula ósea.<sup>11</sup>

Esta capacidad de diferenciación en células similares a odontoblastos fue revelada por el aislamiento de las células madre de la pulpa dental (DPSC) mezcladas con un andamio de hidroxiapatita/fosfato tricálcico (HA/TCP) en donde se pudo regenerar una estructura similar a la dentina/pulpa mediante su trasplante en ratones inmunodeprimidos.<sup>10</sup>

Se ha comprobado que maduran en diferentes grados, demostrando una jerarquía progenitora; por lo tanto, algunas células son más eficientes que otras en la reparación de tejidos.<sup>11</sup> Aparte de la capacidad de diferenciación, tienen características inmunomoduladoras, se ha informado que la inmunogenicidad de las células madre de la pulpa dental (DPSC) es bastante baja.<sup>7</sup> Su criopreservación es bastante segura.<sup>7</sup>

Estas células también secretan insulina por estímulos de glucosa. Pueden ser un candidato prometedor para el tratamiento de la diabetes en el futuro. Además, pueden secretar agentes antiapoptóticos y proangiogénicos. Esta característica de las células madre de la pulpa dental (DPSC) puede ser útil en la terapia del infarto de miocardio.<sup>7</sup>

Células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED).

La pulpa de los dientes deciduos exfoliados humanos es otra fuente de células madre dentales.<sup>7</sup> Las células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED) son una fuente abundante de tejido para aplicaciones clínicas, se encuentran en dientes temporales, presentan gran proliferación celular y mayor autorrenovación <sup>12</sup>, exhiben una tasa de proliferación mucho mayor que las células madre de la pulpa dental (DPSC), las células madre mesenquimales adultas (MSC) y las células madre del ligamento periodontal

(PDLSC). La naturaleza única de las células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED) resulta de su carácter de DPSC inmaduros<sup>12</sup> es por esa razón que también se denominan así " DPSC inmaduros ".<sup>7</sup> La morfología de estas células es como la de los fibroblastos que es similar a células madre de la pulpa dental (DPSC) y células madre del folículo dental (DFPSC). La proliferación de estas células es muy alta incluso que las células madre de la médula ósea y pueden generar agrupaciones en forma de esfera.<sup>7</sup> Se informó que las células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED) se diferencian en condrocitos, miocitos, adipocitos, osteoblastos e incluso células similares a neuronas <sup>7</sup>, son incapaces de regenerar un complejo dentino-pulpar por sí solas como lo hacen las células de la pulpa dental (DPSC). Cuentan con niveles altos de fosfatasa alcalina y osteocalcina, pero no se diferencian directamente en osteoblastos, sino que son osteoinductoras, también son importantes durante la erupción. Por la característica angiogénica y adiposa son capaces de dar lugar a sangre funcional y regenerar una pulpa vital.<sup>11,13</sup>

Cuadro 1. Potencial de diferenciación de las células madre pulpares (DPSC Y SHED).<sup>11</sup>

<b>Potencial de diferenciación</b>	<b>Líneas de diferenciación</b>	<b>Tejido desarrollado</b>
<i>Angiogénico</i>	VEGF Y VEGFR2*	Angiogénesis y homeostasis Pulpa dental
<i>Osteogénico</i>	Osteoblastos, osteocalcina, osteonectina, osteopontina, fosfatasa alcalina	Osteogénesis, hueso alveolar, hueso compacto Cristales similares al esmalte
<i>Odontogénico</i>	Odontoblastos, colágeno, fibroblastos, cementoblastos.	Odontogénesis Predentina, dentina similar (dentinogénesis) Complejo dentino-pulpar Tejidos periodontales (ligamento periodontal, cemento dental y raíz dental).
<i>Adipogénico</i>	Adipocitos	
<i>Condrogénico</i>	Condrocitos	

<i>Neurogénico</i>	Células neuronales(oligodendrocitos y neuronas activas) factores neurotrópicos	
<i>Miogénico</i>	Miocitos	

\**VEGFR2 = receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular. Responde a la señalización por VEGF*

Cuadro 2. Odontología regenerativa y estudios in vivo con células madre pulpaes en animales 11

<b>Autor</b>	<b>Célula</b>	<b>Andamio</b>	<b>Animal</b>	<b>Ectópico/ ortotópico</b>	<b>Resultado</b>
2000 2002 <i>Gronthos et al.</i> 2003 <i>Batouli et al.</i>	DPSC	Hidroxiapatita/ fosfato tricálcico	Ratones inmuno-comprometidos	Ectópico: superficie dorsal subcutánea	Complejo dentino-pulpar similar: odontoblastos, valvas sanguíneas, fibras de colágeno, osteoblastos, tejido pulpar similar, fibroblastos similares, adipocitos, marcadores neuronales y autorrenovación, VEGF, dentina de reparación similar, dentinogenesis.
2003 <i>Miura et al.</i>	SHED	Hidroxiapatita/ fosfato tricálcico	Ratones inmuno-comprometidos	Ectópico: cerebro	Mayor proliferación, incremento en la duplicación celular, se diferencian en odontoblastos. No pueden regenerar un complejo dentino pulpar similar, pero inducen a la formación ósea(osteoinductor) Expresan marcadores de células neuronales
2005 <i>Shi et al.</i>	DPSC SHED PDLSC	Hidroxiapatita/ fosfato tricálcico	Ratones inmuno-comprometidos	Ectópico: superficie dorsal subcutánea	Marcadores asociados a células mesenquimales, dentina, hueso, musculo, tejido nervioso y endotelio

					Odontoblastos, matriz dentinal, cemento, tejido conectivo, tejido similar al ligamento periodontal
2008 <i>Cordeiro et al</i>	SHEDs	Andamio bio-degradable de porción dental	Ratones inmuno-comprometidos	Ectópico: superficie dorsal subcutánea	Tejido pulpar similar, valvas sanguíneas, células endoteliales
2010 <i>Sakai et al.</i>	SHEDs	Andamio bio-degradable de porción dental con tetraciclina	Ratones inmuno-comprometidos	Ectópico: superficie subcutánea	Tejido pulpar similar, valvas sanguíneas, células endoteliales, odontoblastos Angiogénesis (VEGFR2) Dentina tubular nueva
2010 <i>Huang et al.</i>	DPSCs	Andamio de porción radicular con MTA	Ratón inmuno-comprometido	Ortotópico: fragmento radicular con canal radicular vacío	Tejido conectivo y adiposo en la zona del canal radicular, regeneración de tejido pulpar similar, formación de dentina y odontoblastos Marcadores odontogénicos
2010 <i>Yamada et al.</i>	DPSCs SHEDs	Plasma rico en plaquetas (PRP) Células madre de la médula ósea Hidroxiapatita	Perros con implantes dentales	Ortotópico: hueso alveolar de la mandíbula	Maduración ósea Vascularización
2011 <i>Rosa et al.</i>	SHEDs	Hidrogel inyectable (PuraMatrix) tetraciclina	Ratón inmuno-comprometido	Ortotópico: canal radicular dental	Tejido pulpar similar Dentina nueva
2012 <i>Khorsand et al.</i>	DPSCs PSLSC	Esponja de sustituto óseo (Bio-Oss)	Perros con periodontitis	Ortotópico: hueso alveolar y tejidos periodontales	Regeneración de cemento, hueso y ligamento periodontal

2013 <i>Rosa et al.</i>	SHEDs	Andamio de porción radicular con hidrogel inyectable (PuraMatrix) y con colágeno	Ratón inmuno-comprometido	Ortotópico: canal radicular dental Ectópico: superficie dorsal subcutánea	Marcadores de diferenciación odontoblástica Tejido conectivo con valvas sanguíneas(predentina) Mayor densidad de vasos sanguíneos Dentina nueva a lo largo del canal radicular
2015 <i>Dissanayaka et al.</i>	DPSCs	Andamio de hidrogel inyectable (PuraMatrix) Células madre del cordón umbilical	Ratón inmuno-comprometido	Ortotópico: canal radicular dental Ectópico: superficie dorsal subcutánea	VEGF-angiogénesis Mayor organización de valvas sanguíneas Pulpa similar Predentina Osteoblastos
2016 <i>Hu et al.</i>	DPSCs	Hidroxiapatita/ Fosfato tricálcico	Porcino con periodontitis	Ortotópico: hueso alveolar	Regeneración del hueso alveolar Cemento similar
2016 <i>Kim et al.</i>	SHEDs	Matriz extracelular (Matrigel) Células madre del condón umbilical	Ratón inmuno-comprometido	Ectópico: superficie subcutánea	Eritrocitos Leucocitos Valvas sanguíneas Mayor proliferación de células endoteliales Vascularización Angiogénesis VEGF

### Células madre del ligamento periodontal (PDLCS).

En 2004, en la población de células madre mesenquimales (MSC) se identificó por primera vez en células derivadas de tejido periodontal. Después de eso, muchos investigadores también lograron aislar células madre del ligamento periodontal (PDLSC) no solo de humanos sino también de animales, y las caracterizaron en detalle.<sup>14</sup> La digestión enzimática se puede utilizar para obtener las células del ligamento periodontal, así como técnicas de cultivo. Se demostró que las células obtenidas del ligamento periodontal presentan

características de células madre mesenquimales (MSC). Marcadores específicos para MSC, CD73, CD44, CD29 y CD10 son expresado en células madre del ligamento periodontal (PDLSC).<sup>7</sup>

