

PANORAMA ACTUAL DE LAS CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DE DIENTES PRIMARIOS Y PERMANENTES

CURRENT SCENARY OF STEM CELLS FROM THE PULP OF PRIMARY AND PERMANENT TEETH

REVISIÓN DE LITERATURA

Valencia R.¹, Espinosa R.², Saadia M¹. Velasco Neri J.², Nario H.³

1 Profesor del posgrado en Odontología Pediátrica de la Universidad Tecnológica de México, Profesor de la maestría en Ortodoncia del Centro de Estudios Superiores de Ortodoncia (CESO)

Especialidad en Odontología Pediátrica Universidad de Texas San Antonio- USA

2 Profesor del posgrado de Prostodoncia del Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.

3 Alumna del posgrado de Prostodoncia del Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.

Resumen

Las células madre o troncales son células que se encuentran en todos los organismos multicelulares y tienen la capacidad de dividirse (a través de la mitosis) y a su vez diferenciarse en diversos tipos de células especializadas y de autorrenovarse para producir más células madre. En los mamíferos, existen diversos tipos de células madre que se pueden clasificar teniendo en cuenta su potencia y el número de diferentes tipos celulares en los que puede diferenciarse. En los organismos adultos, las células madre y las células progenitoras actúan en la regeneración o reparación de los tejidos del organismo. Las células madre dentales son células mesenquimales que pueden dar origen a diferentes tejidos mesenquimales como músculo, hueso, tejido graso, neuronas entre otras. Se ha encontrado actualmente que las células de la pulpa dentaria de origen mesenquimal tienen una gran potencialidad y capacidad de diferenciación. Son las células de la pulpa dentaria de los dientes anteriores primarios los que tienen mejores características, en comparación de los permanentes que aunque menos, estos siguen siendo muy potentes, no solamente en dividirse (pases) pero

también en su capacidad de diferenciarse.

Palabras Clave: Células Madre Adultas, Regeneración de Tejidos, Diferenciación celular.

Abstract

The stem cells are found in all multicellular organisms and are able to divide (through mitosis) and in turn differentiate into various types of specialized cells to self-renew and to produce more stem cells. In mammals, there are various types of stem cells that can be classified in view of its potency and the numbers of different cell types in which it can be differentiate. In adult organisms, stem cells and progenitor cells work in the regeneration or repair of tissues. Dental stem cells are mesenchymal cells that can rise to different mesenchymal tissues such as muscle, bone, fat tissue, including neurons. In recent times the mesenchymal dental pulp cells, have found a great potential and differentiation capacity. The primary anterior teeth pulp cells are proved to show better characteristics, compared to the permanent ones, never less with strong capacity, not only in dividing (passes) but also in its ability to differentiate. **Key Words:** Adult Stem Cells, Tissue Regeneration, Cell Differentiation.

Historia

El concepto de Células Madre, Troncales, Potenciales etc., no es nuevo, este a través de la historia ha sido utilizado con términos diferentes pero de una manera parecida. Fue utilizado por primera vez por el alquimista Paracelso (1493-1541), quien una vez afirmó haber creado un "Homúnculo" al intentar encontrar la Piedra Filosofal. El "homúnculo" se refiere a la antigua creencia que en la cabeza del espermatozoide se contenía un pequeño "hombrecito" en actitud fetal, dando así origen al feto que nacería luego de nueve meses de gestación. Este concepto es parecido al que tenemos de una clonación humana, que sería el de no tener la necesidad de la pareja para la concepción,

donde pudiera considerarse esto para algunos, como el triunfo sublime del individualismo posesivo (Fig. 1)

Ya antes Aristóteles (384-322 a.C.) había planteado las primeras interrogantes del desarrollo embriológico, por lo que es reconocido como el primer embriólogo. Donde la formación del embrión respondía a dos hipótesis. La primera llamada comúnmente preformación, que sostiene que las estructuras del embrión están preformadas desde el principio y luego estas simplemente aumentan de tamaño. La segunda hipótesis propone que las estructuras crecen progresivamente con el tiempo, a esta se le denomina epigénesis (epi= sobre, génesis=inicio).

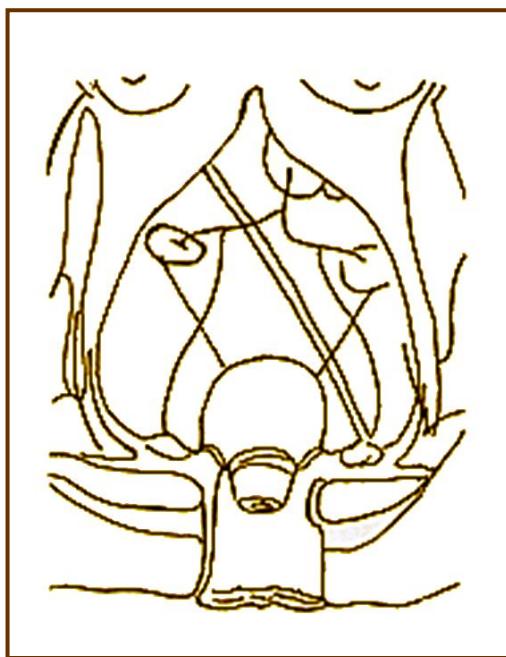


Figura 1. Diversas formas de mostrar al Homúnculo de acuerdo a la forma de pensamiento de la concepción del ser humano. A) Concepción del sitio de generación del nuevo ser 1495 B) Dibujos de embriones de Leonardo Da Vinci 1580

En el siglo XIII-XIV Leonardo Da Vinci (1452-1519), basándose en sus dibujos de embriones explica de una forma más detallada lo que es la naturaleza de un nuevo ser, sin embargo atribuye la formación un ser completo con una célula única.

El término homúnculo fue posteriormente usado en la discusión de la concepción y el A raíz de ahí se desataron las teorías que afirmaban que el esperma era de hecho un hombre pequeño "homúnculo" que se implantaba dentro de una mujer para que creciese hasta ser un niño; éstos llegarían más tarde a ser conocidos como los "espermistas". Se pensaba que ya desde un Adán estaba enclaustrada toda la humanidad, que se iría transmitiendo a su descendencia. Esta teoría biológica permitía explicar de forma coherente muchos de los misterios de la concepción (por ejemplo, por qué necesita de dos). Sin embargo más tarde se señaló que si el esperma era un homúnculo, idéntico a un adulto en todo salvo en el tamaño, entonces el homúnculo debía tener su propio esperma. Esto llevó a una reducción al absurdo, con una cadena de homúnculos siempre hacia abajo. (Fig. 2)

nacimiento. En 1694, Nicolas Hartsoeker descubrió "el animalúnculo" en el esperma de humanos y otros animales. La escasa resolución de aquellos primeros microscopios hizo parecer que la cabeza del espermatozoide era un hombre completo en miniatura.

Por su parte Goethe también popularizó el término, ya que denominó "homúnculus" al pequeño ser que creó el antiguo alumno de Fausto; Wagner, mediante operaciones quirúrgicas.

Fue entonces cuando el término se usa de determinadas formas para describir sistemas que se cree que funcionan gracias a los "hombrecillos" de su interior.

William Harvey (1578-1657) además del descubrimiento de la circulación de la sangre es el autor de "Ex ovo omnia", donde afirmaba que "Todo ser vivo procede de otro" (*omni vivum ex vivo*), lo que derriba la teoría de la generación espontánea.

Antes de los 1800s, los anatomistas veían a un niño antes del nacimiento con brazos y piernas dobladas, envueltos firmemente en una membrana uterina. En contraste a imágenes previas estas no se desarrollan, además de no

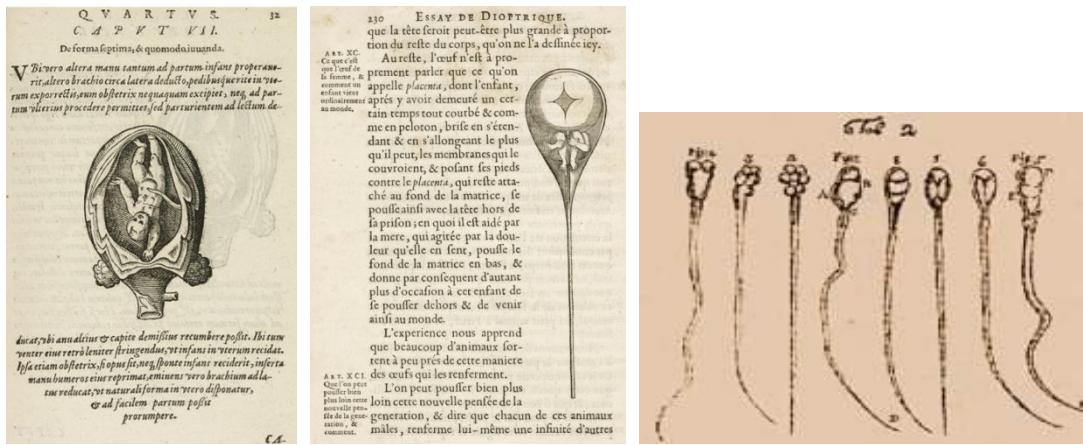


Figura 2. Diferentes representaciones del Homúnculo, donde la célula masculina posee todos los atributos para el nuevo ser. Se observa a pequeños individuos en el interior de estos, donde simplemente el útero va a ser un contenedor para el desarrollo de este.

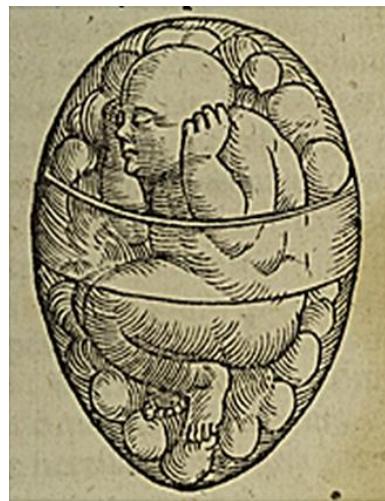


Figura 3. Imagen de la representación de la vida desde un panorama anatómico, donde las esferas que rodean al niño antes del nacimiento representan los procesos escondidos, hasta exponerse al nacimiento

ser una evidencia de lo que los anatomistas ven, sino la representación de procesos escondidos, donde las pequeñas esferas están alrededor dentro de su universo. Las Rudolf Virchow (1855) es el primer científico en la Historia Moderna de la Medicina quien traslada la teoría celular al campo de la patología, con su frase célebre "omnis cellula e cellula", defendiendo su teoría de que toda enfermedad expresa en definitiva una disfunción celular. El conceptualiza a la célula como el origen de la enfermedad a diferencia de sus antecesores, con una medicina Hipocrática donde para ellos la enfermedad se basaba sobre los humores que hablaban acerca de la constitución del cuerpo humano y predisposición a enfermarse. Donde el principio médico básico eran los fluidos

membranas protegiendo un anillo a manera de corteza de árbol, que suponía permanecer escondido hasta que esta se expusiera al nacimiento. (Fig. 3) orgánicos de los que estaban compuestos, en proporción variable, por sangre (caliente y húmeda), flema (fría y húmeda), bilis amarilla (caliente y seca) y bilis negra (fría y seca). Si estos se encontraban en equilibrio el cuerpo gozaba de salud, pero en cambio el exceso o defecto de alguno de ellos producía la enfermedad. Extensión hecha por Galeno a la doctrina ancestral de los cuatro "humores" de temperamentos Básicos; Sanguíneo, flegmático, colérico y melancólico, donde quizá podríamos extender el pensamiento y considerarlas en lo que hoy, conocemos como las señales celulares en la diferenciación ⁽⁵³⁾ (fig.4.)



Figura 4. Imagen de la representación de los cuatro humores ancestrales de Galeno

En 1986 se descubre la Muerte Celular Programada Autónoma (MCPA) o Programmed Cell Death PCD también conocida como apoptosis, la cual es necesaria para un desarrollo óptimo del individuo. Este descubrimiento se realizó sobre *Caenorhabditis elegans* el cual inicialmente posee 1090 células pero finalmente conserva 959 para el resto de su vida, lo cual indica que 113 células desaparecen durante el desarrollo. Las observaciones mostraron que siempre se eliminaban las mismas 131 células. Igualmente descubrieron que este fenómeno y mecanismo molecular es conservado entre nematodos y mamíferos desde un origen evolutivamente antiguo. Por este trabajo Horvitz y Ellis fueron premiados con el premio Nobel.⁽²¹⁾

Avances de la Ciencia y Tecnología nos han llevado a pensar en buscar el curar, reparar, remplazar e incluso a llegar a una perpetuidad, al grado de llegar a tener una lectura de la genética del Humano “Genoma Humano”

Hoy en día el concepto de estos dos premios Nobel de la Apoptosis ha tomado

gran fuerza, que en griego significa “La Caída de Hojas en Otoño” y se basa en las propiedades celulares de remplazar y ser remplazadas en el tiempo por células que no tienen una función definida hasta el momento de diferenciarse.

