



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

APLICACIÓN ACTUAL DE LAS CÉLULAS MADRE EN
ODONTOLOGÍA.

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:

DANIELA CECILIA DÍAZ ZAMORA

TUTORA: Dra. SILVIA MALDONADO FRÍAS

MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

Antes que nada quiero agradecer al Dr. Carlos Alberto Monteagudo Arrieta, la persona que sin saber cambio mi vida desde el momento en que me invito a trabajar a su clínica, me devolvió el amor a la Odontología y principalmente a la Periodoncia, por las infinitas experiencias compartidas y todo el aprendizaje ganado, porque simplemente sin él esta investigación no habría tenido inicio.

A mi tutora la Dra. Silvia Maldonado Frías por toda la ayuda que me brindo durante estos meses en la elaboración de mi tesina, por los ánimos que me dio en cada revisión y la causarme motivación hacia el aprendizaje continuo observándola hacer su trabajo.

A todos los profesores que compartieron un poco de su conocimiento en el aula de clases.

A la Dra. Karina López Gazcon Zamudio por brindarme la oportunidad de conocer el mundo laboral, por todos los consejos para la práctica clínica, pero sobre todo por enseñarme el significado de integridad.

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, por todas las oportunidades académicas brindadas hacia los estudiantes para lograr a ser profesionistas de excelencia.

Por mi raza hablará el espíritu



DEDICATORIAS

A mis padres Gloria que siempre ha tenido tiempo para escucharme, llamarme la atención o consentirme y Gustavo que me ha dado todo lo que ha podido, gracias por el apoyo durante todas las etapas de mi vida, por forjar mi carácter, sin ustedes no habría llegado hasta aquí, son los mejores y los amo.

A mis 3 hermanos, Jocabeth que siempre ha sido mi ejemplo a seguir, la mujer más fuerte que conozco, a Saúl por darme unos sobrinos tan bonitos que amo tanto, por los que vale la pena luchar y Alonso que siempre me han cuidado hasta de mi misma, compartir tiempo con ustedes me hace increíblemente feliz.

A mi primo Rafael en quien encontré un amigo, un confidente, un apoyo.

A mis amigos Susana, Rodolfo, Eveline, Eves, Marianela, Karla que han hecho mejores estos últimos años en la Facultad pero especialmente a ti Erika por hacer un espacio para escucharme, por no juzgarme pero tampoco solapar mis errores.

A ti Ivan Acoltzi, la persona más auténtica que conozco, que me ha tenido paciencia en estos meses, me ha acompañado en los últimos éxitos y fracasos de mi vida, quien me abrió su alma y me mostro su entorno, porque ha tenido una palabra de aliento hasta en los días más oscuros, por enseñarme a perdonar, a volver a confiar y sobre todo por recordarme lo hermoso que se siente amar.

A todas las personas que dejaron una enseñanza en mi vida y por alguna razón salieron de ella.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	9
OBJETIVOS.....	11
1. Célula madre.....	12
1.1 Totipotente.....	17
1.2 Pluripotente.....	18
1.3 Multipotente.....	20
2. Tejidos potenciales para localización de Células Madre.....	20
2.1 Cordón umbilical.....	23
2.2 Medula ósea.....	26
2.3 Tejido adiposo.....	31
2.4 Tejidos dentales.....	33
2.4.1 Pulpa dental.....	36
2.4.2 Dientes deciduos exfoliados.....	38
2.4.3 Folículo dental.....	39
2.4.4 Ligamento periodontal.....	41
2.4.5 Papila apical.....	44
3. Reprogramación Celular.....	48
3.1 Transferencia Nuclear.....	49
3.2 Fusión de células pluripotentes y multipotentes.....	50
3.3 Factores de Transcripción.....	51
4. Reportes de uso.....	52
5. Conclusiones.....	57



6. Glosario	58
7. Bibliografía	60

ÍNDICE DE IMÁGENES

- Fig. 1 Características de las células madre.
- Fig. 2 Fecundación.
- Fig. 3 Segmentación del cigoto.
- Fig. 4 Implantación.
- Fig. 5 Origen de células madre.
- Fig. 6 Jerarquía de células madre.
- Fig. 7 Derivación de líneas ESC humanas y su pluripotencia.
- Fig. 8 Función inmunológica de las MSC en diferentes tipos de células de la inmunidad innata y adaptativa.
- Fig. 9 Tejidos para la obtención de células madre mesenquimales.
- Fig. 10 Componentes del cordón umbilical.
- Fig. 11 Regiones internas de un hueso.
- Fig. 12 Diferenciación de las células madre hematopoyéticas.
- Fig. 13 Diferenciación de células madre mesenquimales de la medula ósea.
- Fig. 14 Aspiración de Medula Ósea.
- Fig. 15 La Verdad sobre la grasa: Ubicación.
- Fig. 16 Liposucción.
- Fig. 17 Anatomía Dental.
- Fig. 18 Proceso de desarrollo de morfogénesis del diente.
- Fig. 19 Células madre de los tejidos dentales.
- Fig. 20 Pulpa dental.
- Fig. 21 Central de la primera dentición antes de exfoliarse.
- Fig. 22 Radiografía de zona de premolares.
- Fig. 23 Localización de los tejidos periodontales: cemento hueso, encía y ligamento periodontal.
- Fig. 24 Trayecto de los haces de fibras gingivales.
- Fig. 25 Papila Apical.



- Fig. 26 Aplicaciones de las células madre pluripotentes inducidas.
- Fig. 27 Creación de Dolly mediante transferencia nuclear.
- Fig. 28 Reprogramación de células adultas mediante el uso de factores de transcripción.
- Fig. 29 Defecto óseo.



ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Diferencias entre las células madre embrionarias y las adultas.
- Tabla 2. Marcadores de expresión característicos de células madre mesenquimales y su potencial de diferenciación.

ABREVIATURAS

- IMC Inner cell mass/ Masa celular interna
- ESC Embryonic Stem Cells/ Células Madre Embrionarias
- EpiSC Epiblastic Stem Cells /Células madre epiblasticas
- MSC Mesenchymal Stem Cells/ Células madre mesenquimales
- UC Umbilical Cord/ Cordón umbilical
- UCMSC Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells/Células madre mesenquimales del cordón umbilical
- UCBSC Umbilical Cord Blood Stem Cells/ Células madre de la sangre del cordón umbilical
- HSC Hematopoietic Stem Cell/ Célula Madre Hematopoyética
- CMH-LP Células madre hematopoyéticas a largo plazo
- CMH-CP Celas madre hematopoyéticas a corto plazo
- BM Bone Marrow/ Medula ósea
- BMMSC Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells/ Células madre mesenquimales de la medula ósea
- CFU-F Colony- Forming Unit Fibroblast/ Unidades Formadoras de Colonias de Fibroblastos
- ml mililitro
- MNC Mononuclear Cells/ Células mononucleares
- WAT White Adipose Tissue/ Tejido adiposo blanco
- BAT Brown Adipose Tissue/ Tejido adiposo café
- ASC Adipose Stem Cells/ Células madre de tejido adiposo
- SVF Stromal Vascular Fraction / Fracción vascular estromal
- DPSC Dental Pulp Stem Cells/ Células madre de la pulpa dental
- SHED Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous teeth/ Células madre de dientes deciduos exfoliados



INTRODUCCIÓN

El cuerpo comprende más de 200 tipos de células diferentes que están organizadas en tejidos y órganos proporcionando todas las funciones requeridas para la viabilidad y reproducción.¹

Recientemente se han realizado investigaciones sobre las células madre, reportando su potencial en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, y el uso que podrían tener en la reparación de tejidos dañados por accidentes o envejecimiento.

El mecanismo de como las células se comportan en los tejidos en las diferentes etapas de la vida aún permanece poco claro. Existen células como las de la piel que tienen un periodo de vida corto y además son incapaces de auto renovarse, por lo que se ha buscado un medio alternativo para mantener este tipo de tejidos en óptimas condiciones.

Una de las alternativas terapéuticas para la regeneración celular que ha tenido un auge importante en los últimos años, es el uso de células madre (stem cell), estas son células inmaduras e indiferenciadas que han mostrado *in vitro* la capacidad de dividirse y multiplicarse, diferenciándose en tipos específicos de células y tejidos.

Existen diferentes tipos de células madre dependiendo de la capacidad de diferenciación, cuando pueden formar células de todos los tejidos del organismo adulto son llamadas pluripotenciales, si además pueden diferenciarse en tejidos extra embrionarios, se nombran totipotentes, cuando forman diferentes tipos de células del mismo tejido se les denomina multipotentes o si un tejido tiene sólo un linaje celular y las células lo mantienen se conocen como unipotenciales.¹



En una persona adulta persisten varias fuentes de células madre, muchas de las cuales tienen potencial para emplearse en la cura de enfermedades que afectan tejidos en medicina regenerativa.

El trasplante de células madre hematopoyéticas ha sido la terapia más usada y antigua, sin embargo el aislamiento requiere de un procedimiento quirúrgico doloroso, por el cual solo se obtiene un número celular bajo. Las células madre de tejido adiposo también requieren un procedimiento quirúrgico costoso, pero ofrecen un mayor número celular y mayor capacidad de diferenciación.

Por esta razón, se ha buscado una nueva fuente de células madre, que requiera un procedimiento mínimamente invasivo, como son las células madre derivadas de tejidos dentales.

Recientemente los tejidos dentales han demostrado ser una fuente de células madre ya que se han logrado extraer de la pulpa dental, el ligamento periodontal, la papila apical y el folículo dental.

En los últimos años el tema de la medicina regenerativa con la posible aplicación de células madre, obtenida de tejidos adultos, ha generado interés en el mundo de la biología, debido a las múltiples cualidades que se les ha hallado, sin embargo generar tejidos a partir de una célula que se encuentra fuera de un organismo, aún permanece en debate por las implicaciones, religiosas, políticas y sobre todo éticas.



OBJETIVOS

1. Identificar fuentes de células madre.
2. Definir fuentes posibles de células madre en tejidos dentales.
3. Conocer el potencial terapéutico de las células madre para regeneración de tejidos dentales.
4. Determinar los factores que pueden afectar la calidad y cantidad de células madre obtenidas de un adulto.
5. Reportar los usos de las células madre derivadas de tejidos dentales.

1. Célula madre

La célula es la unidad anatómica funcional más pequeña de todos los seres vivos, tiene características estructurales únicas y controla funciones específicas. Cada tejido y órgano se encuentra formado por células, todas diferenciadas a partir de una progenitora.

Las células madre representan los componentes básicos de nuestro cuerpo, funcionan como unidades naturales de generación durante el desarrollo embrionario, y en el adulto ayudan a la regeneración posterior a un daño. Se definen por dos características (Fig. 1): la capacidad de mantenerse a sí mismas a través de la división celular (auto-renovación), y la capacidad de dar lugar a tipos celulares más especializados (diferenciación).²

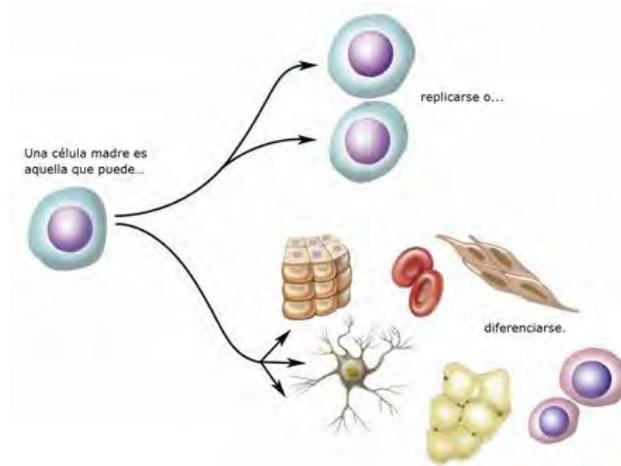


Fig. 1 Características de las células madre. Tomada de http://dec.fq.edu.uy/icc2011/celulas_madre/que_son.html

Para conceptualizar a las células madre es importante comprender que el desarrollo humano comienza con la fecundación (Fig. 2), cuando un espermatozoide se une a un ovocito para formar una sola célula, el cigoto.³

