



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

**“CICATRIZACIÓN FISIOLÓGICA VS. CICATRIZACIÓN CON  
IMPLANTACIÓN DE CÉLULAS MADRE EN ALVEOLOS DE  
TERCEROS MOLARES EXTRAÍDOS”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Previa a la obtención del título de:

ODONTÓLOGA

AUTOR: ESTEFANÍA MACÍAS ACOSTA

DIRECTOR ACADÉMICO: DR. JORGE BARONA TERÁN

Guayaquil-Ecuador

2011-2012

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

*A Dios,  
A mi familia y  
A mis maestros*

## **ÍNDICE**

ABREVIATURAS .....	5
RESUMEN .....	6
INTRODUCCIÓN .....	7
OBJETIVOS .....	8
1.1 ¿QUÉ ES UNA CÉLULA MADRE? .....	9
1.1.2 SEGÚN SU ORIGEN SE CLASIFICAN EN:.....	10
1.1.2.1 CÉLULAS MADRE DE ORIGEN EMBRIONARIO:.....	10
1.1.2.2 CÉLULAS MADRE ADULTAS:.....	10
1.1.3 SEGÚN SU POTENCIAL DE DIFERENCIACIÓN: .....	12
1.1.4 SEGÚN EL TEJIDO SOBRE EL QUE SE ASIENTAN .....	15
1.2 CÉLULAS MADRE INDUCIDAS A LA PLURIPOTENCIA .....	16
II: CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL; DENTICIÓN DECIDUA Y PERMANENTE .....	18
2.1. CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE EN LA CAVIDAD ORAL: .....	20
2.1.1 CÉLULAS MADRES EN PULPAS DE DIENTES TEMPORALES (SHED).....	20
2.1.1.1 AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE DE DENTICIÓN DECIDUA (SHED).....	21
2.1.1.2 DIFERENCIACION DE CELULAS SHED .....	22
2.1.2 CÉLULAS MADRES EN PULPAS DE DIENTES PERMANENTES (DPSCS).....	25
2.1.3 CÉLULAS MADRES PRESENTES EN ESPACIOS PERIODONTALES (PDLSCS).....	25
2.1.4 CÉLULAS MADRE DE LA MUCOSA BUCAL .....	26
III APLICACIONES CLÍNICAS DE CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL EN ODONTOLOGÍA Y MEDICINA .....	27
3.1. APLICACIONES CLÍNICAS EN ODONTOLOGÍA .....	27
3.1.1 CIRUGÍA (REGENERACIÓN E IMPLANTOLOGÍA) .....	28
3.1.2 ENDODONCIA.....	30

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

3.1.3	OTRAS APLICACIONES .....	32
3.2	APLICACIONES CLÍNICAS EN MEDICINA .....	34
3.2.1	REGENERACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO.....	34
3.2.2	REGENERACIÓN DE PÁNCREAS (DIABETES) .....	36
3.2.3	USO DE CMD EN INFARTO DE MIOCARDIO .....	37
3.2.4	REGENERACIÓN HEPÁTICA.....	37
IV:	REPARACIÓN DE LOS TEJIDOS ORALES.....	39
4.1.	REGENERACIÓN ÓSEA .....	39
4.2.	CICATRIZACIÓN DE LOS ALVEOLOS DENTARIOS POSTERIOR A LA EXODONCIA.....	40
	MATERIALES Y MÉTODOS .....	42
	MATERIALES .....	44
	METODOLOGÍA .....	46
	RESULTADOS.....	49
	CASOS CLÍNICOS .....	53
	CONCLUSIONES .....	58
	RECOMENDACIONES .....	59
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
	ANEXOS.....	65

## **ABREVIATURAS**

ABSCs Células madre del ápice de  
germen incisal de ratón

DPSCs Células madre de pulpa  
dental

ADMSCs Células madre de Tejido  
adiposo

PAFSCs Células madre de folículo  
dental apical

BMSCs Células madre de médula  
Ósea

PDLSCs Células madre de  
ligamento periodontal

CM Célula madre

SHED Células madre de dientes  
deciduos

## **RESUMEN**

*Actualmente, el estudio de células madre dentales en aplicaciones clínicas, como regeneración de órganos y tejidos ha creado gran interés y esperanza tanto en la clínica médica como en la odontológica.*

*Por lo tanto, en este estudio se revisarán las diferentes aplicaciones clínicas y se pretenderá comprobar la capacidad regenerativa de las células madre de origen dental, como un aporte a futuras investigaciones.*

*Para realizar este estudio se tomaron 3 muestras de terceros molares superiores no erupcionados (derecho e izquierdo), a 3 pacientes, de las cuales 6 fueron utilizadas para aislar sus células madre, para luego ser implantadas en 1 alveolo inferior de cada paciente, 1 parámetro fue tomado en cuenta.*

*Los resultados más significativos fueron que la cantidad de formación ósea en el alveolo de la implantación de las células madre fue en un 66.67 % más notoria que en el lado que se regeneró fisiológicamente.*

*Por último, este estudio probó la capacidad eficaz de la reparación tisular de las células madre de origen dental, que ya han sido estudiadas en diferentes países, aportando importantes resultados que serán de útil ayuda a la clínica médica y odontológica.*

***Palabras clave:*** *células madre de origen dental, implantación y reparación tisular.*

## **INTRODUCCIÓN**

La regeneración de tejidos orales es cada vez más necesaria debido a la alta demanda de tratamientos odontológicos que requieren devolver la función y la estructura del tejido oral. En la actualidad, esta regeneración depende del uso de biomateriales para reparar, reemplazar e incluso regenerar hueso y tejidos dentales perdidos por caries, enfermedad periodontal y procedimientos quirúrgicos.

Según estudios se han encontrado células con capacidad regenerativa de hueso, ligamento periodontal e incluso piezas dentarias completas en la pulpa de dientes temporales, permanentes y en el tejido periodontal.

El presente trabajo está dividido en cuatro capítulos. Empezando con una revisión de la cronología del estudio de las células madre y sus conceptos básicos. En el segundo se hablará de células madre de origen dental. El siguiente capítulo está dedicado a las aplicaciones clínicas de las células madre en la medicina y odontología. Por último se dará una revisión a la reparación de los tejidos orales.

El parámetro que se tomó en cuenta en este estudio fue: “Cantidad de neo formación ósea”.

Para poder encontrar el promedio de éste parámetro se tomó una radiografía post operatoria, luego de dos meses de la cirugía a los pacientes de la práctica privada.

El resultado de este estudio piloto va dirigido a los alumnos y profesionales de la salud para incentivar a futuras investigaciones que tendrán resultados altamente esperanzadores.

## **OBJETIVOS**

En este estudio se procedió a aislar células madre de terceros molares superiores de 3 pacientes donde se pretende llevar a cabo los siguientes objetivos:

- A. Probar la efectividad y los beneficios de las células madre en la cavidad oral.
- B. Comparar el tiempo y la calidad de hueso regenerado y neo-formado en alveolos post extracción de terceros molares con el uso de células madre.
- C. Aportar a la comunidad científica el potencial que poseen las células madre para regenerar tejidos.

## **I CÉLULAS MADRE, CONCEPTOS BÁSICOS Y GENERALIDADES**

Desde 1878, se empezó con el estudio de células productoras de tejidos y órganos con la publicación del primer intento de fertilización de óvulos procedentes de mamíferos fuera del organismo pero no fue hasta 1998 donde James Thomson y sus colegas comenzaron una nueva era aislando y cultivando exitosamente células madre procedentes de embriones humanos. Estas investigaciones han dado esperanzas a la regeneración considerando a la célula madre como precursora.

### **1.1 ¿QUÉ ES UNA CÉLULA MADRE?**

Una célula madre es un tipo especial de célula inmadura, indiferenciada, con capacidad de multiplicarse por un extenso período de tiempo, autorenovarse y diferenciarse en tipos específicos de células y tejidos no sólo morfológicamente sino también de forma funcional. (1), (2), (3). Estas células se mantienen indiferenciadas hasta que reciben un estímulo diferenciador específico (1), (4).

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

Las células madre se clasifican; según su origen, potencial de diferenciación y sobre el tejido en el que se asientan:

**1.1.2 SEGÚN SU ORIGEN SE CLASIFICAN EN:**

**1.1.2.1 CÉLULAS MADRE DE ORIGEN EMBRIONARIO:**

Derivan de las células de la masa celular interna del blastocisto durante el desarrollo embrionario antes de la implantación en la pared uterina, tiene la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de célula y la capacidad de auto-replicarse a numerosas generaciones. Son éticamente controversiales (1), (2)

Una desventaja potencial es su capacidad para diferenciarse en cualquier linaje celular y la proliferación sin fin a menos que sea controlada, pudiendo causar cáncer. El teratoma observado clínicamente es un tumor que es un ejemplo que se está convirtiendo en un diferente y no deseado de tejido. Sólo puede obtenerse a partir de embriones, y por lo tanto están asociados con cuestiones éticas. (2)

**1.1.2.2 CÉLULAS MADRE ADULTAS:**

Las células madre adultas, al igual que todas las células madre, comparten al menos dos características; pueden hacer copias idénticas de sí mismas por largos períodos de tiempo, esta habilidad para proliferar se refiere como a largo plazo la auto-renovación y pueden dar lugar a tipos celulares maduros que tienen características morfológicas y funciones especializadas. Fuentes de células madre adultas son: cordón umbilical, líquido amniótico, médula ósea, tejido adiposo,

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

cerebro, folículo piloso, intestinos, piel y dientes. Las células madre adultas no son éticamente controversiales como se asocia a células madre embrionarias (1), (2).