Conocemos actualmente por Li Y., Caufield PW., (1995) que el promedio de células de un individuo de talla media es de 10^{14} y que las células en estas edades son producto de una 45 generación. Que solo el 10% del total de células son humanas y que el 90% restante son de bacterias que se encuentran principalmente en la superficie de la piel y de los intestinos viviendo en una armonía (simbiosis).⁽⁵³⁾ (Cuadro # 1)

El potencial de crecimiento y diferenciación celular es muy alto después de la concepción después de la unión de las dos únicas células haploides (Ovulo y Espesmatozoide) y va disminuyendo este potencial a medida que las generaciones van transcurriendo. (Fig. 5)

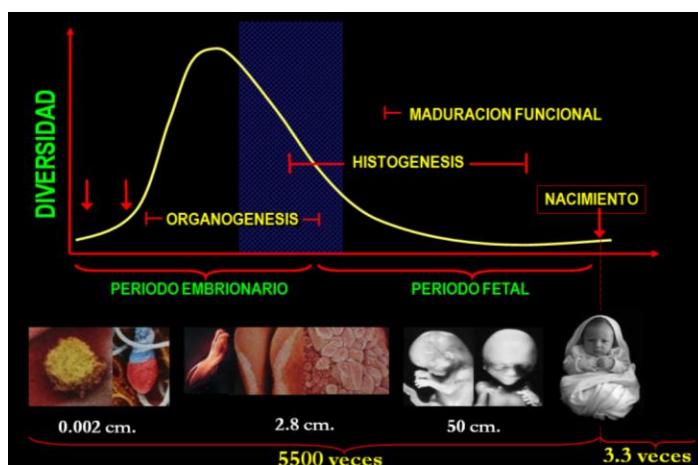


Figura 5. Crecimiento y Desarrollo del Individuo en el lapso de la Fecundación a la Muerte

Es cierto que las células se mueren o se atrofian y estas son remplazadas por otras nuevas por medio de apoptosis. Esta se encuentra justamente establecida en los

genes en cada genoma de cada una de las especies vivientes. El ritmo de apoptosis es distinto en cada tejido, y como ejemplo en nuestra área dental Trowbridge y Kim

refieren que la vida media del odontoblasto coincide con la vida media de la pulpa viable, que aunque desconocida se sabe que esta se puede afectar ante alguna injuria.⁽⁹²⁾ Sabemos que dentro de la pulpa dentaria existen las Células Mesenquimatosas Indiferenciadas, y que estas son las que van a remplazar al odontoblasto que muere o simplemente envejece, para dar lugar a la diferenciación de estas células e incluso incorporar la prolongación citoplasmática del Odontoblasto antecesor y así seguir la formación de dentina. Incluso los resultados de Couve E. y Schmachtenberg O., (2011) sugieren que la actividad autofagia en los odontoblastos como parte del remplazo, es un mecanismo fundamental para asegurar el regreso y degradación de componentes subcelulares.⁽¹⁷⁾

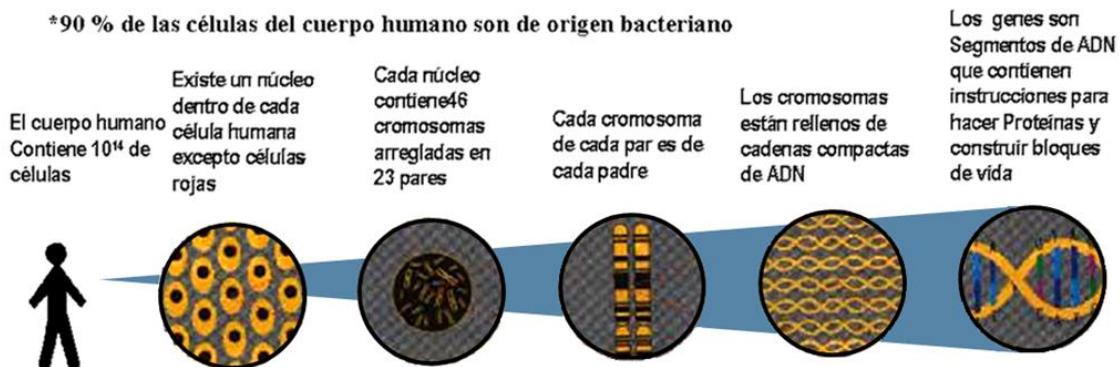
Existen muchos órganos en el cuerpo humano y cada uno tiene una población de células que están listas para reparar los tejidos dañados. Se considera en promedio que dos billones de células se recambian diariamente y que el recambio total celular de un Humano se realiza cada 18 años.

Existen algunos tejidos como el hueso con un proceso de recambio de cada 10 años, mientras el periodo de la piel es únicamente de dos semanas.

De ahí me viene la reflexión de lo que las personas decían de aquellas otras que parecían ratones de Iglesia, refiriéndose a algunos individuos que se pasaban horas de rezo en las Iglesias, sin embargo en qué consistía la analogía de ratones en las iglesias. Por lo que antes que nada me pregunto ¿que comen los ratones si no hay alimento? Pues la respuesta era el que estos se alimentan de la descamación de la piel de los fieles que rezaban por horas, que muestran el gran ritmo de intercambio de las células epiteliales.

De la magnitud de recambio celular podemos decir que los recursos de células madre están en todas partes del cuerpo, lo que nos permite buscar más formas de hacernos de estas células. Es ahí cuando retomamos lo que alguna vez nos mencionó el Médico Cardiólogo Rubén Argüero quien decía que el que no crea en el futuro de las células madre es un Cretino.

Cuadro 1. Representación desde las proteínas en el material genético de cada cromosoma de cada núcleo de cada célula del cuerpo humano.



Donde 2 billones de Células Madre son remplazadas cada 24 horas y cada 18 años son substituidas la totalidad de células del individuo.

Los conocimientos de hoy nos dicen que las células más primitivas (las más cercanas a una primera generación) son más potentes en dividirse y diferenciarse, por lo que estas pudieran clasificarse de acuerdo a algunas de sus características. (Cuadro # 2)

La obtención de estas células es variada y por razones Filosóficas, Éticas, Morales han sido discriminadas, donde incluso las políticas económicas en algunos países han

hecho que el avance científico se vea retrasado.⁽³³⁾

Históricamente algunas células han tenido mayor popularidad por su descubrimiento o tiempo de difusión, mientras que otras recién inician con las promesas de acuerdo a su potencialidad de diferenciación, su capacidad de división y su mecanismo de obtención. Esto nos lleva a la necesidad de ser receptivos en construir marcos de conocimiento bien sustentados (basados en evidencia científica) para que verdaderamente se pueda hacer realidad. Desarrollando formas de Células Madre que sean factibles a través de técnicas no invasivas de igual o mejor potencialidad a las ya existentes. (Cuadro # 2)

Cuadro # 2 Tipos de Células Madre según su descripción de potencialidad de diferenciación y el período en las que estas se pueden obtener.

Tipo de CM	Descripción	Ejemplo
Totipotencial	Se convierten en un bebé	Células Embrionarias (Mórula) (1 a 4 días)
Pluripotencial	Las células forman 200 tipos de células diferentes	Células de Blastocitos (5 a 14 días)
Multipotencial	Se diferencian en un número limitado de células	Células Madre Adultas (cordón umbilical, dientes, médula ósea, sangre, grasa, piel, etc.)

Cronología Histórica de las Células Madre

- 1910 Carrel y Burrows Cultivan tejidos humanos
- 1963 McCulloch Descubren la presencia de auto replica de Célula Madre en la Médula Ósea de ratones
- 1968 Primer Trasplante de Médula Ósea (TMO)
- 1978 Las Células Madre Hematopoyéticas (CMH) son descubiertas en la sangre del cordón umbilical
- 1981 Las Células Madre Embriónicas son obtenidas de la masa celular interna

- 1992 Células Madre Neurales son cultivadas *in vitro*
- 1995 Es aprobada la enmienda Dickey para uso de Dinero Federal Médico en las investigaciones donde las Células Madre son derivadas de la destrucción del embrión
- 1997 La leucemia es la 1^a en evidenciar que las Células Madre Hematopoyéticas son la razón para el cáncer de Células Madre de la oveja Clonada "Dolly"
- 1998 James Thompson establece las primeras Líneas Celulares Humanas Embriónicas
- 2000s Múltiples reportes de Células Madre Adultas son publicadas, incluso hasta en la actualidad
- 2003 El descubrimiento de nuevos orígenes de Células Madre son encontrados en los Dientes Primarios
- 2006 Son creadas nuevas líneas de células madre sin destruir el Embrión
- 2006-7 El presidente George W Bush veta el financiamiento Federal de investigaciones con Células Madre Embrionarias
- 2009 Barack Obama pone fin al veto impuesto por su antecesor, en el financiamiento Federal de investigaciones con Células Madre Embrionarias

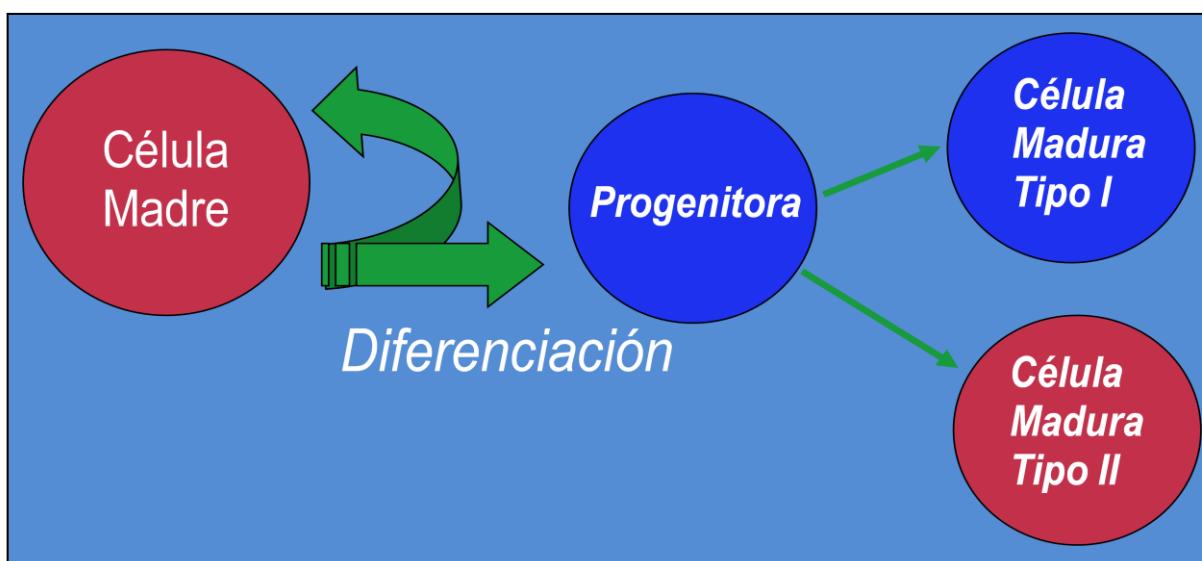


Figura 6. Diagrama de las Células Madre, donde estas tienen la capacidad de auto renovación o bien de diferenciarse en diferentes tipos de células especializadas

Las Células Madre son células no especializadas (Totipotenciales, Pluripotenciales ó Multipotenciales) auto renovables (capaz de producir más células madre) que pueden dividirse indefinidamente, además de originar

células hijas que se convertirán finalmente en diferentes tipos de células especializadas. (Fig. 6) Estas pueden hallarse en el embrión o en tejidos adultos. (Fig. 7, 8)

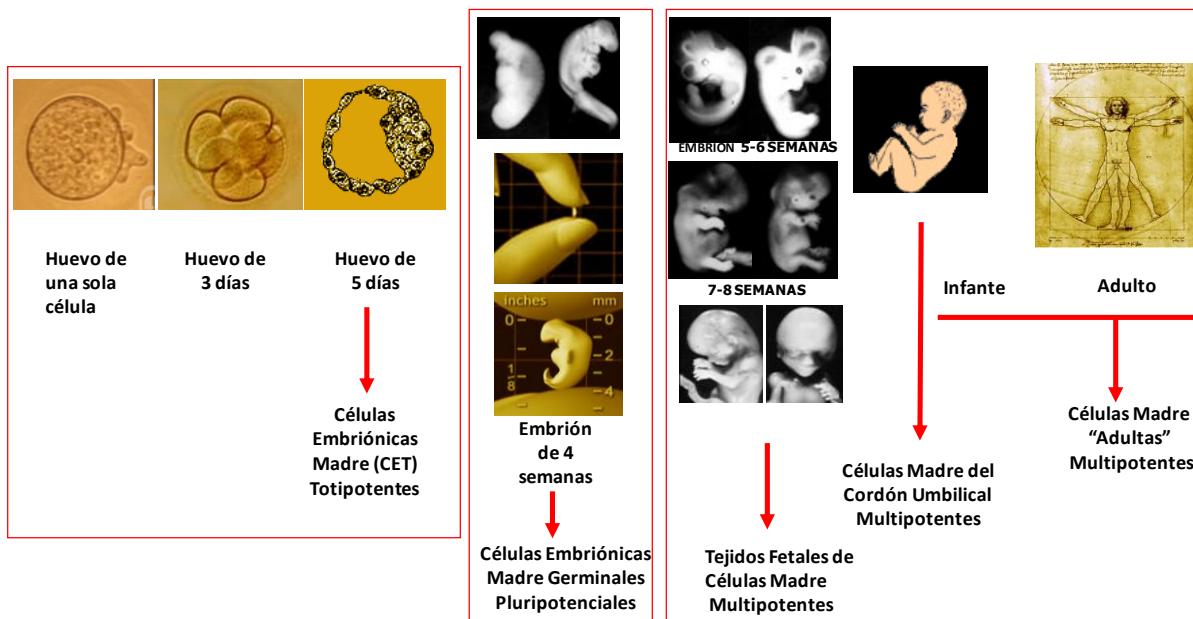


Figura 7. Imágenes que muestran las diferentes capacidades de las células de acuerdo a las diferentes fases embrionológicas.

