



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MÉTODOS PARA LA ELABORACIÓN DE
BIODIENTES

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA

PRESENTA:

YORITZIN DIANE MORENO PANTOJA

TUTORA: Dra. LAURA ESTHER VARGAS ULLOA

MEXICO, Cd. Mx.

*Vo B
L. H. V.
29 Nov 2022*

2022



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.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Javier Moreno y Diana Pantoja, por haberme apoyado en todo momento y confiar plenamente en mí, por impulsarme para que continuara estudiando y cumplir con mi gran sueño. Gracias por todo su esfuerzo, amor, cariño, por guiarme en cada paso que daba y nunca soltarme hasta lograr llegar juntos a la meta, este gran logro es por y para ustedes, siempre estaré eternamente agradecida con ustedes y no me alcanzara la vida para devolverles cada una de las cosas bellas que me han dado. Los amo con todo mi corazón.

A mis abuelos, dos de ellos que me cuidan y sé que estarían muy felices de este gran logro, Abue Yola, Abue Armando siempre los voy a llevar en mi corazón. A mis abuelos Oscar y María quienes amo y agradezco que estén conmigo para compartir este momento tan especial.

A mis hermanos Crystian, Hiram y Harumi, gracias por siempre apoyarme, por ser parte de este gran logro. Por sus consejos, ayuda y paciencia que me tuvieron, gracias confiar y ser mis pacientes desde primer año.

A mí sobrino Zedryck por haber sido mi paciente y tenerme la confianza, por querer seguir mis pasos y dejarme guiarte, te amo mi niño.

A Sergio Ramírez, gracias por llegar a mi vida, por ayudarme a ser mejor persona, sin duda todo este logro es también gracias a ti, tu confiaste en mi incluso cuando ni yo misma confiaba, me ayudaste a ser una mejor persona, gracias por darme confianza y darme ánimos para continuar estudiando, gracias por todo el amor, cariño, apoyo, y esfuerzo, gracias por seguir de mi mano y poder practicar esta noble profesión juntos, por ser mi mejor amigo, mi compañero de vida. Te amo.

A mi tío Rene Pantoja que desde el día 1 de mi carrera me apoyo, fue mi maestro, mi consejero, un gran apoyo, gracias por todo lo que me enseñaste, por darme la

oportunidad de trabajar contigo y compartir tus conocimientos conmigo. Gracias por siempre estar para mí, te quiero.

A mis amigos que esta bella carrea me dio, Are, Andrea, Mitzi, Luisa, Fernando, Dani y en especial a mi amigo Ricardo que tuvo que partir antes de tiempo, gracias a todos ustedes, por el apoyo, la hermandad, el cariño durante todos estos años.

A mis profesores quienes fueron parte muy importante de este logro, por el tiempo y dedicación hacia esta hermosa profesión y el que hayan compartido conmigo todos sus conocimientos.

Un agradecimiento muy especial a mi tutora la Dra Laura Vargas Ulloa, quien tuvo la paciencia, tiempo, esfuerzo, gracias por brindarme el gran apoyo y su conocimiento para lograr hacer este trabajo que con mucho esfuerzo logramos construir.

A mi querida UNAM y facultad de odontología, gracias por darme los mejores años de mi vida, por permitirme ser orgullosamente Puma, por darme una carrera tan noble y hermosa; gracias por darme a los mejores amigos, porque en tu bella escuela conocí el amor, gracias por tanto mi bella facultad de odontología.

MÉTODOS PARA LA ELABORACIÓN DE UN BIODIENTE

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	6
II.	OBJETIVO GENERAL.....	7
III.	ESTRUCTURA DEL ÓGANO DENTAL.....	7
IV.	GENERALIDADES DEL TEJIDO DENTAL.....	7
4.1	ESMALTE.....	7
4.2	DENTINA.....	9
4.3	CEMENTO RADICULAR.....	10
4.4	COMPLEJO DENTINO PULPAR.....	10
4.5	PERIODONTO.....	11
4.6	HUESO ALVEOLAR.....	11
V.	ANTECEDENTES HISTÓRICOS.....	14
VI.	CÉLULAS MADRE.....	17
6.1	CLASIFICACIÓN DE LAS CELULAS MADRE POR SU POTENCIAL DE DIFERENCIACIÓN ¹⁸	19
6.2	CLASIFICACIÓN DE CÉLULAS MADRE DE LA CAVIDAD BUCAL.....	19
VII.	ANDAMIOS.....	22
7.1	CLASIFICACIÓN DE ANDAMIOS.....	23
7.2	MÉTODOS BASADOS EN ANDAMIOS.....	24
7.3	MÉTODO LIBRE DE ANDAMIO.....	24
VIII.	REGENERACIÓN DE TEJIDOS DENTALES.....	26
8.1	REGENERACION DE DENTINA.....	26
8.2	REGENERACIÓN DEL LIGAMENTO PERIODONTAL.....	27
8.3	REGENERACIÓN DE TEJIDO ÓSEO.....	27
8.4	REGENERACIÓN DE UN DIENTE.....	27
IX.	MARCADORES MESENQUIMALES.....	28
9.1	MARCADOR CD24.....	28

9.2	MARCADOR CD90	28
9.3	MARCADOR CD105.	28
9.4	MARCADOR STRO-1.	29
9.5	MARCADOR CD146.	29
9.6	MARCADOR CD34.	29
9.7	Marcador CD44.....	30
9.8	Marcador CD271.....	30
X.	MÉTODOS PARA LA FORMACIÓN DE UN BIODIENTE.	30
10.1	MÉTODO BASADO EN CÉLULAS MADRE PLURIPOTENCIALES INDUCIDAS (iPSCs).	31
10.2	MÉTODO DEL GERMEN DE ÓRGANOS.....	33
10.3	MÉTODO DE UN DIENTE QUIMÉRICO O RECOMBINANTE.	35
XI.	CONCLUSIÓN.....	39
XII.	BIBLIOGRAFÍA.....	40

I. INTRODUCCIÓN

Desde las primeras civilizaciones a lo largo de la historia, el hombre ha tratado de restablecer la funcionalidad dental, los mayas (200 a.c.) no estaban tan alejados de estos avances, ya que sustituían el espacio al término de una extracción con un material de gran accesibilidad que era la concha nácar.¹⁰

La pérdida de dientes es muy común, se estima que aproximadamente 158 millones de personas en todo el mundo lo padecen, por lo tanto, es un gran problema de salud relacionado con la aparición de enfermedades sistémicas al haber un deterioro en la función masticatoria, lo que ocasiona alteraciones fonéticas y estéticas. Hoy en día la ingeniería de tejidos se ha ido desarrollando significativamente en los últimos años, se han creado diversos órganos in vitro colocados in vivo como son: riñones, hígado, corazón, médula ósea, etc. Una solución ideal a este problema es regenerar dientes con células del propio paciente, usando estructuras similares a dientes a partir de células madre pluripotentes.

En el área odontológica se inicia los materiales biomiméticos que tratan de imitar la naturaleza bucofacial; por lo general los materiales que se utilizan para restauraciones son de origen sintético como son: las porcelanas, resinas, disilicato de litio, amalgamas, composites, etc.¹

Hasta la fecha solo se han realizados pocos estudios referentes a cómo generar un diente completo; existen diversas investigaciones de regeneración de diversos tejidos dentales con la utilización de células troncales, ingeniería celular, genética y biología molecular.²

II. OBJETIVO GENERAL

Describir las estructuras anatómicas del diente, así como los métodos para la elaboración de biodientes a partir de la revisión literatura.

III. ESTRUCTURA DEL ÓRGANO DENTAL

El diente (del lat. *dens, dentis*) es un órgano anatómico duro, situado en el proceso alveolar del hueso maxilar y mandíbula en la que intervienen diferentes estructuras que lo conforman: cemento dentario y hueso alveolar, ambos unidos por el ligamento periodontal.¹

El diente está compuesto por tejidos mineralizados (calcio, fósforo, magnesio), que comienzan a desarrollarse desde el embrión e inicia su erupción en los primeros 6 meses de vida. Realiza la primera etapa de la digestión ya que ayudan al proceso de masticación para una buena digestión. Su conjunto forman la dentición temporal y la dentición permanente.²

IV. GENERALIDADES DEL TEJIDO DENTAL

4.1 ESMALTE

El esmalte dental está compuesta por hidroxiapatita (mineral más duro del cuerpo humano) de gran pureza, que recubre la corona de los órganos dentarios, afectando a la función masticatoria. Externamente está contacto directo con la boca, e internamente con la dentina subyacente. En el cuello tiene contacto con el cemento que recubre la raíz, siendo sumamente delgado a este nivel y aumenta su espesor hacia las cúspides, de 2 a 2.5 mm en los dientes anteriores y hasta 3 mm en dientes posteriores. (fig.1) El esmalte es translúcido, de color blanco o gris azulado. Generalmente los dientes presentan un color blanco, excepto en el borde incisal,

donde predomina el color gris azulado del esmalte. Debido a que es una estructura cristalina anisótropa*, el esmalte es un tejido birrefringente.

El esmalte está formado principalmente por material inorgánico (94%) y únicamente una pequeña cantidad de materia orgánica (4%) y agua (2%).²

Respecto a su matriz orgánica, es de naturaleza proteica, y constituye un complejo sistema de multiagregados polipeptídicos que en general no han sido caracterizados en forma definitiva. Las proteínas presentes son:^{2,3}

Amelogeninas (90%): comienzan en un gran porcentaje en el proceso de amelogenesis y disminuyen progresivamente a medida que madura el esmalte. Se localizan entre los cristales de las sales minerales sin estar ligados a ellos.

Enamelinas (2-3%): Se localizan en la periferia de los cristales formando las proteínas de cubierta, representan el 2% de la matriz orgánica.

Ameloblastos (5%): Se localizan en las capas más superficiales del esmalte y en la periferia de los cristales.

Tuftelina (1%): (Proteínas de los flecos) se localizan en la zona de unión amelodentinaria.

Parvalvulina: Su función está asociada al transporte de calcio del medio intracelular al extracelular.