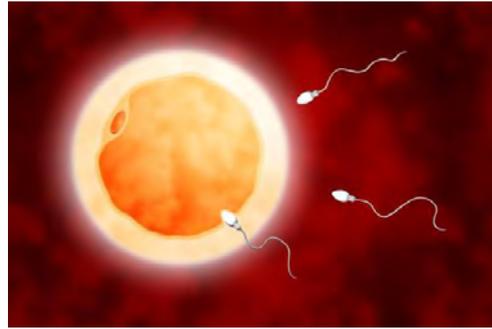


Fig. 2 Fecundación. Tomada de http://galerias.educ.ar/d/7976-2/15+_Medium_.jpg

En las 24 horas siguientes el cigoto experimenta una serie regulada de divisiones celulares mitóticas denominadas segmentación (Fig. 3). La primera segmentación divide al cigoto a lo largo de un plano que forma un ángulo recto con el ecuador y en línea con los cuerpos polares. La segunda división, produce cuatro blastómeros iguales y se da 40 horas después de la fecundación, así hasta llegar a un estadio de 32 células en donde recibe el nombre de mórula.⁴

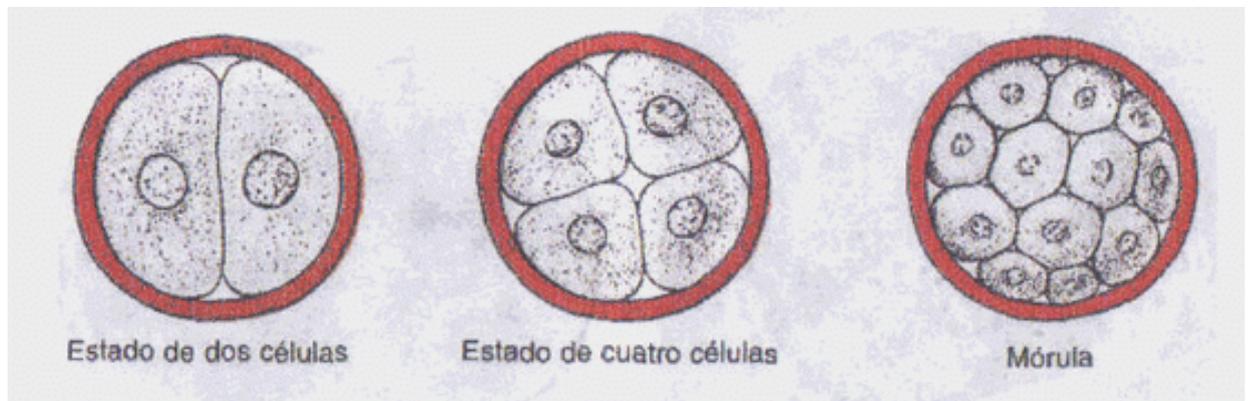


Fig. 3 Segmentación del cigoto. Tomada de <http://www.monografias.com/trabajos61/histogenesis/histogenesis.shtml>

Pocos días después de que la mórula entra en el útero, aparece en su interior llena de líquido la cavidad blastocística (Fig.4). El líquido pasa de la cavidad uterina, a través de la zona preclucida, para crear este espacio. Conforme la cavidad blastocística se llena de líquido, separa los blastómeros en dos porciones:

- Una capa celular externa y delgada, el *trofoblasto* que da lugar a la porción embrionaria de la placenta.
- Un grupo de blastómeros centrales, la masa celular interna que da lugar al embrión; como este el primordio embrionario, a la masa celular interna se le llama *embrioblasto*.⁵

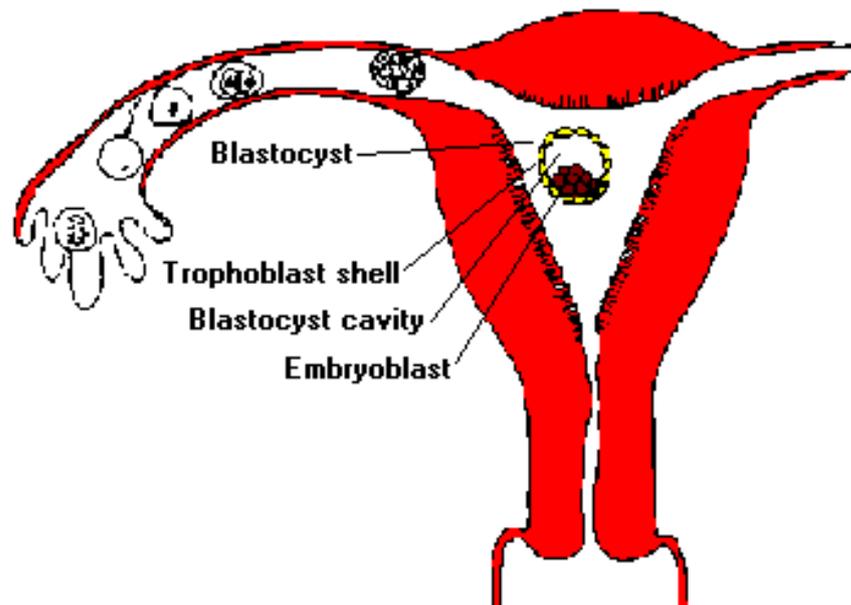


Fig. 4 Implantación. Tomada de <http://showcase.netins.net/web/placenta/triage.php>

Durante la tercera semana de gestación se lleva a cabo la gastrulación, un proceso mediante el cual se establecen las tres capas germinales que dan origen a los primordios de todos los tejidos y órganos.³

Las principales estructuras derivadas de las capas germinales son:

- **Ectodermo** da origen a los sistemas nerviosos central periférico; epitelios sensoriales de los ojos, los oídos y la nariz; a la epidermis y sus apéndices; glándulas mamarias; hipófisis; glándulas cutáneas y esmalte de los dientes.

Las células de la cresta neural, derivadas del neuroectodermo, originan las células de los ganglios raquídeos, craneales (nervios craneales V, VII, IX y X) y vegetativos, las células que recubren al sistema nervioso periférico con una vaina; las células pigmentarias de la dermis; los músculos, los tejidos conjuntivos y los huesos provenientes de los arcos faríngeos y la medula suprarrenal, y las meninges del encéfalo y de la medula espinal.⁵

- **Mesodermo** da lugar al tejido conjuntivo, cartílago, huesos, músculos estriados y lisos a los ovarios, testículos, conductos genitales, membranas serosas que recubren las cavidades corporales (pericardio, pleura y peritoneo), bazo y corteza suprarrenal.⁵
- **Endodermo** da lugar al revestimiento epitelial de los tractos gastrointestinal y respiratorio, al parénquima de las amígdalas paulatinas, a las glándulas tiroidea y paratiroides, al timo, hígado, páncreas, el revestimiento epitelial de la vejiga urinaria y casi toda la uretra, al revestimiento epitelial de la cavidad timpánica, el antro timpánico y la trompa auditiva.⁵

Basados en las etapas de desarrollo que se derivan (Tabla 1) las células madres se clasifican como embrionarias y células madre adultas.²

Tabla 1. Diferencias entre las células madre embrionarias y las adultas.

	Embrionarias	Adultas
Fuente	Embrión	Tejidos adultos
Potencia	Pluripotente	Diferenciación limitada
Cultivo Celular	Sencillo	Diferentes
Rechazo después del trasplante	Aún no se sabe	Menos probable
Obstáculo para su uso	Éticamente controversial	Necesita consentimiento del paciente

Tabla 1. The differences between embryonic and adult stem cells. Sreenivas D, Sreenivasa A, Satyavani S, Harish B, Vasudevan S. Where will the stem cells lead us? Prospects for dentistry in the 21st century. J Indian Soc Periodontol. 2011 Jul-Sep; 15(3): 199–204.

Además podemos clasificarlas según su capacidad de proliferación y diferenciación (Fig. 5) en totipotenciales (células que tienen el potencial de dar origen a un organismo completo incluyendo el tejido germinal), pluripotenciales (células que pueden dar origen a células de las tres capas germinativas: ectodermo, mesodermo y endodermo); y multipotenciales (son células comprometidas en una línea celular específica y dan origen a células de un órgano o tejido particular.⁶

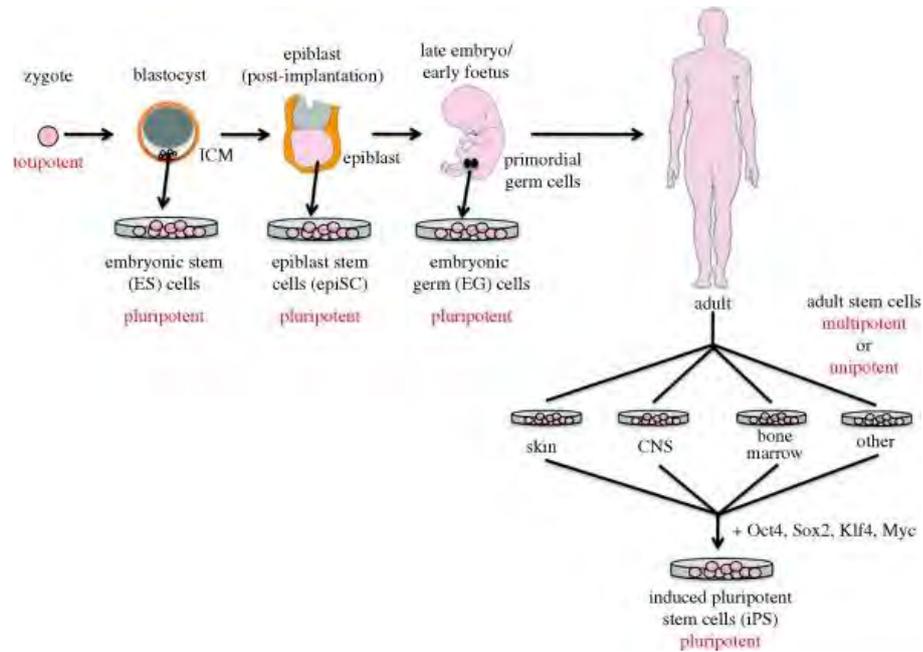


Fig. 5 Origen de células madre. Las células son descritas como pluripotentes si pueden formar todos los tipos celulares de un organismo adulto, si en adición pueden formar tejidos extraembrionarios del embrión, son descritas como totipotentes. Las células madre multipotentes tienen la habilidad de formar tipos de células diferenciadas de un tejido dado. En algunos casos, un tejido contiene solo un linaje diferenciado y las células madre lo mantienen entonces son llamadas unipotentes. Tomada de (Thetherapeuticpotential of stem cells, 2010)

1.1 Células madre totipotentes

Totipotencia se define como la capacidad de una célula a dividirse y producir cualquier tipo de célula de un organismo, incluyendo tejidos extraembrionarios (Fig. 6). Las células totipotentes se forman durante la reproducción.⁷

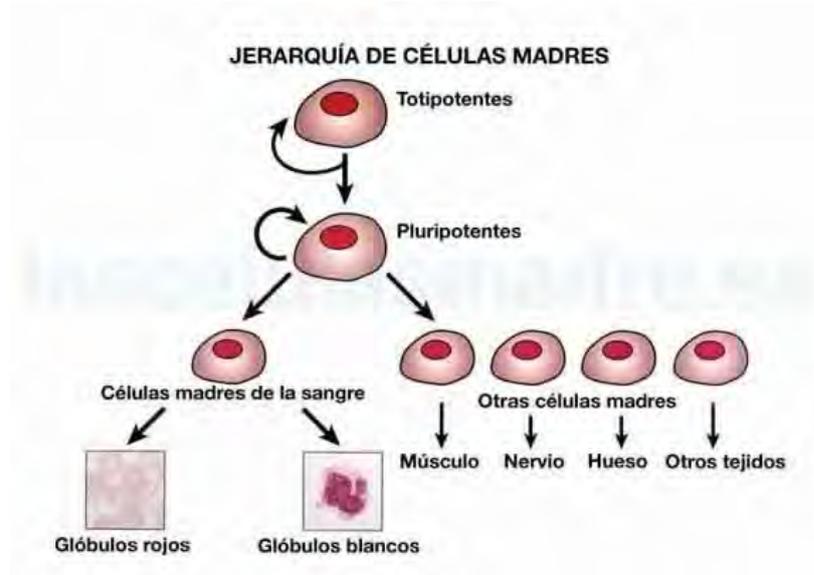


Fig. 6 Jerarquía de células madre. Tomada de <http://www.taringa.net/posts/info/6603258/Celulas-madre-avances-medicos.html>

El cigoto y los blastómeros en estado hasta de cuatro divisiones son las únicas células totipotentes, ya que tiene el potencial de desarrollarse en un embrión con todas las células especializadas que forman un ser vivo, así como en la estructura de soporte de la placenta necesario para el desarrollo fetal.⁷

1.2 Pluripotentes

Las células madre pluripotentes derivan de la masa celular interna (IMC) de embriones en fase de blastocito (Fig. 7), exhiben una capacidad de proliferación ilimitada, son capaces de diferenciarse en diversos tipos de células de cualquiera de las tres capas germinales.⁸