Entonces ¿Cuáles son los Problemas de las Células Embriónicas?

- Se destruye el Embrión*
- Crecen tumores*
- Es ilegal*

A lo que pudiéramos responder que para poder obtener las células de la masa interna del embrión, este se pierde además que el debate para algunos se da en el

sentido de existencia de vida del embrión como tal, donde algunos arguyen que a los cinco días de edad este no tienen patrones de un sistema nervioso. Por lo que existe una controversia muy marcada entre los investigadores en el uso de embriones para la obtención de células pluripotenciales. (Fig. 8)



Figura 8. Observe el tamaño de un embrión de cinco días, que se encontraría contenido en el ojo del águila de una moneda de diez centavos mexicanos.

Aun cuando las células madre adultas no son útiles para tratamientos de cáncer, estas no contribuyen a la formación de este, pues algunas terapias de células madre vía parenteral, dan como resultado simplemente la formación de células de reparación de las capas de origen (Ectodermo, Mesodermo, Endodermo) donde al llegar o ser colocadas en el sitio del tejido dañado con un ambiente similar

local, estas tienen la capacidad de diferenciarse en las células que tienen este ambiente, fenómeno que se le ha denominado "Homing".^(13, 51)

Las células embrionarias en México así como en muchos otros países está prohibida su utilización, incluso el uso de la clonación con el fin de producir embriones.

Células Madre de la Pulpia Dental

La pulpa es un tejido conectivo vascular laxo, rodeado de dentina, que contiene una población heterogénea de células entre ellas;

- ❖ *Fibroblastos : Son las más abundantes con forma de estrella*
- ❖ *Odontoblastos: Son células responsables para la síntesis y secreción de matriz extracelular de pre-dentina y biominerización de la dentina (La Proteína principalmente es la Colágeno Tipo I)*
- ❖ *Células Sanguíneas*
- ❖ *Células de Schwann*
- ❖ *Células Endoteliales*
- ❖ *Mesenquimatosas Indiferenciadas*
(6,9,10)

Estudios realizados por Kuo MY.,y cols. (1992) muestran la expresión de los genes de la Colágena en cultivos celulares de pulpa humana.⁽⁴⁹⁾ Además sabemos por (Ritchie et al., 1994) (Butler y Ritchie, 1995) que la mayoría de proteínas de la colágena de la dentina (CP) son de tipo I y se cree que esta provee el molde para la mineralización, mientras que las proteínas no colágena (NCP); Fosfoproteínas de la dentina (DPP) y Sialoproteínas de la dentina (DSP) son las que Inician y regularizan el proceso de mineralización, además de fragmentos de un gen único llamado sialofosfoproteína de dentina (DSPP).)^(11, 75)

Nakashima M. y cols. (1994) Chen et al., (2005) logran inducir dentina en pulpas amputadas de perros con proteínas humanas Morfogenéticas formadoras de hueso.^(15, 63)

Estudios clínicos realizados por Valencia R., y cols., muestran la habilidad de las células pulparas a diferenciarse en odontoblastos para reparar daños a la dentina.^(93, 94) Además de que la mayoría de células de la pulpa son Mesenquimatosas y Fibroblastos, estas son capaces de crecer en cajas de cultivo, siendo estas utilizadas para estudiar la diferenciación de las células pulparas. También ha sido estudiado por Shiba Y., y cols. (1998) el crecimiento y la morfología de las células animales dependiendo de su anclaje en sistemas de interface líquido/líquido.⁽⁸³⁾

Las proteínas Morfogenéticas formadoras de Hueso (BMP) pueden regular la diferenciación de las células pulparas en odontoblastos y estimular la formación de dentina reparativa. Además de BMP-2 existen otros factores de crecimiento TGF-β1, TGF-β3, y IGF-1 que participan en la diferenciación celular en odontoblastos. Ranly DM y cols., (1997) estudian la osteocalcina como marcador osteogénico en las células de la Pulpa Dental, además de los ya mostrados anteriormente. Batouli y cols. (2003) demuestran la capacidad de las células madre de pulpa de formar un complejo similar al dentino-pulpar trasplantando este a ratones inmunocomprometidos. El tejido conectivo

fibroso, vasos sanguíneos y odontoblastos están asociados a una nueva dentina, con la posibilidad del uso de células madre para la reparación de estructuras dentales afectadas.^(7,74)

El *¿por qué?* de las células dentales, encontramos embriológicamente hablando que aproximadamente entre la tercera y la cuarta semana de vida intrauterina, las células de la cresta neural migran al estomatoideo (mesénquima). Los dientes primarios anteriores inician su formación entre la quinta y sexta semana de vida intrauterina, formándose la papila dentaria, con el contenido de mesénquima de aquellas células que migraron de la cresta neural. Para luego ser contenidas en una estructura rodeada de dentina y protegida durante todo el ciclo de desarrollo del diente primario. Poco después de manera comparativa con los dientes primarios, los primeros y segundos molares permanentes (generaciones El Panorama general de las Células Madre Mesenquimatosas (CMM) nos muestra que estas son células del estroma no hematopoyéticas capaces de diferenciarse

posteriores sexto u octavo mes de vida intrauterina) inician su formación, que aún cuando tiene un contenido rico de células mesenquimatosas indiferenciadas, estas son de generaciones ligeramente posteriores a la de los dientes primarios. Chai y cols., muestran que el desarrollo los odontoblastos se originan de línea directa de las células de la Cresta Neural⁽¹²⁾ y que las DPSC tienen el potencial de diferenciación en tipos diferentes de células madre funcionales no asociadas con tejidos pulpar dentales.^(29, 59, 65) Miura y cols., muestran que remanentes de la pulpa dental derivada de dientes primarios exfoliados (SHED) se expresan a marcadores de células madre troncales encontradas en médula ósea (STRO-1 Y CD146). Lo que significa que tanto las células de la médula ósea como las células de la pulpa dentaria son derivadas de las mismas células de la cresta neural. (Fig. 9)

y contribuir a la regeneración de tejidos de origen mesenquimal. Estas fueron identificadas por primera vez en la médula ósea y se encuentran 1 en cada 10,000



Figura 9. Esquematización de la migración de las células de la cresta neural al estomatoideo (en su mesénquima) y como al formarse la papila dental estas quedan englobadas y envueltas en tejido calcificado de dentina. Con una capa externa de epitelio que dará origen a la lámina dental que a su vez formará el esmalte.

células nucleadas. Estas son finitas, sin embargo son capaces de reproducir muchas generaciones sin perder su capacidad de diferenciarse. Las CMM son

consideradas no Inmunogénicas, además de mostrar la habilidad de suprimir la activación de las células T.⁽¹³⁾

Entonces ¿Por qué la gente duda de las Células Madre de la Pulpita Dental?

La gente duda de las Células Madre de Dientes Primarios y Permanentes por ser una nueva fuente de adquisición y debido a que algunas de las Células Madre Adultas ya han sido aisladas de una variedad de tejidos conocidos además de que se tiene la idea de que estas no pueden ser mejoradas y no interesarles competencia alguna. Un buen ejemplo son las Células Madre de Médula Ósea o algunas del cordón umbilical Hematopoyéticas que han sido utilizadas por décadas. Sin embargo el potencial terapéutico de otras Células Madre Adultas, no se ha explotado aún, debido a la falta de un entendimiento de las características de estas a nivel celular y molecular. Además de tener un conocimiento limitado de valor terapéutico. Donde es indispensable

desarrollar abordajes y estrategias óptimas para evaluar la eficacia clínica de diferentes poblaciones de Células Madre Adultas.

Sin embargo el Dr. Songtao Shi, odontólogo e investigador del Instituto Nacional de Investigación Dental y Cráneo Facial en NIH, propone al publicar en el año 2000 que los dientes Permanentes contienen Células Madre y el junto con Miura y colaboradores en el 2003 encuentran que los Dientes Primarios contienen Células Madre, y que tienen propiedades especiales. A las que se les nombra células "SHED" (Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous teeth) Células Madre Humanas de Dientes Exfoliados.^(59,80)

Fuentes de Adquisición de las Células Madre Dentales

Después de haberse completado la formación de la corona, los ameloblastos van a una muerte celular programada con la pérdida total del potencial para reparar el esmalte in vivo. En contraste, después de la inducción mutua con el ameloblasto, los Hasta este momento, muchos dientes humanos están asociados a poblaciones de Células Madre, aisladas de tejidos de la pulpa y ligamento periodontal, pero existe la posibilidad de obtener también de otros tejidos como son; (Fig. 10)

- ✓ Células Madre de Pulpita Dental (DPSC)
- ✓ Células Madre de Ligamento y Cemento Periodontal (PDLSC)
- ✓ Células Madre de Dientes Primarios Humanos Exfoliados (SHED)

odontoblastos forman la dentina primaria y subsecuentemente delinean la superficie de la nueva dentina formada, para mantener los largos procesos citoplasmáticos dentro de los túbulos dentinarios.^(61,76,89)

- ✓ Folículos de Dientes (terceros molares)

Las dos primeras han demostrando su potencial de regeneración de tejidos humanos dentales in vivo.^(28, 60, 77) Y recién Shi S. y Gronthos S. (2003) han encontrado en los Nichos Perivasculares de médula ósea y dentales, hacen una fuente excelente de extracción de Células Madre Mesenquimales.⁽⁸¹⁾

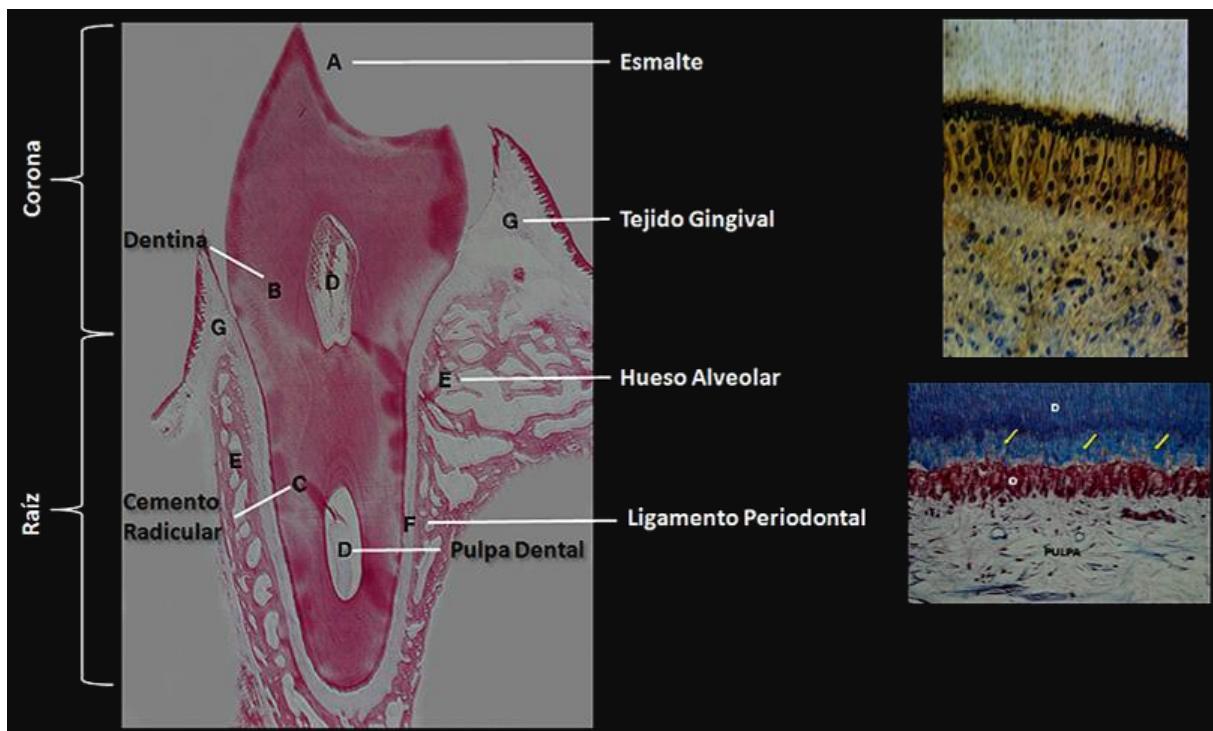


Figura 10. Cortes Histológicos de diferentes sitios de un premolar mostrando los tejidos donde se pueden obtener Células Madre