Su matriz inorgánica, constituida por sales minerales cálcicas, fosfato, carbonato, sulfatos, oligoelementos, potasio, magnesio hierro, flúor. El flúor puede llegar a sustituir a los grupos hidroxilos y transformar el cristal de hidroxiapatita en flúorhidroxiapatita haciéndolo más resistente y menos soluble. El agua localizándose en el cristal en diferentes capas, en la periferia la denominada capa de hidratación, por debajo y más hacia el interior la capa de iones y compuestos absorbidos. esta cantidad de agua q se encuentra en el esmalte disminuye paulatinamente con la edad.^{2,3}

Entre los componentes minerales del esmalte revela que predomina en ellos el calcio en forma de fosfatos, de los cuales el más abundante es el del calcio hidratado, denominado por sus características químicas, hidroxiapatita. Pueden aislarse proteínas en varias fracciones diferentes y estas en general contienen un alto porcentaje de serina, ácido glutámico y glicina. Dentro de las sustancias no proteicas del esmalte se puede encontrar el ácido cítrico o citratos, carbohidratos como galactosa, lípidos, etc. Las células encargadas de la formación de esmalte son los ameloblastos.^{2,3}

4.2 **DENTINA**

Es un tejido mineralizado, producida por los odontoblastos, que se ubican entre la dentina y la pulpa dentaria y que conservan su relación con la dentina durante toda la vida del diente, tiene la característica de formar dentina de reparación. Contiene túbulos en donde se proyectan prolongaciones de los odontoblastos, llamados fibrillas de Thomes, las cuales son las causantes de la sensibilidad. En la porción coronaria se halla recubierta a manera de casquete por el esmalte, mientras que en la región radicular está tapizada por el cemento (Fig.1). Es amarillenta, su alto grado de elasticidad protege al esmalte suprayacente contra las fracturas. Está estrechamente vinculada a la pulpa dentaria, cuyas células especializadas como los dentinoblastos, elaboran prolongaciones citoplasmáticas o prolongaciones odontoblásticas. Además de los componentes citoplasmáticos la dentina está constituida por una matriz colágena calcificada, compuesta principalmente por colágeno tipo I y proteínas DSP (5% a 8%) y DPP (50%), atravesada por conductillos o túbulos dentarios desde el límite pulpar hasta esmalte en corona y cemento en raíz. La dentina es radio-opaca por su relativamente alta impregnación de sales minerales. Su color es amarilla y la elasticidad es una capacidad de la que goza este tejido y que depende de la estructura orgánica y contenido en agua. La composición química de la dentina es aproximadamente de: 70% de materia inorgánica (principalmente cristales de hidroxiapatita), 12% de materia orgánica

(fibras colágenas) y 18% de agua. La dentina presenta los canalículos dentarios, que contienen las prolongaciones citoplasmáticas de los procesos odontoblásticos.³

4.3 **CEMENTO RADICULAR**

Es tejido óseo especial, sin irrigación ni inervación, el cual está conformado por una capa dura, opaca y amarillenta que recubre la dentina a nivel de la raíz del diente. Se encarga de unir al órgano dentario con el hueso alveolar a través del ligamento periodontal. (Fig1.) Se compone en un 55% de hidroxapatita cálcica y en un 45% de agua. Se restringe a la raíz del diente y en su región apical presenta los cementocitos, que lo elaboraron y que se encuentran en lagunas, similares a las de los osteocitos del hueso. Esta región del cemento se denomina *cemento celular*. La región coronal del cemento carece de cementocitos y se denomina *cemento celular*. Ambos cementos presentan cementoblastos. Las fibras colágenas del ligamento periodontal (*fibras de Sharpey*) se encuentran embebidas en el cemento y se unen al alvéolo, fijando el diente al alvéolo. El cemento se puede reabsorber por células del tipo de los osteoclastos, conocidas como odontoclastos. Este proceso se observa en la exfoliación (caída de los dientes deciduales).³

4.4 **COMPLEJO DENTINO PULPAR**

Es un tejido mesodérmico, constituida por un tejido suave que contiene vasos sanguíneos (arteria y vena) que conducen la sangre hacia el diente y por fibras nerviosas que otorgan sensibilidad al diente; estos nervios atraviesan la raíz (del diente) por medio de finos canales. (Fig.1) Su célula principal son los odontoblastos (células tanto de la pulpa como de la dentina), estos fabrican dentina y son los que mantienen la vitalidad de la dentina. Los odontoblastos poseen prolongaciones conocidas como Procesos odontoblásticos o fibrillas de Thomes, que se alojan en los túbulos dentinarios. Junto con la dentina forma el órgano dentino-pulpar. En la cámara pulpar encontramos una vena, una arteria y un nervio. Todo esto se conoce

como Paquete Vasculo-Nervioso el cual es el responsable de la sensibilidad y vitalidad de las piezas dentales; se puede dividir en dos áreas:

- A. Pulpa Coronal: se halla en la corona de la cavidad pulpar y comprende los cuernos pulpares que se proyectan hacia las puntas de las cúspides y los incisivos.
- B. Pulpa Radicular: esta se encuentra en la raíz.⁴

4.5 **PERIODONTO**

Del latín *peri*, que significa “alrededor” y el griego *odonto*, que significa “diente”.⁵ El periodonto proporciona el sostén necesario para que puedan llevar a cabo diferentes funciones. Los tejidos que conforman el periodonto son: Encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar. El periodonto forma parte del sistema masticatorio o estomatognático. El periodonto, en las etapas de infancia y pubertad, está en constante remodelación ya que se exfolia y comienzan a erupcionar los dientes. Esto quiere decir que no puede haber una descripción estable sobre un periodonto normal ya que va a variar conforme a la edad de cada persona.^{6,7}

Los tejidos que conforman el periodonto se dividen en:

- Periodonto de protección. Son los tejidos que se encargan de la protección del periodonto de inserción. Estos formado por la encía y el epitelio de unión
- Periodonto de inserción. Tejidos encargados de sostener y mantener al diente en su posición en el alvéolo. Está formado por cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar.⁷

4.6 **HUESO ALVEOLAR**

Es un tejido óseo que contiene alvéolos o cavidades donde van alojadas las raíces de las piezas dentarias. Hay un fragmento de hueso que queda entre un alveolo y otro se denomina cresta o séptum interdental o interalveolar. Las porciones óseas que cubren las superficies bucales y linguales son llamadas tablas óseas y

depende de la localización, las llamaremos tablas óseas bucales y tablas óseas linguales. Este tejido es sensible a los cambios, se encuentra en constante remodelación; es altamente vascularizado e innervado. Tiene espacios medulares amplios, las crestas alveolares son más planas y se asocian con los dientes primarios. El hueso alveolar está conformado por dos clases de hueso: Hueso compacto y hueso trabeculado.^{8,9}

Hueso Compacto

Consiste en una cubierta de hueso sólido, compacto, que protege al hueso trabeculado de traumas físicos y químicos. (fig 2) La cresta alveolar también está recubierta por lámina. Cuando la lámina dura sufre reabsorción rápida como en el caso de periodontitis rápidamente evolutiva, queda expuesto el hueso esponjoso o trabeculado, pudiendo perderse una importante cantidad de hueso de soporte dentario hasta el punto de exfoliar la pieza.⁸

De este modo es de vital importancia la evidencia radiográfica para realizar un buen diagnóstico, ya que de este modo podremos localizar la presencia o ausencia de lámina dura para detectar la reabsorción ósea en sus etapas iniciales, cuando se realizó una radiografía panorámica se aprecia una distancia de 1 a 2 mm de la unión esmalte-cemento cuando la salud periodontal es mala como la gingivitis. La lámina dura adyacente al ligamento periodontal, está perforada por numerosos conductos de Volkmann por los cuales pasan vasos y nervios desde el hueso alveolar hacia el ligamento. En ésta corteza también se insertan los haces de fibras de Sharpey, similar a las que quedan atrapadas en cemento radicular.^{8,9}

Hueso Trabeculado

También llamado hueso esponjoso, está compuesto por trabéculas óseas que están formadas por osteoblastos, una característica de este tejido es que las trabéculas se anastomosan creando una especie de red o malla de hueso. Los osteoblastos, serán las células encargadas de formar tejido osteoide constituido por fibras colágenas y una matriz con glucoproteínas y proteoglucanos; quedan atrapados en

el tejido osteoide, cuando este experimenta calcificación por depósito de minerales para después transformarse en hidroxiapatita y hueso (Fig 2). A los osteoblastos atrapados se les denomina osteocitos. Los osteocitos residentes en las lagunas del hueso calcificado, están unidos entre sí y con los osteoblastos de la superficie ósea, mediante prolongaciones citoplasmáticas que pasan por conductillos que comunican a las lagunas. Ese mecanismo de comunicación sirve para el intercambio regular de los niveles de calcio y fósforo en sangre, usando diferentes mecanismos de control hormonal.^{8,9}

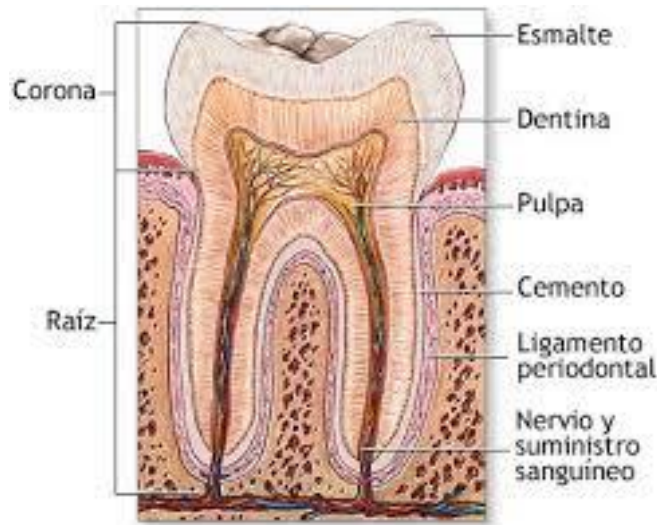


Figura 1. Esquema de la ubicación de cada componente del tejido dental.