Sorprendentemente, las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) humanas revelaron un mayor potencial de crecimiento que las células madre mesenquimales (MSC) derivadas de la médula ósea humana (BMMSC) y las células madre de la pulpa dental humana (DPSC). Su alto potencial de autorrenovación se asocia con la carga mecánica; el tejido periodontal está continuamente expuesto a la fuerza mecánica causada por la masticación u oclusión y las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) sometidos a tensión mecánica estática promovieron su tasa de proliferación.<sup>14</sup>

El tejido periodontal está formado principalmente por células mesenquimales derivadas de folículos dentales, por lo que se ha informado que las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) poseen la capacidad de diferenciarse en varios tipos de células de linaje mesenquimatoso podría diferenciarse en células similares a osteoblastos que formaron nódulos mineralizados positivos para rojo de alizarina y genes marcadores relacionados con el hueso altamente expresados. También revelaron el potencial de diferenciación en células similares a adipocitos que contenían gotitas de lípidos en su citoplasma y genes marcadores relacionados con la grasa altamente expresados. Xu menciona que se logró generar células similares a condrocitos a partir de células madre del ligamento periodontal (PDLSC), así como células similares a osteoblastos y adipocitos.<sup>14</sup> El ligamento periodontal (PDL) se deriva del mesénquima dental derivado de la cresta neural craneal y las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) se originan a partir de una población migratoria de células derivadas de la cresta neural. Dado que tanto las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) como las células neurales se derivan de la misma cresta neural embriológica, es más probable que las células madre del ligamento periodontal

(PDLSC) se diferencien en células neurales que otros tipos de células madre.<sup>14,7</sup>

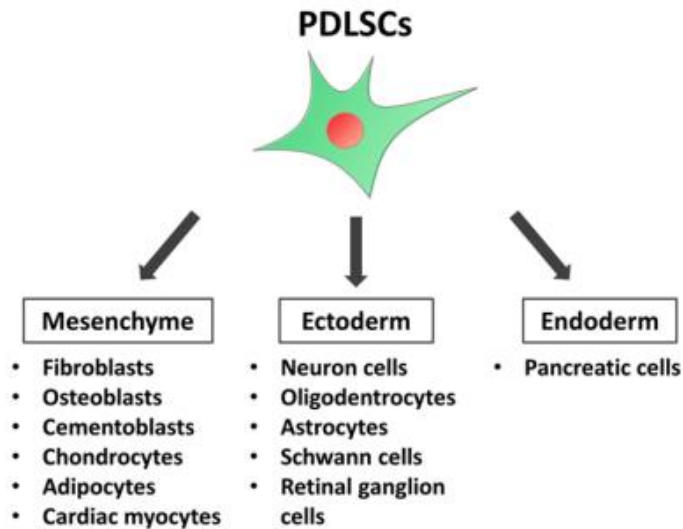


Fig.5 Las PDLSC se diferencian en células de linaje mesenquimatoso, ectodermo y endodermo in vitro, lo que sugiere su multipotencia.<sup>14</sup>

### Células madre de la papila apical (SCAP).

Como su nombre lo indica, estas células madre se encuentran en la papila apical del diente. Este tejido de la papila es básicamente la parte apical de la papila dental anteriormente conocida, que era la contraparte mesenquimatoso involucrada en el proceso interactivo mesenquimatoso epitelial que condujo al desarrollo de los dientes.<sup>15</sup> Se ha demostrado que células madre de la papila apical (SCAP) se diferencia cuando es estimulado por medios inductivos respectivos a células similares a osteo / odontoblastos, adipocitos y condroblastos.<sup>15,7</sup>

La papila apical y, en consecuencia, las células madre de la papila apical (SCAP) se pueden aislar fácilmente después de la extracción del diente

separando el tejido en las puntas de las raíces en desarrollo con unas pinzas. Luego, el tejido se disecciona en trozos más pequeños y se digiere con un cóctel de colagenasa y dispasa en un protocolo bien establecido para aislar suspensiones de células individuales que luego se cultivan (Fig.6).<sup>15</sup>

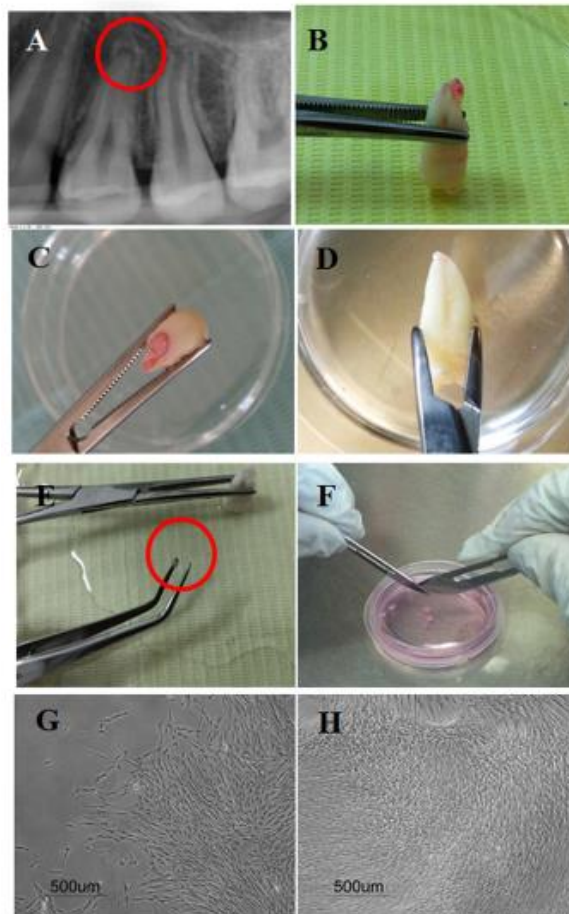


Fig. 6 Aislamiento de células madre de la papila apical que muestra: (A) Radiografías periapicales de las papilas apicales relacionadas con el ápice de un premolar humano; (B – D) Premolares extraídos con papilas apicales intactas. (E) La papila apical se separó suavemente con unas pinzas; (F) Disección con bisturí de tejido de papila apical en placa de cultivo celular con medio de cultivo. (G, H) SCAP humano cultivado a después del cultivo primario a los 8 y 21 días, respectivamente.<sup>15</sup>



## Células madre del folículo dental (DFSC).

Las células ectomesenquimales crean el folículo dental. El folículo dental contiene varios tipos de células precursoras de odontoblastos, cementoblastos y células del ligamento periodontal. Las células progenitoras se obtienen del folículo dentario de terceros molares humanos. Presentan características de células madre mesenquimales (MSC) con antígenos de superficie y capacidad de proliferación. Las células madre del folículo dental (DFSC) expresan marcadores de células madre mesenquimales como CD90, CD59, CD29 y CD13. Sin embargo, la expresión de marcadores de células madre hematopoyéticas no se observa. Si reciben los estímulos adecuados, las células madre del folículo dental (DFSC) pueden sufrir una diferenciación osteogénica, adipogénica y condrogénica. Debido a que se derivan de tejido en desarrollo, su plasticidad es mucho mejor que la de otras células madre dentales. También tienen propiedades inmunosupresoras. Se informó que pueden secretar TGF- $\beta$  e IL-6. Se considera que las células madre del folículo dental (DFSC) son candidatos convenientes para el tratamiento de enfermedades crónicas para tratamiento de la enfermedad inflamatoria.<sup>7</sup>

## **2.2 BANCO DE DIENTES**

Durante la última década, un servicio que alguna vez fue exclusiva de las clínicas hospitalarias, se está volviendo cada vez más popular en el consultorio dental. La recolección de células madre para almacenamiento a largo plazo para uso terapéutico es un servicio que ahora brindan los dentistas. Más exactamente, el dentista recolecta los dientes y los servicios de “banco de dientes” aíslan y conservan las células madre dentro de la pulpa para el beneficio futuro del paciente.<sup>6</sup>

Los servicios de banco de dientes se centran en células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED) y células madre de la pulpa dental (DPSC).<sup>6</sup> El número actual de bancos de células madre dentales con licencia es muy bajo. Históricamente, el primero se construyó en Japón en la Universidad de Hiroshima en 2005.<sup>9</sup>

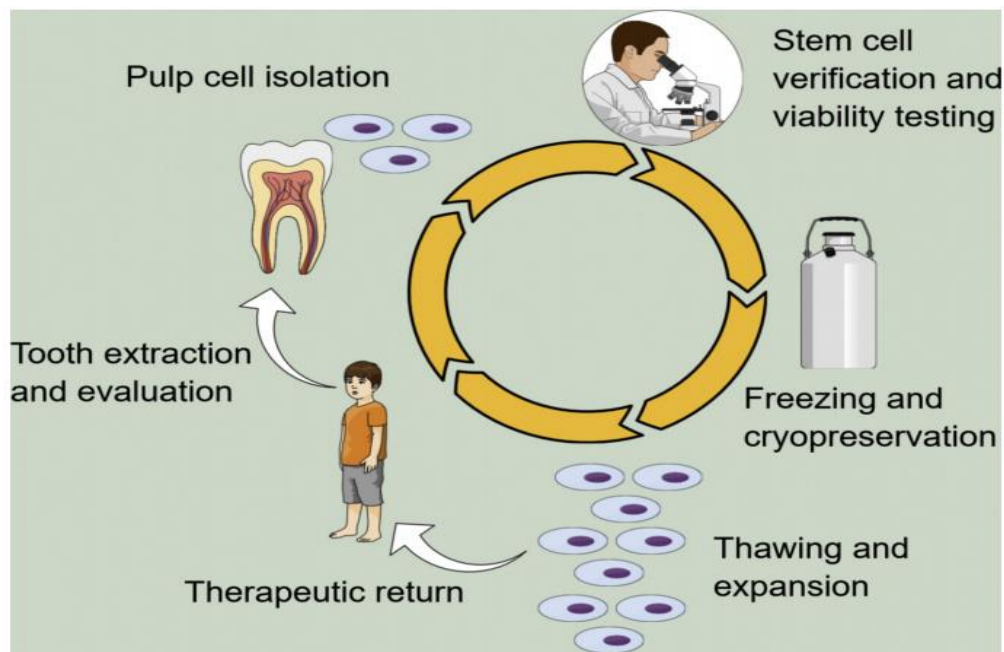


Fig.7 Representación esquemática del proceso de banco de células madre dentales. Los dientes perdidos por exfoliación, avulsión o extracción se conservan en un medio de transporte hasta la instalación del banco de dientes. Se extrae la pulpa dental y se aíslan las células madre, se analizan varios parámetros, incluida la viabilidad, y luego se congelan. Las células madre congeladas se almacenan finalmente en nitrógeno líquido hasta que el donante las requiera. En ese momento, se pueden descongelar y cultivar hasta un número de células terapéuticamente apropiado antes de devolverlos al donante.<sup>6</sup>