Antes de diferenciarse totalmente, las células madre generan un tipo de célula intermedia este intermedio se llama célula precursora o progenitora. Las células progenitoras o precursoras en los tejidos fetales o adultos son células parcialmente diferenciadas que se dividen y dan lugar a células diferenciadas (1). Sus funciones principales son: mantener el funcionamiento en estado estacionario de una célula, con ciertas limitaciones, para reemplazar las células que mueren debido a lesiones o enfermedad. (1), (2)

La diferencia entre las células madre embrionarias y las adultas es que las células madre embrionarias son definidas por su origen (la masa celular interna del blastocisto), mientras que las células madre adultas no poseen esos medios definitivos de caracterización. Por lo cual, nadie sabe el origen de las células madre adultas. (1)

Para que una CM sea considerada CM adulta:

- Debe tener capacidad de auto renovación (1).
- Capacidad de diferenciación creando nuevas células que posean \*fenotipos maduros, estando completamente integrados en el tejido, y con capacidad de funciones especializadas apropiadas para el tejido (3).
- Poder clonogénico (1).

Tradicionalmente se han considerado a las células madre embrionarias como células pluripotenciales, a diferencia de las CM adultas que se han caracterizado sólo como multipotenciales.

Sin embargo, investigaciones recientes prueban que la potencialidad de algunos tipos de células madre adultas podría sobrepasar nuestras expectativas,

---

\*El término fenotipo se refiere a todo lo observable características de una célula (u organismo), su morfología; interacciones con otras células , matriz extracelular; marcadores de superficie, y el comportamiento de la célula (por ejemplo, la secreción, la contracción, la transmisión sináptica). (1)

### ***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

existiendo células troncales pluripotentes en algunos órganos adultos con capacidad de diferenciarse en tejidos derivados de cualquiera de las capas embrionarias (5), (6)

Se consideró seriamente la posibilidad de que las células madre de tejidos adultos podrían generar los tipos de células especializadas de otro tipo de tejido del lugar donde habitan, ya sea un tejido derivado del germen embrionario de su misma capa o de una capa germinal diferente. Por ejemplo, células madre hematopoyéticas (derivadas del mesodermo) pueden ser capaces de generar tanto músculo esquelético (también derivadas de mesodermo) y neuronas (derivado de ectodermo), a esto se lo denominó como "plasticidad" (1).

Esta hipótesis fue considerada por varios estudios realizados que informaron que las células madre derivadas de un tejido adulto pueden cambiar su apariencia y asumir características que se asemejan a los de células diferenciadas de otros tejidos. El término plasticidad, significa que una célula madre de tejido adulto, puede generar tipos diferenciados de células de otro tejido, pero la plasticidad no ha sido probada aún (2).

Se ha aprendido mucho acerca de las células madre en los últimos 10 años:

1. Todos los órganos parecen albergar algún tipo de célula madre / progenitora capaz de regenerar la mayoría de las células que lo componen (6).
2. Células circulantes en el torrente sanguíneo parecen contribuir a la regeneración de todos los órganos (2).

Las células madre hematopoyéticas pueden reponer todas las células sanguíneas y probablemente también células endoteliales, esto se produce si surge la necesidad ambiental. Este fenómeno ocurre con baja frecuencia (7).

### **1.1.3 SEGÚN SU POTENCIAL DE DIFERENCIACIÓN:**

-Células madre totipotenciales: Son las células del embrión en sus primeros días; capaces de producir un individuo completo después de un proceso

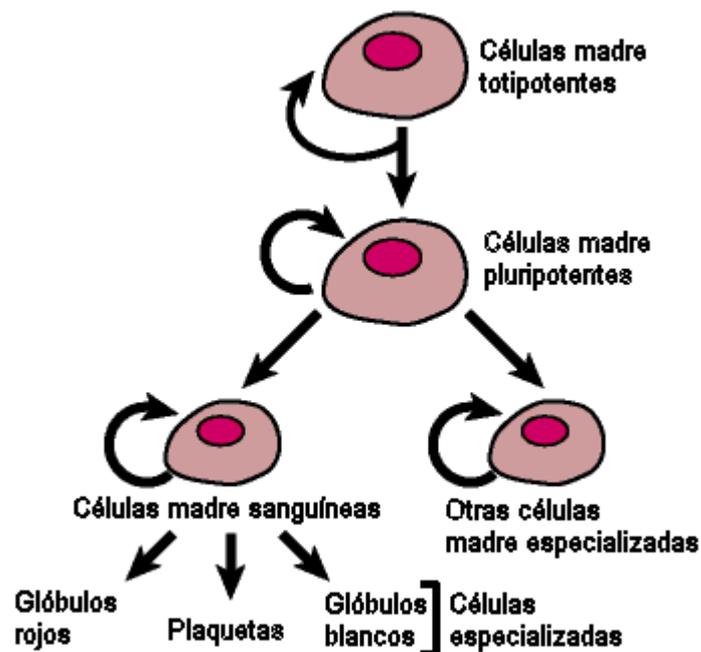
**Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.**

normal de desarrollo, por lo tanto dan lugar a todas las células y tejidos embrionarios y extraembrionarios (placenta y cordón umbilical) (1), (3), (8).

-Células madre pluripotenciales: A partir del quinto día del embrión las células totipotenciales pasan a ser pluripotenciales, estas tienen la habilidad de diferenciarse a tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias (mesodermo, ectodermo y endodermo). (3), (1)

-Células madre multipotenciales: son capaces de diferenciarse a distintos tipos celulares procedentes de la misma capa embrionaria (3)

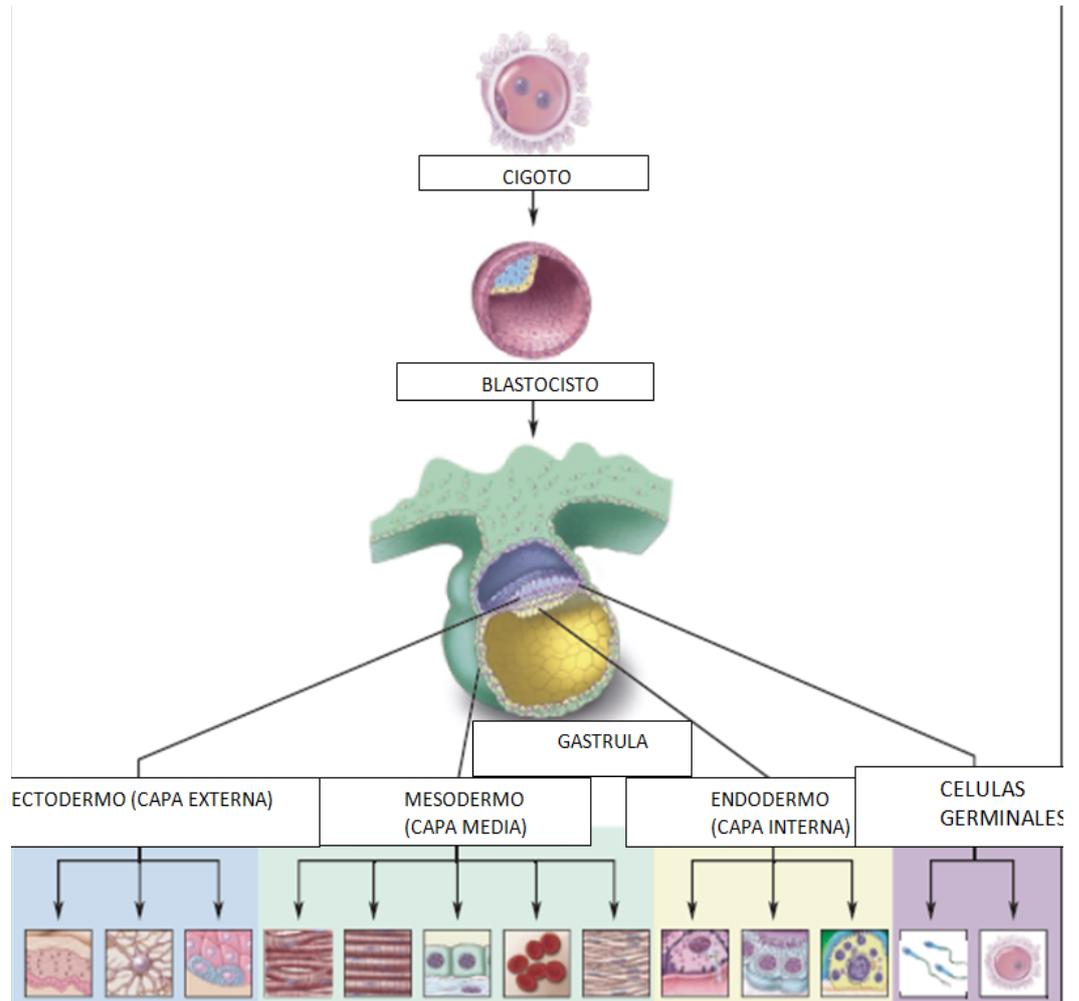
-Células madre unipotenciales: Sólo pueden generar células hijas de una sola línea celular. Permiten un estado constante de auto-renovación de los tejidos. Sin embargo, si el tejido se daña y el reemplazo involucra múltiples tipos de células, las células madre pluripotentes pueden ser activadas para reparar el daño. (1), (9), (10).