<https://sites.google.com/site/materialesdentalesuvrmd/home/unidad-2/esmalte-y-dentina>

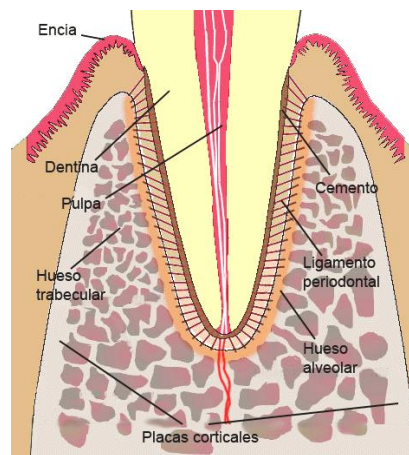


Figura 2. Esquema de los componentes del hueso alveolar. Representado por un corte de la mandíbula mediante un plano vertical trasversal a la línea del diente.

https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-25-Diagrama-mostrando-los-componentes-del-hueso-alveolar-La-figura-representa_fig8_307213399

V. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Desde las primeras civilizaciones a lo largo de la historia se ha tratado de restablecer la funcionalidad dental, teniendo como ejemplo a los mayas (200 a.c) ya que habían sustituido el espacio después de una extracción dental con un material de gran accesibilidad, la concha nácar.^{10,11}

En la Antigua Grecia (384- 322 a.c) observaban como se regeneraban las colas de lagartos y serpientes, así como los ojos de las golondrinas.¹¹

El primer registro del término “células madre” fue dado por Ernst Haeckel en 1868, quien la definió como “stammzelle” el cual se refería a un organismo primitivo unicelular a partir del cual se derivarían el resto de los seres vivos, mucho más complejos y con múltiples células.¹²

Pero fue hasta finales del siglo XIX cuando se comenzó a hablar más sobre este tema, en 1961 dos canadienses James Till y Ernest McCulloch pudieron tener las primeras evidencias sobre la existencia de células madre hematopoyéticas, realizaron un estudio en ratones donde administraron células de la médula de un ratón sano a una célula que había sido tratada con radioterapia. Y se dieron cuenta que a nivel visceral tenía pequeños nódulos, lo cual era anormal porque no habían observado eso en el pasado y decidieron cortar esos nódulos. Al hacer este estudio observaron que en su interior había células de la sangre y células que producen los glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas. La pregunta que les vino a la mente es ¿cómo es posible que estas células se produzcan con nódulos? Y fue así como se cuestionario que quizá esos nódulos nacen de una sola célula, que se divide y da nacimiento a otras células diferentes que tendrán diferentes funciones y descubrieron que estas características eran propias de las células madre.^{12,13}

La presencia de células mesenquimales en la pulpa dental fue descrita en 1985 por Yamamura, y más tarde Caplan y cols, demostraron que estas células presentan

potencial odontogénica y condrogénica *in vitro* y también pueden diferenciarse en la dentina *in vivo*.¹³

En 1990 se inició el proyecto genoma humano, en Estados Unidos por el instituto Nacional de Salud (INS), el departamento de energía en Inglaterra, por la universidad de Cambridge, el Dr. James Watson; durante 5 años dedicaron la investigación al desarrollo de mapas físicos y genéticos del hombre y de los organismos de un modelo más simple, como lo es la levadura, artrópodos y bacterias. El genoma humano nos ayuda a descifrar el código genético en el cual están escritas las instrucciones del DNA, es lo más importante ya que es la esencia para poder construir todos los organismos vivos, el genoma contiene más de 35,000 genes de los cuales la mayoría de ellos no han podido ser identificados. En febrero de 1997 investigadores de Inglaterra reportaron la clonación de una oveja, por transferencia de núcleo de una célula de la glándula mamaria dentro de un oocito.¹⁴ En el año 2000 Gronthos y cols, encontraron que cuando las células madre pluripotenciales pulpares son trasplantadas con hidroxapatita y fosfato tricálcico en ratones inmunocomprometidos generan estructuras muy similares a la dentina, con fibras colágenas perpendiculares a la superficie mineralizada.¹⁴

En el año 2003 en el Instituto Nacional de salud, el Dr. Songtao Shi, descubrió células madre pluripotenciales en dientes primarios, observándolo en un diente exfoliado de su hija Julia de 6 años de edad, se dio cuenta que de la pulpa de este diente podría extraer células madre. Al cultivar estas células se dio cuenta que tenían la habilidad de formar hueso, tejido adiposo, e incluso células nerviosas, luego consiguió aislar células madre vivas en ese tejido. Después de este descubrimiento él y su equipo de trabajo se dedicaron a realizar pruebas con dientes temporales de diferentes niños, descubrió que cada diente albergaba de 12 a 20 células madre que tienen la capacidad de reproducirse y de crecer en cultivos. En el año 2006 investigadores de la escuela de odontología de la Universidad del Sur de California, dirigido por el Dr. Songtao Shi, consiguieron generar nuevas raíces dentales en cerdos obteniendo células madre procedentes de dientes humanos. Esta investigación se centró 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 remplazaron un incisivo de un cerdo enano por una estructura en forma de raíz, hecha de material cerámico de hidroxiapatita/ fosfatotricálcico (HA/TCP) que serviría 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.¹⁵

En el año 2008 los doctores Silvio y Monica Duailibi, publicaron un artículo en la revista científica "Journal of Dental Research", describiendo la formación de dientes primitivos con base a un cultivo de células madre que extrajeron de la papila de dientes deciduos de ratones de entre 3 y 7 días de vida. Se cultivaron células de gérmenes dentales de ratas para poder sembrarlas sobre andamios biodegradables, se implantaron en la mandíbula de ratas adultas y se cultivaron durante 12 semanas, al cabo de este tiempo, observaron en análisis radiográficos, histológicos e inmunohistoquímicos que se formaron pequeñas coronas de dientes bien organizadas; con dentina, esmalte, pulpa y tejido del ligamento periodontal.¹⁶

El 15 de agosto del 2011, en Tokio, Japón, se describió con éxito la creación de nuevos dientes que fueron regenerados y trasplantados a partir de células madre dentales. La investigación comenzó con la obtención de células madre de los dientes de ratones, después estas células fueron colocadas en cajas de cultivo para lograr controlar el crecimiento y la forma de los dientes a regenerar. Posteriormente, se trasplanta la unidad dental completa dentro de la mandíbula de unos ratones que tenían un mes de nacidos. Los resultados lograron demostrar que los dientes se fusionaron con el hueso y los tejidos maxilofaciales, también se observó que las fibras nerviosas crecían dentro de los nuevos dientes.¹⁷

Actualmente siguen las investigaciones para determinar la fuente de células madre que provienen de células de la médula ósea, sangre periférica, células embrionarias, de cresta germinal interna, pulpa dental, ligamento periodontal, entre otros.¹⁶

VI. CÉLULAS MADRE.

En los últimos años se ha dado énfasis a la investigación con células madre ya que se ha demostrado su enorme potencial para promover la formación de tejidos como los dentarios. Poseen habilidades de división continua, ya sea para replicarse a sí misma, lo que se conoce como autorreplicación o para diferenciarse en células especializadas de varios linajes.^{18,19}

Las células madre constituyen la unidad natural de generación durante la embriogénesis y regeneración en la vida adulta. Se clasifican según su estado evolutivo en embrionarias y adultas. Las células madre producidas a partir de la fecundación del óvulo son las que se obtienen de un embrión y su potencialidad de diferenciación está determinada por el estadio del desarrollo en que se encuentran; las células madre somáticas poseen capacidad multipotencial.¹⁹

En la actualidad se han demostrados considerables avances en el estudio de y aplicación de las células madre adultas, ya que ellas muestran notables ventajas (tabla 1) sobre las embrionarias.²⁰

Tabla 1. Ventajas y desventajas de las células Embrionarias y Adultas.²⁰

CÉLULAS MADRE	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Células Madre Embrionarias	Poseen el potencial de formar cualquier célula del cuerpo, inmortal y es muy fácil obtener este tipo de células.	La forma de obtener este tipo de células es más compleja, tienen potencial inmunogénico por ser alogénicas, enfrentan problemas éticos y legales. Producen un alto porcentaje de tumores en los animales de experimentación.
Células madre Adultas	Su manipulación es más simple, pueden ser autólogas, no presentan limitantes éticas, no se ha comprobado que este tipo de células produzcan neoplasias.	Es difícil obtener esta célula en grandes cantidades, los cultivos experimentales tienen un corto tiempo de vida. Las células madre cosechadas pueden tener mutaciones que causan enfermedades o que pueden dañarse durante la experimentación.

6.1 CLASIFICACIÓN DE LAS CELULAS MADRE POR SU POTENCIAL DE DIFERENCIACIÓN¹⁸

el potencial de diferenciación, las células madre se clasifican en:

TOTIPOTENTES: Son células que en las condiciones apropiadas son capaces de formar un individuo completo ya que pueden producir tejido embrionario y extraembrionario.

PLURIPOTENTE: Tienen la habilidad de diferenciarse en tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias.

MULTIPOTENTES: Pueden diferenciarse de distintos tipos celulares procedentes de la misma capa embrionaria lo que las capacitaría para la formación de tipos celulares diferentes.

OLIGOPOTENTES: Pueden diferenciarse en algunos tipos celulares de linaje específicos.

UNIPOTENTES: Las cuales se diferencian únicamente en una clase de célula.

Es importante citar que las células madre pluripotentes inducidas (iPSCs), las cuales son generadas artificialmente por medio de la manipulación genética de células somáticas, tienen el potencial de convertirse en cualquier tejido como el dental. Este tipo de células se puede obtener a partir de células somáticas mediante factores de transcripción, así como técnicas libres de virus o ADN, llamándose no integradoras, basadas en RNAm o en proteínas recombinantes.¹⁹

6.2 CLASIFICACIÓN DE CÉLULAS MADRE DE LA CAVIDAD BUCAL.

Las células madre de la cavidad bucal son células que poseen un potencial de multidiferenciación y por lo tanto pertenece al grupo de células madre adultas con la capacidad de formar células con carácter osteodontogénico, adipogénico y neurogénico.²⁰

CÉLULAS MADRE EN PULPA DE DIENTES TEMPORALES.

Este tipo de células son manipuladas enzimáticamente y son sometidas a factores tisulares de crecimiento ya que son capaces de diferenciarse en células nerviosas, adipositas y odontogénicas.^{21,22}

CÉLULAS MADRE EN PULPA DE DIENTES TEMPORALES.

Estas células se caracterizan por su capacidad de regenerar el complejo pulpo-dentinal, además de expresar marcadores óseos como las sialoproteínas óseas y fosfatasas alcalinas. La principal y mejor fuente de poder obtener estas células madre son los terceros molares.²³

CÉLULAS MADRE PRESENTES EN ESPACIOS PERIODONTALES.