### Procedimiento.

Recolección: En general, cada diente vital, tanto temporal como permanente, puede ser una fuente potencial de células madre relacionadas con la cavidad bucal.<sup>9</sup> Muchos protocolos de recolección para bancos de células madre

dentales son similares, pero existen algunas diferencias notables e importantes tanto en los requisitos como en el procesamiento de las muestras. La mayoría de los servicios recomiendan que un dentista extraiga el diente temporal tan pronto como esté suelto.<sup>6</sup> Cuanto más tiempo transcurre desde la extracción del diente, se observa la menor eficiencia de recuperación de la celda después de la descongelación.<sup>9</sup> Una vez que se ha extraído o exfoliado un diente, el almacenamiento para el transporte tiene el mayor impacto en la pulpa viva y, por lo tanto, en la supervivencia de las células madre.<sup>6</sup>

Transporte: . De los servicios de banco de dientes que describen el medio de transporte, predominan las soluciones salinas equilibradas, como la solución salina tamponada con fosfato (PBS) o la solución salina tamponada con Hanks (HBSS), con mención de nutrientes no definidos.<sup>6</sup> Los tiempos que varían desde la noche a la mañana hasta las 48 h se presentan como tiempos máximos de transporte desde la extracción del diente hasta la recepción por parte del banco.<sup>6</sup>

Aislamiento y expansión de las células: Para aislar las células de la pulpa dental, existen dos enfoques. Las células madre de la pulpa dental (SHED, DPSC) se pueden aislar mediante un método de digestión enzimática (DE) o un método de crecimiento espontáneo (OG). Para realizar el primer método, los fragmentos de tejido pulpar se digieren sumergiéndolos en una solución de enzimas colagenasa tipo I y dispasa, o enzima tripsina para obtener una suspensión unicelular. El segundo enfoque, por otro lado, se basa en un sobrecrecimiento espontáneo de células madre.<sup>9</sup> es un protocolo más simple pero más largo donde el tejido de la pulpa se macera y luego se coloca en un recipiente de cultivo en una solución salina balanceada con los nutrientes apropiados para mantener el tallo. Las células emigran del tejido y establecen colonias en la superficie del cultivo de plástico.<sup>6</sup> Fig.8

Criopresevación: La criopreservación es un proceso de mantenimiento de la viabilidad de células y tejidos mediante su congelación y almacenamiento a temperaturas bajo cero, cuando no se producen reacciones bioquímicas. Las células madre dentales (DSC) pueden estar sujetos a un daño irreversible durante el proceso de congelación o descongelación, conocido como daño por congelación. Un mecanismo exacto es poco conocido, pero en general, los cambios irreversibles en las células madre dentales (DSC) se explican por la formación extracelular e intracelular de cristales de hielo. Hay dos mecanismos clave. El primero ocurre cuando las células madre dentales (DSC) se enfrían lentamente y el cristal de hielo extracelular provoca una salida osmótica de agua de las células. Este mecanismo aumenta la concentración de solutos intracelulares, lo que puede provocar un daño osmótico debido a la toxicidad del soluto. El otro ocurre cuando las células madre dentales (DSC) se enfrían rápidamente. Por eso, no hay tiempo suficiente para que el agua salga de las células y la formación intracelular de los cristales de hielo provoca daños mecánicos y estructurales en las células. Otro estrés asociado al congelamiento es la creación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que son posibles desencadenantes de la apoptosis .9

Para evitar eso, hay un agente crioprotector (CPA) incorporado en el medio de congelación para proteger las células madre dentales (DSC) durante el proceso de congelación y descongelación. Los principales efectos de los agentes crioprotectores (CPA) son optimizar la velocidad de enfriamiento y bloquear la formación de cristales de hielo al unirse a los núcleos y ralentizar el crecimiento de los cristales de hielo .9

Los crioprotectores (CPA) utilizados actualmente se dividen en dos grupos principales. El primero son las sustancias de bajo peso molecular, por ejemplo, glicerol, etilen (propilenglicol), dimetilsulfóxido (DMSO), que pueden penetrar la membrana citoplásmica de una célula, prevenir la formación de núcleos de cristales de hielo y ralentizar el crecimiento de los cristales de hielo dentro de

las células. Por el contrario, el segundo grupo incluye sustancias con alto peso molecular, por ejemplo, dextrano, almidón de hidroxietilo (HES), polivinilpirrolidona y alcohol polivinílico.<sup>9</sup>

El medio de congelación que contiene dimetilsulfóxido (DMSO) como el crioprotector (CPA) se ha utilizado ampliamente tanto in vitro como in vivo, por su alta eficacia en la protección celular. <sup>9</sup> la combinación de dimetilsulfóxido (DMSO) y almidón de hidroxietilo (HES) se ha documentado como una alternativa eficaz en la criopreservación de células madre .<sup>9</sup>

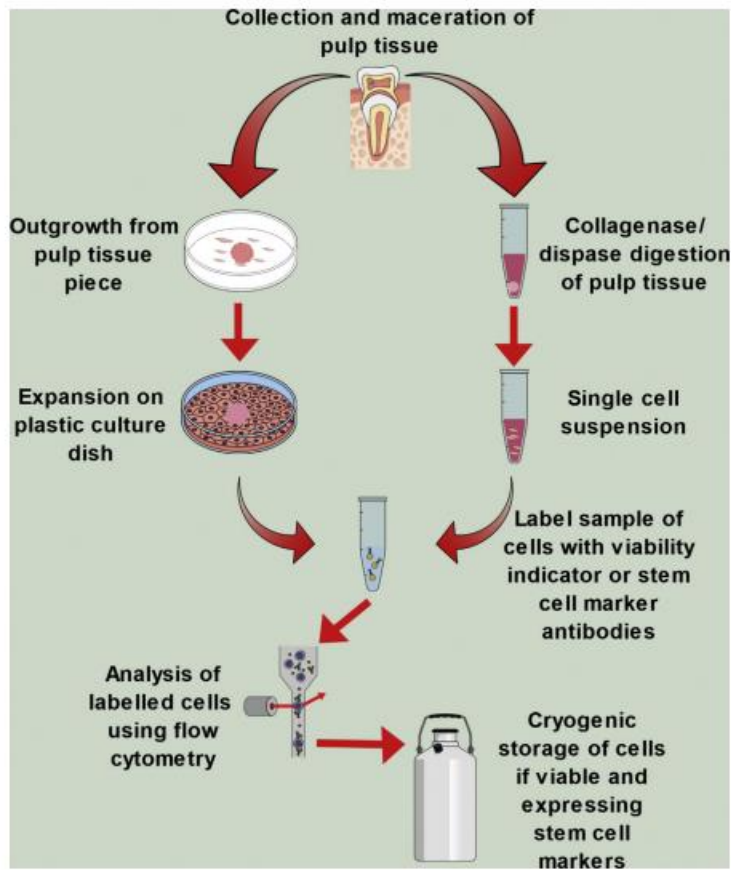


Fig. 8 Resumen de los procesos de aislamiento de células madre de la pulpa dental. Las células madre se recolectan rutinariamente del tejido pulpar, por crecimiento de tejido (izquierda) o digestión enzimática (derecha).<sup>6</sup>

### 3. INGENIERÍA TISULAR

#### 3.1 DEFINICIÓN

Langer y Vacanti, introdujeron por primera vez en 1993, el término "ingeniería de tejidos" <sup>16</sup> . Los principales objetivos de este novedoso campo están encaminados a la regeneración, reparación o reemplazo bioartificial de tejidos y órganos propios del cuerpo humano, que han sido dañados por diversos factores, tales como trauma, quemaduras, por enfermedades adquiridas como el cáncer o ciertas anomalías congénitas. Aunque la investigación en lo que hoy se denomina Ingeniería Tisular comenzó aproximadamente en 1987, desde sus orígenes, su desarrollo ha sido espectacular y la construcción de tejidos para su uso en medicina empieza a configurarse, no solo como una línea de investigación fundamental y prioritaria en las universidades y hospitales, sino también en compañías privadas.<sup>17</sup>

#### 3.2 ELEMENTOS PARA LA INGENIERIA TISULAR

La Ingeniería Tisular se basa principalmente en tres componentes fundamentales: 1) Células, 2) Andamios y 3) Biomoléculas , inductores o factores de crecimiento.<sup>17,16, Fig 9</sup>