La Regeneración de un Diente

Para conseguir la regeneración de un diente biofuncional, es primordial conocer el proceso de crecimiento y desarrollo de este, tanto la composición de sus estructuras como el de la interacción de inducción entre odontoblastos y ameloblastos.^(67, 78, 90) (Fig. 11)

Cuando es estudiada la capacidad odontogénica que tienen las células madre de médula ósea comparada a las células madre de pulpa dental Yu y cols., (2007) encuentran que las células de la pulpa dentaria tienen mayor capacidad Odontogénica que las células madre de medula ósea. Este estudio nos da resultados críticos en la selección de células candidato para la regeneración de una estructura dental entre células madre dentales y las no dentales.⁽¹⁰²⁾

El resultado de varias investigaciones reportan que la pulpa tiene células capaces

de ser expandidas *in vitro* llamadas Células de la Pulpa Dental. Estas expresan ciertos marcadores osteogénicos como; fosfatasa alcalina, colágena tipo I, sialoproteína ósea, osteocalcina, osteopontina, TGF β , y BMP.^(16, 38, 44, 71, 74) Incluso trabajos muestran la capacidad de expansión *in vitro* de 1.5 X 6¹⁰ en células de la Pulpa Dental⁽¹⁶⁾ inclusive algunos estudios por Arora V. Y cols., (2009), Papaccio G., (2006), Zhang W., y cols. (2006, 2008) muestran que la extracción de Células Madre de la Pulpa Humana (hDPSC) de terceros molares es simple, o también los trabajos de Miura M. y cols. (2003), Suchanek J., y cols. (2007, 2009 y 2010) con SHED, que estas células además de poderse caracterizar, pueden según los estudios de Woods EJ., y cols. (2009) aislarse y ser criopreservadas de manera óptima para guardarlas en Bancos y utilizadas en la clínica. Para algunos

investigadores después de la criopreservación pueden mantener hasta por lo menos 25 pasos, para después mostrar diferenciación celular de varios linajes. (3, 59, 70, 84, 85, 86, 97, 103, 104)

Las evidencias experimentales y clínicas, sugieren que las células de la pulpa dental y su capacidad para formar la dentina reparadora *in vivo*, nos permite asumir que la pulpa dental puede contener Células Progenitoras Madre o Troncales, pudiendo ser estas aisladas utilizando estrategias análogas a las de descarga de Células Madre Mesenquimatosas de la Médula Ósea por aspiración. (82)

dentaria pueden ser similares a las células osteoblasticas en términos de expresar marcadores óseos y formar nódulos mineralizados (cultivados en condiciones de osteo-inducción). (1, 94) (Fig. 12)

Las Células Madre de Pulpa Dental (DPSC) humanas fueron inicialmente identificadas en el año 2000 por Gronthos y cols., basándose en sus rasgos de formar colonias únicas en cultivos, con auto renovación *in vivo*, y multi diferenciación *in vitro* (28)

Recientemente uno de los avances más importantes en la investigación de DPSC es

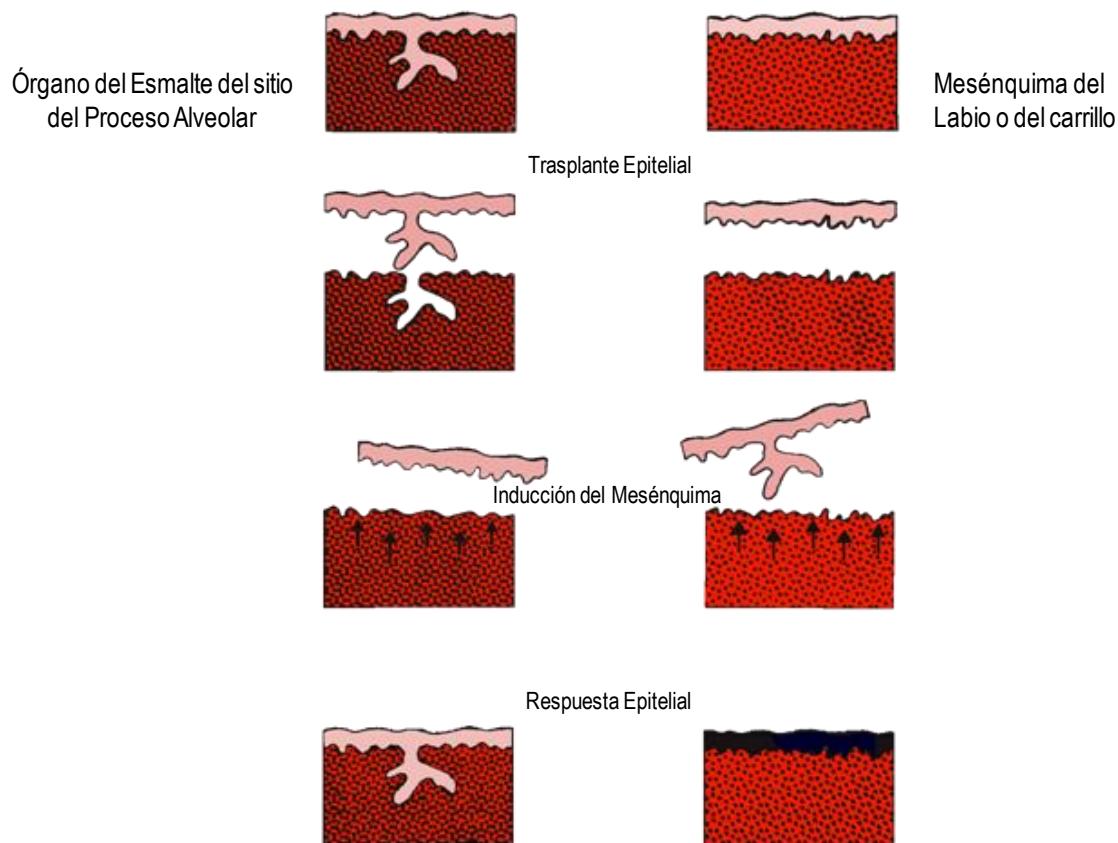


Figura 11. Inducción de un Primordio Dental por medio de las Células de la Cresta Neural en el Mesénquima (Avery JK. Oral Development and Histology Ed. Williams and Wilkins 1987) (6)

el descubrimiento en el año 2005 por el mismo grupo, de un nicho de Células Madre en la región perivascular. (28, 82) Incluso Karaöz E., y cols (2010) han logrado el aislamiento y caracterización *in vitro* de Células Madre de Pulpa de Dientes Natales. (43)

Estudiando la diferencia de capacidad osteogénica entre las Células Madre DPSC y las de Médula Osea (Takeyasu, Nozaki y Daito (2006); Yu y cols., (2007); Huang, Gronthos y Shi (2009); Yalvac Me., y cols. (2010) encuentran que no existe diferencia entre ellas, incluso que las Células Madre DPSC pudieran ser mejores y que no solo son similares a las Células Madre de Médula Osea sino que también pueden formar tejidos Osteogénicos, Condrogénicos, Adipogénicos, Miogénicos y Neurales. (36, 87, 98, 102) D'Aquino y cols., (2009 muestran que estas son fáciles de criopreservarlas y guardarlas por períodos largos de tiempo y aún así retienen su multipotencialidad y capacidad de producir hueso. (18) En el 2006 Hochedlinger aislando cuatro genes normalmente activos de embriones en un retrovirus modificado, para ser insertados en las células de la piel de ratones. De esa manera los virus implantan los genes en el ADN del ratón, y estos genes inician la reprogramación de las células de la piel, llamándose estas Células Madre Pluripotentes Inducidas (iPS). Las células madre DPSC tienen la capacidad de diferenciarse en múltiples líneas celulares *in vitro*. (34) En un estudio realizado por Oda Y. y cols., se demuestra que a partir de Células Madre de terceros molares pueden generarse Células Madre Pluripotentes inducidas (iPS) (69)

Investigaciones de Hanks y cols., publican que las Células Madre de Pulpa (DPSC) pueden formar nódulos mineralizados *in vivo*, distintos a las estructuras de los cristales de esmalte mineralizado y de

hueso *in vivo* (evaluados con espectrometría infrarroja y microscopía electrónica de difracción de rayos X) en un medio inductivo de ácido ascórbico, dexametasona, y fosfato en altas concentraciones. (1, 32)

También Gronthos y cols. (2000) (2002) estudian estas células y comprueban que pueden generar un complejo similar al dentino/pulpar *in vivo* en conjunto con fosfato tricalcio/apatita (HA/TCP) como vehículo transportador. (28, 29) Estudios de este mismo grupo de investigadores ha explorado la posibilidad de ver si las DPSC poseen la habilidad de auto regeneración. Encuentran que es necesario cultivar las células primarias DPSC, e implantarlas por un período dos meses, para después liberarlas mediante una digestión enzimática siendo expandidas subsecuente *in vitro*. Estas son aisladas de los cultivos por FACS utilizando anticuerpos humanos β 1-integrin monoclonal específico, para después ser reimplantados en ratones inmunosuprimidos por un período de dos meses. Encontrando estructuras parecidas a dentina/pulpa como en los primeros trasplantes. (29)

En estudios recientes de Gimble y Guilak (2010) con células madre multipotentes DPSC fueron capaces de formar adipositos cuando son cultivadas con cocteles potentes de agentes inductivos Adipogénicos (0.5 mM metilisobutilxantine, 0.5 μ M hidrocortisona, 60 μ M indometacina), mostrando contenidos grases de adipositos después de hacer la inducción y cultivarlas por varias semanas, además de mostrar un incremento en la regulación de un gen maestro adipogénico temprano, PPAR γ 2, y un marcador adiposo maduro, lipoproteína lipasa, utilizando RT-PCR. (25, 29)

Algunos investigadores como Hainfellner y cols. (2001) han podido mostrar

adicionalmente la expresión de marcadores tempranos de células precursoras neurales como nestin, y proteínas ácido gliares fibrilares (GFAP), así como un antígeno característico de células gliares. De acuerdo a estos hallazgos, otras investigaciones realizadas por About y cols. (2001) han podido identificar los mismos marcadores en la pulpa dental *in situ*.^(1,31)

Algunos estudios realizados por Gronthos y cols., (2002); Miura y cols., (2004) proveen las primeras evidencias

experimentales que las células adultas DPSC pueden tener el potencial de diferenciarse en células similares a las neurales, con la expresión de nestin, GFAP, y NeuN *in vitro*.^(29, 60)

Las investigaciones de varios grupos muestran que las células madre mesenquimatosas humanas (hMSC), requieren un conductor de transporte adecuado como son las partículas HA/TCP para iniciar un proceso de mineralización *in vivo*, similar al del complejo dentino/pulpar.^(25, 35, 39, 42, 48, 51, 55, 72)