Este tipo de células se caracterizan por presentarse en los vasos sanguíneos. En varios estudios realizados afirmaron que el ligamento periodontal tiene poblaciones de células que se pueden diferenciar tanto hacia los cementoblastos como hacia los osteoblastos. Los análisis *in vivo* con células madre presentes en espacios periodontales realizados en ratones inmunocomprometidos, sugieren la participación de estas células en la regeneración del hueso alveolar al propiciar la formación de una fina capa de tejido muy similar al cemento que, además de contar entre sus componentes con fibras colágenas se asociaron íntimamente al hueso alveolar próximo al periodonto regenerado.^{24,25}

CÉLULAS MADRE DE LA MUCOSA BUCAL.

Para poder saber más sobre este tipo de células se aislaron y cultivaron queratocitos y se descubrió que expresan totipotencialidad y son capaces de reparar defectos de lesiones cutáneas de baja inmunogenicidad, de igual manera se descubrió que existen dos grupos de células madre en la cavidad bucal.^{21,24}

1. Células madre de la papila apical:

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

2. 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 células madre del folículo dental se aislaron de los folículos dentales de terceros molares que muestran una morfología típica de fibroblastos *in vitro*, con este experimento se demostró que después de la inducción su diferenciación es osteogénica.^{24,25}

Las células madre pluripotenciales indiferenciadas de la pulpa dental residen en un lugar llamado nicho, existen varios nichos en el complejo dental que se albergan a estas células. (Tabla 2). Se han localizado las siguientes células madre pluripotenciales:²⁶

1. Células madre de la pulpa dental (DPSCs).
2. Células madre del ligamento periodontal (PDLSCs).
3. Células madre de la papila dental (ABSCs).
4. Células madre de dientes temporales recientemente exfoliados (SHED).
5. Células madre de la papila apical (SCAP).
6. Células madre del folículo periapical (PAFSCs).
7. Células troncales de la médula ósea (BMSSCs)
8. Células troncales mesenquimatosas derivadas de tejido adiposo (ADMSCs).

Tabla 2 células, localización, líneas de diferenciación y que tejidos desarrolla cada uno.

<https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2011/od114d.pdf>

Tipo celular	Localización (nicho)	Líneas de diferenciación	Tejido desarrollado
DPSCs	Pulpa dental adulta	Osteoblastos, tejido nervioso, odontoblastos.	Dentina, Pulpa, Hueso alveolar
SCAP	Papila apical de raíces en desarrollo	Odontoblastos, osteoblastos, adipocitos.	Dentina, pulpa, hueso alveolar
SHED	Pulpa de dientes deciduos recientemente exfoliados	Tejido nervioso, Adipocitos, odontoblastos, osteoblastos, condrocitos, miocitos esqueléticos y lisos.	Dentina, pulpa, hueso alveolar
PDLSCs	Ligamento periodontal	Adipocitos, osteoblastos, cementoblastos.	Tejidos periodontales
PAFSCs	Folículo dental apical de raíces en desarrollo	Adipocitos, osteoblastos, cementoblastos.	Tejidos periodontales
ABSCs	Zona apical de germen incisal de ratón	Ameloblastos, células del epitelio interno.	Esmalte
BMSSCs	Médula ósea	Odontoblastos, Ameloblastos, Miocitos, Adipocitos, Células adrenocorticales, condrocitos, odontoblastos, osteoblastos.	Esmalte, dentina, pulpa, hueso alveolar
ADMSCs	Tejido adiposo	Adipocitos, tejido nervioso, hepatocitos, miocitos, osteoblastos, odontoblastos, condrocitos.	Dentina, Pulpa, hueso alveolar

VII. ANDAMIOS

Los andamios se consideran armazones de soporte, creando un microambiente odontogénico que facilitara la biosíntesis, proliferación y diferenciación celular. Este andamio debe cumplir requisitos específicos como la biocompatibilidad, biodegradabilidad, porosidad para permitirnos que sea una buena siembra, haya colonización y migración celular, de igual manera debe tener resistencia mecánica para facilitar su manipulación y la adaptación en donde será trasplantado.²⁷

7.1 CLASIFICACIÓN DE ANDAMIOS

ANDAMIOS NATURALES.

Entre los andamios naturales se incluye el colágeno, alginato, fibrina, quitosano, gelatina, seda, ácido hialurónico y deben ser biocompatibles y biodegradables, ya que poseen propiedades mecánicas deficientes y podrían desencadenar respuestas inmunes negativas debido a la presencia de posibles impurezas y esto va depender de su origen.²⁸

Recientemente se creó otra opción natural con el objetivo de poder reducir la inflamación, la reacción de un cuerpo extraño y el potencial de rechazo inmunológico; de esta forma se eliminan los componentes celulares de tejidos u órganos por medio de un proceso químico, enzimático o físico, de esta manera se logra conservar la matriz extracelular. A este tipo de andamio se le denomina “biomimético” ya que permiten la conservación de la estructura, teniendo biocompatibilidad con el entorno, estabilidad mecánica y facilita la difusión de moléculas bioactivas, hay interacción celular, adhesión y la formación de matriz extracelular, de esta manera es la mejor opción para lograr generar órganos con bioingeniería.^{27,28}

ANDAMIOS SINTÉTICOS.

Este tipo de andamios tienen limitaciones inherentes a la biodegradabilidad y biocompatibilidad, como el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poliláctico (PLA). También se han desarrollado materiales inorgánicos, como la cerámica de hidroxiapatita, las cerámicas de fosfato de calcio, incluso de han diseñado andamios en micro y nanoescala, con la finalidad de replicar los eventos celulares que puedan ocurrir en estas escalas.^{27,28}

7.2 MÉTODOS BASADOS EN ANDAMIOS.

En la técnica de bioingeniería se emplea andamios, el cual dará soporte estructural a las células que posteriormente serán sembradas en el mismo. Las células mesenquimales y epiteliales son aisladas de brotes dentales postnatales de animales, luego son sembradas sobre andamios biodegradables, para después ser trasplantadas a la cápsula suprarrenal, directamente al sitio de la exodoncia para su maduración *in vivo*, demostrándose la formación de estructuras de dientes pequeños con tejidos como esmalte, dentina y pulpa dental. (figura 3)

La desventaja más grande de este método es la incapacidad de controlar la forma y tamaño de los dientes, de igual manera con la orientación de los odontoblastos y ameloblastos.²⁹

Existen andamios dentales descelularizados creados a partir de brotes dentarios primarios porcinos sin erupcionar, se sembraron células epiteliales dentales porcinas, células de pulpa dental humana y células endoteliales de vena umbilical humana (haciendo una red vascular), después se logró implantar los constructos en la mandíbula de minicerdos y cultivarlas por 3 o 6 meses. Se hizo un análisis histológico en el cual se logró observar una producción significativa de dentina organizada y tejidos muy similares al esmalte, de este modo se pudo confirmar el gran potencial de este estudio para lograr formación de biodientes de tamaño semejante a los dientes naturales.³⁰

7.3 MÉTODO LIBRE DE ANDAMIO.

Este método también es denominado “método de agregación celular”, el cual produce gérmenes dentales sin la necesidad de utilizar andamios, esto se logra utilizando células epiteliales y mesenquimales obtenidas de gérmenes dentarios de animales, con la ayuda de centrifugación. (Figura 3) Hay una interacción epitelio-mesénquima y se producen correctamente por la capacidad de los agregados

celulares de autorreorganizarse, esto permite obtener un biodiente, pero suele ser difícil poder controlar su desarrollo y formación tisular.^{29,30}

Un método libre de andamio es la técnica de gotas colgantes, la cual permite el cultivo de esferoides multicelulares en un medio líquido en 3D. Se tomaron molares inferiores de ratón de día embrionario 14, se disociaron en células individuales epiteliales y mesenquimales, después se sembraron en una placa de cultivo líquido que favoreció la migración celular y después de 3 días se formaron esferoides bien organizadas. Después de haber realizado la implantación bajo la piel de ratones adultas durante 2 semanas, se logró desarrollar dientes vascularizados que tenían una corona bien formada, esmalte, dentina y la iniciación radicular. Para terminar y poder proporcionar la inervación del mesénquima dental, incluyendo la capa odontoblástica, se realizó un coimplante en el ganglio del trigémino. Una gran ventaja de este método es el pequeño número de células que se requiere.³¹

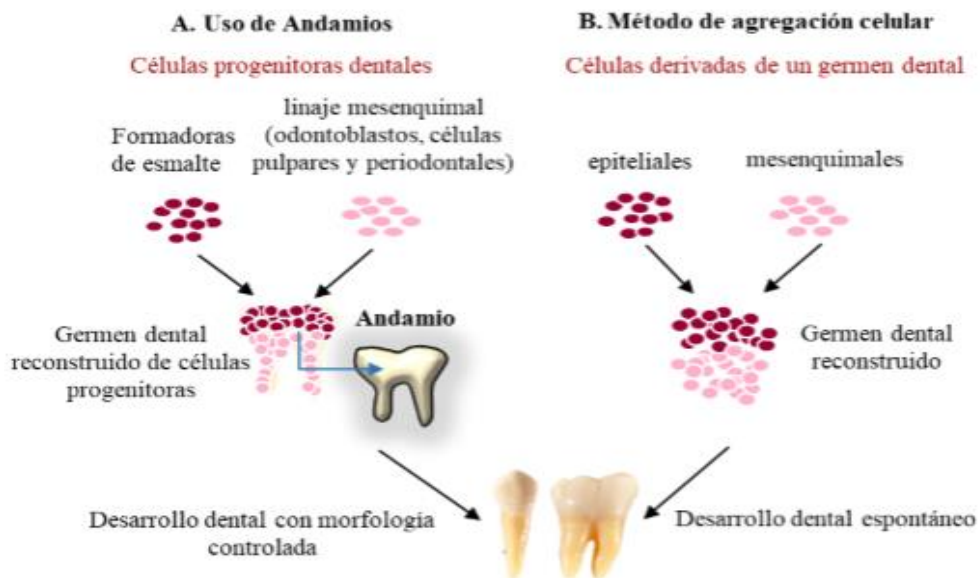


Figura 3. Representación esquemática, representado A como método basado en andamios y B método de agregación celular.