**Fig. No.1 Clasificación de células madre según su potencial**

**Fuente:** F. Prósper, C.M. Verfaillie, *Células madre adultas*, Anales Sis. San Navarra v.26 n.3 Pamplona dic. 2003, *versión impresa* ISSN 1137-6627

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***



**Fig No. 2 Diferenciación de tejidos humanos**

**Fuente:** Terese Winslow, **Células Madre. Progreso científico y futuras líneas de investigación**, National Institutes of Health department of health and human services, Junio 2001, capitulos # 1,2,3,4

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

**1.1.4 SEGÚN EL TEJIDO SOBRE EL QUE SE ASIENTAN**

Están sujetas al nicho que las rodea cuando se encuentran en su estado nativo, incluyendo las células vecinas que puedan estar en contacto directo con ella, así como la matriz extracelular y las moléculas solubles que se encuentran localmente(2).

Encontramos nichos en las siguientes localizaciones:

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

**Tabla No I. Nichos de células troncales**

**Fuente:** Gerardo Romero Jasso, Mtra. Beatriz C. Aldape Barrios, **Bioingeniería dental, ¿El futuro de la terapia en odontología?**, Facultad de Odontología. UNAM, CU. Revista /vol. LXVIII. NO.4. pp. 169174 aDM /Julio-agosto 2011

## **1.2 CÉLULAS MADRE INDUCIDAS A LA PLURIPOTENCIA**

Son células maduras que han cambiado su identidad y han regresado a un estado embrionario. La única forma de regresar una célula a su estado embrionario, es la reprogramación celular o transferencia nuclear, que consiste en la inyección del material genético de una célula adulta en un óvulo (al cual se le ha retirado el ADN); pronto esta célula híbrida se desarrolla en una etapa temprana de embrión en donde las células pluripotentes pueden ser extraídas.

Desde la primera clonación en 1997 (Dolly) y el primer aislamiento de la célula madre embrionaria (1998), la transferencia nuclear ha tenido mayor atención, debido a las posibilidades de poder producir células troncales pluripotenciales. Actualmente, se realiza la transferencia nuclear mediante otra técnica en la que el material genético de la célula adulta no se introduce dentro de un cigoto, sino se introducen genes que se encuentran presentes en un estado embrionario en una célula adulta, y con esto es suficiente para poder cambiar la célula madura a una célula pluripotencial (11).

Una célula pluripotente tiene la capacidad de producir cualquier tipo celular además de poder producir un teratoma. Las células madre pluripotentes inducidas no pueden desempeñar todas estas funciones. La primera vez que fueron obtenidas estas células induciendo fibroblastos adultos con cuatro factores: OCT3/4, SOX2, c-MYC y KLF4 se demostró que cambiaban y exhibían la morfología y crecimiento de células madre embriológicas, posteriormente estas células fueron transplantadas a ratones en donde dieron origen a teratomas.

El potencial de la biotecnología con células inducidas pluripotenciales es enorme, sin embargo se deben evaluar y estudiar perfectamente la seguridad y eficacia ya que estas podrían causar teratomas. Se ha realizado también la reparación

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

de defectos periodontales con la ayuda de las células inducidas a pluripotencia en estudios con ratones (11).

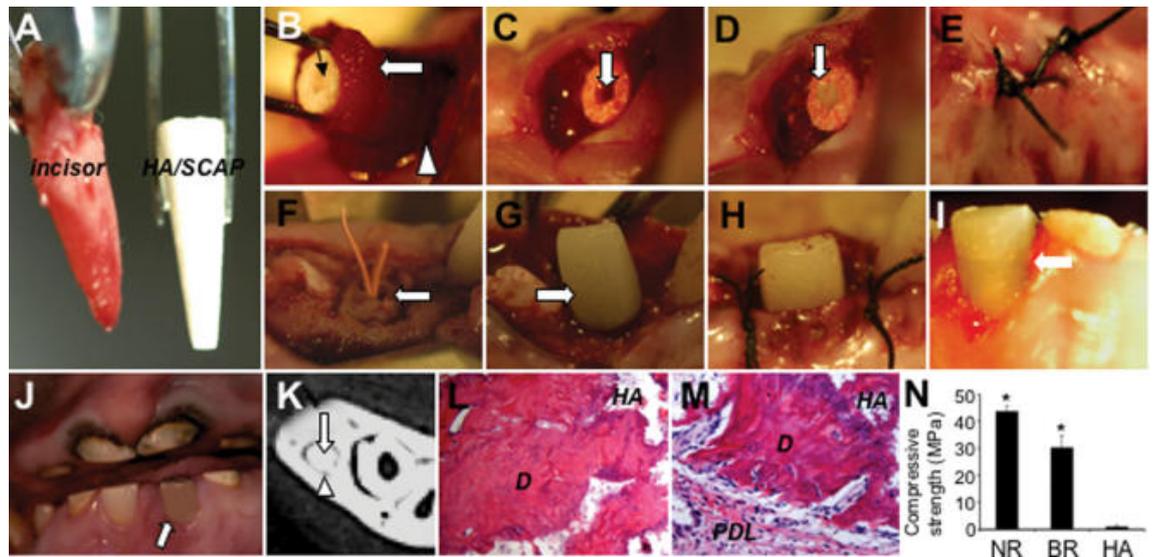
## **II: CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL; DENTICIÓN DECIDUA Y PERMANENTE**

El profesor Songtao Shi, del Instituto Nacional de Investigación Dental y Cráneo-facial norteamericano en el 2003 descubrió la presencia de células madre en dentición decidua, utilizando el diente de su hija de donde extrajo la pulpa logrando extraer células madre vivas. (12)

Tres años más tarde el Dr. Songtao Shi et al., utilizando células madre de la papila apical lograron formar estructura radicular (dentina, cemento y fibras colágenas). En este estudio se extrajo un incisivo de un cerdo donde se implantó un molde de hidroxiapatita fosfato tricalcico de forma radicular, el cual contenía células madre de papilas apicales de terceros molares humanos, luego de tres meses se rehabilitó con una corona de porcelana sobre la raíz neoformada, histológicamente se comprobó que este nuevo tejido era humano, hubo éxito en la formación de la dentina radicular pero la estabilidad que luego de 6 meses fue probada no poseía las fuerzas necesarias (13).

### ***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

Se ha probado la pluripotencialidad de las células madre en dentición decidua y permanente, siendo capaces de crear condrocitos, osteoblastos y adipocitos. (13), (14)



**Fig. No. 3 Creación de una raíz a partir de células madre dentales**

**Fuente:** Wataru Sonoyama,#1,3 Yi Liu,#2 Dianji Fang,2 Takayoshi Yamaza,1Byoung-Moo Seo,4 Chunmei Zhang,2 He Liu,5 Stan Gronthos,6 Cun-Yu Wang,7 Songtao Shi,2\* and Songlin Wang1 ,**Mesenchymal Stem Cell-Mediated Functional Tooth Regeneration in Swine**, Emory University, United States of America, diciembre 2006

La recolección de células madre a partir de la pulpa dental es un procedimiento no invasivo, esto puede realizarse en adultos (terceros molares) y en niños (dientes deciduos); el sacrificio de los tejidos es muy bajo y los beneficios son muchos, por ejemplo, podemos lograr el trasplante de la nueva forma tejido óseo obtenido a partir de células madre de la pulpa dental y que este hueso sea vascularizado y exista la integración entre el injerto con la sangre circundante del huésped. Las células madre de origen dental pueden ser criopreservadas y almacenadas por largos períodos (15), (2).

## **2.1. CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE EN LA CAVIDAD ORAL:**

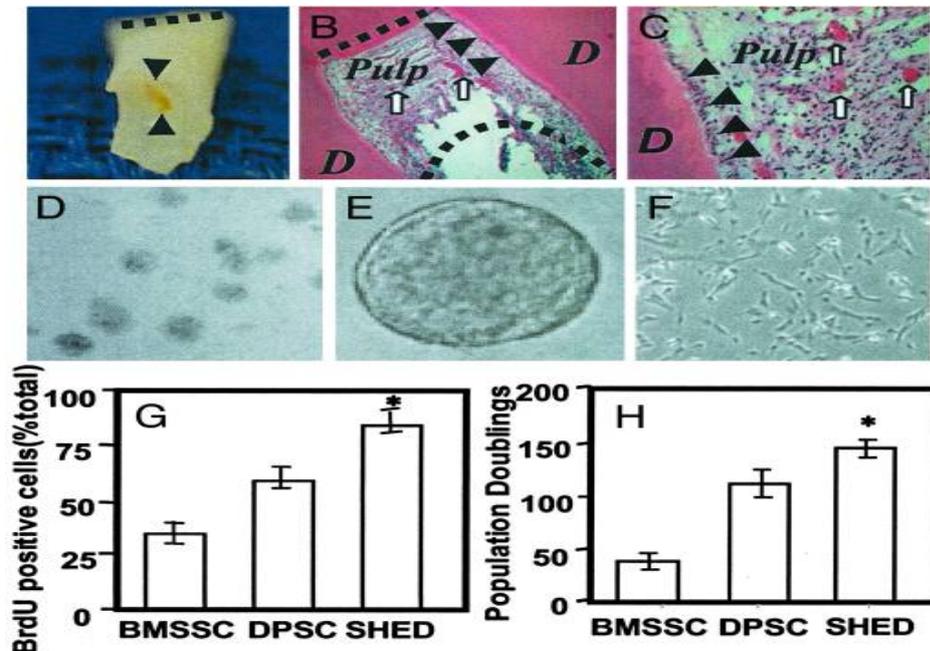
- Células Madres en pulpas de dientes temporales (SHED).
- Células Madres en pulpas de dientes permanentes (DPSCs).
- Células Madres presentes en espacios periodontales (PDLSCs)
- Células Madres de la Mucosa Bucal

### **2.1.1 CÉLULAS MADRES EN PULPAS DE DIENTES TEMPORALES (SHED)**

Se ha demostrado claramente que la capacidad terapéutica de la dentición decidua representa una mejor fuente de células madre que las muelas del juicio y los premolares extraídos por tratamiento de ortodoncia (1),(2).