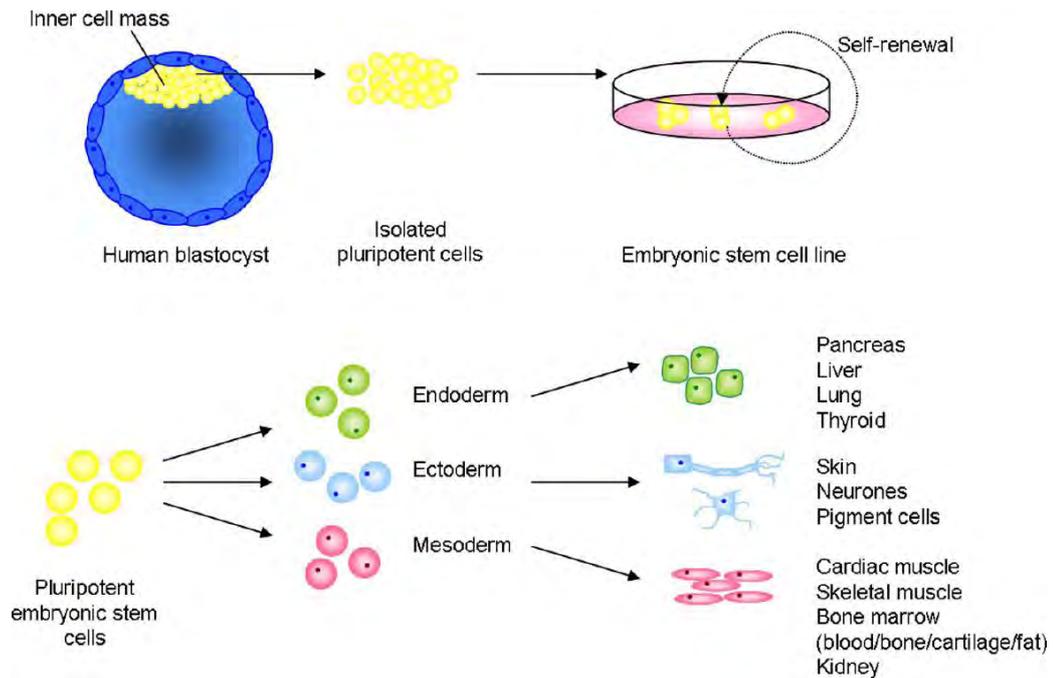


Fig. 7 Derivación de líneas ESC humanas y su pluripotencia. ESC se derivan de la masa celular interna del blastocito embriones. In vitro, estas células son pluripotentes con capacidad de diferenciarse a cualquier tipo de células de las tres capas germinales (endodermo, ectodermo y mesodermo). Teóricamente, las células madre embrionarias pueden ser manipulados para formar cualquier tipo de célula del cuerpo humano, pero en realidad, esto requiere una comprensión detallada de las señales químicas y físicas necesaria para la diferenciación directa a un tipo específico de célula. Tomada de Embryonic and Induced Pluripotent Stem Cells: Understanding, Creating, and Exploiting the Nano-Niche for Regenerative Medicine, 2013.

Sin embargo los blastocitos no son la única fuente de células pluripotentes, las células madre epiblasticas (epiSC), pueden ser derivadas después de la implantación del epiblasto o derivadas de las células germinales primordiales, progenitoras de gametos adultos que divergen del linaje somático a finales del desarrollo embrionario y principios del fetal.¹

1.3 Multipotentes

A medida que progresa el desarrollo embrionario, la especificación de distintos compartimientos anatómicos y diferenciación celular restringen progresivamente la distribución de células progenitoras de los distintos tejidos en compartimientos específicos o nichos para que mantengan sus capacidades de autorenovación y generación de nuevas células para cada tejido. En el caso de algunos tejidos como la epidermis, la sangre y el revestimiento intestinal, las células completamente diferenciadas tienen una vida corta y deben ser remplazadas por células hijas derivadas de células que mantienen sus capacidades de autorenovación. Estos precursores se denominan células madres multipotentes y presentan un repertorio de diferenciación restringido de una línea celular.⁹

2. Tejidos potenciales para localización de Células Madre

El descubrimiento de las células madre adultas fundamenta teorías sobre la presencia de poblaciones de células regenerativas en los organismos desarrollados y ha dado lugar a un creciente interés en el uso de estas células como agentes terapéuticos. En particular, los investigadores están explorando el uso células madre mesenquimales (MSC) ya que son excelentes candidatas para terapia celular debido a que son de fácil acceso, el aislamiento es sencillo y las células pueden expandirse en un periodo de tiempo relativamente corto, además pueden ser biopreservadas con una pérdida mínima de su potencia.¹⁰

Las células madre mesenquimales (MSC) son células adultas multipotentes no hematopoyéticas que tienen la capacidad de diferenciarse en tejidos de origen mesenquimal y no mesenquimal, con morfología fibroblastoide y plasticidad hacia diversos linajes celulares como condrocitos, osteocitos y adipocitos, aunque recientes estudios han demostrado que son capaces de diferenciarse en linajes neuronales y cardiomiogénicos. En comparación con los ESC pluripotentes o células pluripotentes inducidas, las MSC tienen un mayor perfil de seguridad y menor riesgo a formación de tumores.^{11, 12, 13}

Aunque las MSC son descritas como células similares a los fibroblastos, la morfología puede variar según el sitio de obtención, por ejemplo, se ha observado que cuando se aíslan a partir de sangre del cordón umbilical el 93% de la población tiene un aspecto ovoide, con respecto al 7% que conserva una morfología similar a la de fibroblastos.¹⁴

Para que las células sean consideradas como células madre mesenquimales deben cumplir un mínimo de tres criterios:

1. Ser adherentes en condiciones de cultivo estándar.
2. Expresar marcadores de superficie celular como CD105, CD73 y CD90, pero carecer de expresión de marcadores de superficie hematopoyéticos como CD45, CD34, CD14, marcadores de monocitos, macrófagos y linfocitos.
3. Ser capaces de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos bajo condiciones estándar de cultivo *in vitro*.¹⁵

Las células madre mesenquimales han mostrado efectos de inmunomodulación. Esto se debe a la falta de expresión de factores coestimulantes, tales como el antígeno de histocompatibilidad de clase II, CD40, CD80 y CD86, apoyando la baja inmunogenicidad de las células madre mesenquimales. Una de las cuestiones críticas en ingeniería tisular es el rechazo del trasplante de injerto contra el hospedero después del trasplante alogénico de células, tejidos o órganos resultando en una incompatibilidad entre el donador y el beneficiario.¹⁵

Recientemente se ha reportado que las células madre tienen importantes implicaciones clínicas, ya que ejercen efectos inmunosupresores y antiinflamatorios a través de las interacciones entre los linfocitos, asociado tanto a la inmunidad innata como a la adaptativa ya que suprimen la proliferación de células T, las funciones de células B y las natural killer, la proliferación y producción de citoquinas, y previenen la diferenciación, maduración y activación de células dendríticas.¹⁶

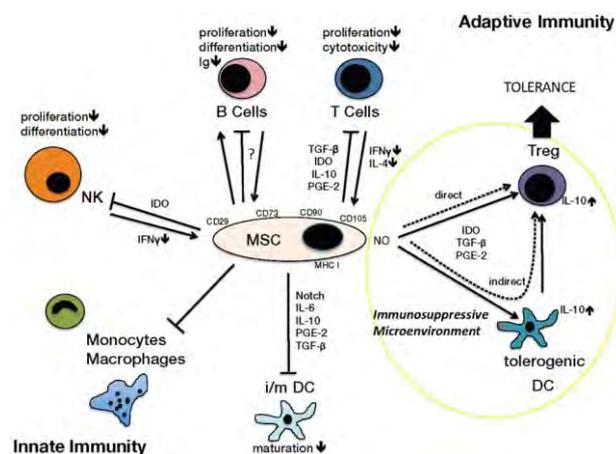


Fig. 8 Función inmunológica de las MSC en diferentes tipos de células de la inmunidad innata y adaptativa. MSC se caracteriza por la superficie los antígenos CD29, CD73, CD90 (CD105); tipos de células: células B, células T, células dendríticas, monocitos, macrófagos, NK. Las flechas indican la activación o la inducción, las barras en T indican el bloqueo de la función o activación, en particular la inhibición de la proliferación, la diferenciación, la citotoxicidad, la maduración. Estas células T reguladoras juegan un papel significativo en el desarrollo de la tolerancia. Tomada de <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fimmu.2013.00175/full>

Hasta la fecha se han identificado en una variedad de tejidos para la obtención de células madre mesenquimales (Fig. 10), como tejido adiposo, sangre, líquido sinovial, dermis, músculo, pulpa dental y el cordón umbilical, que se pueden diferenciar a lo largo de varios linajes mesenquimales. Sin embargo, existen significativas diferencias en su capacidad de proliferación y diferenciación, y en los procedimientos de cultivo.¹⁶



Fig. 9 Tejidos para la obtención de células madre mesenquimales. Tomada de <http://clinicamaestro.blogspot.mx/2014/02/las-celulas-madre-de-la-pulpa-dental.html>

2.1 Cordón umbilical

Durante el embarazo, la madre y el feto son conectados por el cordón umbilical, que se compone de vasos umbilicales (dos arterias y una vena) y moco conectivo especializado llamado gelatina de Wharton (Fig. 10), todo cubierto por el epitelio amniótico.¹⁷

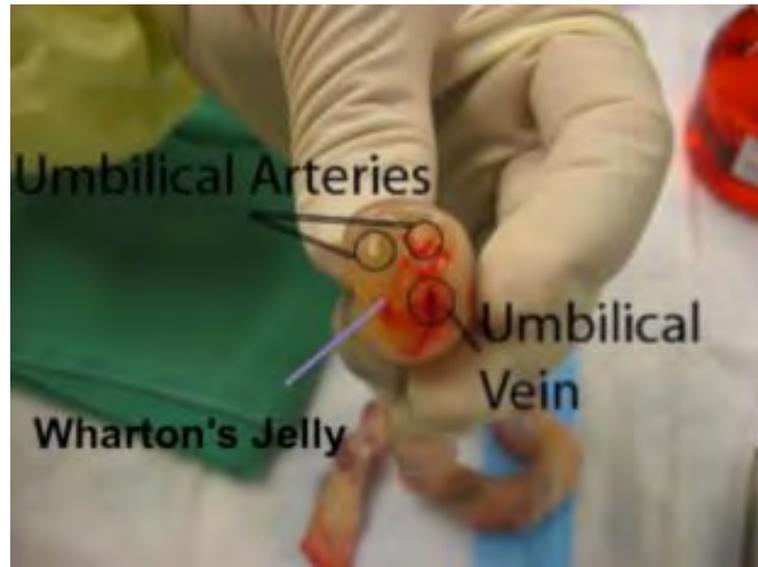


Fig. 10 Componentes del cordón umbilical. Tomada de <http://materfetal.blogspot.mx/>

El tejido del cordón umbilical puede ser dividido en tres zonas: subamniótica, intravascular y estroma perivascular.¹⁸

El cordón umbilical conforma una diversa familia de células madre e incluyen células progenitoras multipotentes indiferenciadas capaces de auto renovación con capacidad de alta proliferación y diferenciación dentro de varios tipos de tejido dependiendo del medio de inducción. Cuando las células mononucleares del cordón umbilical se siembran en cultivo, se desarrollan colonias de células madre que asemejan características de MSC. Muestran una forma similar a fibroblastos y han demostrado ser positivos para los marcadores de células mesenquimales. Pueden diferenciarse en tejidos de la médula ósea y componentes de la sangre por lo que ahora se considera una fuente apropiada de células madre hematopoyéticas para trasplantes hematológicos, además pueden diferenciarse in vitro dentro de varios linajes celulares, incluyendo hueso, cartílago y tejido adiposo, tienen la capacidad de formar neuronas y células gliales y pueden ser diferenciadas en cardiomiocitos.^{17, 19, 20}

Las células madre mesenquimales del cordón umbilical (UCMSC) tienen propiedades más primitivas que las MSC adultas, lo que podría hacer de ellas un fuente útil de las MSC para aplicaciones clínicas. Conservan una inmunogenicidad y un efecto inmunomodulador bajo. Provocan una menor incidencia de infecciones y rechazo del injerto después del trasplante en comparación con otras fuentes.