[file:///F:/articulos%20para%20leer/jdelgado.+UO2018v37n79_04_Intriago&Alvarez\(2\).pdf](file:///F:/articulos%20para%20leer/jdelgado.+UO2018v37n79_04_Intriago&Alvarez(2).pdf)

VIII. REGENERACIÓN DE TEJIDOS DENTALES

El principal objetivo de la medicina regenerativa es desarrollar órganos de bioingeniería completamente funcionales para reemplazar órganos que se han perdido o dañado.¹⁴

Los enfoques para construir tejidos emplean una tríada básica de componentes: células madre, agentes bioactivos y andamios.¹⁵

8.1 REGENERACION DE DENTINA.

La dentina es un tejido mineralizado que tiene gran similitud con el hueso, ya que poseen un potencial de reparación postnatal. En investigaciones realizadas se ha comprobado la capacidad de las células madre de la pulpa para autorrenovarse y diferenciarse de cada línea celular. Las células madre de la pulpa fueron obtenidas de dentina ectópica asociada al tejido pulpar *in vivo* de ratones inmunocomprometidos, donde se observó la formación de tejido similar a la dentina.³²

Wang y cols, en 2010 estudiaron las células pulpares de porcino *in vitro* que al ser estimuladas mediante proteína morfogenéticamente ósea, se confirmó la diferenciación de estas células en odontoblastos lo cual resulta en la formación de dentina.³³

En relación con el campo de la endodoncia existe dos estrategias para la regeneración de dentina, las cuales son:

1. Terapia *in vivo*, donde proteínas óseas morfogenéticas (BMP) son directamente aplicadas en la exposición pulpar.
2. Terapia *ex vivo*, el cual consiste en el aislamiento de células madres desde el tejido pulpar, su diferenciación en odontoblastos y finalmente trasplantado autológicamente.³⁴

8.2 REGENERACIÓN DEL LIGAMENTO PERIODONTAL.

Se han realizado estudios experimentales donde se han aislado células madre del ligamento periodontal de dientes humanos, se observó una diferenciación en células como adipocitos, cementoblastos y células formadoras de colágeno.³⁴

En Cuba el Dr. Pérez Borrego y cols. en 2011 han hecho estudios sobre los defectos óseos periodontales, así que desarrollaron un proyecto de investigación para lograr usar células madre en la cirugía maxilofacial.³⁵

La periodontitis en jóvenes puede llevar a la pérdida del diente, de la función y puede afectar la estética del paciente, de esta manera se logró una neoformación ósea en las zonas afectadas por la enfermedad a través de la implantación de células madre abriendo nuevas expectativas para la curación de la periodontitis.³⁶

8.3 REGENERACIÓN DE TEJIDO ÓSEO.

Diversas investigaciones han mostrado la efectividad de las células madre en la reparación ósea en modelos animales; en un futuro las células madre serán capaces de reproducir el tejido óseo del complejo craneofacial para lograr reparar defectos producidos por enfermedades degenerativas, que pueden ser una alternativa para tratar las deficiencias mandibulares, trastornos de la articulación temporomandibular y la fisura del paladar y labio leporino.³³

8.4 REGENERACIÓN DE UN DIENTE.

Se han realizado estudios a nivel experimental donde se logra observar que las células madre adultas adecuadamente estimuladas podían dar origen a un diente con su tejido óseo circundante, este estudio se hizo mediante estímulos de genes como MSX Y PAX-9 sumado a factores de crecimiento; de este modo se demostró que los tejidos presentes en el diente en estadio de brote, puede ser usados la bioingeniería para lograr crear en su totalidad una corona dental.^{37,38}

Los avances recientes en la identificación y caracterización de células madre dentales y la estrategia de la ingeniería tisular dentaria, está a un paso más de lograr acercarse a la creación de tejidos dentales.³⁶

IX. MARCADORES MESENQUIMALES.

En el 2009 Lin H y cols., 2006 Beyer Nardi y cols., reportaron que fenotípicamente las células troncales mesenquimales expresan los siguientes marcadores que ayudará a la clasificación de las células troncales mesenquimales.⁴³

9.1 MARCADOR CD24

Antígeno de superficie celular, es una sialoglicoproteína que están ancladas a la superficie celular por un glicosilfosfatidilinositol considerado un marcador específico para las células troncales de la papila apical (CSPA)³⁸

9.2 MARCADOR CD90

Es una proteína que pertenece a la familia de la inmunoglobulina y cuyo principal ligando es el CD45 y es expresada en un 10-40% en células CD34+. Está involucrada en la interacción célula-célula. Este marcador se expresa en precursores mesenquimales tempranos que tiene la capacidad de diferenciarse en ostoblastos. Este marcador se puede expresar en neuronas, células del cordón umbilical, células de médula ósea y en el estroma de células mesenquimales.³⁹

9.3 MARCADOR CD105.

También llamado endoglina, es una glicoproteína de membrana homodimérica asociada con el endotelio vascular humano. También se encuentra en pre-eritroblastos médula ósea, los monocitos activos y los linfoblastos en la leucemia infantil. Este marcador es un componente del complejo receptor de factor de crecimiento transformante beta (TGFB) y se una TGFB1 con alta afinidad. Se expresa en monocitos activos, macrófagos activados, precursores eritroides,

fibroblastos, células cardíacas, células vasculares de músculo liso y células endoteliales.³⁸

9.4 **MARCADOR STRO-1.**

Este marcador expresa en el desarrollo temprano de las células troncales mesenquimales, declinando su expresión cuando los genes asociados a la diferenciación y expansión osteogénica como el Factor de Unión Core A1 (CBFA1) interactúa con osteopontina y osteocalcina. Esta molécula identifica precursores estromales de médula ósea y se expresa en células de tejido deciduo (el componente materno de la interface materno-fetal compuesta predominantemente por células tipo estromales, como lo son las células glandulares y leucocitos), además de la placenta, tejido adiposo y pulpa dental. Este marcador es identificado como un antígeno específico para células troncales mesenquimales aisladas de la médula ósea.⁴⁰

9.5 **MARCADOR CD146.**

Es una glicoproteína de superficie celular MUC18, un miembro de la familia inmunoglobulinas, es homóloga a varias moléculas de adhesión celular y está asociada con la progresión tumoral y el desarrollo de la metástasis en el melanoma maligno. Esta expresado en varias líneas de células endoteliales como el estroma de la médula ósea y algunos subtipos de linfocitos T.⁴¹

9.6 **MARCADOR CD34.**

Es un antígeno de células precursoras del sistema hematopoyético. Es una proteína transmembranal, inicialmente detectada en las células del sistema linfohematopoyético, precursoras de la serie mieloide y presentes en la medula ósea. Este antígeno se observa también en el endotelio vascular, en las células dendríticas de la dermis superior, en el endoneuro y en diversos tumores de partes blandas. Este marcador no es expresado por las células troncales mesenquimales, pero si es utilizado para lograr darle caracterización inmunofenotípica.⁴²

9.7 **Marcador CD44**

Es una glicoproteína de membrana celular, tiene la característica de tener muchos tipos de células troncales cancerígenas, también es expresado en las células mesodérmicas, hepatocitos y fibroblastos.⁴³

9.8 **Marcador CD271.**

Conocido como p75, recibe este nombre debido a su masa molecular. Este marcador es un receptor del factor del crecimiento nervioso (NGFR), puede ser encontrado en el sistema nervioso central y periférico, en las células de shwann y en la médula ósea.³⁸

X. MÉTODOS PARA LA FORMACIÓN DE UN BIODIENTE.

El biodiente se diseña como un antólogo sustituto de diente humano que puede volver a integrarse en la mandíbula y realizar las funciones normales de un diente natural, con la ventaja de regenerarse en caso de una lesión. Se han hecho varios estudios donde se ha demostrado que un biodiente puede ser reconstruido a partir de células troncales dentales sobre su matriz.⁴⁴

Nakao y cols, en 2007 demostraron a través de bioingeniería, que los gérmenes de los dientes incisivos pueden ser reconstruidos completamente utilizando las células epiteliales y mesenquimales dentales en un gel de colágeno de tres dimensiones. Estos gérmenes pueden replicar la organogénesis embrionaria dental.

Ikeda y cols, 2008 han demostrado que estos biodientes en el hueso alveolar pueden desempeñar las funciones de un diente natural, incluyendo la erupción, la oclusión y la masticación.⁴⁵

10.1 **MÉTODO BASADO EN CÉLULAS MADRE PLURIPOTENCIALES INDUCIDAS (iPSCs).**

Este método es libre de andamios donde únicamente se utilizaron iPSCs y es un modelo planteado en humanos, donde se indujo las células somáticas (dentales o no dentales) para lograr formar iPSCs, que a su vez permitieron obtener tanto células madre epiteliales como mesenquimales con potencial odontogénico, que después se recombinaron y pasaron a cultivarse in vitro hasta la etapa de casquete, para después trasplantar los gérmenes dentales a los sitios edéntulos de los maxilares, para el remplazo con dientes funcionales.^{26,46}

Para investigar si las células mesenquimales dentales en el germen del diente podrían inducir células iPS de ratón indiferenciadas para formar células epiteliales dentales, se combinaron células iPS que expresan DsRed con mesénquima dental E14.5 y se trasplantaron junto con esponjas de colágeno debajo de la cápsula renal en ratones inmunodeficientes. Cuatro semanas después del trasplante, se observaron estructuras similares a gérmenes dentales en teratomas derivados de células iPS, y las células iPS expresaron un marcador de ameloblastos, amelogenina, lo que indica que las células iPS se habían diferenciado en ameloblastos (Figura 4). Sin embargo, los resultados de estos experimentos de trasplante tuvieron poca reproducibilidad (<10%) y el número de estructuras similares a gérmenes dentales en los teratomas fue muy pequeño (<2 por teratoma). Por lo tanto, parecía que serían necesarias señales exógenas más específicas y adecuadas para inducir a las células iPS indiferenciadas a adquirir características odontogénicas.⁴⁶