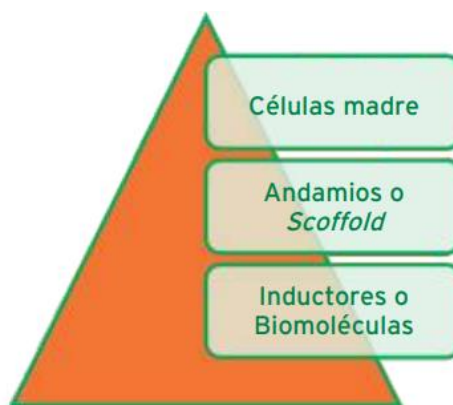


Fig. 9 Componentes principales que se usan en ingeniería tisular para formar nuevo tejido de laboratorio .<sup>17</sup>

Células: 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. 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 con posterioridad 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. Se trata por lo tanto de células madre capaces de dar origen a células hijas más diferenciadas. Aunque no existe acuerdo universal sobre lo que es exactamente una célula madre, suele aceptarse que son aquellas células que poseen la capacidad de auto-renovarse sin límite, y que son capaces de originar células hijas destinadas a la diferenciación terminal.<sup>17</sup>

Los tipos de fuentes celulares influyen enormemente en la ingeniería tisular (TE). Los recursos de células autólogas (células del paciente), alogénicas (distintas de las células del paciente) o xenogénicas (derivadas de células animales) son los tres tipos importantes considerados en la ingeniería tisular (TE). De estos, las células xenogénicas se consideran las menos seguras, ya que ha habido informes de la presencia de retrovirus endógenos porcinos en cerdos. Aunque seguras para la ingeniería tisular (TE), las células autólogas mostraron dificultad para recolectar lo suficiente en casos de pacientes de edad avanzada o gravemente enfermos. Las células alogénicas son las más adecuadas para la ingeniería de tejidos debido a la poderosa secreción de factores de crecimiento, pero las células alimentadoras xenogénicas se utilizan para la ingeniería.<sup>16</sup>

Andamios: Se han optimizado muchas formas con respecto a la preparación del andamio, la consistencia del material, la vascularización, etc. Una matriz extracelular 3D secretada por los tejidos residentes es como un andamio,

ayuda en la síntesis de tejidos a través de varias señales moleculares en el curso de la regeneración con la composición molecular requerida, actividades fisiológicas y resistencia mecánica. Un andamio debe ser lo suficientemente poroso para un suministro adecuado de nutrientes; Además, la formación de neovasculatura también necesita estos microporos.<sup>16</sup>

Factores de crecimiento: Una amplia gama de proteínas de factores de crecimiento desempeña un papel vital en el crecimiento, la diferenciación y la proliferación celular. Estos pueden ser autocrinos o paracrinos liberados de forma endógena. En la actualidad, los factores de crecimiento más utilizados son las proteínas morfogénicas óseas (BMP) , los factores básicos de crecimiento de fibroblastos (bFGF, bFGF-2) , el factor de crecimiento epitelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF) que es esencial para el suministro de oxígeno y nutrientes a las células en la construcción.<sup>16</sup>

#### **4. APLICACIÓN CLÍNICA EN ODONTOLOGÍA**

La medicina regenerativa es una tecnología biomédica con resultados prometedores<sup>18</sup>, es un campo emergente de la ciencia que abarca los principios de la biología celular, la biología del desarrollo y la ciencia de biomateriales para generar nuevas estructuras necesarias y reemplazar la pérdida o los tejidos dañados, permite tener un enfoque alternativo a los tratamientos actuales , que pueden ayudar a aliviar las carencias de las opciones terapéuticas convencionales de la regeneración de estructuras dentales vitales y funcionales. El concepto se ha integrado en la investigación y las aplicaciones de la odontología regenerativa, incluyendo periodoncia, endodoncia y cirugía maxilofacial. Todos ellos tienen como objetivo gestionar los tejidos orales dañados y perdidos a través de la reconstrucción y regeneración del periodonto, el complejo dentino-pulpar y los tejidos orofaciales.<sup>19</sup>



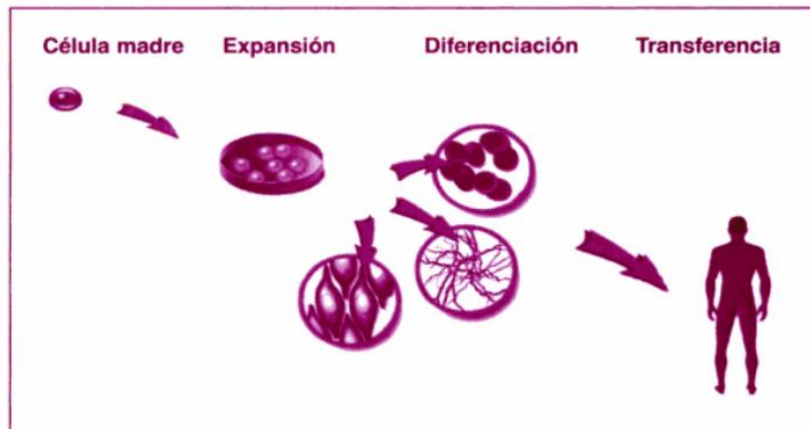


Fig.10 Bases del tratamiento con células madre en medicina regenerativa.<sup>20</sup>

#### 4.1 REGENERACIÓN EN PERIODONCIA

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica de alta prevalencia que da como resultado la destrucción de los tejidos de soporte de los dientes. La pérdida de hueso alveolar es una característica común asociada con la periodontitis, que es inducida por una respuesta inmune innata y adaptativa del hospedador a varias bacterias múltiples asociadas a la biopelícula ; la acumulación bacteriana provoca la migración y activación de neutrófilos polimorfonucleares y monocitos que secretan diversas citocinas como interleucinas (IL), factor de necrosis tumoral (TNF- ) factor de diferenciación de osteoclastos y factor estimulante de colonias de macrófagos. En respuesta a estas citocinas, las células precursoras hematopoyéticas se diferencian en células precursoras de osteoclastos, que finalmente se fusionan en osteoclastos multicelulares maduros relacionados con la resorción ósea alveolar.<sup>14</sup>

El objetivo del tratamiento periodontal es lograr la regeneración total del periodonto con la re-formación de todos sus componentes, incluyendo ligamento periodontal, tejido conectivo gingival, cemento y hueso alveolar,

necesitando además una correcta conexión entre los tejidos nuevamente regenerados incluyendo las fibras de Sharpey, entre el ligamento periodontal y las raíces del diente y entre el hueso alveolar y el ligamento periodontal. <sup>21</sup>

Actualmente los tratamientos periodontales en la práctica clínica no logran estos objetivos ya que solo evitan la progresión de la enfermedad, sin poder reconstruir total y completamente los tejidos del periodonto dañado. En un intento de contrarrestar la destrucción tisular se han utilizado injertos óseos, factores de crecimiento y membranas de barrera. <sup>22</sup>

Una alternativa que nos brinda la ingeniería tisular es la posibilidad de regenerar el periodonto y la funcionalidad de todos sus tejidos utilizando el tratamiento celular con células madre de origen dental, administradas en los andamios y proteínas morfo genéticas adecuadas. <sup>22</sup>

El concepto de trasplantar las células en los defectos periodontales fue descrito por primera vez por van Dijk. <sup>23</sup>

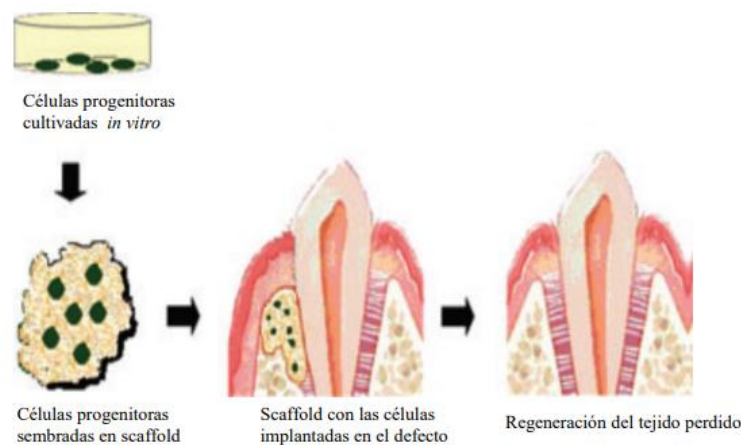


Fig.11 Esquema representativo de la ingeniería de tejidos en el tratamiento periodontal. <sup>22</sup>

Se ha llevado a cabo un importante cuerpo de investigación para evaluar la capacidad regenerativa de las células madre en una variedad de defectos dentales en varios modelos animales y en humanos.<sup>19</sup>

En el cuadro 3 se presenta en resumen los estudios disponibles que se han llevado a cabo sobre el potencial de las células madre para la regeneración de tejido periodontal en modelos animales.