Con el descubrimiento documentado en el año 2003 por el Dr. Songtao Shi, una fuente accesible y disponible de células madre se han identificado, estas pueden ser fácilmente conservadas y utilizadas. Las células SHED son inmaduras, no especializadas capaces de diferenciarse, aparecen en la 6<sup>a</sup> semana durante la etapa embrionaria del desarrollo humano. Los científicos creen que estas células madre se comportan diferente a las células adultas de la dentición permanente. Las células SHED se multiplican rápidamente, crecen y se diferencian mucho más rápido que las células madre adultas por lo que son mas inmaduras, así que tienen el potencial para convertirse en una variedad más amplia de tejido (16).

### 2.1.1.1 AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE DE DENTICIÓN DECIDUA (SHED)



**Fig No. 4** Aislamiento de células SHED

**Fuente:** Erdal Karaöz, Burcu Nur Dofan, Ayça Aksoy, Gülçin Gacar, Serap Akyüz, Selda Ayhan, Zehra Seda Genç, Sinan Yürüker, Gökhan Duruksu, PÂnar Çetinalp Demircan, Ayla Eker SarÂboyac, **Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth**, *Histochem Cell Biol* (2010) 133:95–112 DOI 10.1007/s00418-009-0646-5

(A) incisivo primario exfoliado contenía pulpa dental (triángulos negros). La línea discontinua muestra el borde de la oclusión de los incisivos. (B y C) tinción de hematoxilina / eosina indicó la dentina (D) y la pulpa de los dientes deciduos exfoliados. La pulpa contiene odontoblastos (flechas), los vasos sanguíneos (flechas abiertas), y los tejidos conectivos.

Las líneas rectas y curvas de trazos en (B) representan la oclusión y superficies reabsorbidas raíz, respectivamente. (D) Las colonias individuales se

## ***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

formaron después de que SHED se sembraran a una densidad baja y se cultivaron durante 2 semanas

(E) SHED fueron capaces de formar grupos como esfera

(F) Los racimos como esfera-podrían ser disociados a través de agujas y, posteriormente, se observó su crecimiento recubiertos con gelatina al 0,1%.

(G) Las tasas de proliferación de Hangar, células madre de la médula (BMSSCs) y DPSCs fueron evaluados durante 12 horas. SHED mostró una tasa de proliferación significativamente mayor en comparación con BMSSCs y DPSCs (\*,  $p < 0,05$ , prueba t de Student). (H) SHED fueron capaces de proliferar a  $> 140$  duplicaciones de población, lo cual fue significativamente mayor (\*,  $P < 0,05$ , prueba t de Student) que BMSSCs y DPSCs (17).

Se probó el potencial de diferenciación hNDP-SC (CM derivadas de pulpa dental natal de humanos) y HBM-MSC con métodos histoquímicos e IHQ se utilizaron para determinar el potencial de hNDP-SC de diferenciación adipogénica, osteogénica, estados condrogénicos, miogénicos y neurogénicos (17).

### **2.1.1.2 DIFERENCIACION DE CELULAS SHED**

#### **Diferenciación adipogénica**

80-90% de éxito en la diferenciación celular que se prolongó durante 4-6 semanas. Al comienzo de la quinta semana, las gotas de lípidos ampliaron e invadieron todo el citoplasma. (Fig. 5-a, b, c) (17).

#### **Diferenciación osteogénica**

A los 8- 10 días de incubación se observaron depósitos de calcio. En el día 38 se observa deposición de calcio extensa, marcando fuerte positivo para osteonectina (fig. 4 B-d), osteopontina, osteocalcina (fig. 5 B-d), proteínas de la matriz extracelular fueron localizadas BMP2 y BMP4 (17).

#### **Diferenciación condrogénica**

Después de 3 semanas, las células que fueron inducidas a diferenciarse en condrocitos con tinción de azul Alcian dieron positivo, (Fig. 5Cc). histológicamente,

### ***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

las células observadas en los gránulos mostraron varias características de diferenciación condrogénica. Las células hipertróficas eran fácilmente identificables. Éstas parecían condrocitos hialinos, formando lagunas cartilaginosas y fueron separadas por regiones de difusa matriz extracelular (ECM) (fig. 5 C-a-c) (17).

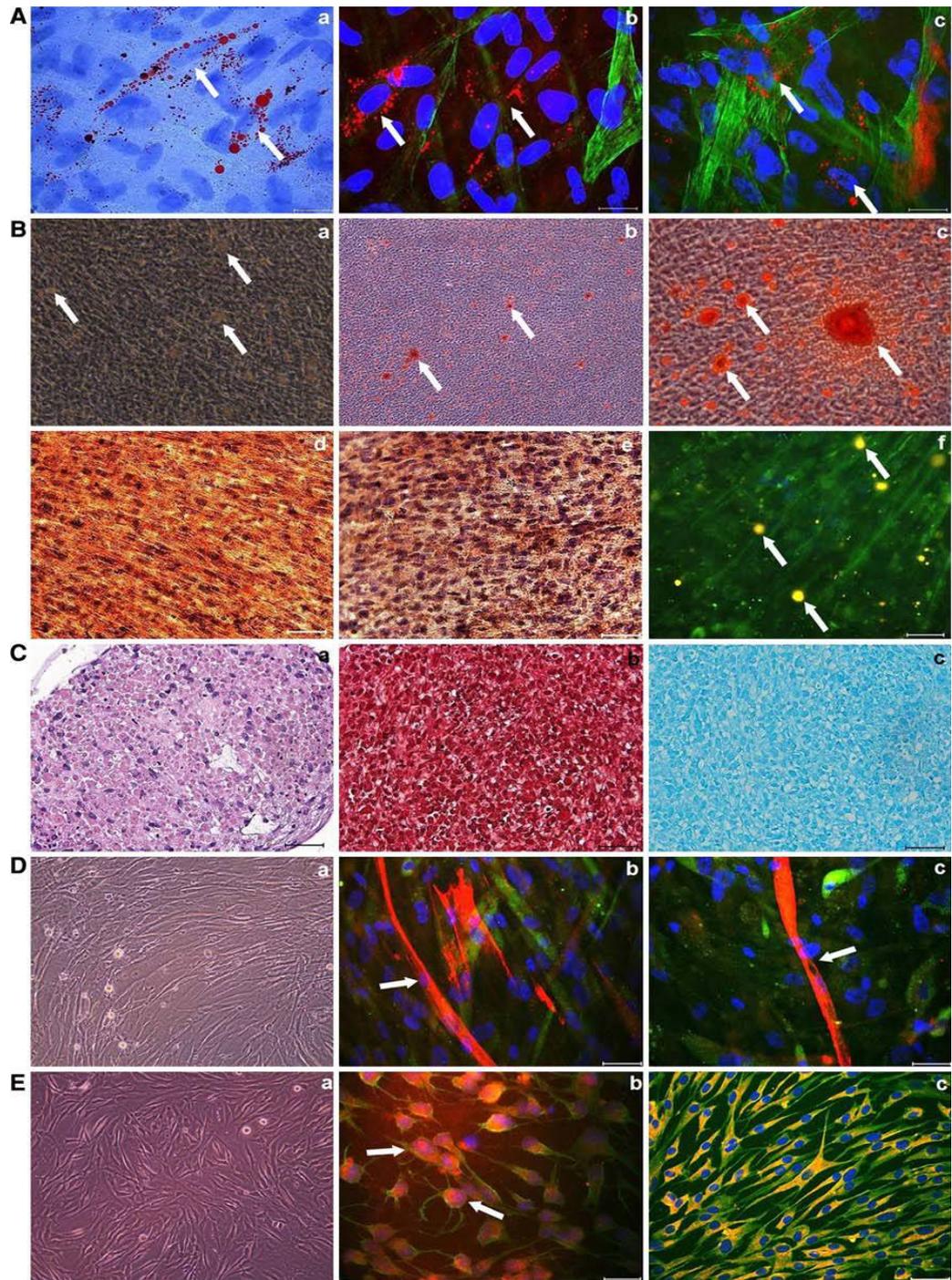
#### **Diferenciación Miogénica**

hNDP-SC y HBM-MSc fueron tratadas con 5-azacitidina para adquirir un fenotipo de miocitos en la cultura. Dentro de 8 días después, el primer mioblasto se fusionó para formar miotubulos pequeños. Estos miotubulos inmaduros eran delgados y cortos, con una ubicación céntrica, núcleos agrupados que se diferenciaron durante los próximos 2-3 días en grandes sincitios multinucleados (fig. 5 D-a-c). Las células miogénicas fueron fuertemente positivas para todos los marcadores de linaje miogénico (Fig. 5 D-b-c) (17).

#### **Diferenciación neurogénica**

Las células neuronales derivadas de hNDP-SC muestran distinta morfologías, que van desde simples células bipolares a las células grandes multipolares ramificadas (Fig. 5E-a-c). Dentro de las 24 h de exposición al medio de inducción para diferenciación neurogénica, los cambios en la morfología de algunas de las CM eran evidentes (Fig. 5E-a). Donde más tarde las tinciones indicaban una alta actividad celular hacia la diferenciación (17).

**Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.**



**Fig. No.5 Diferenciación del potencial de hNDP-SCs y hBM-MSCs**

**Fuente:** Erdal Karaöz et al **Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth**

Histochem Cell Biol (2010) 133:95–112 DOI 10.1007/s00418-009-0646-5

### **2.1.2 CÉLULAS MADRES EN PULPAS DE DIENTES PERMANENTES (DPSCS).**

Entre este grupo se han estudiado a los premolares extraídos por tratamiento de ortodoncia y los terceros molares. Ya que los últimos dientes en erupcionar son los terceros molares tienen la más joven de la pulpa y por lo tanto contienen la mayoría de células no especializadas (13), (14).

Poseen capacidad de regenerar el complejo pulpa- dentina compuesto por una matriz mineralizada con túbulos lineales, odontoblastos y tejido de contenido fibroso, rico en vasos sanguíneos, con semejante disposición al complejo dentinal-pulpar. Las DPSCs pueden expresar marcadores óseos al igual que los osteoblastos, como: sialoproteínas óseas, fosfatasa alcalina, colágeno tipo I y osteocalcina. La diferenciación a esta línea ósea es regulada por la familia osteoreguladora de TGF $\beta$  y las citoquinas. Esto prueba que las DPSCs son muy parecidas a las células madre de estroma medular precursoras de los osteoblastos (14).

Es preferible aislar las DPSCs durante la formación de la corona ya que en este estadio las células son más indiferenciadas que más adelante, son muy compatibles con los biomateriales lo que facilita la regeneración tisular (18).

Estas células son de fácil recolección, el procedimiento tiene una escasa morbilidad y es la oportunidad de recolectar células madre si no se recogió las del cordón umbilical, siendo mucho más eficientes y con más capacidad de diferenciación (18).

### **2.1.3 CÉLULAS MADRES PRESENTES EN ESPACIOS PERIODONTALES (PDLSCS)**

La reparación del ligamento periodontal parece involucrar las células madres presentes en el mismo para la formación de fibroblastos, cementoblastos y osteoblastos, que al momento de ser lesionado estas células se diferencian para que

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

este se auto-repare. Estas células aparecen en racimos en la vecindad de los vasos sanguíneos periodontales y presentan características semejantes a las células madres embrionarias (19).

**2.1.4 CÉLULAS MADRE DE LA MUCOSA BUCAL**

Se lograron aislar células madre de mucosa bucal, especialmente en los carrillos, se probó su multipotencialidad y por ende su capacidad regeneradora (20).

### **III APLICACIONES CLÍNICAS DE CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL EN ODONTOLOGÍA Y MEDICINA**

La odontología y la medicina están pasando por una nueva era donde las células madre cumplen un papel muy importante, siendo utilizadas en biotecnología en conjunto con otros profesionales que no solo abarcan el ámbito medicinal. Las células madre de origen dental aportan con la pluripotencialidad que ha sido probada en varios estudios siendo herramienta clave en la bioingeniería de tejidos ya que son de fácil acceso y de casi nula mortalidad en gran contraste con la recolección de CM de otras fuentes. En este capítulo revisaremos los diferentes estudios realizados con células madres dentales que han aportado significativamente en la clínica regenerativa.

#### **3.1. APLICACIONES CLÍNICAS EN ODONTOLOGÍA**

Las CM de origen dental son un recurso importante en la regeneración, se han utilizado en varias ramas de la odontología que veremos a continuación:

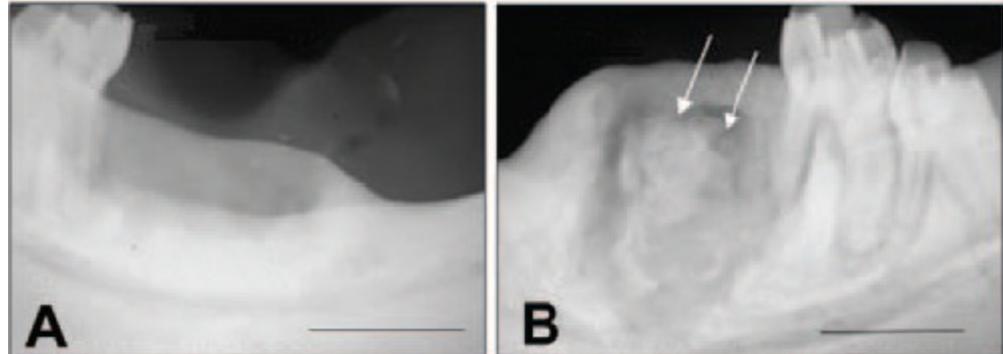
### **3.1.1 CIRUGÍA (REGENERACIÓN E IMPLANTOLOGÍA)**

En la actualidad hay múltiples estudios que demuestran la creación de tejidos dentales a partir de células madre, por ejemplo en el año 2006 el Dr Songtao Shi pudo crear una raíz en cerdos, como ya se revisó en el capítulo pasado. Hasta ahora existen obstáculos que deben ser perfeccionados: el tamaño alcanzado no es normal, hay inconsistencia en la formación radicular, no se ha conseguido una completa erupción hasta llegar a una oclusión funcional y la estabilidad obtenida no ha sido favorable (13). Con las células madre de origen pulpar se ha logrado reparación ósea, con la ayuda de esponjas de colágeno que ofrecen apoyo a las CM progenitoras en la regeneración celular guiada (21).

Los implantes dentales son utilizados para reemplazar piezas perdidas, en la actualidad este procedimiento se ha convertido en una de las terapéuticas más frecuentes, el mayor problema de este procedimiento es la ausencia de un ligamento periodontal, cuando lo que se pretende obtener no es sólo reemplazar la pieza perdida sino devolverle al paciente la sensación de estar masticando y esto nos lo brinda el ligamento periodontal. En este experimento se quiso formar una raíz compuesta por tejidos dentales que haga la función de un implante a partir de CM que forme un ligamento periodontal capaz de soportar las fuerzas masticatorias, luego de la extracción mandibular de un diente de una rata adulta se implanto CMD en el alveolo y también en hueso mandibular durante 12 semanas donde se logró la formación de los tejidos dentales. En estos dos sitios se formó dentina, esmalte, pulpa y tejidos periodontales. En el alveolo las células se mostraron más organizadas que en la mandíbula, estos resultados sugieren que en los implantes en hueso mandibular se requiere un molde para optimizar el desarrollo del nuevo diente. En resumen los resultados mostraron que el implante de las CM en ratas se pueden formar tejidos dentales que contienen dentina, esmalte y pulpa, este experimento expresó

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

morfológica e histológicamente aspectos típicos de la formación natural de dentina y esmalte (22).



**Fig. No 6. : Rx de control, 12 semanas**

**Fuente:** S.E. Duailibi, M.T. Duailibi, W. Zhang, R. Asrican, J.P. Vacanti and P.C. Yelick, **Bioengineered Dental Tissues Grown in the Rat Jaw**, Journal of Dental Research, DOI: 10.1177/154405910808700811, 2008

A. Sitio negativo de control.

B. áreas radiopacas (flechas) indican tejido mineralizado formado en el área del implante

Las células madre se utilizan también en regeneración de tejidos óseos craneofaciales, estas estructuras (cartílago, hueso, ligamentos, las suturas craneales, musculatura, tendones, el periodonto y dientes) en su mayoría tienen origen mesenquimal. La capacidad de las CM mesenquimales en la formación de estructuras craneofaciales nuevas o regeneradas es muy natural pero aún así no se da fácilmente, para diseñar una estructura biológica funcional las células deben ser capaces de diferenciarse y recibir señales para sintetizar las moléculas adecuadas de matrices extracelulares en la forma adecuada para reemplazar los tejidos enfermos o ausentes, esto quiere decir que las células deben reconocer el tejido sobre el que se asientan para así poder dar lugar a células musculares cuando se encuentren en músculos o células óseas cuando se encuentren en hueso y así en el resto de tejidos y órganos .

Como veremos a continuación, los avances que se han hecho en la ingeniería de tejidos craneofaciales son muy alentadores:

### ***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

- Las células madre han sido aisladas de varios tejidos craneofaciales
- Los prototipos de la articulación temporomandibular con forma humana se han diseñado con cartílago integrado y capas de hueso, pudiendo regenerar la articulación temporomandibular en su totalidad.
- Los diversos elementos del periodonto, incluyendo el ligamento periodontal y el cemento, se han diseñado a partir de células madre.
- Hueso craneofacial ha sido diseñado a partir de células madre.
- El tejido adiposo ha sido diseñado in vivo a partir de las células madre mesenquimales, que podrían ser utilizadas en plástica facial y cirugía reconstructiva.

En pacientes con cáncer que han recibido radioterapia el desarrollo óseo se ve afectado negativamente, la vascularización se ve comprometida, en estos pacientes la terapia más eficaz parece ser una combinación de trasplantes de células y la terapia génica, sin embargo aún no se ha establecido si tales combinaciones de terapias serían eficaces en los sitios irradiados. (22), (23)

### **3.1.2 ENDODONCIA**

Este estudio es el primero de pruebas in vivo que demuestra la formación de tejido pulpar nuevo de origen humano en un conducto radicular de 5-6 mm de profundidad en el cual se hizo una apertura de 2,5mm en ratas, se logró formar una capa continua de dentina de tejido sobre las paredes del conducto dentinales existentes y en la superficie de cemento MTA, el análisis de expresión de varios genes clave, como DSP, BSP, ALP y CD105, indica que los tejidos de la pulpa regenerada se parecen mucho al tejido de la pulpa natural.

La vascularización en el tejido pulpar regenerado en el conducto radicular era una gran preocupación pero estos fueron capaces de difundir irrigación en el conducto, permitiendo que las células madre puedan construir nuevos tejidos. No se

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

sabía si las nuevas células regeneradas en el conducto podían producir dentina nueva en la dentina existente.