Han sido aislados de cuatro diferentes compartimentos del cordón umbilical: la gelatina de Wharton, el tejido que rodea los vasos umbilicales, la sangre del cordón umbilical, y el subendotelio de vena umbilical. Las células que han sido más estudiadas son las células madre mesenquimales derivadas de la sangre del cordón umbilical y las células madre mesenquimales de la gelatina de Wharton.^{21, 22}

La sangre que queda en el nacimiento de la vena umbilical contiene una fuente rica de células madre y progenitoras hematopoyéticas, además contiene una fuente de células madre mesenquimales. Las células madre mesenquimales derivadas de la sangre de cordón umbilical (UCBSC), son células progenitoras multipotentes con capacidad de auto-renovación y potencial de diferenciarse en varios linajes mesodérmicos.^{22, 23}

La gelatina de Wharton es el tejido conectivo que rodea los vasos umbilicales e incluye las regiones perivasculares e intravasculares. Muestra propiedades similares obtenidas a las células madre de la sangre del cordón umbilical, además de una mayor expresión de marcadores de células madre embrionarias indiferenciadas como NANOG, DNMT3B y BABRB3, además expresan marcadores típicos de células mesenquimales como CD105, CD73 y CD90. Pueden ser inducidos a diferenciarse en células endoteliales, linajes adipogénicos, osteogénicos, condrogénicos, neurogénicos, células productoras de insulina y células similares a hepatocitos.^{23, 24}

Existen cuatro métodos para el aislamiento de células madre del cordón umbilical:

- Centrifugación en gradiente de densidad
- Citómetro de flujo de aislamiento
- Detección de unión y de dos etapas
- Digestión enzimática²³

El aislamiento de UCMSC es un método más fácil, menos costoso y no invasivo comparado con otras MSC debido a que se pueden obtener en el momento del nacimiento.²²

2.2 Medula ósea

La medula ósea es un tejido graso que yace al interior del hueso trabecular, y son en conjunto la trabécula y el estroma de la medula ósea, los elementos que físicamente soportan y fisiológicamente mantienen el tejido hematopoyético (Fig. 11). Durante los dos primeros años de vida, la medula ósea activa (medula roja) se localiza en todos los huesos y gradualmente es remplazada por tejido medular inactivo (medula amarilla o grasa). El microambiente hematopoyético de la medula ósea contiene células del estroma cuyo origen puede ser mesenquimal o puede ser hematopoyético no mesenquimal.^{26, 27}



Fig.11 Regiones internas de un hueso. Tomada de <http://www.monografias.com/trabajos83/anatomia-del-sistema-oseo/anatomia-del-sistema-oseo.shtml>

Células madre hematopoyéticas de la médula ósea

Las células madre hematopoyéticas son células que pueden mostrar la habilidad de diferenciarse dentro de linajes mieloides (macrófagos, eritrocitos y granulocitos) y linajes linfoides (Células B, T y natural killer).²⁰ (Fig.12).

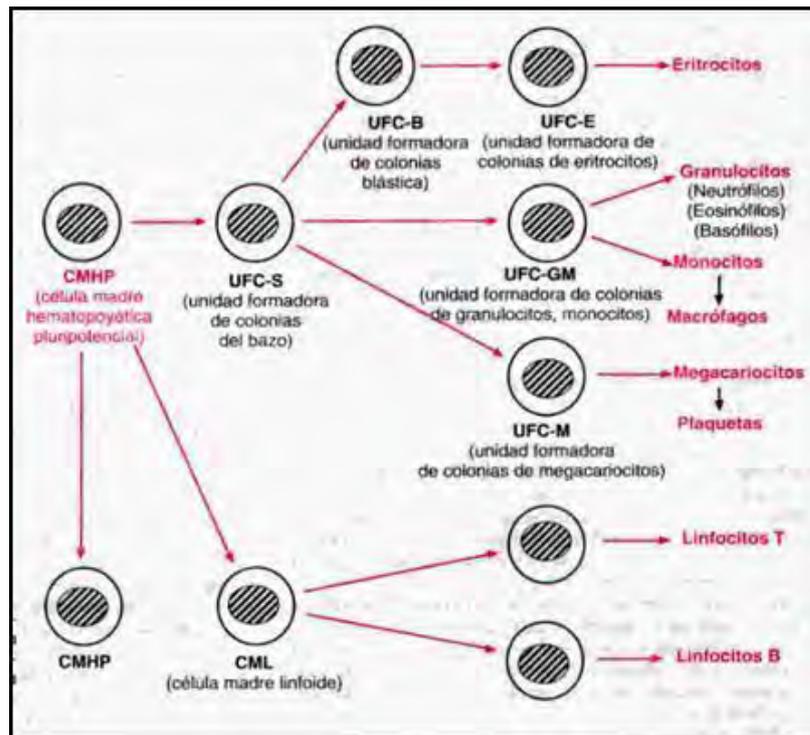


Fig. 12 Diferenciación de las células madre hematopoyéticas. Tomado de <http://med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/linfocitob.htm>

Las HSC poseen tres características básicas:

- 1- Son multipotentes, es decir, tienen el potencial de generar los linajes sanguíneos: la línea roja que produce los eritrocitos; la línea blanca que produce células de diferentes tipos como el de tipo linfóide: linfocitos B y T, y el tipo mielóide: basófilos/mastocitos, eosinófilos, neutrófilos/granulocitos, y monocitos/macrófagos; también genera la línea trombocítica que da origen a megacariocitos/plaquetas.

- 2- Tienen un alto potencial proliferativo, es decir, que son capaces de dividirse y producir un gran número de células maduras durante la vida del individuo.
- 3- Tienen alta capacidad de generación de nuevas células madre idénticas, manteniendo una división de tipo simétrico, capacidad conocida como auto renovación.²⁶

En el sistema hematopoyético, las células madre son heterogéneas con respecto a su habilidad de auto renovarse, para distinguirlas se clasifican en células madre hematopoyéticas a largo plazo (CMH-LP) y células madre hematopoyéticas a corto plazo (CMH-CP). Las CMH-LP son capaces de producir todos los tipos de células maduras de la sangre durante la vida de un individuo y de generar células progenitoras que al ser trasplantadas pueden reconstituir el sistema hematopoyético, constituyen menos del 0.1% de CMH contenidas en la médula ósea. Las CMH-CP son las encargadas de generar células progenitoras del linaje linfóide o mieloide. A medida que las CMH maduran, progresivamente van perdiendo su potencial de auto renovarse pero se vuelven mitóticamente más activas, es decir, que en los compartimentos de células progenitoras existe muy poca capacidad de auto renovación y una alta actividad mitótica.²⁶

Células madre mesenquimales de la médula ósea

Las células madre mesenquimales de la médula ósea (BM-MS) pueden ser aisladas del hueso compacto y el trabecular y de sitios de médula ósea no hematopoyéticos. Son definidas como células multipotentes no hematopoyéticas que dan soporte a la expansión de células madre hematopoyéticas in vitro y pueden diferenciarse en células de varios tejidos.²¹

Se pueden aislar fácilmente de la médula ósea en altas concentraciones, debido a esto es la principal fuente de obtención de células madre mesenquimales.²¹

Poseen características como morfología similar a fibroblastos, y ausencia de las características básicas de las células endoteliales y macrófagos. Se conoce su potencial para diferenciarse dentro de linajes osteogénicos, adipogénicos y condrogénicos (Fig. 13), aunque se ha reportado que tienen potencial para diferenciarse en células neurales.²⁴



Fig. 13 Diferenciación de células madre mesenquimales de la médula ósea. Tomada de <http://www.eurostemcell.org/es/factsheet/c%C3%A9lulas-madre-mesenquimales-las-otras-c%C3%A9lulas-madre-de-la-m%C3%A9dula-%C3%B3sea>

Expresan varios marcadores de superficie, destacando de manera importante Stro-1, SB-10. SH-2, SH-4, CD44, CD29 Y CD 90, marcadores que no se expresan en las células madre hematopoyéticas.²⁷

El método utilizado para aislar BMMSC es diferente de la utilizada para otros MSC. Esto se debe a que poca matriz extracelular está presente en el BM, por lo tanto, en lugar de la digestión con colagenasa, se utiliza interrupción mecánica suave por pipeteo repetido para crear una suspensión de células del estroma y hematopoyéticas. La población BMMSC resultante es muy heterogénea y aislamiento de células madre puras de este aislado primario es difícil debido a la falta de marcadores únicos de la superficie celular.²⁴

También se postula que entre las colonias de crecimiento existen algunas células progenitoras en las que pueden crecer nuevas colonias fibroblásticas y a tales células se les denomina unidades formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F).²⁷

En los seres humanos un promedio de 1/18, 000 células mononucleares son MSC, por lo tanto, teniendo en cuenta que hay alrededor de 65×10^6 células mononucleares (MNC) por cada ml de la médula ósea, en toda la médula ósea sólo hay 3555 MSC / ml. La técnica de aspiración (Fig. 14) y el volumen del recolectado de médula deben tenerse en cuenta con el fin de reducir la contaminación de la sangre periférica. En general, un proceso de separación de células debe garantizar una población pura, altamente viable de las MNC con mínima contaminación con glóbulos rojos y granulocitos.²⁹

Aunque la médula ósea se ha representado como la principal fuente disponible de MSC, el uso de células derivadas de BM no siempre es aceptable debido al alto grado de exposición viral, la disminución significativa en el número de células y la capacidad de proliferación y la declinante diferenciación a lo largo con la edad agregado a que se requiere un procedimiento invasivo doloroso para obtener una muestra de la BM.²³



Fig. 14 Aspiración de Médula Ósea. Tomado de <http://www.clinicadam.com/imagenes-de-salud/1129.html>.

2.3 Tejido adiposo

El tejido adiposo se deriva del mesénquima y consiste en un sistema altamente complejo que contiene diferentes poblaciones de células, incluyendo adipocitos maduros, pre-adipocitos, fibroblastos, células del músculo liso vascular, células endoteliales y células madre derivadas de tejido adiposo (ASC). Proporciona protección térmica y traumática, pero es más notable su papel vital en el metabolismo. Los adipocitos son de dos linajes funcionales e histológicas generales: tejidos adiposo café (BAT), que disipan la energía y los tejidos adiposos blanco (WAT), que almacenan energía. La función de los adipocitos marrones es principalmente termogénica, la conversión de nutrientes en calor, mientras que los adipocitos blancos comprenden la gran mayoría de los adipocitos. En tiempos de abundancia calórica, estas células almacenan el exceso de calorías en forma de triglicéridos, y en tiempos de necesidad calórica, liberan combustible (como los ácidos grasos y glicerol) para su uso por otros órganos (Fig. 15). WAT es en sí misma se subdivide en el depósito subcutáneo y visceral.^{29, 30}

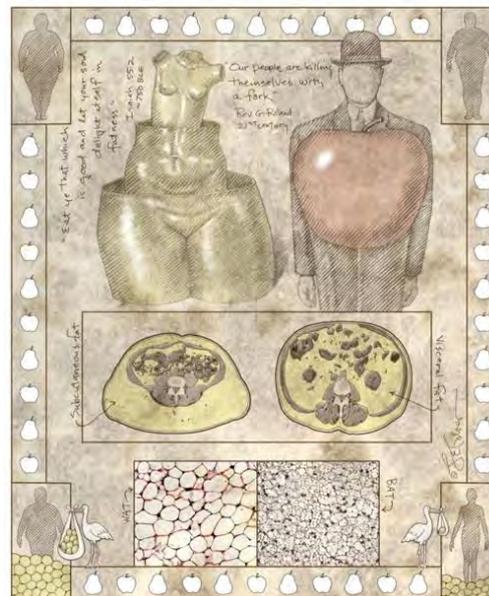


Fig. 15 La Verdad sobre la grasa: Ubicación. Tomada de (Zeve et al, Fighting Fat with Fat: The Expanding Field of Adipose Stem Cells. Cell Stem Cell. Nov 6, 2009; 5(5))

Las células madre de tejido adiposo fueron descubiertas y aisladas por primera vez en el año 2001, identificado en la fracción vascular estromal (SVF) del tejido adiposo blanco (WAT) como células capaces de diferenciarse en adipocitos, osteoblastos, condrocitos y miocitos in vitro. Son relativamente fáciles para aislar disponibles en el WAT, se pueden obtener a partir de cualquier procedimiento de liposucción (Fig. 16) o grasa extirpada, o con anestesia local si se necesitan pequeñas cantidades de tejido adiposo. Un gramo de tejido adiposo contiene aproximadamente 5000 células madre. Los primeros reportes de ASC mostraban una diferenciación dentro del linaje mesodérmico y destinos de células neuronales, recientemente se incluyeron células de origen no mesodérmico. También se ha informado la diferenciación en tipos de células endodérmicas. A diferencia de las células madre embrionarias, está claro que ASC no son pluripotentes genuinamente en el contexto del desarrollo normal. Sin embargo, estudios recientes demuestran que la pluripotencia de ASC puede ser inducida artificialmente en contextos experimentales.^{21, 31}