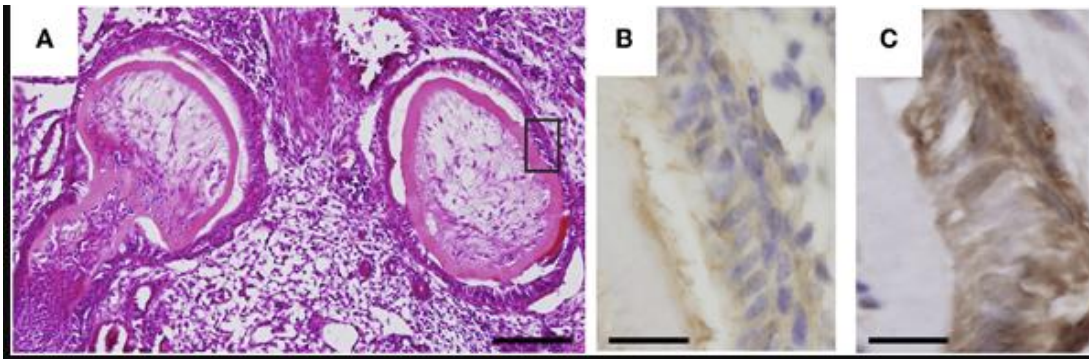


Figura4. Respuesta odontogénica de células IPS indiferenciadas.
https://www.frontiersin.org/files/Articles/71629/fphys-05-00036-HTML/image_m/fphys-05-00036-g001.jpg

El desarrollo dental está controlado por interacciones recíprocas entre las células mesenquimales dentales derivadas de NC y las células epiteliales dentales derivadas del epitelio ectodérmico. Las interacciones epiteliales-mesenquimales también controlan la diferenciación terminal de odontoblastos y ameloblastos, por lo tanto, como una nueva estrategia para la regeneración dental, se especula que las células epiteliales ectodérmicas y las células NC inducidas a partir de células iPS podrían ser la fuente de células óptima para la regeneración de dientes completos. (Figura 5) Se recolectan las células somáticas del paciente. Se introducen condiciones/factores de reprogramación para inducir la autorrenovación y la pluripotencia, y se establecen células iPS específicas del paciente. Las células iPS se inducen para formar células epiteliales ectodérmicas y células mesenquimales derivadas de la cresta neural, y se inducen además para formar células odontogénicas in vitro. Las dos poblaciones celulares se combinan por contacto directo, imitando la disposición in vivo. La interacción de estas células conduce a la formación de un germen dental en etapa temprana. Una vez trasplantados en la boca, los recombinantes se desarrollan y conducen a la recuperación funcional de la pérdida de dientes.⁴⁶

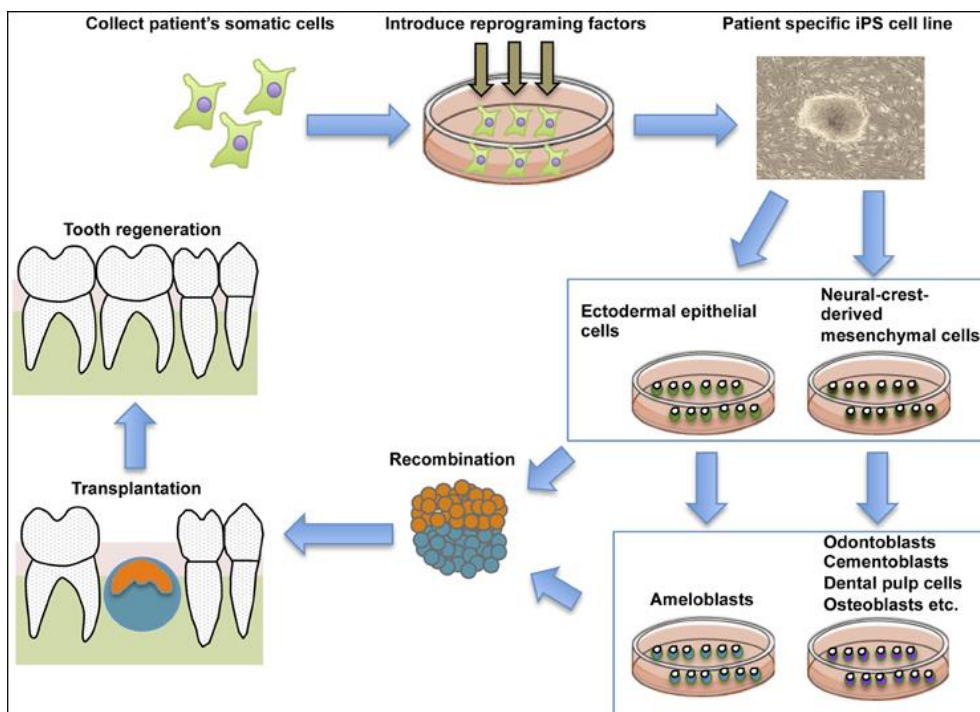


Figura 5. Representación esquemática del método basado en el empleo de iPSCs.

Tomado de: https://www.frontiersin.org/files/Articles/71629/fphys-05-00036-HTML/image_m/fphys-05-00036-g002.jpg

10.2 MÉTODO DEL GERMEN DE ÓRGANOS.

Este método se trata de una manipulación celular tridimensional in vitro que replica el proceso de odontogénesis, pues ocurre una compartimentación de las células epiteliales y mesenquimales dentro de un gel de colágenos de alta densidad, reproduciendo un montaje multicelular y las interacciones epitelio- mesénquimas para desarrollar biodientes. Los primeros molares superiores de ratones (SLC) de 5 semanas de edad se extrajeron bajo anestesia profunda. Los ratones se mantuvieron durante 3 semanas para permitir la reparación natural de la cavidad dental y el epitelio oral. Antes del trasplante, confirmaron mediante el análisis microCT que los componentes restantes de la raíz del diente y/o el diente que se había desarrollado a partir de ellos no podían observarse en los agujeros óseos. Después de la reparación, se realizó una incisión de aproximadamente 1,5 mm de longitud a través de la mucosa oral en el sitio de extracción con unas tijeras finas para acceder al hueso alveolar. Se utilizó un tornillo de banco fino (Tamiya) para crear un orificio óseo de aproximadamente 0,5 a 1,0 mm de diámetro en la superficie expuesta del hueso alveolar. Justo antes del trasplante, extrajeron el gel

de colágeno del germen de diente obtenido mediante bioingeniería en el cultivo de órganos in vitro y marcamos la parte superior del epitelio dental con un colorante de tinción vital, como el azul de metileno, para garantizar la dirección correcta de los explantes. Después los explantes se trasplantaron al orificio óseo según el tinte, se suturó la mucosa oral incisa con nylon 8-0 y se limpió el sitio quirúrgico.⁴⁶

En este método se inyecta mesenquimáticas (aisladas de un germen molar de ratón) disociadas en el centro de una gota de colágeno de alta densidad, se inyecta las células epiteliales derivadas del germen dental de un molar de ratón en una gota adyacente al agregado celular mesenquimal. Luego de un día de cultivo se observa la formación de un germen dental de bioingeniería con células epiteliales y mesenquimales y compactación célula a célula, el cual se desarrolló in vitro durante 14 días para poder realizar el trasplante de este germen dental bajo la cápsula renal por 30 días.^{46,47}

Después de un largo periodo se obtiene un biodiente maduro, con todos los componentes estructurales como esmalte, dentina, hueso alveolar. De la misma manera se puede obtener múltiples unidades de biodientes, rodeados de hueso alveolar, que pueden ser trasplantados para reparar grandes zonas edentulas de los maxilares. Los biodientes obtenidos mediante este método se injertaron en un ambiente adulto mediante unión ósea, a través de integración ósea del hueso de biodiente con el hueso maxilar. Como resultado se notó que el biodiente alcanzó el plano oclusal en 49 días, realizando una función masticatoria correcta con el diente antagonista natural. (Figura 6) Además, se observó presencia de vasos sanguíneos y fibras nerviosas sensoriales y simpáticas en la pulpa.⁴⁷

Los biodientes obtenidos fueron sometidos a tratamiento de ortodoncia y expuestos a trauma por exposición pulpar, los cuales su respuesta neural fue normal. Con este método se consigue controlar exitosamente el tamaño del diente de bioingeniería, así como regular el ancho de la corona mediante el control de la zona de contacto entre el epitelio y las capas de células mesenquimales. Esta técnica ha permitido que se logre obtener incisivos y molares en ratones.⁴⁶

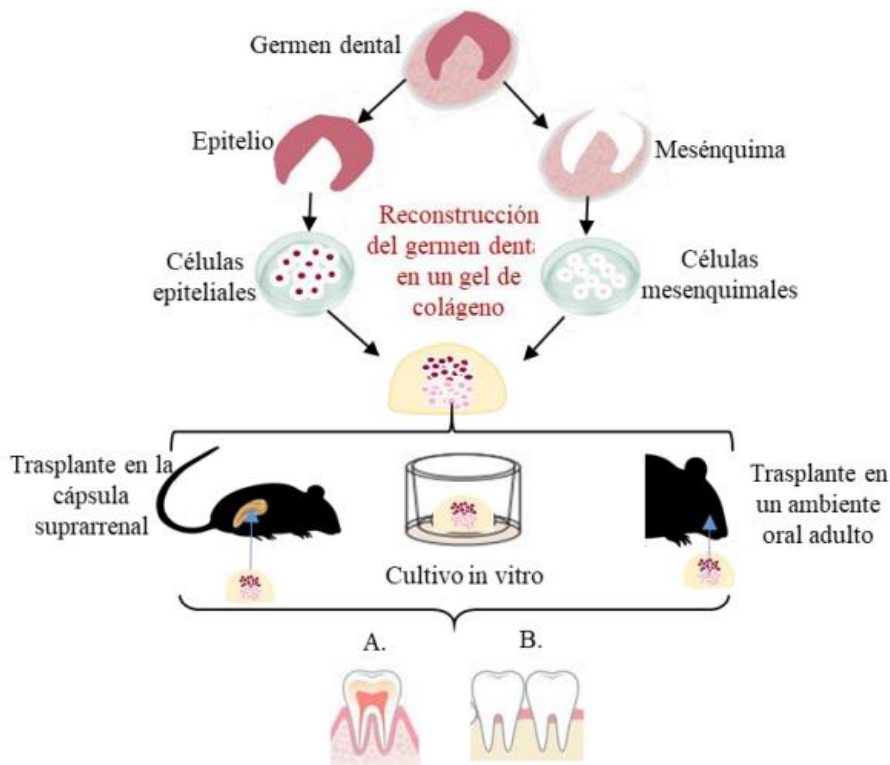


Figura 6. Representación esquemática del método de germen de órgano

Tomado de: [file:///D:/Descargas/jdelgado,+UO2018v37n79_04_Intriago&Alvarez\(2\).pdf](file:///D:/Descargas/jdelgado,+UO2018v37n79_04_Intriago&Alvarez(2).pdf)