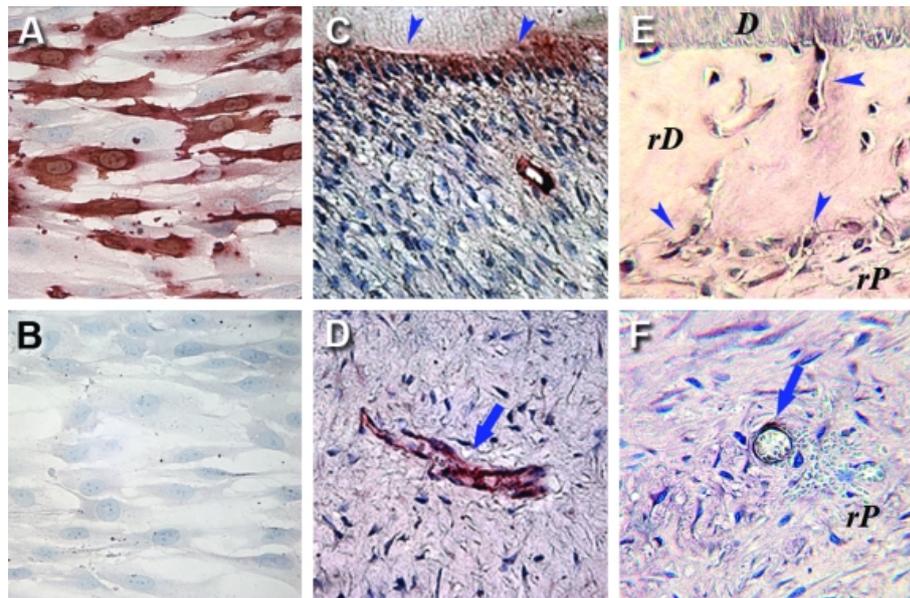
No estaba claro si el uso de un molde osteoinductivo como hidroxapatita-fosfato tricálcico por lo que afectarían la regeneración, se podía generar tejido calcificado disperso en el conducto radicular entero.

En estudios in vivo han demostrado que las células madre de dientes deciduos humanos exfoliadas eran capaces de diferenciarse en odontoblastos-como las células que recubren la superficie de la dentina existente. Estos hallazgos sugieren que la dentina existente es suficiente para guiar a las células madre en el conducto para diferenciarse en odontoblastos y extender sus procesos celulares en los túbulos dentinarios.

El hallazgo más interesante e importante de este estudio es la formación de una capa continua de la dentina con un espesor uniforme en los conductos existentes y la superficie de cemento MTA. Esto satisface, al menos en parte, un requisito importante de la regeneración funcional de la ingeniería de tejidos porque la producción de la dentina es una de las principales funciones de la pulpa.

Sin embargo, las características de la dentina regenerada son bastante diferentes de la dentina natural. Los túbulos dentinarios no son evidentes, y su formación no es sincrónica. Sólo hubo algunas regiones de la nueva dentina que mostró la dentina como estructuras tubulares normales.

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***



**Fig. No.7 Células madre cultivadas histoquímica e inmunología CD105**

**Fuente:** Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, Shi S., Stem/Progenitor Cell–Mediated De Novo Regeneration of Dental Pulp with Newly Deposited Continuous Layer of Dentin in an In Vivo Model, Pub Med; September 8, 2009.

En este estudio podemos ver que hay la posibilidad de regenerar tejido pulpar y dentina, (A) y (B) muestran resultados negativos a IgG, (C) presencia de odontoblastos, (D) presencia de vasos sanguíneos, (E) odontoblastos, (D) células positivas a CD105 alrededor de un vaso sanguíneo, rD tejido de dentina regenerado, rP tejido de pulpa regenerada.

Es necesario seguir con las investigaciones para llegar a un punto donde las nuevas estructuras estén perfectamente organizadas y puedan cumplir completamente sus funciones (24), (25).

### **3.1.3 OTRAS APLICACIONES**

Creación in vitro de la estructura esmalte/ dentina; en este estudio se logro superficies de fluorapatita (FA) ordenadas en su mayoría con una excelente biocompatibilidad y soporte en el crecimiento de las células creando superficies de

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

esmalte y dentina, es necesario en estudios posteriores utilizar moldes para controlar su morfología y crecimiento, recientemente Se identificó el gen *Ctip2* en estudios con ratones que habían sido reproducidos sin este gen transcriptor que cumple varias funciones como la respuesta inmune del organismo en el desarrollo de la piel y el sistema nervioso. En este estudio se pudo descubrir que este gen es el responsable de la formación y regulación de ameloblastos para la formación del esmalte. Con este descubrimiento la formación de la estructura dental mediada por células madre podría llegar a formar dientes completos con perfectas características morfológicas y funcionales (26), (27).



**Fig No 8 Micrografia electronica de DPSC cultivadas en Fluorapatita.**

**Fuente:** J. Liu, T. C. Jin, S. Chang, A. Czajka-Jakubowska, B. H. Clarkson, **Adhesion and growth of dental pulp stem cells on enamel-like fluorapatite surfaces**, Wiley Online Library , 4 January 2011 in. DOI: 10.1002/jbm.a.33002

## **3.2 APLICACIONES CLÍNICAS EN MEDICINA**

Como ya se revisó en el primer capítulo las células madre de origen dental por proceder de una capa embrionaria primitiva tienen la capacidad de regenerar condrocitos, adipocitos, osteoblastos y células mesenquimales, por lo tanto estudios han revelado que tienen un futuro prometedor en la medicina, regenerando tejidos u órganos en enfermedades como:

Parkinson y Alzheimer

Diabetes

Lesiones Hepáticas

Lesiones de médula espinal

Esclerosis Múltiple y enfermedades crónicas degenerativas

Artritis y lesiones en las articulaciones

Algunos tipos de cáncer

Lesiones en los huesos

Infartos y otras enfermedades cardíacas

Producción de piel nueva en quemaduras graves

Producción de nuevas córneas

VIH

### **3.2.1 REGENERACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO**

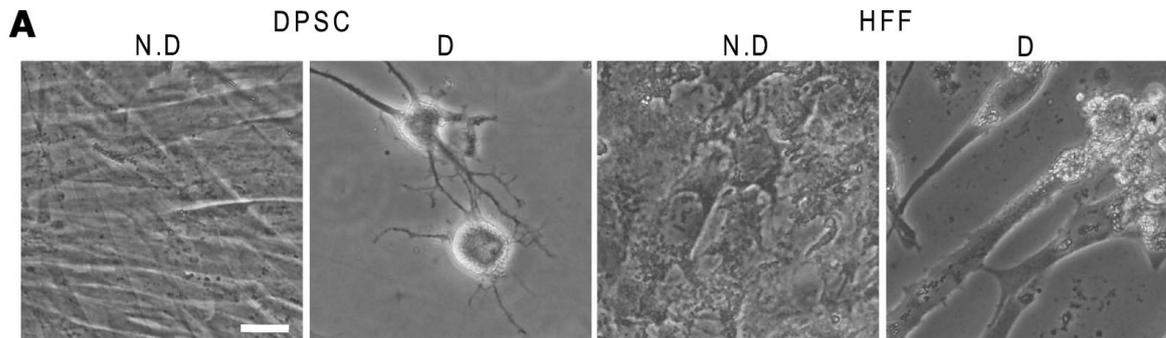
La regeneración del sistema nervioso humano interrumpido desde enfermedad o trauma es un reto para la terapéutica con aplicación de células madre. En organismos de modelos, tanto endógenos como exógenos las células madre neuronales (NSC) han sido investigados por su capacidad de regenerar un sistema nervioso dañado.

Tejido de la pulpa dental se cree que se deriva de la migración de las células de la cresta neural durante el desarrollo, y se ha demostrado su poder

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

pluripotencial. Los estudios in vitro de diferenciación neural de la rata y células humanas adultas de la pulpa dental (CPD) y las células madre a partir de dientes deciduos humanos exfoliados demostraron que estas poblaciones de células madre fueron capaces de diferenciarse en neuronas. En el presente estudio, se investigó el potencial neuronal de DPSCs humanas adultas que han sido previamente estudiadas y han demostrado tener propiedades características de las células de la cresta neural. DPSCs se mostraron receptivos a la diferenciación neuronal, morfología y respuesta de expresión génica. En general, el gen y los perfiles de expresión proteica sugieren que cuando las DPSCs son expuestas a diferentes condiciones neuronales inductivas, estas células dejan de proliferar y comienzan a someterse a la diferenciación con un gen y un perfil de expresión proteica compatible con neuronas maduras. Este estudio mostró que DPSCs fueron capaces de sobrevivir y diferenciarse en neuronas derivadas y potencialmente, integrarse en las redes neuronales en embriones de pollo hasta 7 días después de la inyección. Con la regeneración neuronal que brindan las células madre de origen dental se ha estudiado enfermedades como Parkinson y Alzheimer mostrando alentadores resultados (28).