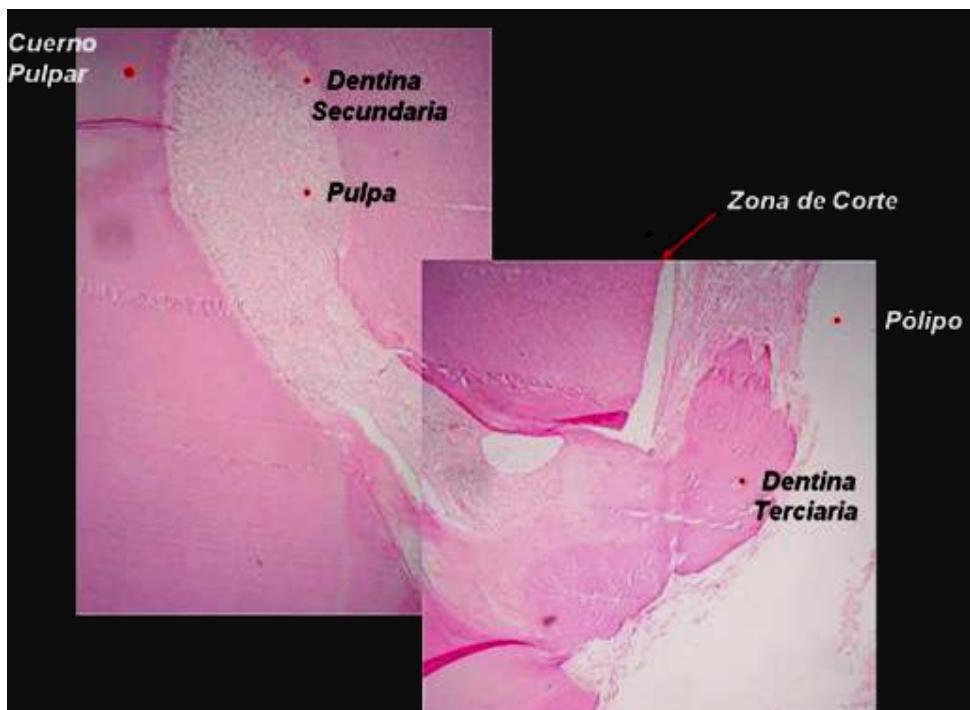


Figura 12. Fotografía histológica compuesta del corte de un segundo molar, el que fue hemiseccionado y dejado a la cavidad oral por un período de ocho meses. Podemos observar el cuerno y parte de la cámara pulpar, donde se ve dentina secundaria en la periferia de la pupa contenida en dentina. También podemos observar un pólipos pulpar que sale en la zona de corte y que contiene en su interior formación de dentina terciaria.

Los Tratamientos Potenciales e Investigación en “MEDICINA REGENERATIVA”

La medicina regenerativa es una medicina del cambio que se refiere a la Ingeniería de Tejidos y Órganos, donde la Odontología al igual que muchas aéreas de la Medicina se transforma de ser principalmente Físico/Química a tener una base de tipo Biológica. Cuando nos referimos a regeneración hablamos de considerar tres

problemas para su desarrollo; Las células madre que juegan un papel en los tipos de diferenciación celular, un molde de matrices Nano biológica, donde colocar estas células y por último pero no menos importante las señales para la inducción de las células a formar tejidos.

¿Por qué nos resistimos al cambio?

Ante un mundo cambiante y sobre todo cambiante “de esta manera”, donde cambian los fondos, los moldes, los paradigmas y donde cambian incluso las formas en los continentes, podemos tomar cuatro diferentes actitudes fundamentales de acuerdo a “La teoría de Sistemas”.

La primera es la del ser inactivo, que la pudiéramos referir como la acción de una neurona aislada sin sinapsis con otras neuronas. La actitud es la de no me entero del cambio y no hago nada para el cambio. La segunda es la de un ser reactivo con la capacidad de reaccionar ante propuestas por otros en este entorno que quiero conectarme. La tercera responde a una pro-actividad donde quiero ser propositivo al cambio, a la altura de mis valores, de mis expectativas y sueños, proponiendo y no solo siguiendo lo que otros proponen. El proponer tiene un nuevo sentido para el cambio, volviéndose un reto mucho mayor al solo ser adaptativo.

Por último la cuarta actitud es la de la neurona sana interconectada que lleva al ser interactivo a tomar propuestas al cambio por otros elementos en un sistema, y de manera propositiva es capaz de generar y promover en puntos de apalancamiento puntos de influencia en el cambio que sean significativos para la comunidad.

La Medicina Regenerativa es la concepción de un conocimiento relativamente nuevo, donde el cambio de posturas tradicionales

o cómodas nos lleva a tomar algún tipo de actitudes de reacción mencionadas en el párrafo anterior. Es por esto que la Medicina Regenerativa nos cambia las formas de pensamiento preexistentes en nosotros y nos dice que esta Medicina nos da la capacidad de utilizar los propios componentes del organismo para la curación de enfermedades, donde se utilizan las células madre del organismo para transformarse en cualquiera de los tejidos enfermos.

Las aéreas que abarca son:

- ❖ Regeneración Cardiaca y Vascular
- ❖ Regeneración de Huesos y Estructuras Cráneo-faciales
- ❖ Problemas Neurológicos
- ❖ Regeneración de Córnea
- ❖ Regeneración de Piel
- ❖ Endocrinología (diabetes)
- ❖ Regeneración Hepática
- ❖ Enfermedades Auto-Inmunes y Lupus
- ❖ Regeneración muscular
- ❖ Cirugía plástica

Con la finalidad de orientar al lector de entre lo que es ficción y lo que es ciencia basada en evidencia nos referiremos a algunos de los artículos más importantes de revistas indexadas, en cada una de las aéreas tanto para Células Madre Mesenquimatosas así como para Células Madre de Pulpa Dentaria de dientes Primarios y Permanentes.

I Regeneración Cardiaca y Vascular

Se encuentran trabajos con células mesenquimatosas de Médula Osea (BMSC) *in vitro* e *in vivo* donde algunos de los procedimientos consisten en estimular la producción de células troncales que, al aplicarse al corazón de manera directa regeneran el tejido.

De los estudios en modelos experimentales con células madre alogénicas mesenquimatosas encontramos; el de Makkar RR., (2005), Raj R. y cols., (2005) quienes utilizan un modelo con credos a los que se les creó una infartación en el ventrículo izquierdo. Encuentra que la inyección directa al miocardio de células Madre Mesenquimales es exitosa en la diferenciación a cardiomocitos y células endoteliales preservando la función ventricular izquierda después de los infartos del miocardio en cerdos. (57, 73)

También el realizado por Shabbir HC. Y Diekwiisch TG., (2009) utilizando un modelo animal con hámsteres donde son depositadas Células Madre Mesenquimatosas ante fallas cardiacas, bajo una terapia no invasiva intramuscular. Demostrando que las mecánicas de reparación cardiaca mediadas por una acción cruzada entre las Células Madre Mesenquimatosas, Médula Osea y corazón pueden ser un mecanismo posible para una terapia celular de Células Madre no invasiva. (79)

En el rubro *in vivo* encontramos los trabajos de Argüero R. y cols. (2006) en el Centro Médico Nacional Siglo XXI quienes presentan un reporte preliminar donde realizan 39 procedimientos en pacientes de 53.6 +/- 9.08 años de edad con problemas terminales de falla cardíacas. Treinta y cuatro casos presentaron cardiomopatías isquémicas y cinco cardiomopatías dilatada idiopática, Todos los pacientes fueron tratados con trasplante autólogo de células troncales

obtenidas de sangre periférica mediante hemoforesis e implantada mediante toracotomía izquierda anterior vía inyección intramycardial. Se concluyó que la terapia con células troncales es segura además de ser un procedimiento útil en una selección de pacientes con cardiomopatía isquémica y dilatación idiopática. (2)

Gandia C. y cols. (2007) estudian la Pulpa Dentaria humana con Células Precursoras (DPSC) que han mostrado la diferenciación en múltiples líneas celulares, además de mostrar secreción múltiple de factores pro-angiogénicos y anti-apoptóticos. El grupo de investigadores busca el potencial terapéutico de las DPSC infectadas con retrovirus y expandidas *in vivo* para reparar el infarto del miocardio, después de ser inyectadas intra miocardialmente en ratas. Después de 4 semanas los animales tratados mostraron una mejoría en la función cardíaca, además de observar un engrosamiento en el área de cambio de la pared anterior ventricular izquierda, en paralelo con la reducción del tamaño del infarto. Lo que esta información sugiere que las Células Madre de Pulpa Dental proveen una buena alternativa para reparar la circulación cardíaca, en por lo menos situaciones agudas de infarto del Miocardio. (24)

En investigaciones en bioingeniería de tejidos con una recelularización autóloga en animales porcinos Makkar y cols., (2005) logran restablecer la función de válvulas cardíacas en moldes de válvulas cardíacas decelularizadas con la inyección de Células Madre Mesenquimatosas. Demostrando con esto al igual que

Vincentelli A., y cols. (2007) que las Células Madre Mesenquimatosas (MSC) son excelentes candidato y que tienen el potencial de la restauración de la

Hemodinamia e Histología en la ingeniería de tejidos para reconstruir válvulas cardíacas. (57, 95)

II Regeneración de Huesos y Estructuras Cráneo-faciales

La Bioingeniería de tejidos Cráneo-faciales más que una promesa es una realidad en la regeneración o en la neoformación de estructuras dentales, orales, y estructuras cráneo-faciales debido a anomalías congénitas, lesiones traumáticas y enfermedades. Virtualmente todas las estructuras cráneo-faciales derivan de células mesenquimatosas.

Sus características de proliferación, diferenciación y plasticidad las hacen excelentes para una regeneración o reparación de los tejidos dañados. (94) Además de presentar según Chamberlain y cols., (2007) una tasa de morbilidad baja y de ser de fácil recolección. (13) Las Células humanas de la Pulpa Dental (hDPSC) con las características de Células Madre han sido posible aislar, antes de presentar una división asimétrica, que van a resultar en varias estructuras del adulto. Las células de la Pulpa Dental de Dientes Primarios (SHED) y permanentes (DPSC) con características de células Madre Adultas han podido ser aisladas así como las del ligamento periodontal. Estas pueden ser criopreservadas y ser utilizadas con bio-estructuras, donde en conjunto con una proliferación extensiva y una vida larga de (SHED) y (DPSC), son capaces de construir *in vivo* hueso con canales haverianos. Algunos investigadores como Chamberlain y cols. (2007) han logrado reconstruir defectos Óseos Craneales importantes con células de la médula ósea, sin embargo

algunos otros como Gronthos y cols. (2011) han utilizado células de la Pulpa Dental Humana (hDPSC), donde después de seleccionarlas, estas fueron expandidas y cultivadas para diferenciarse en células precursoras osteoblasticas que incluso fueron capaces de formar Hueso Lamelar con Osteocitos LAB (Living Autologous Fibrous Bone Tissue). Incluso se llega a mencionar que las células de la pulpa poseen propiedades similares a los de la médula ósea, dándoles el poder de producir una matriz extracelular que se mineraliza *in vitro*, lo que nos da evidencia de que las células de la pulpa dental (DPSC) son progenitoras comunes de odontoblastos y osteoblastos. (13, 28) Estudios actuales por Giuliani A y cols. (2013) a tres años de haberse implantado células madre mesenquimatosas con un bio-complejo colágeno no encontraron la presencia de alteraciones o infección en los sitios intervenidos. Las células madre regeneran a un hueso compacto y no a esponjoso, con grandes implicaciones clínicas, donde incluso el Director del Instituto Wake Forest para Medicina Regenerativa menciona que el que estas células regeneren hueso compacto en la mandíbula indica el papel potencial de tratamiento de cáncer oral. (19)

Varias estructuras cráneo-faciales como el cóndilo de la mandíbula, bóveda craneana, suturas craneanas, y tejidos subcutáneos adiposos han sido reconstruidos por

Nosrat y cols., (2001) con células Madre mesenquimatosas, bajo estrategias con factores de crecimiento, y/o terapias genéticas. Las terapias biológicas obteniendo Células Madre Mesenquimatosas (colocándolas *in situ* o las que se encuentran recluidas

internamente) y utilizando moldes Biocompatibles Temporales, y/o utilizando nuevos materiales como transportadores de BMP-2 para la osteoinducción son indispensables para generar estructuras cráneo-faciales^(47, 66)

III Problemas Neurológicos

Las Células Madre Dentales (DPSC) han sido diferenciadas por Miura y cols., (2003), Takeda y cols., (2008) Király M., y cols (2009) en el laboratorio formando neuronas activas y funcionales.^(46, 58, 88) Estudios de Batouli y cols., (2003), y Arthur y cols., (2008) en el desarrollo de la inervación pulpar por fibras nerviosas del ganglio trigeminal, lo muestran como un excelente ejemplo de una interacción nervio/ tejido.^(4, 5, 7) Las células de la pulpa dental (DPC) producen una variedad de factores neurotróficos durante el desarrollo, sugiriendo que estas proteínas pudieran estar relacionadas en el soporte de las fibras del nervio trigeminal que inervan la pulpa. Cuando las (DPC) son cultivadas con neuronas trigeminales, estas promueven la sobrevivencia y patrones de elaboración de neurita en el crecimiento de neuronas trigeminales, mientras que los fibroblastos de la piel no lo proveen de forma similar. Estudios de Gomes y cols., (2009) muestran que cuando el tejido de la pulpa dental inervada se trasplanta en la cámara anterior del ojo de una rata, se sobre regula la densidad de las fibras nerviosas catecolaminergicas del iris.⁽²⁶⁾ Interesantemente cuando se injerta tejido de pulpa dental en el cordón espinal aumenta el número de moto-neuronas sobrevivientes, indicando una bioactividad funcional de los factores neurotróficos derivados de la pulpa dental *in vivo* por medio del rescate de moto-neuronas. Mao y cols., (2006), encuentran

que las Células Madre Dentales (DPSC) pueden ser efectivas en la reparación de lesiones de Medula Espinal, además de ser buenas candidatas a terapias personalizadas.⁽⁵⁶⁾