10.3 MÉTODO DE UN DIENTE QUIMÉRICO O RECOMBINANTE.

El término “quimera” en la ciencia es un organismo o un órgano que contiene poblaciones celulares procedentes de individuos genéticamente distintos, ya sean de la misma especie o de diferente. Este método se enfoca en poder diseñar un biodiente de células madre derivadas de la pulpa dental adultas que se han recombinado con células epiteliales dentales de otras especies como minicerdos y ratones, obteniendo grandes resultados. En este estudio se diferenciaron las células madre de la pulpa dental derivadas de la orina humana en células epiteliales dentales (Figura 7) y las recombinaron con el mesénquima de un molar de ratón.⁴⁸ Se utilizaron 9 líneas distintas de células pluripotentes en este estudio. Estos incluyeron hESC. Se obtuvieron 8 líneas hiPSC derivadas de células de orina de tres donantes del South Stem Cell Bank en China. La diferenciación epitelial de hESC e iPSC se llevó a cabo con medio de diferenciación, cuando hESC o iPSC alcanzan un 70-80 % de confluencia. El medio se reemplazó directamente en D7 con medio libre de suero de queratinocitos definidos y suplemento (DSFM) para la

capa de células confluentes. Además, las células diferenciadas en D7 podrían separarse con Dispase y distribuirse en placas recubiertas de gelatina en una proporción de división de 1:3 con cambio de medio de cultivo (DSFM) cada dos días hasta D42.⁴⁸

Luego se recolectaron láminas epiteliales D7 y las recombinaron con el mesénquima dental del ratón antes del trasplante en la cápsula subrenal del ratón. Después de 3 semanas, se observaron estructuras similares a dientes con los quistes fibrosos en el riñón (Figura 8). Se aislaron estructuras similares a dientes individuales retirándolas de los quistes fibrosos y del hueso circundante: Encontraron que las estructuras similares a dientes siempre aparecían con la presencia de quistes fibrosos. La estructura similar a un diente contenía pulpa dental, dentina, espacio del esmalte y órgano del esmalte. Los órganos del esmalte tienen ameloblastos alargados con una estructura similar a un borde ondulado y una capa papilar. También se observó la expresión de Ameloblastina (Amel) localizada en la capa de ameloblastos y su capa papilar. De esta forma confirmaron el origen humano del componente epitelial en secciones transversales de dientes recombinantes antes del aislamiento mediante inmunotinciones con anticuerpos humanos específicos contra el antígeno leucocitario humano-I (HLA-I) y el antígeno del núcleo humano (hNA) (Figura 8B). Ambos anticuerpos se tiñeron negativamente en la pulpa dental, el cartílago y las estructuras similares a huesos circundantes, que se desarrollaron a partir del mesénquima dental de ratón. Como era de esperar, ambos anticuerpos humanos específicos se tiñeron positivamente para los ameloblastos, capa papilar, y células epiteliales escamosas en el quiste. Además, la tinción HLA-I positiva se localizó en el citoplasma, mientras que hNA se localizó complementariamente en el núcleo. Como control, sin recombinación con hESC o láminas epiteliales derivadas de ifhU-iPSC, los mesénquimas dentales de ratón trasplantados en condiciones idénticas formaron estructuras similares a huesos, según lo confirmado por la tinción positiva de sialoproteína ósea (BSP) en el conjunto. estructura similar a un hueso incrustada con osteocitos (Figura 8C). Después de 3 semanas de cultivo bajo la cápsula renal del ratón, observando la formación de un diente químero con propiedades físicas como el módulo de elasticidad y dureza muy similares a las de

un diente humano, de este modo se comprobó el potencial de las células madre de pulpa dental derivadas de la orina para lograr dar origen a ameloblastos secretores de esmalte.⁴⁹

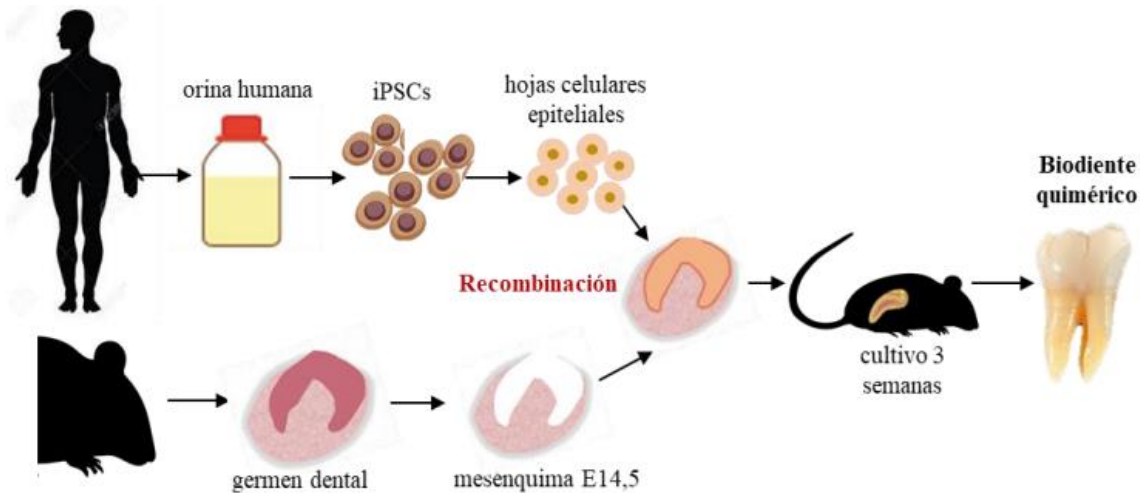


Figura 7. Representación esquemática de un biodiente quimérico.

Tomada de: [file:///D:/Descargas/jdelgado,+UO2018v37n79_04_Intriago&Alvarez\(2\).pdf](file:///D:/Descargas/jdelgado,+UO2018v37n79_04_Intriago&Alvarez(2).pdf)

De la misma manera se crearon biodientes quiméricos derivados de células madre homólogas de diferentes individuos de la misma especie, donde se aislaron células madre de la pulpa dental (DPSC) de incisivos y células madre del hueso orofacial (BMSSC) de la médula ósea y se recombinaron con las células del brote apical (ABC) de un germen de incisivo postnatal. Después se dividió un grupo de DPSC-ABC y BMSSC-ABC donde fueron incubadas por 14 días in vivo y se formaron quimeras con estructuras dentarias típicas, pero en el grupo BMSSC-ABC no se llevó a cabo la formación de esmalte.⁴⁹

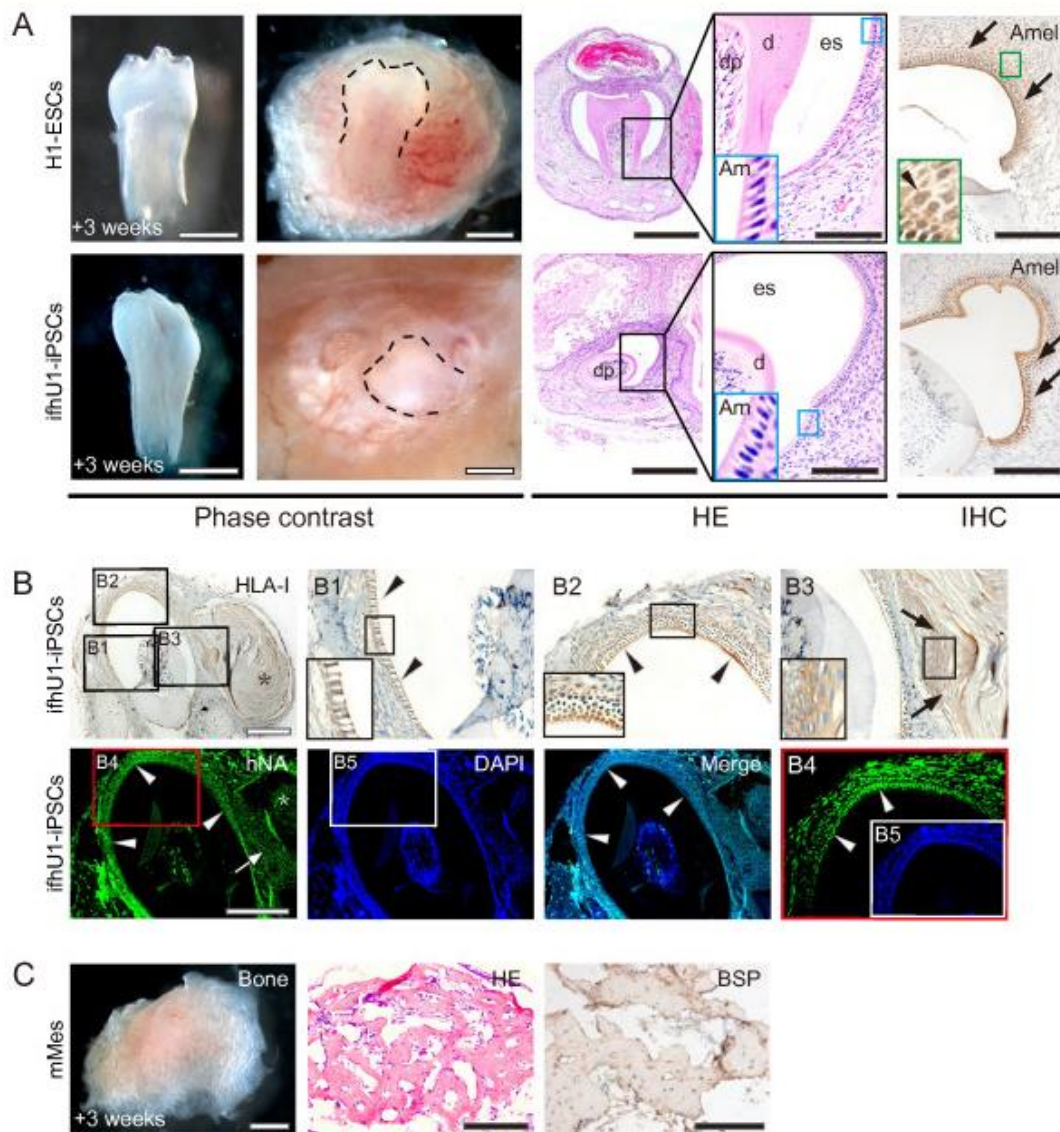


Figura 8. Estructuras similares a dientes formadas a partir de la línea H1 - ESC y las líneas hiPSC en 3 semanas. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4230506/figure/Fig2/>

XI. CONCLUSIÓN

El uso de las células madre en el campo de la odontología es sustancial, ya que tiene un alto potencial biológico en la regeneración y reparación pulpar. El órgano dental es un excelente modelo de investigación, que brinda grandes posibilidades para el desarrollo de tecnología como la terapia de regeneración para el remplazo de órganos. Gracias al avance de la ciencia es posible la elaboración de un biodiente humano, completo, funcional y totalmente integrado a los tejidos de la cavidad bucal.