Fig. 16 Liposucción. Tomada de <http://liposuccion-valencia.com/tecnica-liposuccion-valencia.html>

El análisis de inmunofluorescencia identificó que ASC expresan marcador perfil que se considera peculiar para MSC , como Stro- 1,CD29, , CD13 CD44 , CD71 , CD90 , CD105/SH2 y SH3 así como la falta de expresión de los marcadores de linaje hematopoyéticas (CD31 , CD34 y CD45).^{21,24}

Se aíslan usando una combinación de digestión enzimática con colagenasa simple que es capaz de digerir la matriz y produce la llamada fracción del estroma vascular (SVF). ASC son similares a BMSC respecto a la morfología, inmunofenotipo y la frecuencia de colonias. Poseen capacidad de auto-renovación, expresan un patrón inmunofenotípico muy similar y son capaces de diferenciarse en varios linajes de células de origen mesodérmico, es decir, adipocitos, condrocitos y osteoblastos. Por otra parte, se ha demostrado también que son capaces de diferenciarse en células de origen endodérmico y ectodérmica, tales como las células neuronales, células endocrinas, hepatocitos, células epiteliales y cardiomiocitos. En BM, la expresión de CD106 puede ser funcionalmente asociado con la hematopoyesis, mientras que las células derivadas de tejido adiposo no necesitan esta molécula ya que pertenecen a tejido no hematopoyético.^{29,32}

2.4 Tejidos dentales

Los dientes y estructuras dentales que consisten en estructuras duras y blandas, contienen tejidos fibrosos mesenquimales como la pulpa dental, el ligamento periodontal y la encía.¹⁵ (Fig. 17)

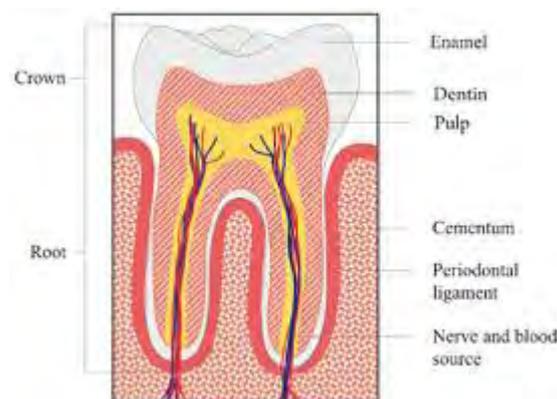


Fig. 17 Anatomía Dental. Tomada de (Rodríguez FJ et al. Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. Nov 2012; 17(6): 1062–1067.

Para comprender las características de las células madre de los tejidos dentales es necesario conocer los procesos biológicos que inducen y regulan el desarrollo del diente y el origen de las células madre dentales. El desarrollo dental (Fig. 18) implica un complejo de señalización entre los tejidos epiteliales y mesenquimales. La ontogénesis empieza alrededor de la 5ª semana del desarrollo embrionario y continúa hasta que todos los dientes permanentes han remplazado a los temporales. Los dientes tienen dos orígenes embrionarios, el ectodermo y la cresta neural derivadas del mesénquima.^{33, 34}

El proceso de desarrollo del diente está compuesto por 5 etapas. La primera etapa es la de espesamiento, la cual involucra el espesamiento del epitelio oral al sitio de formación de los dientes. Esto es seguido por la condensación del ectomesénquima, que deriva de la cresta neural del mesénquima alrededor del brote.

Durante la segunda etapa, también conocida como la fase de brote, dos linajes distintos de células, las células basales periféricas y retículo estrellado, se separan del epitelio dental para formar dos capas de tejido que proporcionan el nicho de células madre en los dientes en crecimiento.

Las siguientes dos etapas son la etapa de capuchón y el estadio de campana. Durante estas etapas, la estructura de la curva cervical se desarrolla, y el epitelio interno del esmalte se forma dentro del circuito que limita la papila dental. También, durante esta etapa se forma el folículo dental en la interfaz del epitelio del esmalte exterior.

Durante estas etapas, la papila dental se encuentra rodeada por el epitelio dental. Las células en la interfase del epitelio-mesénquima dentro de la estructura de la curva dan lugar a ameloblastos y odontoblastos, que producen una matriz mineralizada de esmalte y la dentina.

En la quinta y última etapa, la etapa secretora, el diente desarrollado erupciona a través de la encía.³³

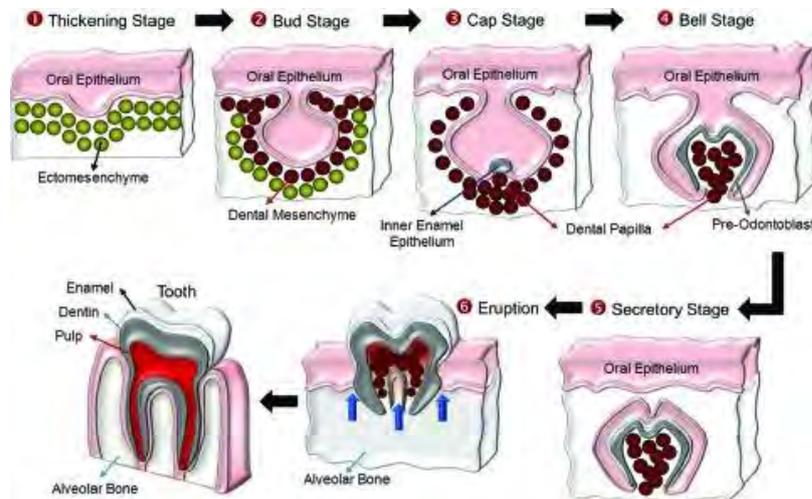


Fig. 18 Proceso de desarrollo de morfogénesis del diente.

Hasta la fecha 5 células madre dentales humanas diferentes se han aislado y caracterizado (Fig. 19): células madre de la pulpa dental (DPSC), células madre de dientes deciduos exfoliados (SHED), células madres del ligamento periodontal (PDLSC), células madre de la papila apical (SCAP) y células madre del folículo dental (DFPC). Todas estas células probablemente comparten un linaje común que se deriva de las células de la cresta neural además de propiedades similares a las células madre mesenquimales, incluida a la expresión de osteoblastos, adipocitos y condrocitos in vitro y, en cierta medida, in vivo. Las poblaciones de células difieren en algunos aspectos de su tasa de crecimiento en cultivo, la expresión del gen marcador y la diferenciación celular, aunque el grado en que estas diferencias se pueden atribuir al tejido de origen, la función o condiciones de cultivo sigue siendo poco clara.^{35, 36}

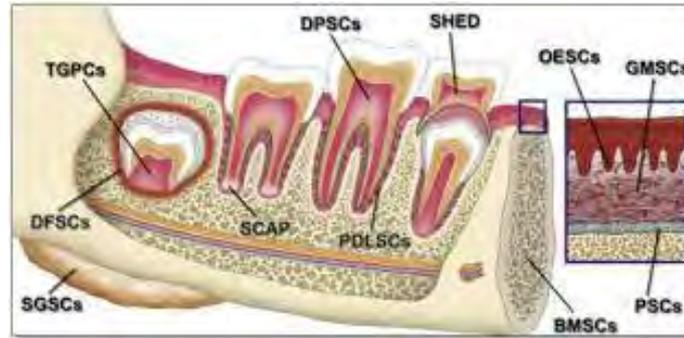


Fig. 19 Células madre de los tejidos dentales. Tomada de <http://doctordipascua.wordpress.com/2012/10/15/celulas-madre-a-partir-de-la-pulpa-dental/>

2.4.1 Pulpa dental

Es la parte central de un diente compuesta de tejido blando y células llamadas odontoblastos (Fig. 20). La región central de la pulpa coronal y radicular contiene gran cantidad de nervios y vasos sanguíneos. Esta área es limitada periféricamente por un área odontogénica especializada que tiene tres capas que son (de más interno a más externo): Zona rica en células, zona libre de células y capa de odontoblastos.³⁷



Fig. 20 Pulpa dental. Tomado de <http://www.clinicadentalidentis.com/archives/2013/7>

Se ha demostrado que la pulpa dental adulta contiene precursores capaces de formar odontoblastos bajo señales apropiadas como hidróxido de calcio o materiales de fosfato de calcio.³⁸

La posibilidad de que la pulpa dental podía contener células madre mesenquimales sugirió por primera vez durante la observación del daño severo en los dientes, que penetra en el esmalte y la dentina, estimulando en la pulpa un proceso de reparación mediante el cual se forman nuevos odontoblastos, que producen dentina para reparar la lesión. Fueron aisladas en el 2000, descritas como células capaces de formar células similares a las de la pulpa. A lo largo de este período, se han aislado y estudiado las diferentes poblaciones de células madre de la pulpa dental en dientes permanentes, deciduos y supernumerarios. Todas estas poblaciones presentan características similares; morfología similar a la de fibroblastos, alta eficiencia de formación de colonias adherentes así como alto potencial proliferativo in vitro. Sin embargo, difieren en el patrón de expresión de marcadores de células madre y varían en su potencia y diferenciación. Además son capaces de diferenciarse en otros derivados de células mesenquimales como odontoblastos, adipocitos, condrocitos y osteoblastos.^{35, 39, 40}

Son aisladas mediante tratamiento enzimático, forman CFU-F con diversas características. Dentro de la misma colonia, se pueden observar diferentes morfologías y tamaños de células. Se han detectan en pacientes de más de 30 años en las que no existen diferencias sustanciales con células más jóvenes.^{39, 41}

2.4.2 Dientes deciduos exfoliados

En 2003 se anunció la detección de células multipotentes en las células de la pulpa dental de los dientes deciduos exfoliados fisiológicamente. Representan una población más inmadura de células madre multipotentes. Las células madre aisladas de dientes exfoliados en niños (SHED) muestran una alta plasticidad ya que pueden diferenciarse en neuronas, adipocitos, osteoblastos y odontoblastos. In vivo pueden inducir la formación de hueso o dentina. En contraste con DPSC muestran índices más altos de proliferación, aumento de replicación, mayor capacidad osteoinductiva y la capacidad de formar grupos de esfera. Muestran una expresión mayor para los genes que participan en las vías relacionadas con la proliferación celular y la formación de la matriz extracelular, incluyendo varios factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento de fibroblastos y factor de crecimiento transformante TGF – β , que se libera después de un daño a la dentina y podría actuar para movilizar las células madre de la pulpa a diferenciarse en odontoblastos.^{35, 38, 39}

Tienen un alto grado de proliferación y un alto número de duplicación de la población. Han mostrado marcadores como STRO-1 y CD146 además de marcadores neurales como Nestin.³⁹

Para los dientes deciduos, los mejores candidatos para el aislamiento son caninos y los incisivos con la presencia de pulpa sana que están comenzando a aflojar y los molares temporales indicados con extracción profiláctica para ortodoncia. Cuando un diente deciduo se vuelve extremadamente móvil es probable que la pulpa se haya separado de su suministro de sangre manteniendo su adherencia epitelial y así se conservará durante semanas en la boca con una pulpa necrótica.³⁸ (Fig. 21)



Fig. 21 Central de la primera dentición antes de exfoliarse. Tomada de <http://dent.estalos.com/dientes-flojos>

El método de aislamiento es mediante digestión enzimática de DP, se cultivan en medio de cultivo basal, este medio de cultivo se compone de medio de Dulbecco modificado de Eagle. Una sola suspensión celular obtenida a partir de un diente es capaz de generar aproximadamente 12-20 colonias de células. Después de un corto período de proliferación (1 semana), estas múltiples colonias de células se recogen y se expanden in vitro. El análisis por citometría de flujo reveló población heterogénea, que contiene 9% de las células STRO-1-positivas.⁴⁰

2.4.3 Folículo dental

El folículo dental (DF), es un saco de tejido conectivo laxo que rodea el diente no erupcionado (Fig. 22), juega diferentes roles en la vida de un diente, su presencia es requerida para la erupción ya que regula la osteogénesis y la osteoclastogénesis. Cuando el diente perfora la encía el folículo se diferencia en el ligamento periodontal para anclar el diente en su alvéolo al hueso alveolar circundante.⁴²



Fig. 22 Radiografía de zona de premolares. Se aprecia el folículo dental. Tomado de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2176-94512010000400003&script=sci_arttext