Liu y cols., (2009), Yalvac ME., y cols. (2010) han estudiado a las células de la pulpa, encontrando que tienen un alto potencial de generar neuronas activas, además que son capaces de mantener su neuro-potencial, después de la Criopreservación por un período largo.⁽³²⁾ Ellos encuentran que sí es posible hacerlo, por lo que incluso dicen que es recomendable el preservarlas para un uso en el futuro previendo la necesidad de corregir una enfermedad degenerativa relacionada con la edad.^(54, 99)

A nivel clínico experimental Wang y cols., (2010) con un modelo en ratas estudiaron a las células madre dentales (DPSC) para tratar el mal de Parkinson, logrando con estas mejoras en el sistema nervioso de los animales. Esto abre la posibilidad de tratar el Parkinson en humanos.⁽⁹⁶⁾

Algunos otros autores como Yalvac y cols., (2009) han estudiado la potencialidad de las células en generar tejido nervioso pero además de su actuación como inmuno moduladores en las tareas de neuroprotección y neurotróficas. En este sentido pudieran ser utilizadas para el tratamiento de la Isquemia Cerebral.⁽¹⁰⁰⁾

También es posible utilizar Células Madre Mesenquimales (CMM), ante accidentes Cerebro Vasculares. La Isquemia Cerebral es una entidad que se refiere a la

disminución del riego sanguíneo y consecuente disminución del aporte de oxígeno (hipoxia), de nutrientes y la eliminación de productos del metabolismo de un tejido biológico. En trabajos realizados por Dai Q., (2002) se demuestra la capacidad de las células endoteliales, para una proliferación y apoptosis en la contribución de la remodelación vascular después de una isquemia en conejos. (20) Bang y cols. (2005) encuentran en una investigación con 30 personas que son trasplantadas con Células Madre Mesenquimales (CMM), estos aumentaron

significativamente la recuperación y probabilidades de sobrevida a Accidente Cerebro Vascular (ACV) después de un período de un año y sin encontrar efectos secundarios aparentes.⁽⁸⁾

Lee JS y cols., (2010) en una investigación realizada con 85 pacientes con Accidentes Cerebro Vasculares, para ver la efectividad de (CMM) Encontraron que aquellos que recibieron la terapia celular, tuvieron el doble de probabilidad de sobrevivir 5 años después del ACV comparado con los que no recibieron la terapia con células madre. (52)

IV Regeneración de Córnea

Podemos ver también avances importantes en el área de la Oftalmología donde la utilización de DPSC para la reconstrucción de la corneas es algo que pronto veremos a un futuro cercano en la clínica. Estudios realizados por Gomes y cols., (2010) en un modelo animal con conejos a los que se les induce un daño ex profeso a la cornea de sus ojos. Nos enseñan que aquellos conejos con una cornea translúcida a la que se le aplica Células Madre Inmaduras de Pulpita Dental (hIDPSC) mejoraron a través del tiempo, mientras que los controles desarrollaron corneas con total conjuntivitis y opacidad. El grupo experimental desarrollo menor neovascularización además de mostrar histológicamente un epitelio de la cornea

uniforme y saludable. Esto nos señala que las Células Dentales Humanas son capaces de regenerar córneas en un modelo animal y posiblemente en el hombre. (26)

Otros científicos como Monteiro y cols., (2009) tienen el objetivo de su investigación en transformar Células Madre Dentales Humanas en células Límbicas, encontrando que las Células Límbicas Madre son Células autorrenovables y con una alta proliferación *in vitro*, además de compartir características únicas con las (hIDPSC) expresando una serie de marcadores específicos *in vivo* que les da la capacidad de reconstruir completamente el epitelio de la cornea en caso de algún daño en la superficie del ojo. (62)

V Regeneración de Piel

En años recientes, las células madre de la pulpa de dientes exfoliados primarios (SHED) han recibido la atención como un recurso novedoso en el campo de las Células Madre Mesenquimales, con características de multi-potencialidad. Sin embargo en estudios por Nishino y cols., (2011) utilizan Células Pulpares de Dientes Primarios (SHED) para ver la

velocidad de regeneración y reparación de una herida, con estas células que son consideradas como de desecho médico. Tanto las (SHED) como las Células Madre Mesenquimatosas Humanas (HMSC) aceleraron la reparación de la herida, comparadas a las que utilizaron fibroblastos humanos o los controles

solución salina amortiguada de fosfato (PBS).

Los investigadores concluyen que las Células madre dentales humanas, ofrecen

un recurso de Células Madre único y novedoso en las terapias futuras para la regeneración de heridas.⁽⁶⁴⁾

VI Endocrinología (Diabetes)

En las investigaciones realizadas en el campo de Endocrinología Timper K, y cols., (2006) descubren que las Células Madre Mesenquimatosas (CMM) de la médula ósea en un modelo animal con ratones, pueden adoptar un fenotipo endocrino pancreático *in vitro* capaz de revertir la diabetes.⁽⁹¹⁾

Los investigadores Govindasamy V. y cols., (2011) han incursionado en explorar el potencial de las Células Madre de Pulpa Dental (DPSC) a diferenciarse en linaje pancreáticos con agregados celulares parecidos a islotes (ICA). Los investigadores aislaron, propagaron y caracterizaron a las DPSC, demostrando que estas pueden diferenciarse ante la exposición apropiada de una mezcla de agentes diferenciantes en linajes adiposos, cartilaginosos y óseos. Ellos además promueven que utilizando un protocolo de tres pasos logran la obtención de ICA a

partir de Células Madre de Pulpa Dental DPSC. Demostrando por primera vez que las células madre dentales pueden ser diferenciadas en células pancreáticas productoras de insulina, lo que abre la posibilidad de tratar en un futuro la diabetes tipo I y II con células madre de los dientes.⁽²⁷⁾

Estudios realizados por Chang X., y cols., (1997) fueron el de encontrar un modelo para la interacción de un receptor de insulina, donde se establece una solución tridimensional estructural de la insulina por estereoscopía y restricción de dinámica moleculares.⁽¹⁴⁾ Esto permite que investigación básica en la diferenciación de células Madre a células productoras parecida a la insulina pueda además permitir la integración de esta a través de la estructura de los receptores encontrados.

VII Regeneración Hepática

El aislamiento de Células Madre Humanas de alta calidad que puedan ser utilizadas para la regeneración de algunas enfermedades fatales a través de recursos accesibles es un avance importante en las investigaciones en Células Madre. Fiegel HC y cols. (2006) muestran que Células Madre Fetales y Adultas son aptas en la regeneración e Ingeniería de los tejidos del Hígado, encontrado que las células madre mesenquimatosas son capaces de regenerar hepatocitos en modelos con ratones.⁽²³⁾

Algunos investigadores como Ikeda E y cols., (2008), Ishkitev N., y cols. (2010)

toman células progenitoras del germe dental (TGPC), de terceros molares y demuestran que estas pueden caracterizarse en células con la misma función y morfología que las células hepáticas, mediante factores de crecimiento hepático, dexametasona, Insulina-Transferrin-Selenium-X y oncostatin, además de tener una alta actividad de proliferación y capacidad de diferenciarse *in vitro* en células de tres diferentes capas germinativas incluyendo osteoblastos, células neurales, y hepatocitos. Estas mostraron éxito al ser trasplantadas en el hígado de rata

previniendo la progresión de fibrosis y restaurando la función hepática. Las mediciones realizadas en marcadores séricos así como las funciones del hígado observaron niveles de bilirrubina y albumina séricos adecuadas. Estas investigaciones sugieren que las TGPC son

un buen candidato en la terapia celular para el tratamiento de enfermedades hepáticas y que estas ofrecen oportunidades sin precedentes para el desarrollo de terapias en el tratamiento de reparación y regeneración de tejidos.^(37, 40)

VIII Enfermedades Auto-Inmunes y Lupus

El Lupus Eritematoso Sistémico (SLE) es una enfermedad autoinmune de múltiples sistemas, que aún con los avances en las terapias inmuno médicas sigue siendo fatal para algunos pacientes, en especial en pacientes con tratamientos refractarios. Gu Z., y cols. (2010) encuentran que el trasplante de Cordón Umbilical con Células Madre Mesenquimatosas (UC-MSC) tiene el mismo efecto terapéutico que el trasplante con Células Madre de la Médula Osea (BM-MSC), esto en modelos con ratones.⁽³⁰⁾ Jayne D. y cols., (2004) en una investigación con registros retrospectivos de los grupos Europeo de Trasplante de Médula Osea y Sangre y la Liga Europea contra el Reumatismo encuentran que el trasplante Autólogo de Células Madre (ASCT) después de quimioterapia es una nueva terapia potencial para enfermedades auto inmunes en casos severos de SLE. En conclusión este estudio de registros retrospectiva demuestra la eficacia del ASCT para la inducción de la

SLE refractaria aun cuando la mortalidad sigue siendo alta.⁽⁴¹⁾

Las Células Madre de Dientes Primarios Exfoliados Humanos (SHED) han sido identificadas como una población post natal de Células Madre capaces de diferenciarse en Células Osteogénicas, Odontogénicas, Adipogénicas y Neurales. Además se han comparado las características de estas con las Células Madre Mesenquimatosas de Médula Ósea (BMMSC) Yamaza y colaboradores utilizan varias formas de analizar Células Madre *in vitro* para la obtención de la diferenciación Multipotencial de las SHED, y su subsecuente implantación *in vivo* y así ver la regeneración tisular y tratamiento en una enfermedad inducida parecida al Lupus Eritematoso Sistémico (SLE) en ratones. El trasplante de SHED fue capaz de revertir de manera efectiva desordenes asociados al SLE en ratones, por lo que el tratamiento del Lupus Eritematoso en modelos animales es promisorio con células madre de dientes temporales.⁽¹⁰¹⁾

IX Regeneración muscular

La Distrofia Muscular Duchenne Humana (DMD) es un problema complicado de tratar, Kerkis y cols., (2008) con estudios en modelos animales buscan establecer tratamientos para la solución a este problema. Utilizan un modelo con perros, donde la raza utilizada Golden Retriever tiene complicaciones genéticas de Distrofia. Estos son sometidos a un

tratamiento con células Madre de Pulpia Dental Inmaduras (hIDPSC), donde comparan la implantación local de las células en los músculos y la inyección sistémica sin ningún inmunosupresor. Se analizó la habilidad de las células a migrar, potencial de implantación y miogénico, así como la expresión de distrofina humana en los músculos afectados. Los resultados

sugieren que el trasplante de células hIDPSC se puede hacer sin inmunosupresores, y que la aplicación sistémica múltiple es más efectiva que las

inyecciones locales. Este modelo canino abre las puertas para la posibilidad de tratar problemas de Distrofia Muscular en humanos.⁽⁴⁵⁾

X Cirugía plástica

Las Células Madre Mesenquimatosas (MSC) son capaces de diferenciarse en una gran variedad de tipos de células, ofreciendo abordajes prometedores en la regeneración de tejidos mediante Células Madre. Fang y cols., (2006) Exploran el potencial de (MSC) en la reconstrucción de tejidos oro faciales que afectan la apariencia del individuo. Ellos demuestran en ratones, que las células Mesenquimatosas de la Médula Ósea son capaces de generar estructuras óseas así como elementos asociados a la médula ósea en las superficies de hueso oro facial. Además encuentran que el trasplante subcutáneo de otra población de células mesenquimatosas como son las Células Madre Humanas del Ligamento Periodontal (PDLSC), puede junto con una gran cantidad de fibras colágenas mejorar de manera sustancial, las arrugas faciales en los ratones. A diferencia las MSC que no sobreviven después de ser trasplantadas en las mismas condiciones. Las Células Madre del Tejido Periodontal PDLSC pueden ser utilizadas en Cirugías Reconstructivas y Cirugías Plásticas para reparar y regenerar el tejido dañado.⁽²²⁾

Recientemente en el mes de Abril de 2011 La Academia de Ciencias de Nueva York en la ciudad de Nueva York, celebró la Primera Conferencia Internacional en Células Madre Dentales y Cráneo-faciales. En este evento se presentaron 52 trabajos originales de investigación con la participación de 13 países, entre ellos; Brasil, Colombia, China, Egipto, E.U., Finlandia, India, Inglaterra, Israel, Japón, Malasia, Rusia y Suiza.