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***



**Fig. No.9 Células madre pulpares en condiciones inductivas neuronales, diferenciación**

**Fuente:** AGNES ARTHUR, GRIGORI RYCHKOV, SONGTAO SHI, SIMON ANDREA KOBLAR, STAN GRONTHOS, **Adult Human Dental Pulp Stem Cells Differentiate Toward**

**Functionally Active Neurons Under Appropriate Environmental Cues, USA**  
STEMCELLS 2008;26:1787–1795

### **3.2.2 REGENERACIÓN DE PÁNCREAS (DIABETES)**

El presente estudio tuvo como objetivo explorar si el microambiente diabético podría inducir a MSC a la trans-diferenciación de las células de los islotes y compensar insuficientes células- $\beta$ . Se trasplantó células madre mesenquimales (MSC) en cerdos diabéticos femeninos en varias inyecciones en el páncreas subcapsular. MSC no sólo actúan como "semillas" celulares, también pueden ejercer un efecto modulador inmune clínicamente útil. Cuatro semanas después, el nivel de glucosa en suero comenzó a disminuir gradualmente, y era aproximado al valor normal. Reversión de la diabetes se evidenció por el nivel normal de la insulina en suero y normal ensayo intraperitoneal de tolerancia a la glucosa. Neo-génesis de islotes pancreáticos fueron verificadas por la histología y morfología y co-expresión de proteínas de insulina indicada, estas células neo-

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

formadas de los islotes trasplantados derivados de MSC tenían funciones normales (29).

### **3.2.3 USO DE CMD EN INFARTO DE MIOCARDIO**

El trasplante de DPSC no sólo evita el remodelado ventricular, sino también mejora la contractilidad regional. De hecho, la mejora de la función cardíaca se correlacionó con la reducción del tamaño del infarto, una mayor densidad capilar, y el aumento de grosor de la pared, además, el análisis ultraestructural de la pared de las zonas de peri-infarto mostraron un incremento en los haces cardiomiocitos que redujeron área infartada y una mayor proporción de miofibroblastos en el grupo DPSC. Los datos aquí presentados sugieren que los beneficios observados después del trasplante de DPSC podría ser debido a la secreción de paracrina, el tejido adiposo derivado de MSC, trasplantado como una monocapa, aumentó el espesor de la pared y mejorado la función cardíaca tras un infarto de miocardio a través de la secreción de factor de crecimiento de hepatocitos y VEGF. Mostrando que las DPSC humanas tienen un nivel de expresión génica similar a la de las células madre de la médula ósea (BM-MSC) (30).

### **3.2.4 REGENERACIÓN HEPÁTICA**

El tejido dental puede dar lugar a linajes de células del endodermo tales como hepatocitos. Es importante destacar que en el presente estudio, se ha logrado la clonación de células progenitoras adultas multipotentes (TGPCs) desde el germen del diente humano, y mostró que TGPCs que fueron sometidos a la inducción in vitro hepática tenía un efecto terapéutico significativo sobre la lesión hepática inducida por CCl<sub>4</sub>. A raíz de la expansión clonal, diferenciados TGPCs suprime la

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

inflamación y la fibrosis en el hígado de las ratas tratadas con CCl4 y ha contribuido a la restauración de la función hepática, evaluada por la medición de marcadores séricos hepáticos (31).

### **3.2.5 SUPRESIÓN DEL VIRUS DEL VIH**

Con células madre modificadas, el 12 de abril del 2012 un grupo de investigadores de la Universidad de California, Los Ángeles de Estados Unidos, demostraron que estas células son capaces de atacar células infectadas con el virus en un organismo vivo. Tomaron linfocitos T CD8 citotóxicos que son células capaces de reconocer y matar células infectadas por VIH, estas células están en bajas cantidades durante la enfermedad impidiendo que el virus sea eliminado. Estos investigadores clonaron el receptor y lo utilizaron para clonar genéticamente las células madre multipotentes. Se colocaron en el timo de un ratón portador, permitiendo probar la reacción del organismo. Los resultados fueron: una notable disminución del virus en los lugares donde este reside y se replica, estas células modificadas son capaces de desarrollar y migrar a los órganos para combatir la infección allí. Aún se necesitan más estudios para utilizar estas células modificadas en humanos, pero éste resulta un paso alentador a la cura de esta enfermedad pandémica (32).

## **IV: REPARACIÓN DE LOS TEJIDOS ORALES**

Cicatrización: Reparación de los tejidos injuriados con tejido conectivo cuando este no puede autorepararse (33).

Regeneración: Es la capacidad de restauración de algunos tejidos por medio de la proliferación de células que no han sido afectadas (33).

Los tejidos bucales pueden ser afectados por causa de eventos traumáticos, por heridas generadas cuando se interviene a un paciente que son propias de la técnica quirúrgica aplicada o por algún traumatismo ocasionado accidentalmente (34).

Los traumatismos pueden ser físicos y químicos; como laceraciones, descalpes, dermoabrasiones, contusiones, incisiones, exposiciones a temperaturas extremas, radiación, etc (35).

### **4.1. REGENERACIÓN ÓSEA**

### ***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

Entre las partes de las superficies que han sido injuriadas por algún traumatismo existe sangre extravasada que proviene de vasos que han sido parte de la injuria, esta sangre forma un coagulo y pasa a vascularizarse dando paso a la formación de un callo, luego se comienza a formar una sustancia celular donde son depositadas sustancias formadoras de tejido óseo. Dando paso a la formación de cartílago que luego se convertirá en hueso (33). Los eventos que ocurren en la cicatrización normal de los tejidos blandos (inflamación, fibroplasia, y remodelación) también tienen lugar en la reparación del hueso.(34)

## **4.2. CICATRIZACIÓN DE LOS ALVEOLOS DENTARIOS POSTERIOR A LA EXODONCIA**

Al momento de la extracción obtenemos una fractura abierta ya que al extraer el diente, el hueso y el resto de los tejidos quedan expuestos al medio ambiente bucal, donde habitan un sinnúmero de bacterias saprófitas. Luego de esto se activa la cadena regenerativa que incluyen inflamación, formación o reparación de epitelio, tejido fibroso y por último la remodelación (36).

.La cicatrización en alveolos post extracción ocurre por segunda intención.

El proceso de la reparación del alveolo será revisado en el siguiente resumen (37):

### **Primera semana:**

- Inflamación: presencia de leucocitos.
- Aumento de los fibroblastos y capilares.
- Mientras disminuye la inflamación el tejido de granulación se va convirtiendo en tejido fibroso

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

- Aparecen focos de formación ósea y hay reparación del epitelio mucoso migrando hasta hacer contacto con el otro borde de epitelio.

-Presencia de osteoclastos a lo largo de la cresta ósea.

**Segunda semana:**

-El alveolo se llena de tejido de granulación

-Deposición de osteoide

**Tercera y Cuarta semana:**

-Termina la epitelización alveolar

-Reabsorción de la cortical ósea

-Nuevo trabeculado óseo

**Cuarto y Sexto mes:**

-Cortical de hueso Nuevo cubre el alveolo, este está remodelado y cubierto por periostio y mucosa.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

En la ciudad de Guayaquil se realizó el siguiente estudio donde 3 pacientes formaron parte, el tamaño de la muestra se escogió considerando el alto precio de la crio preservación celular. Para la extracción de los terceros molares superiores el cual se utilizó el colgajo con forma de L y en los inferiores se utilizó el colgajo tipo Magnus, se usaron; 5.4 mililitros de anestésico 4% (1:100,000) SEPTODONT (articaína), mango de bisturí No. 3 y una hoja no. 15, se luxó el órgano dentario con un elevador recto No. 301m y fue manipulado con pinza de mosquito, también se utilizó una cámara DSLR Nikon D5000, radiografías digitales pre y post operatorias.

Las piezas extraídas fueron los terceros molares superiores, derecho e izquierdo, colocándolos inmediatamente en leche fría para garantizar el estado celular del tejido pulpar, estas piezas fueron empaquetadas y enviadas al laboratorio BIoEDEN en la ciudad de Houston, Texas, en Estados Unidos, para que las células sean aisladas y criopreservadas, éstas estuvieron listas luego de 21 días. Se las pidió al laboratorio para poder implantarlas en el alveolo inferior, llegaron en cajas de petri empaquetadas, luego de las extracciones inferiores éstas fueron abiertas e inmediatamente se las colocó en colágeno y se procedió a implantar y suturar, luego de 2 meses el paciente fue radiografiado y se midió en milímetros tomando como referencia el límite cemento-esmalte. Dando como resultado un 66.67% de éxito en el lado implantado. El promedio de edad fue de 20 años.

Antes de todo el procedimiento, los pacientes llenaron una historia clínica donde se preguntó su estado de salud, para utilizarlo como criterio de exclusión.

Se tomó en cuenta 1 parámetro.