Cuadro 3. Estudios de células madre en modelos animales para la regeneración de defectos periodontales. <sup>24,19,25,26</sup>

<b>Autor</b>	<b>Célula</b>	<b>Defecto</b>	<b>Animal</b>	<b>Andamio</b>	<b>Resultado</b>
<i>Yamada et al. 2004</i>	Alogénico de SHED	Defectos óseos en ambos lados de la mandíbula	Perro híbrido	Plasma rico en plaquetas.	Las SHED generaron hueso maduro bien formado con neurovascularización en comparación con los controles.
<i>Sonoyama et al. 2006</i>	PDLSC y SCAP	Cavidad dejada después extracción de la parte inferior incisivo	Cerdos	En forma de raíz hidroxiapatita / B-tricálcico bloque de fosfato y espuma de gel.	Este estudio implanto células madre de la papila apical en combinación con células madre del ligamento periodontal en un intento de generar una raíz/complejo periodontal capaz de soportar una corona de porcelana. En conjunto esta estrategia condujo a la formación de raíces biológicas con una fuerza de

					compresión significativamente mejor que los defectos que no recibieron células madre.
<i>Liu et al. 2008</i>	Autólogos de PDLSC	Defectos periodontales creados quirúrgicamente en mesial del 1er molar	Cerdos	Andamio Hidroxiapatita/ Fosfato tricálcico (HA/TCP)	Formación de nuevo hueso, cemento y ligamento periodontal. Mejoría en los parámetros clínicos en la altura del hueso alveolar en el grupo de células +HA/TCP
<i>Ding et al. 2010</i>	Autólogos de capas de PDLSC. Alogénicos de capas de PDLSC. Autólogos heterogéneos de PDLC	Defectos periodontales creados quirúrgicamente en mesial del primer molar	Cerdos	Andamio Hidroxiapatita/ Fosfato tricálcico (HA/TCP)	Resultados clínicos y histológicos significativos en los grupos de alogénicos y autólogos en capas de PDLSC. Ninguna evidencia de rechazo inmunológico en el grupo alogénico PDLSC.
<i>Park et al. 2011</i>	Autólogos PDLSC, DFSC Y DPSC	Defectos circunferenciales apicales creados quirúrgicamente	Perros beagle	Sin andamio	PDLSC tuvieron mejor potencial regenerativo. La regeneración periodontal no se obtuvo en el grupo DPSC.
<i>Mrozik et al. 2013</i>	Alogénicos PDLSC	Defectos de dehiscencias creadas quirúrgicamente	Ovejas	Matriz de esponja de espuma de gel	Todos los parámetros de regeneración fueron mejorados en ambos grupos comparado

				con los defectos no tratados.	
<i>Seo et al. 2014</i>	Xenogenicos (humanos) PDLSC	Defectos periodontales creados quirúrgicamente en la superficie vestibular de los molares inferiores	Ratones inmunodeprimidos	Andamio Hidroxiapatita/ Fosfato tricálcico (HA/TCP)	Las PDLSC humanas se integran en el tejido periodontal en 2 de 6 muestras.
<i>Iwasaki et al. 2014</i>	Xenogenicos(humanos) PDLSC	Defectos de furca clase II creados quirúrgicamente	Ratones inmunodeprimidos	Membrana amniótica	Se obtuvo regeneración. La cantidad de hueso nuevo fue elevada en el grupo PDLSC+ membrana amniótica comparándolo con el grupo solo con la membrana.

Pasando al estudio en humanos Carini presento un estudio en donde se utilizó células madre de la médula ósea (MCS) de la cresta iliaca del paciente (15ml) colocado en un andamio de colágeno (Gingistat), fue transportando al laboratorio en donde se indujo a la diferenciación en sentido osteogénico, se procedió a la intervención quirúrgica del paciente en donde el defecto periodontal se rellenó del andamio con las células madre cultivadas. Como resultados 6 meses después de la intervención se registró una reducción de las furcaciones de 1er grado y de las bolsas periodontales, indicando un mejoramiento en ambos defectos en relación al valor inicial en ninguno de los dos sitios se observó recesión gingival cerca de los elementos afectados en la instalación de los bordes quirúrgicos. En la radiografía observó un relleno del área cerca de los defectos periodontales preoperatorios.<sup>27, Fig.12</sup>

Nakara y cols. logran regeneración del tejido periodontal, utilizando células madre del ligamento periodontal autólogo y andamios de esponjas de colágeno, se implantaron en bolsas periodontales profundas de 3 pacientes y se dio seguimiento a los 3,6,12,26,32,42 y 72 meses, se observó regeneración del tejido periodontal completo.<sup>22,28, Fig.13</sup>

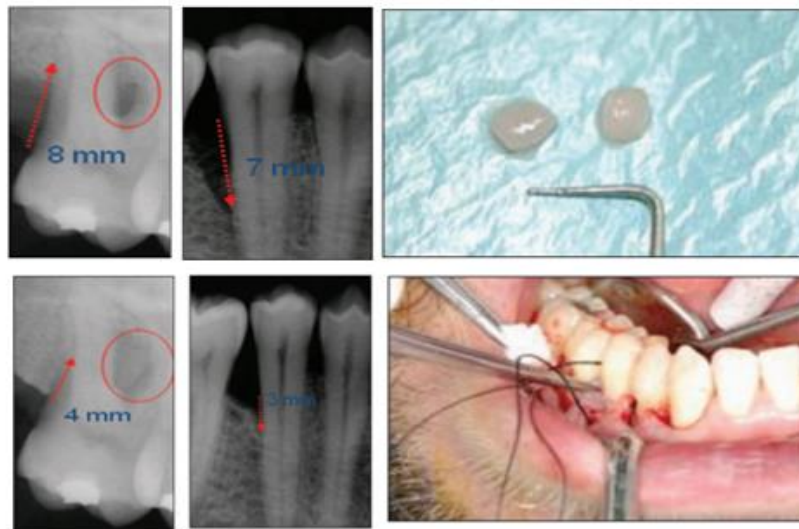


Fig.12 Evaluación clínica del tratamiento en defectos periodontales mediante células madre de la médula ósea, tras 6 meses de seguimiento se observa mejoramiento en ambos defectos.<sup>27</sup>

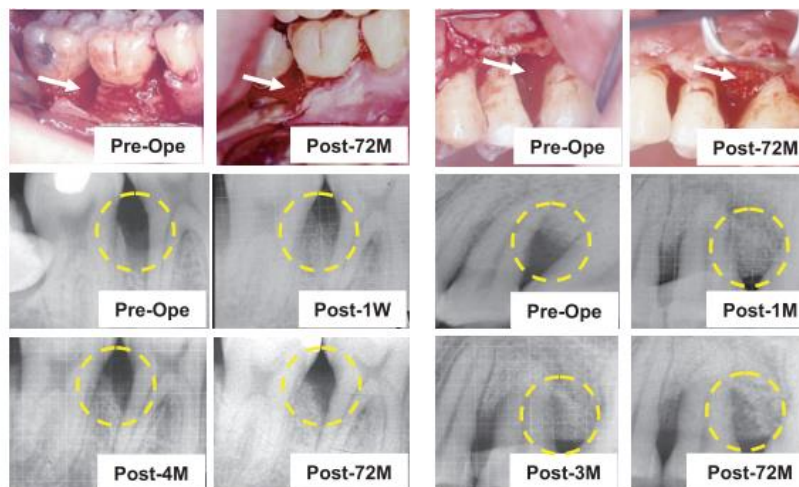


Fig.13 Evaluación clínica y radiográfica del tratamiento en defectos periodontales se observa regeneración del periodonto.<sup>28</sup>

## 4.2 REGENERACIÓN EN ENDODONCIA

La pulpa dental se compone principalmente de un tejido conectivo blando vascularizado y ricamente innervado rodeado por tejidos dentales duros. La terapia de rutina para una pulpa enferma es un tratamiento de conducto en el que la pulpa se extirpa por completo y se reemplaza por un material artificial inerte.<sup>15</sup> Los esfuerzos en la ingeniería del tejido de la pulpa dental están orientados a la generación de una pulpa viable y saludable a lo largo de toda la longitud del conducto radicular.<sup>29</sup> Quizás una de las primeras indicaciones para la traslación de la ingeniería de tejidos de la pulpa dental a la clínica sea el tratamiento de los incisivos permanentes inmaduros traumatizados. El trauma dental es común en los niños.<sup>30</sup>

Gotlieb y col. llevaron a cabo una investigación con microscopio electrónico de barrido ultraestructural (SEM) de construcciones pulpares de tejido diseñado implantadas dentro de dientes extraídos, Se implantaron células madre de dientes deciduos exfoliados humanos (SHED) en un andamio sintético de ácido poliláctico para crear construcciones de tejido pulpar. Las construcciones pulpares se implantaron en 105 dientes premolares humanos extraídos con un solo conducto radicular que se había limpiado y moldeado mediante instrumentación rotatoria corono-apical. Como resultados se revelaron adherencia celular dentro de todas las construcciones pulpares, con poca diferencia entre los tipos de armazón o con la adición de factores de crecimiento. Estos resultados respaldan la prueba de concepto de que es posible implantar construcciones pulpares de tejido en los dientes después de la limpieza y el modelado.<sup>31</sup>

Brizuela y col. diseñaron un ensayo clínico aleatorizado controlado de fase I / II para evaluar la seguridad y eficacia de las células madre mesenquimales del cordón umbilical humano encapsuladas en un biomaterial derivado de plasma para procedimientos de endodoncia regenerativa (REP) en dientes

permanentes maduros con lesiones apicales. El ensayo incluyó a 36 pacientes con incisivos, caninos o premolares mandibulares maduros que mostraban necrosis pulpar y periodontitis apical. Los pacientes fueron tratados siguiendo su protocolo asignado de endodoncia (ENDO) o endodoncia regenerativa (REP). Se realizaron exámenes de seguimiento clínico a los 6 y 12 meses, no se informaron eventos adversos y los pacientes mostraron una eficacia clínica del 100% en ambos grupos. Las pruebas de sensibilidad revelaron un aumento de la respuesta pulpar positiva en el grupo (REP) a los 12 meses de seguimiento. Estos resultados dan evidencia clínica de seguridad y eficacia del uso endodóntico de células madre mesenquimales alogénicas. El enfoque, basado en principios biológicos que promueven la regeneración de la dentina-pulpa, presenta una alternativa prometedora para el tratamiento endodóntico.<sup>32</sup>