La gran mayoría de los trabajos fueron realizados con Células Madre de Dientes Humanos y/o con modelos animales *in vitro* e *in vivo* de dientes primarios y permanentes. Algunos de ellos en función de Técnicas de Identificación y Separación, Cultivo y Expansión, Criopreservación así como la medición de la potencialidad de estas a diferenciarse en múltiples linajes celulares, comparadas a otras células Madre e incluso en el de crear con ellas células pluripotenciales inducidas.

Otros trabajos van en relación a señales de inducción así como a moldes y matrices con biomateriales en la regeneración de tejidos y órganos.

Como podemos ver el impulso por la investigación en el campo de Células Madre y en el caso específico Dentales y Cráneo-faciales es monumental. Este Congreso Internacional muestra solo una pequeña parte de ella, sin embargo sabemos que hoy en día existen cerca de 3000 trabajos, en el tema de Células Madre, con presupuestos millonarios, que son el día de hoy los más altos dentro de la Medicina a nivel Mundial.

Bibliografía

1. About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production *in vitro*. *Exp Cell Res.* 2000 Jul 10;258(1):33-41.

2. Argüero R., G. Careaga-Reyna, R. Castaño-Guerra, M. Garrido-Garduño, J. Magaña-Serrano, M. de Jesús Nambo-Lucio *Cellular Autotransplantation for Ischemic and Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. Preliminary Report Archives of Medical Research, Volume 37, Issue 8, Pages 1010-1014 2006 Nov*
3. Arora V. Arora P. Munshi A. *Banking Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth J. Clin Pediatr Dent 33(4): 289-294. 2009*
4. Arthur A, Shi S, Zannettino AC, Fujii N, Gronthos S, Koblar SA. *Implanted adult human dental pulp stem cells induce endogenous axon guidance. Stem Cells. 2009 Sep;27(9):2229-37.*
5. Arthur A, Rychkov G, Shi S, Koblar SA, Gronthos S. *Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. Stem Cells. 2008 Jul;26(7):1787-95. Epub 2008 May 22*
6. Avery J K. *Essentials of Oral Histology and Embryology/A Clinical Approach* Ed. Mosby (1992) Chap. 9 Dental Pulp 108-113.
7. Batouli S, Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, Robey PG, Shi S. *Comparison of stem-cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. J Dent Res. 2003 Dec; 82(12):976-81.*
8. Bang Lee JS, Lee PH, Lee G. *Autologous Mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. (Transplante autólogo de células madre mesenquimales en pacientes que han sufrido un ACV) Ann Neurol. 2005 Jun;57(6):874-82.*
9. Berkovitz BKB., Holland GR. Moxham BJ. *A colour atlas and textbook of Oral Anatomy Histology and Embriology; Ed. Wolfe Second edition,(1992) 270-271.*
10. Cate T. *Histología Oral/Desarrollo, estructura y función* Ed. Médica Panamericana 2^a Ed (1986) p. 211-219
11. Butler WT, Ritchie H. *The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. Int J Dev Biol. 1995 Feb;39(1):169-79.*
12. Chai Y, Jiang X, Ito Y, Bringas P Jr, Han J, Rowitch DH, Soriano P, McMahon AP, Sucov HM. *Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. Development. 2000 Apr; 127(8):1671-9.*
13. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. *Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. Stem Cells. 2007 Nov;25(11):2739-49. Epub 2007 Jul 26.*
14. Chang X, Jorgensen AM, Bardrum P, Led JJ. *Solution structures of the R6 human insulin hexamer. Biochemistry. 1997 Aug 5;36(31):9409-22.*
15. Chen YL, Graham MD, de Pablo JJ, Jo K, Schwartz DC. *DNA Molecules in Microfluidic Oscillatory Flow. Macromolecules. 2005;38(15):6680-6687*
16. Chen QP, Giannobile WV. *Adenoviral gene transfer of PDGF downregulates gas gene product PDGFalphaR and*

- prolongs ERK and Akt/PKB activation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002 Mar;282(3):C538-44.
17. Couve E, Schmachtenberg O. Autophagic activity and aging in human odontoblasts. *J Dent Res.* 2011 Apr; 90(4):523-8. Epub 2011 Jan 6.
18. D'Aquino R, De Rosa A, Laino G, Caruso F, Guida L, Rullo R, Checchi V, Laino L, Tirino V, Papaccio G. Human dental pulp stem cells: from biology to clinical applications. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 2009 Jul 15;312B(5):408-15.
19. Giuliani A, Manescu A, Langer M, Rustichelli F, Desiderio V, Paino F, De Rosa A, Laino L, D'Aquino R, TIRINO V, Papaccio G. Three years after transplants in human mandibles, histological and in-Line holotomography reveled that stem cells regenerated a compact rather than a spongy bone: biological and clinical implications *Stem Cells Trans Med* published on line March 15, 2013 p. 1-10
20. Dai Q, Thompson MA, Pippen AM, Cherwek H, Taylor DA, Annex BH. Alterations in endothelial cell proliferation and apoptosis contribute to vascular remodeling following hind-limb ischemia in rabbits. *Vasc Med.* 2002 May;7(2):87-91.
21. Ellis HM, Horvitz HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*. *Cell.* 1986 Mar 28;44(6):817-29.
22. Fang D, Seo BM, Liu Y, Sonoyama W, Yamaza T, Zhang C, Wang S, Shi S. Transplantation of mesenchymal stem cells is an optimal approach for plastic surgery. *Stem Cells.* 2007 Apr;25(4):1021-8. Epub 2006 Dec 14.
23. Fiegel HC, Lange C, Kneser U, Lambrecht W, Zander AR, Rogiers X, Kluth D. Fetal and adult liver stem cells for liver regeneration and tissue engineering. *J Cell Mol Med.* 2006 Jul-Sep;10(3):577-87.
24. Gandia C, Armiñan A, García-Verdugo JM, Lledó E, Ruiz A, Miñana MD, Sanchez-Torrijos J, Payá R, Mirabet V, Carbonell-Uberos F, Llop M, Montero JA, Sepúlveda P. Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. *Stem Cells.* 2008 Mar;26(3):638-45. Epub 2007 Dec 13.
25. Gimble JM, Guilak F. Differentiation potential of adipose derived adult stem (ADAS) cells. *Curr Top Dev Biol.* 2003;58:137-60.
26. Gomes JA, Geraldes Monteiro B, Melo GB, Smith RL, Cavenaghi Pereira da Silva M, Lizier NF, Kerkis A, Cerruti H, Kerkis I. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of human immature dental pulp stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010 Mar;51(3):1408-14. Epub 2009 Nov 5
27. Govindasamy V, Ronald VS, Abdullah AN, Nathan KR, Ab Aziz ZA, Abdullah M, Musa S, Kasim NH, Bhonde RR. Differentiation of Dental Pulp Stem Cells into Islet-like Aggregates. *Dent Res.* 2011 May;90(5):646-52. Epub 2011 Feb 18.
28. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human

- dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Dec 5;97(25):13625-30.
29. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, DenBesten P, Robey PG, Shi S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res.* 2002 Aug;81(8):531-5.
30. Gu Z, Akiyama K, Ma X, Zhang H, Feng X, Yao G, Hou Y, Lu L, Gilkeson GS, Silver RM, Zeng X, Shi S, Sun L. Transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells alleviates lupus nephritis in MRL/lpr mice. *Lupus.* 2010 Nov;19(13):1502-14. Epub 2010 Jul 20.
31. Hainfellner JA, Voigtlander T, Ströbel T, Mazal PR, Maddalena AS, Aguzzi A, Budka H. Fibroblasts can express glial fibrillary acidic protein (GFAP) in vivo. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2001 May;60(5):449-61.
32. Hanks CT, Sun ZL, Fang DN, Edwards CA, Wataha JC, Ritchie HH, Butler WT. Cloned 3T6 cell line from CD-1 mouse fetal molar dental papillae. *Connect Tissue Res.* 1998;37(3-4):233-49.
33. He Liu, Stan Gronthos, and Songtao Shi Liu H, Gronthos S, Shi S. Dental pulp stem cells. *Methods Enzymol.* 2006;419:99-113.
34. Hochedlinger K. Your Inner Healers *Scientific American* 2010 May; 29-35
35. Holtgrave EA, Donath K. Response of odontoblast-like cells to hydroxyapatite ceramic granules. *Biomaterials.* 1995 Jan;16(2):155-9.
36. Huang G.T., Gronthos S., Shi S. Mesenchymal Stem Cells derived from Dental Tissues, vs. those from other source their biology and role I *Regenerativa Medicina J. Dent Res* 2009 Sep; 88(9): 792-806
37. Ikeda E, Yagi K, Kojima M, Yagyu T, Ohshima A, Sobajima S, Tadokoro M, Katsume Y, Isoda K, Kondoh M, Kawase M, Go MJ, Adachi H, Yokota Y, Kirita T, Ohgushi H. Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation.* 2008 May;76(5):495-505. Epub 2007 Dec 17.
38. Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Dent Res.* 2004 Aug;83(8):590-5.
39. Ishizeki K, Nawa T, Sugawara M. Calcification capacity of dental papilla mesenchymal cells transplanted in the isogenic mouse spleen. *Anat Rec.* 1990 Mar;226(3):279-87.
40. Ishkitiev N, Yaegaki K, Calenic B, Nakahara T, Ishikawa H, Mitiev V, Haapasalo M. Deciduous and permanent dental pulp mesenchymal cells acquire hepatic morphologic and functional features in vitro. *J Endod.* 2010 Mar;36(3):469-74.
41. Jayne D, Passweg J, Marmont A, Farge D, Zhao X, Arnold R, Hiepe F, Lisukov I, Musso M, Ou-Yang J, Marsh J, Wulffraat N, Besalduch J, Bingham SJ, Emery P, Brune M, Fassas A, Faulkner L, Ferster A, Fiehn C, Fouillard L, Geromin A, Greinix H, Rabusin M, Saccardi R, Schneider P, Zintl F, Gratwohl A, Tyndall A; European Group for Blood and Marrow Transplantation; European

- League Against Rheumatism Registry. Autologous stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004;13(3):168-76.
42. Kriegler D, Mooney D. Tissue engineering's impact on dentistry. *J Dent Educ.* 2001 May;65(5):456-62.
43. Karaöz E, Doğan BN, Aksoy A, Gacar G, Akyüz S, Ayhan S, Genç ZS, Yürüker S, Duruksu G, Demircan PC, Sarıboyacı AE Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth. *Histochem Cell Biol.* 2010 Jan; 133(1):95-112. Epub 2009 Oct 9.
44. Kawazoe Y, Katoh S, Onodera Y, Kohgo T, Shindoh M, Shiba T. Activation of the FGF signaling pathway and subsequent induction of mesenchymal stem cell differentiation by inorganic polyphosphate. *Int J Biol Sci.* 2008 Feb 3;4(1):37-47.
45. Kerkis I, Ambrosio CE, Kerkis A, Martins DS, Zucconi E, Fonseca SA, Cabral RM, Maranduba CM, Gaiad TP, Morini AC, Vieira NM, Brolio MP, Sant'Anna OA, Miglino MA, Zatz M. Early transplantation of human immature dental pulp stem cells from baby teeth to golden retriever muscular dystrophy (GRMD) dogs: Local or systemic? *J Transl Med.* 2008 Jul 3;6:35.
46. Király M, Porcsalmay B, Pataki A, Kádár K, Jelitai M, Molnár B, Hermann P, Gera I, Grimm WD, Ganss B, Zsembery A, Varga G. Simultaneous PKC and cAMP activation induces differentiation of human dental pulp stem cells into functionally active neurons. *Neurochem Int.* 2009 Sep;55(5):323-32. Epub 2009 Apr 5.
47. Koyama N, Okubo Y, Nakao K, Osawa K, Bessho K. Experimental study of osteoinduction using a new material as a carrier for bone morphogenetic protein-2. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Jun; 49(4):314-8. Epub 2010 Jun 15.
48. Krebsbach PH, Kuznetsov SA, Satomura K, Emmons RV, Rowe DW, Robey PG. Bone formation in vivo: comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts. *Transplantation.* 1997 Apr 27;63(8):1059-69.
49. Kuo MY, Lan WH, Lin SK, Tsai KS, Hahn LJ. Collagen gene expression in human dental pulp cell cultures. *Arch Oral Biol.* 1992 Nov;37(11):945-52.
50. Kuznetsov OA, Hasenstein KH. Magnetophoretic induction of curvature in coleoptiles and hypocotyls. *J Exp Bot.* 1997 Nov;48(316):1951-7.
51. Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? *Blood.* 2005 Sep 15; 106(6):1901-10. Epub 2005 May 12.
52. Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, Ahn YH, Bang OY A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. ; *Stem Cells.* 2010 Jun;28(6):1099-106.
53. Li Y, Caufield PW. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J Dent Res.* 1995 Feb; 74(2):681-5.