Se debe seguir explorando la identificación de células madre epiteliales y mesenquimales que puedan ser mantenidas y expandidas in vitro, con el fin de proveer suficientes fuentes para la elaboración de biodientes. La utilización de células madre es de gran ventaja por su gran potencial de diferenciación y la factibilidad de obtención, por ello se espera que pronto se puedan regenerar dientes y otros órganos humanos.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Real Academia Española y Asociación de Academias de la Lengua Española. «diente». Diccionario de la lengua española (23.^a edición).
2. Cate, A. R. Oral Histology: development, structure, and function. Quinta edición, 1998, pp. 93-95.
3. Cate, A. R. Oral Histology: development, structure, and function. Quinta edición, 1998, pp. 81, 86 y 102.
4. Tejidos del diente. https://www.goodmouthcr.com/blog/anatomia_dental-esmalte/
5. Real Academia Española y Asociación de Academias de la Lengua Española. «periodonto». Diccionario de la lengua española (23.^a edición)
6. María Beatriz Ferro Camargo, Mauricio Gómez Guzman. Fundamentos de la odontología. Segunda edición. Facultad de odontología Pontificia Universidad Javeriana. 2007.
7. John F. Richard. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad periodontal en la práctica odontológica general. Segunda edición. Editorial médica panamericana. Buenos Aires: 1982.
8. Glickman, Irving. Periodoncia Clínica. Cuarta edición. Edo. De México: 1974.
9. Rohen Johannes, Yokochi Chihiro, Lütjen-Drecoll Elke. Atlas de anatomía humana: Estudio fotográfico del cuerpo humano. Quinta edición. Editorial ELSEVIER SCIENCE 2003
10. Romero Jasso G., Aldape Barrios B. C. Bioingeniería Dental, ¿El Futuro de la Terapia en Odontología? ADM. 2011;4(LXVIII):169-174. 2.
11. Horst OV., Chávez M., Jheon A.H., Desai T., Klein OD. From Stem Cell and Biomaterials Research Dental Tissue Engineering and Regeneration. Am Dent North Am. 2012;56(3):495-520.
12. Soto EN, Vargas LEU, Oropeza MPM, Cano PS, Morán AR, García MVG. Células pluripotenciales de la pulpa dental humana: El futuro de la Regeneración en Odontología. Odontología Actual[Internet] 2014 [citado 11 abr 2019]. 130: [aprox. 1 p.]. Disponible en: <http://www.>

odontologos.mx/odontologos/reportajes/gum/celulas-pluripotenciales-pulpa-dental-humana.pdf .

13. Pablo González Barrios. Radio Cánada internacional. Abril 2017. <https://www.rcinet.ca/es/2017/04/28/dos-canadienses-son-los-pioneros-en-la-investigacion-de-las-celulas-madre/>
14. Collins F.S., Patrinos A. J. New goals for the U.S. Human genome project: Science.1998-2003;282(5389):682-9
15. Shalu Rai., Mandeep Kaur S., Sandeep Kaur., Sapna Paniwani Arora. Redefinitions of the Possible Applications of Dental Stem Cell: an Asser Forthe Future. Med Oral Patol Oral Cir 2012.
16. Duailibi S.E, Duailibi M.T, W Zhang, R; Vacanti J.P. and. Yelick PC. Bioengineered Dental Tissues Grown in the Rat Jaw. J Dent Res.2008.
17. L. Snead M. Whole-Tooth Regeneration: It Takes a Village of Scientists, Clinicians, and Patients. Journal Dental Education.2008
18. Wang Y, Preston B, Guan G. Tooth bioengineering leads the next generation of dentistry. Int J Paediatr Dent. 2012 Nov; 22(6): 406–18.
19. Alvarez J. Ingeniería de tejidos en endodoncia: estado actual e implicaciones futuras. Odontociencia: Facultad de Odontología, Universidad de Cuenca. 2010 jul.
20. Otsu K, Kumakami-Sakano M, Fujiwara N, Kikuchi K, Keller L, Lesot H, Harada H. Stem cell sources for tooth regeneration: current status and future prospects. Front Physiol. 2014 Feb; 5(36).
21. Céspedes D, Perona G. Futuro de la odontología restauradora. Rev Estomatológica Hered. 2014 Ago; 20(1): 44.
22. Singh R, Gaikwad S, Chatterjee S, Ray P. Stem cells: the holy grail of regenerative medicine. In: Engineering in translational medicine. London: Springer-Verlag; 2014.
23. Dra. Kenia Betancourt Gamboa y cols. (Uso de células madre en el complejo bucofacial). Archivo médico de Camagüey, vol 16. Camagüey, Cuba. 2012

24. Hernández Ramírez P. Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2009.
25. Macías-Abraham C, O del Valle-Pérez L, Hernández-Ramírez P, Ballester-Santovenia JM. Características fenotípicas y funcionales de las células madre mesenquimales y endoteliales. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 2010.
26. González Orta LJ, Font Rytzner A, De Nova García MJ. Investigación con células madres de origen dentario. Actualización. Gaceta Dental Digital [Internet]. 2011.
27. Sánchez Garcés MA, Vilchez Pérez MA, Cortell Ballester I, Núñez Urrutia S, Sala Pérez S, Gay Escoda C. Revisión bibliográfica de Implantología Bucofacial: Primera parte. Avances en Periodoncia.
28. Jinhua Yu, huxia HC, Chunbo Tang, Yuanfei Li. Differentiation potential of STRO1, dental pulp stem cells changes during cell passaging. BCM cell Biology.
29. Lui H, Cas T. Dental application potential of mesenchymal stromal cells and embryonic stem cells. J Den Res. 2010
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21264358>.
30. Giordano G., Lamonaca G., Annibali S., Ciconetti A; Ottolengui L. Stem from Oral Niches: A Review. Ann Stomatol. Roma 2011.
31. Prósper F, Gavira JJ, Herreros J, y cols. Trasplante celular y terapia regenerativa con células madre. Anales Sis San Navarra. 2006
32. Yadav P, Tahir M, COLS. Test tube tooth: the next big thing. J Clin Diagn Res. 2016 Jun
33. Monteiro N, Yelick PC. Advances and perspectives in tooth tissue engineering. J Tissue Eng Regen Med. 2016 Jan
34. Bhanja A, D'Souza DSJ. Mapping the milestones in tooth regeneration: Current trends and future research. Med J Armed Forces India. 2016 Dec
35. Zhang W, Vazquez B y cols. Regeneration Decellularized tooth bud scaffolds for tooth. J Dent Res. Mayo 2017.

36. Magallanes Fabián M, Carmona Rodríguez. Aislamiento y caracterización parcial de células madres de pulpa dental. Rev Odontol mexicana. 2010 <http://www.medigraphic.com/pdfs/odon/uo-2010/uo101c.pdf>.
37. Camejo Suárez M. Ingeniería de tejido en la regeneración de dentina y la pulpa. Acta Odontol. Venezolana 2010 <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/1/pdf/art18.pdf>.
38. Munevar Niño, Becerra A. Aspectos celulares y moleculares de las células madres involucradas en la regeneración de tejidos con aplicaciones en la práctica clínica odontológica. Acta Odontol. Venezolana 2008. http://www.actaodontologica.com/ediciones/2008/3/pdf/aspectos_celulares_moleculares_celulas_madres.pdf.
39. Pérez Borrego A, Domínguez Rodríguez L, Ilisástigui Ortueta C. Utilización de células madre en los defectos óseos periodontales. Revista Cubana Estomatol 2009 Diciembre.
40. López Pino M. Células Madres. Cuba. Revista Ahora 2009 http://old.cubahora.cu/index.php?tpl=principal/ver-noticias/ver-not_ptda.tpl.html&newsid_obj_id=1037979.
41. Kuchler-Bopp S, Bécavin T y cols. Three-dimensional micro-culture system for Tooth tissue engineering. J Dent Res. Junio 2016.
- 42.. Duff S, Li C, Garland J, Kumar S. CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. The FASEB Journal. 2003; 17 (9): 982-992.
- 43.. Wiesmann A, Buhning HJ, Mentrup C, Wiesmann HP. Decreased CD90 expression in human mesenchymal stem cells by applying mechanical stimulation. Head Face Med. 2006.
44. Gonçalves R, da Silva C, Cabra J, Zanjani E, Almeida-Porada G. STRO-1+ human universal stromal feeder layer to expand/maintain human bone marrow hematopoietic stem/progenitor cells in a serum-free culture sytroncales. Exp Hematol. 2006.

45. Huang GT, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res.* 2006.
46. Waddington R, Sloan A. *Tissue engineering and regeneration in dentistry.* Willey-Blackwell; 2017.
47. Ikeda E, Morita R, Nakao K, Ishida K, Nakamura T, Takano-Yamamoto T, Ogawa M, Mizuno M, Kasugai S, Tsuji T. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Aug.
48. Wang B, Li L, Du S, Liu C, Lin X, Chen Y, Zhang Y. Induction of human keratinocytes into enamel-secreting ameloblasts. *Dev Biol.* 2010 Aug
49. Zhang W, Vazquez B, Oreadi D, Yelick PC. Decellularized tooth bud scaffolds for tooth regeneration. *J Dent Res.* 2017 May; 96(5): 516–23.