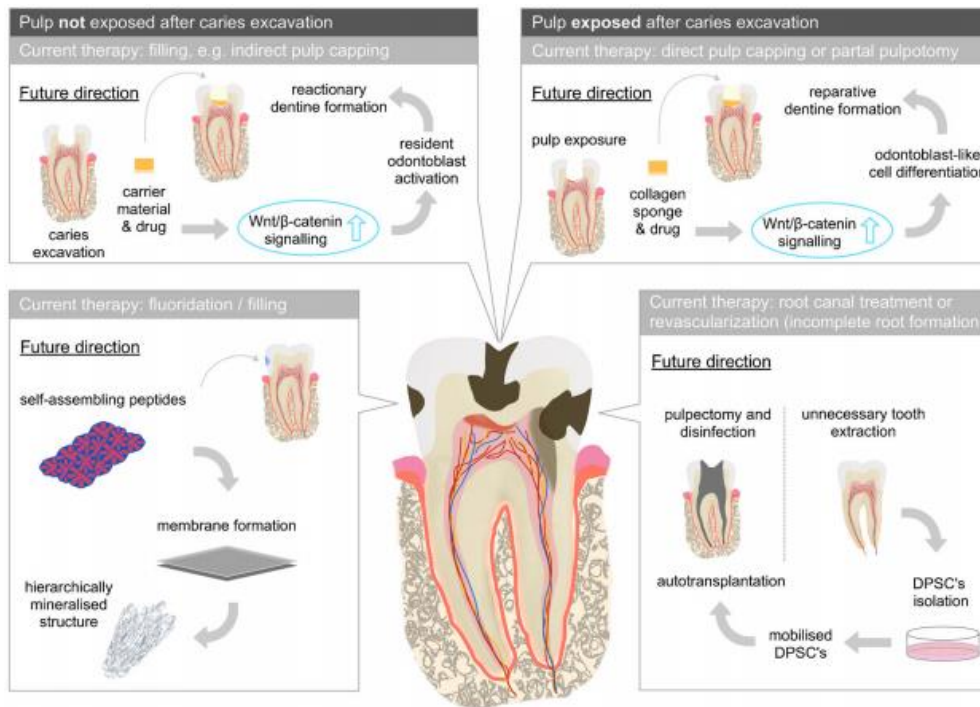


Fig.14 Representación esquemática de diferentes enfoques para la reparación / regeneración del complejo dentina-pulpa.<sup>36</sup>



### 4.3 REGENERACIÓN EN CIRUGÍA

Los defectos óseos en la región cráneo-maxilofacial varían desde defectos pequeños como defectos periodontales hasta pérdida ósea extensa debido a traumatismos, defectos quirúrgicos o deformidades congénitas como labio paladar hendido. Esto no solo limita la funcionalidad, sino que también tiene un alto impacto social y psicológico en la vida de la persona. Por tanto, es importante rehabilitar estos defectos y ofrecer al paciente una mejor calidad de vida. Para abordar tales defectos, se han utilizado injertos de diversos orígenes en la práctica clínica. Según el donante y su composición genética, el injerto puede ser un xenoinjerto, aloinjerto, autoinjerto, isoinjerto o material sintético. Estos pueden usarse solos o en combinación para lograr el resultado deseado. Injertos óseos autógenos obtenidos de cresta ilíaca, calvaria, tibia, costillas, etc. se consideran la modalidad de tratamiento estándar de oro. Sin embargo, se presentan las desventajas de la morbilidad del sitio donante y la disponibilidad limitada de tejido. Además, se requiere un procedimiento quirúrgico adicional, realizado predominantemente bajo anestesia general, que inadvertidamente requiere la hospitalización del paciente. <sup>18</sup>

El uso de tecnología de ingeniería de tejidos para abordar los defectos óseos maxilofaciales es una ventaja para el campo de la odontología. Elimina las posibles desventajas y complicaciones de la morbilidad del sitio donante, la disponibilidad limitada de tejido y el desarrollo de una respuesta inmune que conduce al rechazo del injerto, por nombrar algunos. Obtener estas células madre de la cavidad oral es una buena fuente alternativa. Las células madre orales son de origen mesenquimal y tienen propiedades comparables a las células madre de la médula ósea (BMMSC) tradicionales.<sup>18</sup>

D ' Aquino evaluó la formación de hueso con el uso de células madre de la pulpa dental (DPSC) autólogas, distal al segundo molar mandibular, después de la extracción del tercer molar impactado. Las células de la pulpa dental

(DPSC) se obtuvieron del tercer molar maxilar extraído que luego se combinaron con un andamio de esponja de colágeno. Esta combinación se usó luego para llenar el defecto óseo distal al segundo molar mandibular en un lado mientras que el otro lado se mantuvo como control, donde se colocó únicamente el andamio de colágeno. Los sitios fueron evaluados clínica y radiográficamente periódicamente. Se observó una regeneración ósea completa tres meses después de la operación con un aumento del nivel de inserción clínica en el lado de la prueba en comparación con el control, sin complicaciones ni alteraciones en el nivel del hueso incluso después de un año después de la cirugía.<sup>33</sup>

Las células madre de la pulpa dental (DPSC) se utilizaron con un andamio de esponja de colágeno para la formación de hueso después de un procedimiento de elevación del seno de Graziano. A esto le siguió la colocación de implantes para la rehabilitación protésica. Se observó una alta tasa de mineralización con formación de hueso laminar. <sup>18</sup>

Brunelli presentó un caso similar en el cual, cuatro meses después de la cirugía, la densidad del hueso recién formado en el área de elevación del seno fue el doble que la del hueso nativo.<sup>18</sup>

Monti utilizó células madre de la pulpa dental (DPSC) autólogas de terceros molares extraídos en combinación con el andamio de colágeno para la cicatrización de los alveolos de extracción en un sitio diferente, que fue seguido por la colocación del implante después de 45 a 70 días post-extracción. La radiografía del lado de prueba mostró una radioopacidad más fuerte en comparación con el control. Los resultados del examen histológico también favorecieron las muestras del lado de prueba que sus contrapartes.<sup>18</sup>

## 4.4 BIO-TOOTH

Los bancos de datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) demuestran que la caries dental todavía prevalece en la mayoría de los países del mundo (incidencia del 100% en algunas poblaciones); se estima que las enfermedades periodontales graves que pueden provocar la pérdida de dientes afectan el 5 - 20% de la mayoría de las poblaciones adultas, y la incidencia de edentulismo completo se ha estimado entre el 7% y el 69% a nivel internacional. Para tratar estos dientes perdidos, los enfoques actuales se centran principalmente en los materiales artificiales o implantes no biológicos que pueden reducir inevitablemente la calidad de vida debido a sus funciones fisiológicas limitadas y, en ocasiones, provocar un rechazo inmunológico.<sup>34</sup> El objetivo final de la regeneración dental es reemplazar los dientes perdidos. Se cree que un bio-tooth es un tipo de diente biológico que se puede reintegrar en la mandíbula y realizar las funciones normales de un diente natural, incluida la capacidad regenerativa en caso de lesión.<sup>34</sup>

Se han propuesto dos posibles formas de obtener un bio-tooth:<sup>35</sup>

### **1. Uso de células con capacidad para formar dientes y trasplante al hueso de la mandíbula.**

Regeneración de dientes basada en células: El proceso de regeneración basado en células puede definirse simplemente como la obtención de un germen dentario utilizando las células epiteliales y mesenquimales (derivadas de embriones o células iPS). Estas células pueden derivarse de fuentes dentales o no dentales.<sup>35</sup>

Uso de células epiteliales y mesenquimales derivadas de una fuente dental : Oshima describió un protocolo para la reconstitución tridimensional de gérmenes dentales mediante bioingeniería utilizando células epiteliales y mesenquimales derivadas de gérmenes dentales. El grupo de Oshima produjo

ectópicamente un diente de bioingeniería que contenía ligamento periodontal y hueso alveolar, e injertaron este diente en la mandíbula a través de la integración ósea. Ese diente diseñado por bioingeniería podría realizar las funciones fisiológicas normales de los dientes, incluido el potencial masticatorio y perceptivo, en el ratón. <sup>35</sup>

Uso de una de las células epiteliales o mesenquimales de fuentes no dentales:

Las células mesenquimales derivadas del estroma de la médula ósea como fuente no dental fueron utilizadas por primera vez para la formación de dientes por Ohazama en 2004 . Su estudio demostró que las células madre de la médula ósea (BMMSC) adultas con células del epitelio dental inductivo embrionario podrían inducir la formación de dientes en un cuerpo adulto. Posteriormente, Angelova Volponi mostró que las células epiteliales humanas adultas combinadas con células mesenquimales embrionarias de ratón también podrían producir una estructura similar a un diente en la cápsula renal del ratón. Los cortes histológicos confirmaron la presencia de una estructura dental con dentina, espacios de esmalte y pulpa bien vascularizada que contenía células parecidas a odontoblastos que expresan dentina. Afirmaron que estas células epiteliales obtenidas de la encía humana son una fuente realista para ser utilizada en la generación de bio-tooth humanos . Llegaron a la conclusión de que el uso de fuentes no embrionarias para células epiteliales o mesenquimales es clínicamente factible y necesita más investigación para proporcionar un número suficiente de células para la formación de dientes con éxito. <sup>35</sup>