54. Lyons A.S. Petrucci R.J. MEDICINE An Illustrated History Ed. Harry N. Abrams, Inc. N.Y. 1978 p. 254-255
55. Lyaruu DM, van Croonenburg EJ, van Duin MA, Bervoets TJ, Wöltgens JH, de Blieck-Hogervorst JM. Development of transplanted pulp tissue containing epithelial sheath into a tooth-like structure. *J Oral Pathol Med.* 1999 Aug;28(7):293-6.
56. Mao J.J., Giannobile W.V., Helms J.A., Hollister S.J., Krebsbach P.H., Longaker M.T., and S. Shi S. Craniofacial Tissue Engineering by Stem Cells *J. Dent Res.* 2006 Nov;85 (11): 966-79
57. Makkar RR, Price MJ, Lill M, Frantzen M, Takizawa K, Kleisli T, Zheng J, Kar S, McClelan R, Miyamoto T, Bick-Forrester J, Fishbein MC, Shah PK, Forrester JS, Sharifi B, Chen PS, Qayyum M. Intramyocardial injection of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells without immunosuppression preserves cardiac function in a porcine model of myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2005 Dec;10(4):225-33.
58. Masaharu Takeyasu¹⁾, Tadashige Nozaki²⁾ and Michiharu Daito¹⁾ Differentiation of dental pulp stem cells into a neural lineage *Pediatric Dental Journal - Vol. 16 (2006) , No. 2 pp.154-16*
59. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 May 13; 100(10):5807-12. Epub 2003 Apr 25.
60. Miura M, Chen XD, Allen MR, Bi Y, Gronthos S, Seo BM, Lakhani S, Flavell RA, Feng XH, Robey PG, Young M, Shi S. A crucial role of caspase-3 in osteogenic differentiation of bone marrow stromal stem cells. *J Clin Invest.* 2004 Dec ; 114(12):1704-13.
61. Mjör IA. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 7: The exposed pulp. *Quintessence Int.* 2002 Feb; 33(2):113-35.
62. Monteiro BG, Serafim RC, Melo GB, Silva MC, Lizier NF, Maranduba CM, Smith RL, Kerkis A, Cerruti H, Gomes JA, Kerkis I. Human immature dental pulp stem cells share key characteristic features with limbal stem cells. *Cell Prolif.* 2009 Oct;42(5):587-94. Epub 2009 Jul 14
63. Nakashima M. Induction of dentine in amputated pulp of dogs by recombinant human bone morphogenetic proteins-2 and -4 with collagen matrix. *Arch Oral Biol.* 1994 Dec;39(12):1085-9.
64. Nishino Y, Yamada Y, Ebisawa K, Nakamura S, Okabe K, Umemura E, Hara K, Ueda M. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) enhance wound healing and the possibility of novel cell therapy. *Cytotherapy.* 2011 May;13(5):598-605. Epub 2011 Feb 22
65. Nosrat IV, Smith CA, Mullally P, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells provide neurotrophic support for dopaminergic neurons and differentiate into neurons in vitro; implications for tissue engineering and repair in the nervous system. *Eur J Neurosci.* 2004 May;19(9):2388-98.
66. Nosrat IV, Widenfalk J, Olson L, Nosrat CA. Dental pulp cells produce

- neurotrophic factors, interact with trigeminal neurons *in vitro*, and rescue motoneurons after spinal cord injury. *Dev Biol.* 2001 Oct 1;238(1):120-32
67. Nör JE. Tooth regeneration in operative dentistry. *Oper Dent.* 2006 Nov-Dec;31(6):633-42.
68. Oda Y, Yoshimura Y, Ohnishi H, Tadokoro M, Katsume Y, Sasa M, Kubo Y, Hattori K, Horimoto K, Yuba S, Ohgushi H. Induction of Pluripotent Stem Cells from Human Third Molar Mesenchymal Stromal Cells. *J Biol Chem.* 2010 Sep 17;285(38):29270-8. Epub 2010 Jul 1.
69. Oda Y, Yoshimura Y, Ohnishi H, Tadokoro M, Katsume Y, Sasa M, Kubo Y, Hattori K, Saito S, Horimoto K, Yuba S, Ohgushi H. Induction of pluripotent stem cells from human third molar mesenchymal stromal cells. *J Biol Chem.* 2010 Sep 17; 285(38):29270-8. Epub 2010 Jul 1.
70. Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R, Graziano MF, Pirozzi G, Menditti D, De Rosa A, Carinci F, Laino G. Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair. *J Cell Physiol.* 2006 Aug; 208(2):319-25.
71. Pavasant P, Yongchaitrakul T, Pattamapun K, Arksornnukit M. The synergistic effect of TGF-beta and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on SPARC synthesis and alkaline phosphatase activity in human pulp fibroblasts. *Arch Oral Biol.* 2003 Oct;48(10):717-22.
72. Prime SS, Reade PC. Xenografts of recombined bovine odontogenic tissues and cultured cells to hypothymic mice. *Transplantation.* 1980 Aug;30(2):149-52.
73. Raj R, Makkar M, Price J, Lill M, Frantzen K, Takizawa T, Kleisli J, Zheng J, Kar S, McClelan R, Miyamoto T, Bick-Forrester M, Fishbein M, Shah J, Forrester B, Sharifi B, Chen P-S, Qayyum M. Intramyocardial Injection of Allogenic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Without Immunosuppression Preserves Cardiac Function in a Porcine Model of Myocardial Infarction. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics.* Oct 2005; vol. 10: pp. 225 - 233.
74. Ranly DM, Thomas HF, Chen J, MacDougall M. Osteocalcin expression in young and aged dental pulps as determined by RT-PCR. *J Endod.* 1997 Jun; 23(6):374-7.
75. Ritchie HH, Pinero GJ, Hou H, Butler WT. Molecular analysis of rat dentin sialoprotein. *Connect Tissue Res.* 1995;33(1-3):73-9.
76. Ruch JV. Odontoblast commitment and differentiation. *Biochem Cell Biol.* 1998; 76(6):923-38.
77. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet.* 2004 Jul 10-16; 364(9429):149-55.
78. Slavkin HC, Diekwich TG. Molecular strategies of tooth enamel formation are highly conserved during

- vertebrate evolution. *Ciba Found Symp.* 1997;205:73-80; discussion 81-4.
79. Shabbir A, Zisa D, Suzuki G, Lee T. Heart failure therapy mediated by the trophic activities of bone marrow Mesenchymal stem cells: a noninvasive therapeutic regimen. (*Terapia para paros cardíacos facilitada por las actividades tróficas de células madre mesenquimales de la médula ósea: un régimen terapéutico no invasivo.*) *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009 Jun;296 (6):H1888-97. PMID: 19395555
80. Shi S, Robey PG, Gronthos S. Comparison of human dental pulp and bone marrow stromal stem cells by cDNA microarray analysis. *Bone.* 2001 Dec; 29(6):532-9.
81. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res.* 2003 Apr;18(4):696-704.
82. Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res.* 2005 Aug;8(3):191-9.
83. Shiba Y, Ohshima T, Sato M. Growth and morphology of anchorage-dependent animal cells in a liquid/liquid interface system. *Biotechnol Bioeng.* 1998 Mar 5;57(5):583-9
84. Suchanek J, Soukup T, Ivancakova R, Karbanová J, Hubková V, Pytlík R, Kucerová L. Human dental pulp stem cells--isolation and long term cultivation. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2007; 50(3):195-201.
85. Suchanek J, Soukup T, Visek B, Ivancakova R, Kucerova L, Mokry J. Dental pulp stem cells and their characterization. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2009 Mar; 153(1):31-5.
86. Suchánek J, Visek B, Soukup T, El-Din Mohamed SK, Ivancaková R, Mokry J, Aboul-Ezz EH, Omran A. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth--isolation, long term cultivation and phenotypical analysis. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2010; 53(2):93-9.
87. Takeyasu M, Nozaki T, Daito M. Differentiation of dental pulp stem cells into neural lineage *Ped Dent J* 16(2): 154-162, 2006
88. Takeda T, Tezuka Y, Horiuchi M, Hosono K, Iida K, Hatakeyama D, Miyaki S, Kunisada T, Shibata T, Tezuka K. Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs. *J Dent Res.* 2008 Jul; 87(7):676-81.
89. Thesleff I. Developmental biology and building a tooth. *Quintessence Int.* 2003 Sep; 34(8):613-20.
90. Thesleff I, Aberg T. Molecular regulation of tooth development. *Bone.* 1999 Jul;25(1):123-5.
91. Timper K, Seboek D, Eberhardt M, Linscheid P, Christ-Crain M, Keller U, Müller B, Zulewski H. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. Department of Research, University Hospital, Basel, Switzerland. *Biochem Biophys Res*

- Commun. 2006 Mar 24;341(4):1135-40.*
92. Trowbridge JJ, Snow JW, Kim J, Orkin SH. DNA methyltransferase 1 is essential for and uniquely regulates hematopoietic stem and progenitor cells. *Cell Stem Cell.* 2009 Oct 2;5(4):442-9.
93. Valencia R, Saadia M, Grimberg G. Controlled slicing in the management of congenitally missing second premolars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004; 125:537-43
94. Valencia R, Espinosa R, Torres M.A., Saadia M. Long Term Histological Response of Hemisectioned Exposed Primary pulps. An in vivo Study. *J Clin Pediatr Dent* 34(1): 19-24, 2009
95. Vincentelli A, Wautot F, Juthier F, Fouquet O, Corseaux D, Marechaux S, Le Tourneau T, Fabre O, Susen S, Van Belle E, Mouquet F, Decoene C, Prat A, Jude B. In vivo autologous recellularization of a tissue-engineered heart valve: are bone marrow mesenchymal stem cells the best candidates? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007 Aug;134(2):424-32. Epub 2007 Jul 12.
96. Wang J, Wang X, Sun Z, Yang H, Shi S, Wang S. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. *Stem Cells Dev.* 2010 Sep;19(9):1375-83.
97. Woods EJ, Perry BC, Hockema JJ, Larson L, Zhou D, Goebel WS. Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use. *Cryobiology.* 2009 Oct; 59(2):150-7. Epub 2009 Jun 16.
98. Yalvac ME, Ramazanoglu M, Rizvanov AA, Sahin F, Bayrak OF, Salli U, Palotás A, Kose GT. Isolation and characterization of stem cells derived from human third molar tooth germs of young adults: implications in neo-vascularization, osteo-, adipogenic and neurogenesis. *Pharmacogenomics J.* 2010 Apr; 10(2):105-13. Epub 2009 Sep 1.
99. Yalvac ME, Ramazanoglu M, Tekguc M, Bayrak OF, Shafiqullina AK, Salafutdinov II, Blatt NL, Kiyasov AP, Sahin F, Palotás A, Rizvanov AA. Human tooth germ stem cells preserve neuro-protective effects after long-term cryo-preservation. *Curr Neurovasc Res.* 2010 Feb 1;7(1):49-58
100. Yalvac ME, Rizvanov AA, Kilic E, Sahin F, Mukhamedyarov MA, Islamov RR, Palotás A. Potential role of dental stem cells in the cellular therapy of cerebral ischemia. *Curr Pharm Des.* 2009;15(33):3908-16.
101. Yamaza T, Kentaro A, Chen C, Liu Y, Shi Y, Gronthos S, Wang S, Shi S. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther.* 2010 Mar 15;1(1):5
102. Yu J, Wang Y, Deng Z, Tang L, Li Y, Shi J, Jin Y. Odontogenic capability: Bone marrow stromal stem cells versus dental stem cells. *Biol Cell.* 2007 Aug;99(8):465-74.
103. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp

after cryopreservation. *Tissue Eng.*
2006 Oct; 12(10):2813-23.

104. Zhang W, Walboomers XF, Toin H. Van Kuppevelt, Daamen W.F., Van Damme F. Zhuan B. y Jansen JA *In vivo Evaluation of Human Dental Pulp Stem Cells differentiated towards multiple Lineages. J. Tissue Eng Regen Med 2008; 2: 117-125*

Correspondencia

Dr. Roberto Valencia Hitte
rmval@hotmail.com

**Recibido 24-01-2013
Aceptado 17-07-2013**