Este tejido alberga células progenitoras que forman el PDL por diferenciarse en fibroblastos que segregan colágeno e interactúan con fibras en las superficies de hueso y cemento adyacente. La diferenciación y función de las células del folículo dental es controlada por una red de moléculas reguladoras incluyendo factores de crecimiento y citoquinas. Las células del folículo dental cerca de la formación de la raíz se diferencian del cemento formando cementoblastos y, las células hacia el hueso alveolar se diferencian a osteoblastos secretando matriz ósea. Las células del folículo dental encontradas entre los cementoblastos y células precursoras de osteoblastos se desarrollan en fibroblastos producen la matriz extracelular del ligamento periodontal.^{35, 37}

Expresan marcadores celulares embrionarios como Nestin, STRO-1 y Notch-1. Tienen la capacidad para formar nódulos calcificados compactos in vitro, en común con SCAP representa las células de un tejido en desarrollo y por lo tanto podría exhibir una plasticidad mayor que otras células madre dentales.³⁵

Las células del folículo dental criopreservadas son capaces de recrear un nuevo ligamento periodontal (PDL) después de la implantación in vivo.³⁸

2.4.4 Ligamento periodontal

Es un tejido conectivo fibroso que contiene células especializadas, se deriva embriológicamente del tejido ectomesenquimatoso del folículo dentario que rodea el diente en desarrollo en su cripta ósea. En el momento de la erupción del diente las células y las fibras de colágeno en el folículo dental, es decir, el futuro ligamento periodontal, están orientados principalmente con su eje paralelo a lo largo de la superficie de la raíz. La remodelación del folículo en el ligamento periodontal comienza en la unión cemento-esmalte y avanza en dirección apical. El ligamento periodontal contiene una gran variedad de células que son capaces de generar y mantener tres tejidos distintos, así como los tejidos mineralizados: el cemento y el hueso alveolar.^{35,37} (Fig. 23)

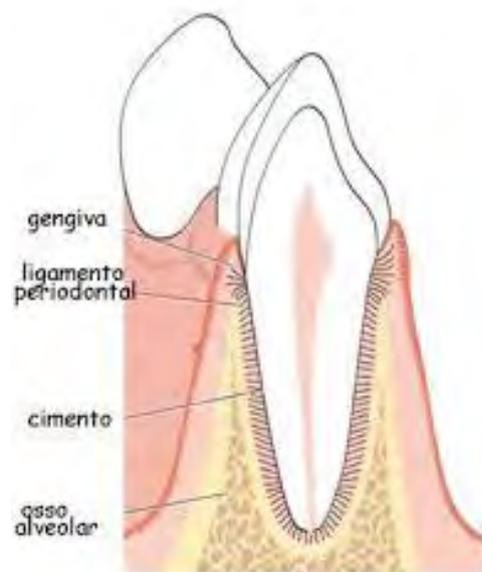


Fig. 23 Localización de los tejidos periodontales: cemento hueso, encía y ligamento periodontal. Tomada de <http://julianaaveiro.blogspot.mx/2012/06/o-periodonto.html>

Los principales tipos de células del ligamento periodontal incluyen: fibroblastos, los macrófagos y las células mesenquimales no diferenciadas, cementoblastos y cementoclastos, osteoblastos y osteoclastos, los restos epiteliales de Malassez, así como elementos vasculares y elementos neurales. El ligamento periodontal está bajo presión constante de las fuerzas de la masticación, y por lo tanto es probable que desempeñe un papel endógeno en el mantenimiento del número de células del propio ligamento. Otra función es servir como fuente de la propiocepción, o inervaciones sensoriales, de modo que el cerebro puede detectar las fuerzas que se colocan en los dientes y reaccionar en consecuencia. Además de las fibras PDL, hay otro conjunto de fibras, conocidas como las fibras gingivales (Fig. 24), que se unen los dientes a su tejido gingival adyacente. Tanto las fibras gingivales, así como las fibras de PDL, se componen principalmente de colágeno de tipo I. Esto podría explicar por qué son mejores que otras poblaciones de células madre dentales en la formación de estructuras similares a las del PDL.^{35,37}

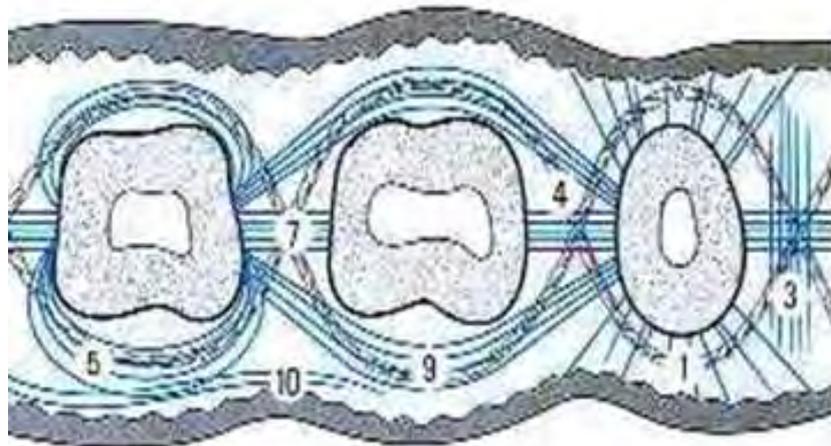


Fig. 24 Trayecto de los haces de las fibras gingivales. 1. Dentogingival,, 3. Interpapilar, 4. Trasgingival, 5. Circular, 7. Transeptal, 9. Intercircular, 10. Intergingival. Tomada de <http://www.monografias.com/trabajos16/preparaciones-dentarias/preparaciones-dentarias.shtml>

El PDL se ha reconocido por contener una población de células progenitoras, y estudios recientes identificaron una población de células madre a partir de ligamento periodontal humano (PDLSC) capaces de diferenciarse a lo largo de los linajes de células mesenquimales para producir células similares a cementoblastos, adipocitos y tejido conectivo rico en colágeno I in vitro e in vivo.^{35,37}

Las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) representan una terapia basada en células en la odontología reconstructiva para el tratamiento del periodonto dañado. En 2004, fueron aisladas del ligamento periodontal humano (PDL) y se mostró que exhiben las capacidades de auto renovación y multipotencialidad. Además contiene células progenitoras, que se pueden activar a la libre renovar y regenerar otros tejidos, como el cemento y el hueso alveolar.^{38, 43}

Se ha sugerido que las células madre a partir del ligamento periodontal inflamado mantienen la auto-renovación y sus capacidades de diferenciación. Las PDLSC se diferencian en células similares a cementoblastos, osteoblastos, adipocitos y células formadoras de colágeno in vitro, y se transforman en estructuras similares al cemento del tejido periodontal cuando fueron trasplantados con un andamio calcio HA en roedores inmunodeprimidos. Los marcadores de superficie celular que se han identificado son STRO-1 y CD146. Las fibras de colágeno de PDLSC trasplantadas fueron capaces de enlazarse con las estructuras cementoblásticas y asemejarse a la fijación fisiológica de las fibras de Shapey.³⁴

2.4.5 Papila apical

Es el tejido que rodea los ápices de los dientes en desarrollo cerca de vaina epitelial de Hertwig y que toma parte en la formación de la raíz del diente (Fig. 25). Sólo está presente durante el desarrollo de la raíz antes de que el diente entre en proceso de erupción en la cavidad oral. Tienen la capacidad de diferenciarse en odontoblastos y adipocitos. La mayoría de los tejidos humanos en desarrollo no son clínicamente disponibles para el aislamiento de células madre, sin embargo, debido a que las raíces se desarrollan después del nacimiento, la raíz apical es accesible en la práctica clínica dental de las muelas del juicio extraídas. Por lo tanto, es una fuente de células madre con propiedades similares a las embrionarias.^{35, 44}



Fig. 25 Papila apical. A. Radiografía de premolar inferior con ápices abiertos. B. Microscopia de los tejidos responsables para la rizogénesis. Tomada de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-54192008000200003&script=sci_arttext&tlng=en.



Las células madre de la papila apical (SCAP) se encuentran en el tejido de la papila en la parte apical de las raíces de los dientes en desarrollo. Los terceros molares y los dientes con ápices abiertos son una fuente importante de SCAP. Está formada por una zona rica en células que se extiende entre la papila apical y la pulpa. Estas células tienen el potencial de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y odontoblastos, y muestran mayores tasas de proliferación in vitro en comparación con DPSC.^{41, 45}

Muestran marcadores celulares tales como STRO-1, ALP, CD24 y CD29. Pueden diferenciarse en células similares a odontoblastos, muestran buena diferenciación en para formar dentina y tienen bajo potencial adipogenico.³⁹

Son de fácil acceso ya que se pueden aislar de los terceros molares humanos impactados y son criopreservados sin perder la actividad de células madre.^{38, 44}

Tabla 2. Marcadores de expresión característicos de células madre mesenquimales y su potencial de diferenciación

Célula madre	Expresión de marcadores	Diferenciación
CORDÓN UMBILICAL		
Célula madre de la Gelatina de Wharton	NANOG, DNMT3B, BABRB3, CD105, CD73, CD90	Adipogénica Osteogénica Condrogénica Neurogénica
Célula madre de la sangre del cordón umbilical	CD105, CD73, CD90, NANOG, DNMT3B, BABRB3	Células productoras de insulina Células similares a hepatocitos
MÉDULA ÓSEA		
Célula madre mesenquimal derivada de medula ósea	Stro- 1, SB-10, CD44, CD105, DC166, CD28,CD33,CD13, HLA clase I	Osteogénica Adipogénica Condrogénica Neural
Célula madre derivada de tejido adiposo	CD3, CD29, CD44, CD71, DC90, CD105/SH2 y SH3,STRO-1	Osteogénica Adipogénica Condrogénica Células neuronales Células endocrinas Hepatocitos Células epiteliales Cardiomiocitos

Célula madre	Expresión de marcadores	Diferenciación
TEJIDOS DENTALES		
Célula madre de la pulpa dental	STRO-1, CD90, CD105 and CD146	Osteoblastos Adipocitos Condrocitos Odontoblastos
Célula madre de dientes deciduos exfoliados	Stro- 1, CD 146	Osteoblastos Adipocitos Condrocitos Odontoblastos
Célula madre del ligamento periodontal	STRO-1 y CD146	Osteoblastos Adipocitos Condrocitos Odontoblastos
Célula madre de la papila apical	STRO-1, CD24 y CD29	Osteoblastos Adipocitos Condrocitos Odontoblastos
Células madre del folículo dental	Nestin, STRO-1 y Notch-1	Cementoblastos Células neurales

3. Reprogramación celular

La mayoría de las células de un organismo multicelular a medida que se desarrolla aumentara inevitablemente los niveles de diferenciación haciéndose estas células más específicas en su diferenciación. Hasta finales del 2009 las líneas celulares iPS se han generado en varias especies animales, como el ratón, humano, mono Rhesus, rata y cerdo, sin embargo la eficiencia de estas células sigue siendo baja.⁴⁶

El descubrimiento de una tecnología consistente y fiable para reprogramar células somáticas a células madre pluripotentes, denominadas células madre pluripotentes inducidas (iPS), ha abierto una nueva página para la medicina (Fig. 26). La contribución más importante de las células iPS a la biología y la medicina se puede resumir de la siguiente manera: (1) la comprensión de la diferenciación celular y la desdiferenciación, (2) la posibilidad de establecer células iPS individualizadas para aplicaciones clínicas sin la necesidad de recolectar células madre de embriones y (3) la generación de células iPS específicas del paciente para el estudio de los antecedentes genéticos y mecanismos de la enfermedad.⁴¹

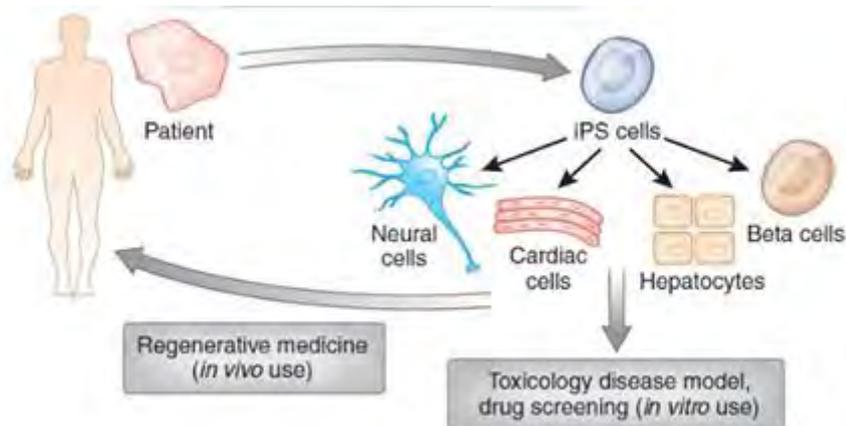


Fig. 26 Aplicaciones de las células madre pluripotenciales inducidas. Tomado de <http://neurociencia-neurofilosofia.blogspot.mx/2012/10/reprogramacion-celular-una-promesa.html>