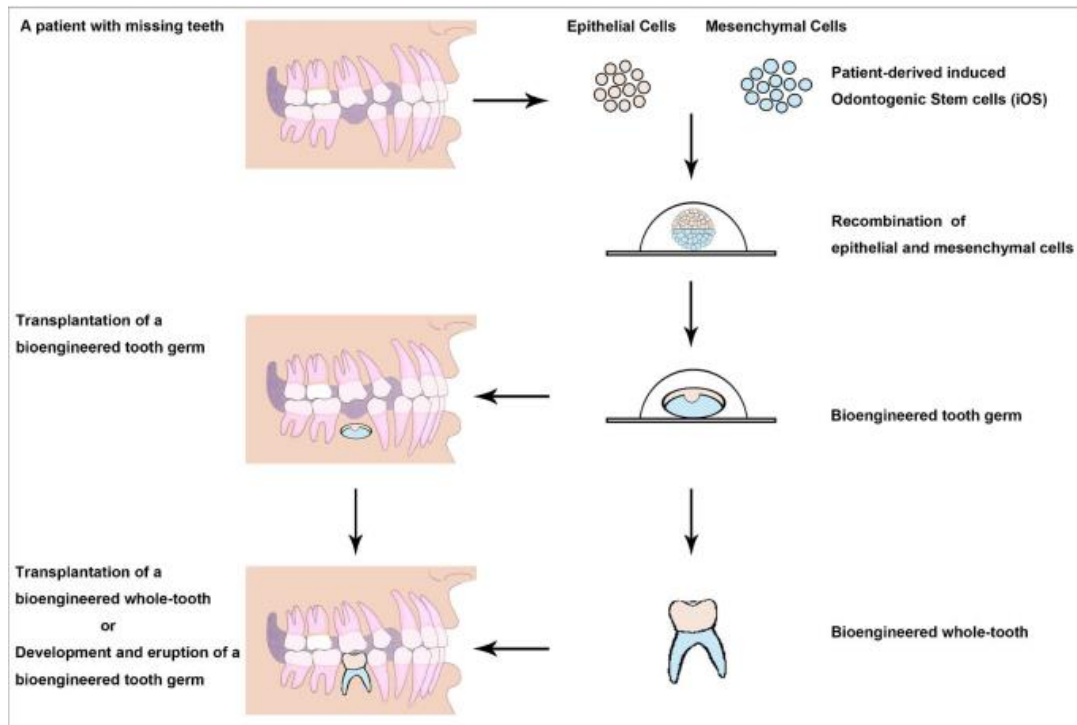


Fig.15 Se recogen fuentes adultas adecuadas de células epiteliales y mesenquimales de los pacientes y se expanden in vitro. Se induce que las poblaciones de células epiteliales o mesenquimales sean odontogénicas (capaces de iniciar la odontogénesis) y se recombinan con la contraparte de la población de células que responden. Se puede generar un primordio de diente en etapa temprana a partir de la recombinación de células epiteliales-mesenquimales, que posteriormente se puede trasplantar directamente en la ubicación del diente faltante o cultivar in vivo para formar un diente completo.<sup>36</sup>

**2. Usar células para crear cada uno de los elementos del diente, como el ligamento periodontal (PDL), la pulpa y cemento, y cultivar esas células en un andamio dental bioimpreso o en el diente natural descelularizado.**

Regeneración de dientes basada en andamios y células:El objetivo principal del proceso es obtener diferentes compartimentos dentales (ligamento periodontal y pulpa) de las células madre mesenquimales (CMM) derivadas de células adultas o iPSC por separado, y juntarlas en el andamio bioimpreso similar a un diente que imita la estructura del diente calcificado.<sup>35</sup>

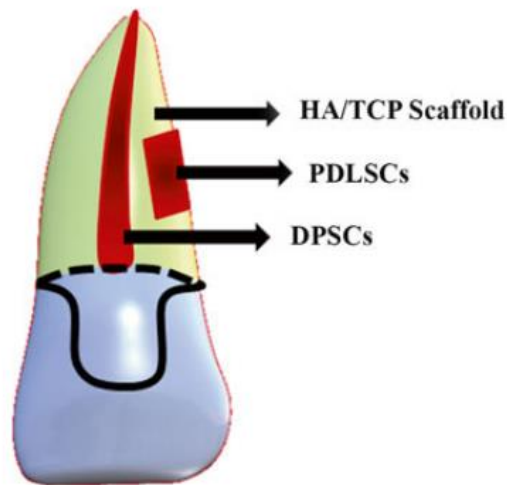


Fig.16 Bio-raíz / diente usando células madre de la pulpa dental (DPSC) y células madre del ligamento periodontal (PDLSC), y andamio de hidroxapatita (HA) / fosfato tricálcico (TCP) en forma de diente.<sup>35</sup>

El andamio en forma de raíz de fosfato tricálcico de hidroxapatita que contenía células madre de la pulpa dental (DPSC) cubiertos por una lámina de células madre del ligamento periodontal (PDLSC) exhibió características dentales normales después de 6 meses. Para crear estructuras similares a dientes, se deben dilucidar numerosas preocupaciones antes de realizar estudios clínicos.<sup>35</sup>

- ¿Qué combinaciones de células son mejores para los enfoques humanos?
- Heterogeneidad de las células entre el paciente,
- Interacción recíproca adecuada entre las células,
- La previsibilidad de la forma del diente en crecimiento.
- Tumorigenicidad e inmunogenicidad de las células (ya que una de las capas celulares es embrionaria y se obtiene a partir de iPSC).<sup>35</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Durante el transcurso de vida de una persona se pueden presentar diferentes circunstancias que llevan a la pérdida de dientes o de estructuras parciales de los tejidos orales. Esto puede ser por diversos factores como la presencia de caries, enfermedad periodontal, pérdida ósea, lesiones periapicales entre otras, siendo la mayoría de alta prevalencia. Esta pérdida de dientes o de los diferentes tejidos orales desencadenan problemas para el paciente afectando su estética, fonética, masticación y por lo tanto su calidad de vida.

En la actualidad la regeneración de los diferentes tejidos orales, la creación de biomateriales y la actualización de las técnicas para la regeneración tisular han tomado relevancia tanto para la investigación en ciencia básica como en la práctica odontológica clínica.

Gracias al avance de las técnicas moleculares se han permitido nuevos enfoques en los tratamientos de regeneración de los tejidos dentales. El uso de las células madre ha sido de gran importancia y objeto de debate durante los últimos años, ya que, con el aislamiento de estas células se ha generado gran interés en su aplicación en la práctica Odontológica debido a las propiedades y características que presentan.

## JUSTIFICACIÓN

Las fuentes tradicionales que se conocen para la obtención de células madre mesenquimales (medula ósea, tejido adiposo, cordón umbilical) resultan muy costosas y requieren manejo hospitalario lo que esto representa limitaciones importantes para su obtención. Gracias a el descubrimiento de nuevas fuentes de obtención de dichas células como las células madre de origen dental y debido a su fácil acceso a abierto las puertas a nuevas líneas de investigación para el campo de la odontología regenerativa, con esto se espera que en el futuro se puedan crear tejidos dentales que puedan reemplazar los tejidos perdidos de los pacientes.

Las diversas terapéuticas empleadas en las diferentes áreas de la odontología como periodoncia, endodoncia y cirugía pueden verse beneficiadas con las técnicas basadas en células madre de origen dental ya que se podrían recuperar las características de origen de estos tejidos conservando sus propiedades iniciales.

Estudiar su uso y aplicaciones ayudara tanto a alumnos de licenciatura, cirujanos dentistas y especialistas a mostrar un panorama actualizado sobre las nuevas alternativas de tratamiento que nos ayudarían a enfrentar de mejor manera las diversas situaciones que se puedan presentar con nuestros pacientes.



## **OBJETIVOS**

### **General**

- Describir y analizar por medio de una revisión actualizada de la literatura las aplicaciones de las células madre en Odontología.

### **Particulares**

- Conocer los métodos de obtención de las células madre usadas en odontología.
- Conocer las aplicaciones de las células madre en las diferentes especialidades en odontología.
- Conocer el manejo y preservación de las células madre con uso odontológico.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para este presente trabajo se realizó una revisión de la literatura en 3 libros de texto y artículos de los buscadores especializados: PubMed, Scielo, ScienceDirect e IntechOpen.

Para la búsqueda de artículos se utilizaron las siguientes palabras clave: “Stem Cells”, “Bio-tooth”, “Stem Cells advances”, “SHED”, “Dental Pulp Stem Cells”, “Tissue Engineering”.

Se utilizó una computadora personal marca Acer Aspire 5 , con un buscador versión 89.0.4389.114.

## **RESULTADOS**

Para esta revisión bibliográfica se revisaron un total de 45 artículos de los cuales 9 fueron descartados y 36 citados.

De estos 3 libros y 5 artículos corresponden a textos sobre ciencias básicas, 9 artículos acerca de aplicaciones de células madre en periodoncia, 7 artículos acerca de aplicaciones de células madre en endodoncia, 7 sobre aplicaciones de células madre en cirugía y 5 artículos acerca de bioingeniería de tejidos.

## DISCUSIÓN

Gran parte de la evidencia científica encontrada del uso de células madre tanto en experimentación con animales y en humanos fueron mayormente enfocadas en el área de periodoncia.

Muchos de los autores encaminaron sus investigaciones en regeneración de defectos óseos periodontales. Como Yamada que en 2004 realizó un estudio en donde logro generar hueso maduro de un defecto óseo mandibular en un perro, otros autores como Liu, Ding, Park, Mrozik e Iwasaki los cuales también enfocaron sus estudios en la regeneración de defectos óseos periodontales en animales, lograron tener resultados satisfactorios, logrando regeneración ósea con éxito.

Una de las aportaciones más significativas fue la del investigador Sonovama el cual presentó un estudio que consistió en una implantación de células madre de la papila apical combinadas con células madre del ligamento periodontal, esta estrategia condujo a la formación de raíces biológicas capaces de soportar una corona de porcelana. Ahora bien si pasamos a los trabajos realizados en humanos para el tratamiento de defectos similares Carini presento un estudio utilizando células madre de la médula ósea en andamio de colágeno , por medio de intervención quirúrgica se expuso el defecto óseo periodontal y se rellenó con el andamio de las células madre cultivadas , se reportó una mejoría y reducción de las bolsas periodontales, Nakara presento un estudio similar en ese caso se utilizaron células madre del ligamento periodontal que se colocaron en defectos óseos de 3 pacientes , se hicieron controles de evolución observando regeneración del periodonto.

Los defectos óseos también se pueden presentar en la región cráneo-maxilar ,los estudios consultados describen procedimientos como elevación de seno maxilar .Graziano y Brunelli presentaron casos similares de elevación de seno

maxilar con células madre de la pulpa dental y andamios de colágeno, presentaron como resultado alta tasa de mineralización y formación de nuevo hueso nativo , Graziano después del procedimiento logro realizar una restauración protésica con implantes.

En el ámbito de la endodoncia se mostró una eficacia clínica del 100% en un estudio presentado por Brizuela donde se utilizaron células madre mesenquimales de cordón umbilical para regeneración del complejo dentino-pulpar presentando resultados positivos, comparándolo con el estudio realizado por Gotlieb que utilizo células SHED, estas células se implantaron en dientes extraídos después de la conformación y limpieza radicular con el fin de obtener construcciones pulpares dando como resultado adherencia celular lo que respalda que es posible implantar construcciones pulpares y con esto lograr la revascularización del diente.

Todo esto nos lleva a pensar en la posibilidad de la creación de dientes biológicos, partiendo de la construcción de los folículos en laboratorios por medio de la bioingeniería para que posteriormente se pudieran reintegrar en el hueso y así realizar funciones normales de un diente natural, simulando el proceso de la odontogénesis, hoy en día ya se describen los posibles procedimientos para llevarlo a cabo.

Es importante hacer hincapié en que estas técnicas de aplicación en la clínica muchas de ellas aún se encuentran en proceso de desarrollo, así como otras ya están dando resultados positivos y prometedores.

## CONCLUSIONES

En los últimos años la terapia con células madre se ha convertido en un tema de investigación científica muy prometedora en el campo de la medicina regenerativa.

Los avances en las líneas de investigación de las células madre de origen dental describen la gran potencia que tienen en el ámbito odontológico, además de ser de fácil acceso y no presentar limitaciones éticas.

Los recientes hallazgos en la identificación y diferenciación de las células madre dentales, junto con las estrategias que ofrece el campo de la ingeniería tisular, sugieren que en el futuro la bioingeniería se acercara a la creación de tejidos dentales y se demostrara que se puede proveer un tratamiento seguro que justifique el costo-beneficio.

Con la creación de los bancos de dientes las células madre por medio de la criopreservación mantienen su viabilidad y pueden permanecer ahí hasta la utilización del paciente.

La Odontología regenerativa con células madre ofrece una alternativa a las terapias con biomateriales que se utilizan actualmente, se espera que los tejidos derivados de las propias células de cada paciente puedan ser usados para reemplazar funcionalmente los tejidos dentales en un futuro.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Han J, Menicanin D, Gronthos S, Bartold P. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. *Australian Dental Journal*. 2013;59:117–130.
2. Kolios G, Moodley Y. Introduction to Stem Cells and Regenerative Medicine. *Respiration*. 2013;85(1):3–10.
3. Zakrzewski W, Dobrzyński M, Szymonowicz M, Rybak Z. Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*. 2019;10(1):1186–1195.
4. Cediell JF, Cárdenas MH, García A. *Manual de histología: Tejidos fundamentales*. Universidad del Rosario; 2009.
5. C JL, G JL. Celulas madre embrionarias y células pluripotentes inducidas: ¿Pasado, presente y/o futuro en la medicina regenerativa? *Revista Asebir*. 2011;16(1).
6. Zeitlin BD. Banking on teeth e Stem cells and the dental office. *Biomedical Journal*. 2020;124–133.
7. Aydin S, Şahin F. Stem Cells Derived from Dental Tissues. *Advances in Experimental Medicine and Biology* [Internet]. 2019; Available from: [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-9888-8\\_10](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-9888-8_10).
8. Cui D, Li H, Wan M, Peng Y, Xu X, Zhou X, et al. The origin and identification of mesenchymal stem cells in teeth: From odontogenic to non-odontogenic. *Curr Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2017;13(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.2174/1574888x12666170913150403>
9. Pilbauerová N, Suchánek J. Cryopreservation of dental stem cells. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2018;61(1):1–7.
10. Tsutsui TW. Dental pulp stem cells: Advances to applications. *Stem Cells Cloning*. 2020;13:33–42.
11. *Revista ADM* [Internet]. Unam.mx. [cited 2021 Apr 5]. Available from: <https://biblat.unam.mx/es/revista/revista-adm/4>

12. Yang X, Ma Y, Guo W, Yang B, Tian W. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth as an alternative cell source in bio-root regeneration. *Theranostics*. 2019;9(9):2694–711.
13. Guo H, Zhao W, Liu A, Wu M, Shuai Y, Li B, et al. SHED promote angiogenesis in stem cell-mediated dental pulp regeneration. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;529(4):1158–64.
14. Tomokiyo A, Wada N, Maeda H. Periodontal ligament stem cells: Regenerative potency in periodontium. *Stem Cells Dev*. 2019;28(15):974–85.
15. Nada OA, El Backly RM. Stem cells from the apical papilla (SCAP) as a tool for endogenous tissue regeneration. *Front Bioeng Biotechnol* [Internet]. 2018;6. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2018.00103>
16. Sharma P, Kumar P, Sharma R, Bhatt VD, Dhot PS. Tissue engineering; Current status & futuristic scope. *J Med Life*. 2019;12(3):225–9.
17. Rosales-Ibáñez R, Alvarado-Estrada KN, Ojeda-Gutiérrez F. Ingeniería Tisular en Odontología. *Rev ADM*. 2012;69(4).
18. Sybil D, Jain V, Mohanty S, Husain SA. Oral stem cells in intraoral bone formation. *J Oral Biosci*. 2020;62(1):36–43.
19. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration: Clinical utility of stem cells in periodontal regeneration. *Periodontol 2000*. 2012;59(1):203–27.
20. Merce. Células Madre. Preguntas y respuestas sobre la donación y conservación de sangre del cordón umbilical. Ed. Médica Panamericana; 2009.
21. Mudda JA, Bajaj M. Stem cell therapy: a challenge to periodontist. *Indian J Dent Res*. 2011;22(1):132–9.
22. de Bethencourt CG. Aplicaciones clínicas de células madre de origen dental [Internet]. Uniovi.es. [cited 2021 Apr 5]. Available from: <https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/20291/C.GrossC>



[ELULASMADRE.pdf;jsessionid=D364B4D462ACF0F3299B9330CBFC441B?sequence=3](#)

23. van Dijk LJ, Schakenraad JM, van der Voort HM, Herkströter FM, Busscher HJ. Cell-seeding of periodontal ligament fibroblasts. A novel technique to create new attachment. A pilot study. *J Clin Periodontol.* 1991;18(3):196–9.
24. Bassir SH, Wisitrasameewong W, Raanan J, Ghaffarigarakani S, Chung J, Freire M, et al. Potential for stem cell-based periodontal therapy: Stem cells in periodontal regeneration. *J Cell Physiol.* 2016;231(1):50–61.
25. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-M, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One.* 2006;1(1):e79.
26. Yamada Y, Ito K, Nakamura S, Ueda M, Nagasaka T. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. *Cell Transplant.* 2011;20(7):1003–13.
27. Carini F, Menchini Fabris GB, Biagi E, Salvade' A, Sbordone L, Baldoni MG. Estudio experimental sobre la utilización de células madre humanas en la terapia de los defectos periodontales: resultados preliminares. *Av periodoncia implantol oral [Internet].* 2011;23(2). Available from: <http://dx.doi.org/10.4321/s1699-65852011000200003>
28. Feng F, Akiyama K, Liu Y, Yamaza T, Wang T-M, Chen J-H, et al. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases: Periodontal ligament progenitors. *Oral Dis.* 2010;16(1):20–8.
29. Rosa V, Botero TM, Nör JE. Regenerative endodontics in light of the stem cell paradigm: Stem cells in regenerative endodontics. *Int Dent J.* 2011;61 Suppl 1:23–8.
30. Andreasen JO, Ravn JJ. Epidemiology of traumatic dental injuries to primary and permanent teeth in a Danish population sample. *Int J Oral Surg.* 1972;1(5):235–9.

31. Brachet J, Mirsky AE. The cell : Biochemistry, physiology, morphology. London, England: Elsevier Science; 2014.
32. Brizuela C, Meza G, Urrejola D, Quezada MA, Concha G, Ramírez V, et al. Cell-based regenerative endodontics for treatment of periapical lesions: A randomized, controlled phase I/II clinical trial. *J Dent Res.* 2020;99(5):523–9.
33. R, L T, A G, G C, Angelis GC, A M. Microinjertos derivados del periostio para la regeneración tisular del hueso maxilar humano. *H Transl Sci.* 2016;2.
34. Yan M, Yu Y, Zhang G, Tang C, Yu J. A journey from dental pulp stem cells to a bio-tooth. *Stem Cell Rev.* 2011;7(1):161–71.
35. Hakki SS, Karaoz E. Dental stem cells: Possibility for generation of a bio-tooth. In: *Dental Stem Cells.* Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 167–96.
36. Ana Angelova Volponi. Tooth repair and regeneration. *Informes actuales de salud bucal* (2018) 5: 295 – 303.