En el humano, las células derivadas del líquido amniótico, los queratinocitos, fibroblastos derivados de células madre embrionarias, células sanguíneas CD34 y las células madre mesenquimales de los tejidos dentales han demostrado que pueden ser reprogramadas hacia células iPS. Con la finalidad de lograr la reprogramación de células madre somáticas a células madre con capacidad pluripotente. Los métodos más usados y estudiados han sido la transferencia nuclear, la fusión celular y el uso de factores de transcripción como Oct4, Sox2 y Klf4. Otra alternativa es no utilizar estos genes y sus productos en absoluto, sino a utilizar por la estimulación química.^{46, 47}

3.1 Transferencia Nuclear

Durante la década de 1950, Briggs y King establecieron la técnica de SCNT o "clonación", para investigar el potencial de desarrollo de núcleos aislados de embriones en etapa tardía y renacuajos, para trasplantarlos en ovocitos enucleados. Este trabajo mostró que las células diferenciadas de anfibios conservan la información genética necesaria para apoyar la generación de ranas clonadas. La principal conclusión de este trabajo era que el desarrollo impone reversible epigenética más que cambios genéticos irreversibles en el genoma durante la diferenciación celular. La clonación de la oveja Dolly (Wilmut et al 1997) (Fig. 27) y otros mamíferos a partir de células adultas, mostró que el genoma de las células incluso totalmente especializadas, sigue siendo genéticamente totipotentes. Sin embargo, la mayoría de los animales clonados presentan alteraciones fenotípicas severas y anomalías de expresión de genes, lo que sugiere que la SCNT resulta en la reprogramación epigenética defectuosa.⁴⁸

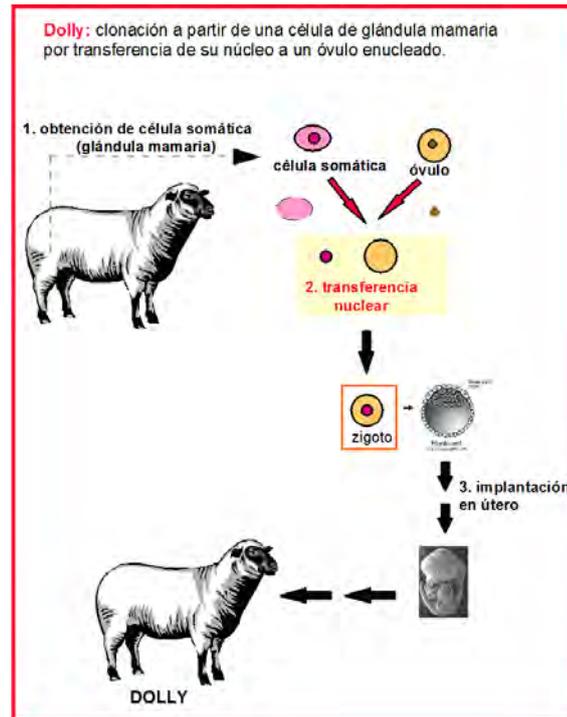


Fig. 27 Creación de Dolly mediante transferencia nuclear. Tomada de <http://pruebairismaria.wikispaces.com/9.5.-+Las+c%C3%A9lulas+madre.+Clonaci%C3%B3n>

3.2 Fusión de células pluripotentes y multipotentes

Mientras SCNT es una herramienta poderosa para investigar el potencial de desarrollo de una célula, es técnicamente difícil y no muy adecuado para estudios genéticos y bioquímicos. Por lo tanto, otro avance importante hacia el aislamiento de iPSCs fue el establecimiento de líneas celulares pluripotentes de teratocarcinomas, tumores derivados de las células germinales. Estas líneas celulares se llaman las células de carcinoma embrionario (CEC) y pueden ser expandidas en cultivo, manteniendo su pluripotencia. Es importante destacar que cuando los CEC se fusionaron con células somáticas, las células híbridas resultantes adquieren propiedades químicas y de desarrollo de CEC y extinguen características de la fusión somática.⁴⁸

3.3 Factores de Transcripción

El tercer principio que contribuyó al descubrimiento de pluripotencia inducida fue la observación del linaje asociado a los factores de transcripción (Fig. 28), que ayudan a establecer y mantener la identidad celular durante el desarrollo, por la conducción de la expresión de genes específicos de cada tipo de células, mientras que suprime los genes inapropiados.⁴⁸

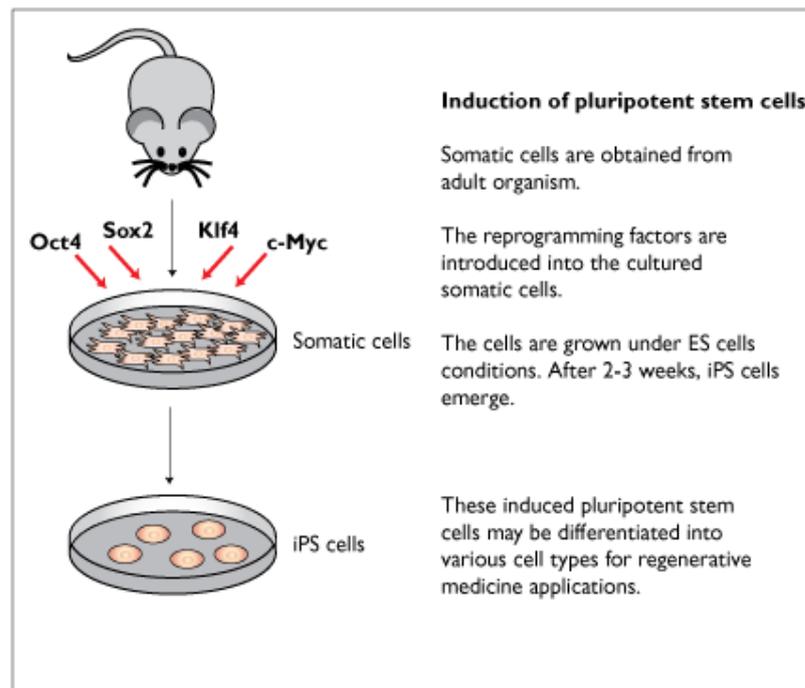


Fig. 28 Reprogramación de células adultas mediante el uso de factores de transcripción.

Tomada de: <http://www.invivogen.com/review-ipsc>

4. Reportes de uso

A pesar de que no puede haber muchas definiciones diferentes de medicina regenerativa, en la práctica, el término ha llegado a representar las aplicaciones para reparar o reemplazar tejidos estructurales y funcionales, incluyendo los huesos, los cartílagos y vasos sanguíneos, entre otros órganos y tejidos. La ingeniería de tejidos se basa en los principios de la biología del desarrollo molecular. Los tres componentes principales de la morfogénesis y la ingeniería de tejidos son: Las señales inductivas, la respuesta de las células y los andamios.³⁸

Actualmente existen dos enfoques principales en la regeneración de dientes.

- Mediante el uso de los principios de la ingeniería de tejidos
- Por la reproducción de los procesos de desarrollo en la formación del diente embrionario³⁸

Debido a su versatilidad las células madre de la pulpa dental (DPSC) se han utilizado para el tratamiento de infarto al miocardio, para regeneración de tejido nervioso, en el tratamiento de distrofia muscular, para isquemia muscular, explotando las capacidades angiogénicas y finalmente en regeneración corneal.³⁹

Sin embargo debido a la pérdida de su capacidad de autorenovación asociada a la senescencia de la función en el MSC cultivadas in vitro pueden presentar un obstáculo para la aplicación terapéutica.⁴⁹

Sobre la base de los principios básicos de la ingeniería tisular, Peter Murray identificó varias áreas de investigación que podrían tener aplicaciones en el desarrollo de estas técnicas, que son:³⁸

I. Endodoncia

Se ha explorado en ratones que tejido similar a la pulpa se puede regenerar en un espacio del conducto radicular, si es llenado por las células madre de la papila apical y pulpa dental que dan origen a las células similares a odontoblastos.

➤ Terapia con células madre postnatales

El proceso consta de células madre postnatales (derivadas de la piel, la mucosa bucal, grasa y hueso) que se inyecta en los sistemas de conductos radiculares desinfectados después de abrir el ápice. Tiene muchas ventajas como la recolección y la entrega de las células madre autógenas por medio de una jeringa, siendo relativamente fácil así como el alto potencial de estas células para inducir la regeneración de pulpa nueva. Sin embargo, hay varias desventajas, como que las células pueden tener una baja tasa de supervivencia y pueden migrar a diferentes lugares dentro del cuerpo.³⁸

➤ Implantación Pulpar

Las células de la pulpa pueden ser cultivadas en filtros de membrana biodegradables para transformarse de cultivos bidimensionales a cultivos tridimensionales. La facilidad de cultivo de estas células en los filtros en el laboratorio, para la evaluación de la citotoxicidad de los materiales de ensayo, es reconocido como el principal ventaja de este sistema.³⁸

II. Periodoncia

El uso de factores de crecimiento y diferenciación para la regeneración de tejido periodontal es el enfoque más popular en la ingeniería de tejidos. Hasta la fecha varios factores de crecimiento, incluyendo (TGF- β) y factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), se han utilizado como un método a base de proteínas para regenerar los tejidos periodontales. Varios estudios preclínicos usando MSCs han demostrado la reconstrucción eficiente de los defectos óseos grandes (Fig. 29). Se ha demostrado que el tejido similar al PDL se puede desarrollar a partir de células progenitoras periodontales y a partir de células madre mesenquimales al ponerse en contacto con cualquiera de los factores de PDL. ³⁸



Fig. 29 Defecto óseo. Tomada de

<http://www.oral surgerytube.com/newsletters/actualizaciones-ost/03mar2013/actualizaciones-oral surgerytube.com.html>

III. Cirugía maxilofacial para reconstrucción craneofacial

Se han utilizado en la ingeniería de tejidos de una articulación temporomandibular en forma humana. Utilizando células derivadas de MSC encapsulados en un hidrogel que fue moldeado dentro de cóndilo mandibular humano en capas aun integradas de cartílago y hueso. Los injertos osteocondrales, en forma de ATMs humanas, fueron implantados en ratones inmunodeficientes durante un lapso de 12 semanas donde los cóndilos articulares mandibulares conservaron su forma y dimensiones.

Las MSC derivadas de médula hueso están ahora bajo consideración para la reparación de hueso craneofacial e incluso la sustitución o regeneración de los tejidos orales. La reconstrucción de defectos craneofaciales y dentales usando MSC evita muchas de las limitaciones de técnicas aloinjerto. Se están llevando a cabo estudios clínicos utilizando células madre para el aumento de la cresta alveolar y defectos de huesos largos.³⁸

En 2007 se publicó un estudio para la formación de los dientes en la mandíbula del ratón. Se sembraron células madre mesenquimales y del epitelio dental en una gota de gel de colágeno, posteriormente se implantaron en la cavidad dental de un ratón. El germen del diente de bioingeniería, condujo a la formación de un diente estructuralmente correcta con odontoblastos, ameloblastos, pulpa dental, vasos sanguíneos, corona, ligamento periodontal, raíz y hueso alveolar. Se concluyó que la implantación en la mandíbula permitió el desarrollo, la maduración y la aparición del diente.⁵⁰



Otro estudio de 2009, demostró la sustitución del diente funcional exitosa en el ratón por el trasplante de un diente de bioingeniería en el hueso alveolar, en la zona del diente que falta. Epitelio dental y las células mesenquimales de dientes molares germinales derivadas de células madre se cultivaron y se combinaron con un biomaterial, antes del trasplante en el hueso alveolar del ratón en el área de los dientes que faltan. El primer molar superior se extrajo y el trasplante tuvo lugar tres semanas más tarde, para permitir la rehabilitación física de la cavidad dental y epitelio de la cavidad oral. Finalmente se demostró que el diente de bioingeniería que emergió en el área oral tenía la construcción correcta y la dureza de los tejidos necesaria para la masticación.⁵⁰

5. Conclusiones

A partir del momento de la fecundación pueden encontrarse células madre en cada etapa de la vida intrauterina, conforme avanza el desarrollo embrionario estas células disminuyen su potencialidad y capacidad proliferativa hasta llegar a la multipotencialidad al momento del nacimiento, características que perduran durante la vida adulta.

Las células madre de tejidos dentales han demostrado ser una buena fuente de células madre mesenquimales, debido a las ventajas que ofrecen sobre otras células madre, como pueden ser los procedimientos de recolección mínimamente invasivo, costos bajos o su alto potencial de proliferación.

En los tejidos dentales las células madre han mostrado tener la capacidad de diferenciarse en tejidos de origen ontogénico y no ontogénico por lo que se abre la posibilidad de que sea ocupadas como terapia regenerativa en distintos tipos de enfermedades, sin embargo a medida que aumenta la edad de los individuos se reduce el número de sitios de obtención de células madre dentales, además su potencial de proliferación y diferenciación pueden verse modificados por el envejecimiento, procesos inflamatorios o infecciosos.

No se han reportado gran cantidad de trasplantes células madre en el campo odontológico en humanos, sin embargo los avances que han mostrado en la regeneración de tejidos dentales y craneofaciales a través de la experimentación con animales abre la posibilidad de que estas células puedan ser utilizadas en el futuro como alternativas de tratamiento en una gran variedad de afecciones odontológicas.

6. Glosario

Masa celular interna: Grupo de células en el interior del blastocito. Estas células dan lugar a que el embrión y en última instancia el feto.⁵¹

Blastocito: Un embrión preimplantatorio de aproximadamente 150 células producidas por la división celular después de la fertilización. El blastocito es una esfera formada por una capa exterior de las células (el trofoblasto), una cavidad llena de líquido (el blastocele), y un grupo de células en el interior.⁵¹

Mesénquima: Tejido conectivo inmaduro embrionario.⁵¹

Célula madre: Células con la capacidad de dividirse por períodos indefinidos para dar lugar a células especializadas.⁵¹

Diferenciación: El proceso por el cual una célula embrionaria no especializado adquiere las características de una célula especializada, tales como un corazón, hígado, o de células de músculo.⁵¹

Gastrulación: Proceso en el que las células proliferan y migran dentro del embrión para transformar la masa celular interna de la etapa de blastocito en un embrión que contiene las tres capas germinales primarias.⁵¹

Medio de cultivo: Líquido que cubre las células en una placa de cultivo y contiene nutrientes para nutrir y apoyar a las células. El medio de cultivo también puede incluir factores de crecimiento añadidos para producir los cambios deseados en las células.⁵¹

Trabécula: Porción porosa que recubre a la cavidad medular.²⁸

Estroma: Elementos del tejido conectivo que rodean y sustentan el parénquima.²⁸



Proliferación: Expansión del número de células por la división continua de las células individuales en dos células hijas idénticas.⁵¹

In vitro: En latín significa "en vidrio", en un plato de laboratorio o tubo de ensayo; un ambiente artificial.⁵¹

In vivo: Técnicas diagnósticas que se realizan en el propio paciente.⁵²

Matriz extracelular: Entidad estructuralmente compleja que rodea y soporta las células que se encuentran en los tejidos de los mamíferos, está compuesta principalmente de 3 clases de moléculas: 1. Proteínas Estructurales. 2. Proteínas Especializadas. 3. Proteoglicanos.⁵³

Criopreservación: Mantenimiento de la viabilidad y funcionabilidad celular a temperaturas bajas.⁵⁴

7. Bibliografía

1. Watt FM, Driskell RR. The therapeutic potential of stem cells. *Phil. Trans. R. Soc. B.* (2010) 365, 155-163.
2. Peppo GM, Marolt D. State of the Art in Stem Cell Research: Human Embryonic Stem Cells, Induced Pluripotent Stem Cells, and Transdifferentiation. *J Blood Transfus.* 2012. 10 pages
3. Langman J. Embriología médica: con orientación clínica. Ed Panamericana. 10ª ed. 2010.
4. Larsen JW. Embriología humana. Ed. Elsevier Science. 3ª edición. España 2003.
5. Moore KL, Persaud TV. Embriología clínica. Ed. McGraw-Hill Interamericana 8ª ed. 2008.
6. Múnevar JC, Becerra AP, Bermúdez C. Aspectos celulares y moleculares de las células madres involucrados en la regeneración de tejidos con aplicaciones en la práctica clínica odontológica. *Acta odontol. Venez.* 2008 Dec; 46 (3).
7. Mitalipov S, Wolf D. Totipotency, Pluripotency and Nuclear Reprogramming. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2009 Sep; 114: 185–199.
8. Lee JE, Lee DR. Human Embryonic Stem Cells: Derivation, Maintenance and Cryopreservation. *International Journal of Stem Cells.* 2011; 4(1): 9-17.
9. Montiel E, Montiel JF. Origen y Migración de Células Troncales. *Int J. Morphol.* 2012; 30(4): 1332-1337.
10. Parekkadan B, Milwid JM. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annu Rev Biomed Eng.* 2010 August 15; 12: 87–117.
11. Socarrás BB, Valle LO, Cuétara K, Marsán V, Sánchez M, Macías C. Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.* 2013; 29(1).



12. Lin HT, Otsu M, Nakauchi H. Stem cell therapy: an exercise in patience and prudence. *Phil Trans R Soc B* 368. 2012: 14 pages
13. Rastegar F et al. Mesenchymal stem cells: Molecular characteristics and clinical applications. *World J Stem Cells*. 2010 August 26. 2(4): 67-80.
14. Arévalo JA, Páez DM, Rodríguez VM. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *N O V A* 2007; 5(8) : 177-184.
15. Wada N, Gronthos S, Bartold MP. Immunomodulatory effects of stem cells. *Periodontology* 2000. 2013. Vol. 63: 198-216.
16. Kim N. Cho SG. Clinical applications of mesenchymal stem cells. *Korean J Intern Med* 2013;28:387-402.
17. Xia et al. Differentiation of Mesenchymal Stem Cells from Human Umbilical Cord Tissue into Odontoblast. Like Using the Conditioned Medium of Tooth Germ Cells In Vitro. *BioMed Research International*. 2013. Vol 13. 10 pages.
18. Wang Z et al. Putative Stem Cells in Human Dental Pulp with Irreversible Pulpitis-An Exploratory Study. 2011; ; 36(5): 820–825.
19. Arufe MC, De la Fuente A, Fuentes I, De Toro FJ, Blanco FJ. Umbilical cord as a mesenchymal stem cell source for treating joint pathologies. *World J Orthop*. 2011 June 18; 2(6): 43-50.
20. Florina P, Voltarelli J, Zavazava N. Immunological Application of Stem Cell in Type 1 Diabetes. *Endocr Rev*. 2011 Dec; 32(6): 725-754.
21. Gia A, Frizziero A, Oliva F. Biological properties of mesenchymal Stem Cells from different sources. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. 2012; 2 (3): 154-162.
22. Divya et al. Umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells consist of a unique population of progenitors co-expressing mesenchymal stem cell and neuronal markers capable of instantaneous neuronal differentiation. *Stem Cell Research & Therapy* 2012, 3:57.
23. Malgieri A. Kantzari E, Patrizi MP, Gambardella S. Bone marrow



- and umbilical cord blood human mesenchymal stem cells: state of the art. *Int J Clin Exp Med*. 2010; 3(4): 248-269.
24. Orbay H, Tobita M, Mizuno H. Mesenchymal Stem Cells Isolated from Adipose and Other Tissues: Basic Biological Properties and Clinical Applications. *Stem Cell International*. 2012: 9 pages.
25. Abdulrazzak H, Moschidou D, Jones G, Guillot PV. Biological characteristics of stem cells from foetal, cord blood and extraembryonic tissues. *J. R. Soc. Interface*. 2010; 7: 689-706.
26. Mera C, Roa A, Ramirez S. Células madre hematopoyéticas, generalidades y vías implicadas en sus mecanismos de auto-renovación. *Rev. Cienc. Salud. Bogotá*. 2007; 5 (1): 67-89.
27. Ratajczak M, Zuba EK, Wojakowski W, Ratajczak J, Kucia M. Bone Marrow- Home of Versatile Stem Cells. *Transfus Med Hemother*. 2008; 35: 248-259.
28. Gartner LP, Hiatt JL. *Texto Atlas de Histología*. McGrawHill. 2008
29. Girolamo L et al. Mesenchymal Stem/Stromal Cells: A New “Cell as Drugs” Paradigm. Efficacy and critical Aspects in Cells Therapy. *Current Pharmaceutical Design*. 2013; 19: 2459-2473.
30. Zeve D, Tang W, Graff J. Fighting at with Fat: The expanding Field of Adipose Stem Cells. *Cell Stem Cell*. 2009 Nov; 5(5):472-481.
31. Cawthorn WP, Scheller EL, McDougald OA. Adipose tissue stem cells: the great WAT hope. *Trends Endocrinol Metab*. 2012 Jun; 23(6): 270- 277.
32. Woo Y et al. Rapid Isolation of Adipose Tissue- Derived Stem Cells by the Storage of Lipoaspirates. *Yonsei Med J*. 2011; 52(6): 999-1007.
33. Kim BC, Bae H. Osteoblastic/ Cementoblastic and Neural Differentiation of Dental Stem Cells and Their Applications to Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *TISSUE ENGINEERING: Part B*. Volume 18, Number 3, 2012. 235-244
34. Feng R, Lengner C. Applications of Stem Cell Technology in Dental Regenerative Medicine. *Advances in Wound Care*. 2013 May 20;



- 2(6): 296-304
35. Angelova A, Pang Y, Sharpe PT. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends Cell Biol.* Dec 2010; 20-206(12-6): 715–722.
36. Huang GT, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs Those Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine. *J Dent Res.* 2009; 88(9): 792-806.
37. Dannan A. Dental- derived Stem Cells and whole Tooth Regeneration: an Overview. *J Clin Mes Res.* 2009; 1(2): 63-71.
38. Rai S, M Kaur, S Kaur. Applications of Stem Cells in Interdisciplinary Dentistry and Beyond: An Overview. *Ann Med Health Sci Res.* 2013 Apr-Jun; 3(2): 245–254.
39. Giordano G, Monaca G, Annibali S, Cicconetti A, Ottolenghi L. Stem cells from oral niches: a review. 2011 Jan-Jun; 2(1-2): 3–8.
40. Kerkis I, Caplan AI. Stem Cells in Dental Pulp of Deciduous Teeth. *TISSUE ENGINEERING: Part B.* 2012; 18(2):129-138.
41. Huang GT. Induced Pluripotent Stem Cells- A New Foundation in Medicine. *J Exp Clin Med.* 2010 Oct; 2(5):202-217.
42. Yao S, Pan F, Prpic V, Wise GE. Differentiation of Stem Cells in the Dental Follicle. *J Dent Res.* 2008 August; 87(8):767-771.
43. Maeda H, Tomokiko A, Shinsuke F, Wada N, Akamine A. Promise of periodontal ligament cells in regeneration of periodontum. *Stem Cells Research & Therapy.* 2011; 2(3)
44. Ibarretxe G, Crende O, Aurrekoetxea M, García V, Etxaniz J, Unda F. Neural Crest Stem Cells from Dental Tissues: A New Hope for Dental and Neural Regeneration. *Stem Cells Int.* 2012. 12 pages.
45. Otsu K et al. Stem cell sources for tooth regeneration: current status and future prospects. *Frontiers in PHYSIOLOGY.* 2014 Feb; 5 (36): 12 pages.
46. Tume LF. La reprogramación en la obtención de células madre pluripotentes inducidas. *Revista ECIPerú.* 2013 Oct; 10(1): 9-13.
47. Yan X, Quin H, Qu C, Tuan RS, Songtao Shi, Guang GT. iPS Cells



- eprogrammed From Human Mesenchymal- Like Stem/Progenitor Cells of Dental Tissue Orgigin. STEM CELLS AND DEVELOPMENT. 2010; 19(4): 469-480.
48. Stadtfeld M, Hochedligner. Induced pluripotency: history, mechanisms, and applications. Genes Dev. 2010 Oct 15; 24(9): 2239-2263
49. Kim RH, Mehrazarin S, Kang MK. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells for Oral and Systemic Diseases. Dent Clin North Am. 2012 Jul;53 (3): 651-675.
50. Lymeri S, Ligoudistianou C, Taraslia V, Kontakiotis E, Anastasiadou E. Dental Stem Cells and Their Application in Dental Tissue Engineering. The Open Dentistry Journal. 2013: 76-81.
51. Glossary. Disponible en: <http://stemcells.nih.gov/StaticResources/info/popups/glossary.html>
52. Fernández M. Métodos de diagnóstico en alergias. Técnicas de in vitro e in vivo. En línea. Disponible en: <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/15-diagnostico.pdf>
53. <http://themedicalbiochemistrypage.org/es/extracellularmatrix-sp.php>
54. Hunt CJ. Cryopreservation of Human Stem Cells for Clinical Application: A Review. Transfus Med Hemother. 2011; 38: 107–123.