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

**PARÁMETROS:**

1. Cantidad de neo formación ósea con relación al tiempo.

**INCLUSIONES:**

1. Salud
2. Presencia de los 4 terceros molares
3. Terceros molares no erupcionados
4. Hasta 20 años de edad

**EXCLUSIONES GENERALES:**

1. Pacientes que reciban medicación inmunosupresora
2. Pacientes que reciban constante radiación
3. Alto índice de caries y mala higiene

*Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.*

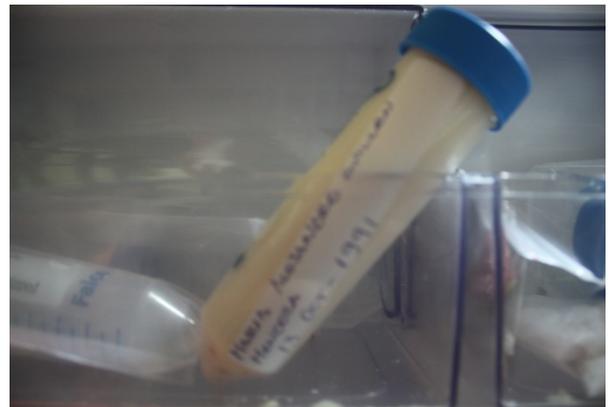
## MATERIALES



**Fig. No. 10: Mesa quirúrgica**  
**Fuente:** Estefanía Macías Acosta,  
Guayaquil Ecuador

**Fig. No.11 : Tubo de leche receptor de las muestras**

**Fuente:** Estefania Macias Acosta



**Fig. No. 12: Caja para envío de muestras**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

*Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.*



**Fig. No. 13:** Cámara Nikon D500

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

## METODOLOGÍA



**Fig. No.14. Extracción terceros molares superiores**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta



**Fig. No. : Envío de muestra**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

**Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.**

[Return to site](#)



Call toll-free at 888-315-3843 Client Services

[Home](#)   [My Account](#)   [My Dependents](#)   [Extend Storage](#)   [Add a New Process](#)   [Refer a Friend](#)   [User Profile](#)   [Log Out](#)

### Process status view

**STN: 030912-1A Joana M A**  
in processing for 20 days

Stage	Normal Days	Description	Passed
RECEPCION DE DIENTE	0-1	El diente se ha recibido y está en evaluación inicial por parte de nuestro equipo de biólogos.	
EVALUACIÓN DE LABORATORIO	1-2	El diente ha pasado la evaluación inicial y ha iniciado el proceso BioEDEN de aislamiento celular.	
TIEMPO EN CUARENTENA	4-6	El diente ha sido removido de cuarentena donde todas las muestras son examinadas y descontaminadas.	
PRESENCIA DE CÉLULAS	8-16	Se ha detectado actividad celular la cual se encuentra en monitoreo constante por parte del equipo científico. Esta es una indicación positiva de que el proceso culminará exitosamente.	
PRUEBA FINAL	14-20	Las células madre han pasado todos los criterios de preservación de largo plazo y se ha confirmado su salud y viabilidad.	
CRÍO-PRESERVACION COMPLETADA	15-21	Hemos aislado y crío-preservado las células madre para su uso futuro.	

© 2009 BioEDEN Tooth Cell Bank. All rights reserved [Terms & Conditions](#)

**Fig. No 15. Proceso de aislamiento y criopreservación**

**Fuente: BioEDEN, Tooth Cell Bank**

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***



**Fig. No 16. Extracción e implantación de CM**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

## **RESULTADOS**

Para obtener resultados se tomó en cuenta el límite cemento esmalte como referencia, éste fue representado como valor "0". Por lo tanto el "0" indica normalidad mientras los valores mayores a "0" se tomaron como positivos y los menores a "0" como negativos mostrando fracaso, como veremos en la siguiente tabla:

<b>CONDICIÓN</b>	<b><math>X = 0</math></b>	<b>IDEAL</b>
<b>SI :</b>	<b><math>X &gt; 0</math></b>	<b>EXCESO DE FORMACIÓN ÓSEA</b>
<b>SI:</b>	<b><math>X &lt; 0</math></b>	<b>MENOR CANTIDAD DE FORMACIÓN ÓSEA</b>

**Tabla No. II: Nomenclatura**  
**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

Siguiendo la nomenclatura explicada en la tabla anterior tenemos: que en el paciente A, el resultado óptimo lo obtuvo el lado en el cual se implantaron las células madre, mientras que en el lado sin la implantación faltaron 3,5mm para llegar al límite cemento esmalte. En el paciente B el lado implantado obtuvo -0.5mm con respecto al límite, o sea que no llegó al punto "ideal" mientras que en lado sin células madre faltaron 3mm para llegar al límite cemento esmalte. El paciente C mostró un

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

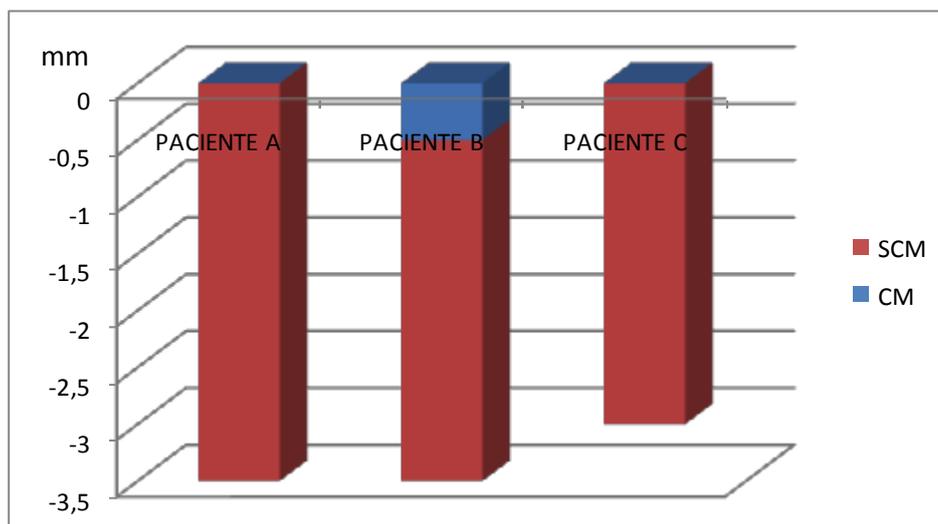
resultado “ideal” en el lado de la implantación mientras que en el otro lado se obtuvo -3mm con referencia a “0”.

	<b>CON CÉLULAS MADRE</b>	<b>SIN CÉLULAS MADRE</b>
<b>PACIENTE A</b>	0mm	-3,5mm
<b>PACIENTE B</b>	-0.5mm	-3mm
<b>PACIENTE C</b>	0mm	-3mm

**Tabla No. III: Resultados del parámetro “Neo formación ósea”**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

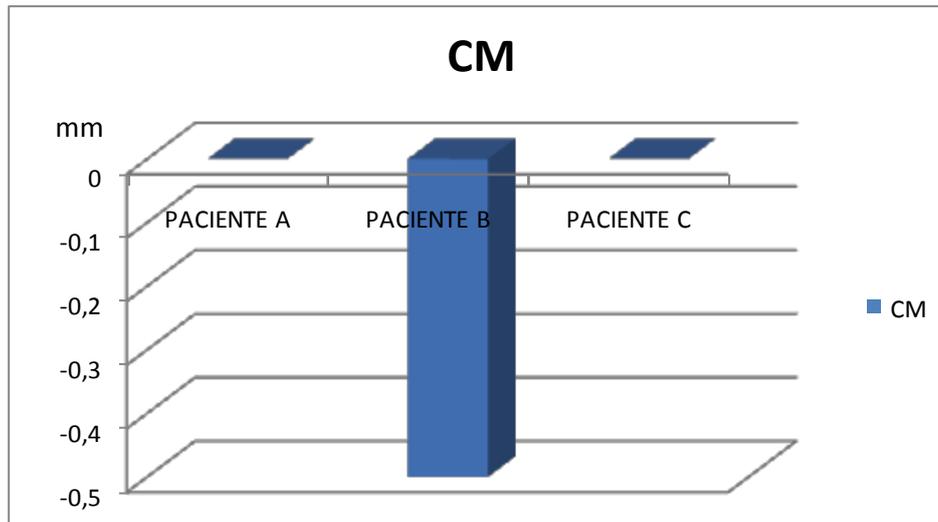
Como podemos observar en este gráfico, la implantación de células madre para una acelerada regeneración ósea tiene un % de éxito muy alto. Este estudio indica que 2 de los 3 pacientes tuvieron resultados positivos, es decir hay una probabilidad de éxito total de un 66,67%.



**Tabla No. IV: Resultados del parámetro “Neo formación ósea”**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

**Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.**

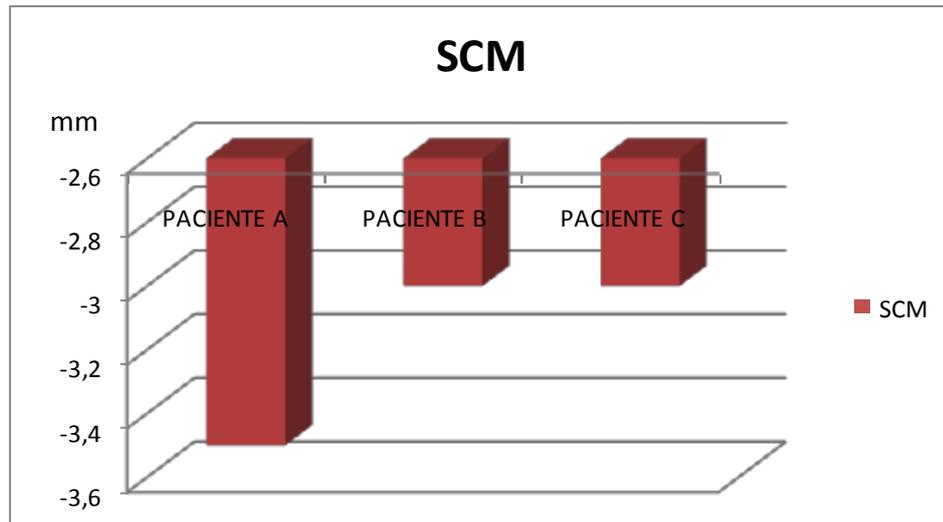


**Tabla No. V: Resultados del parámetro “Neo formación ósea” Con Células Madre**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

El resultado del paciente “B” nos demuestra que aunque la neo formación ha sido demostrada aún quedan cosas por mejorar y buscar la manera de controlar los resultados. A diferencia del lado que no tuvo implantación la regeneración es mucho más lenta.

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***



**Tabla No. VI: Resultados del parámetro “Neo formación ósea” Sin Células Madre**

**Fuente:** Estefanía Macías Acosta

## CASOS CLÍNICOS

### CASO CLÍNICO # 1



**Fig. No. 17: Extracción piezas superiores**  
**Fuente: Estefanía Macías Acosta**

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

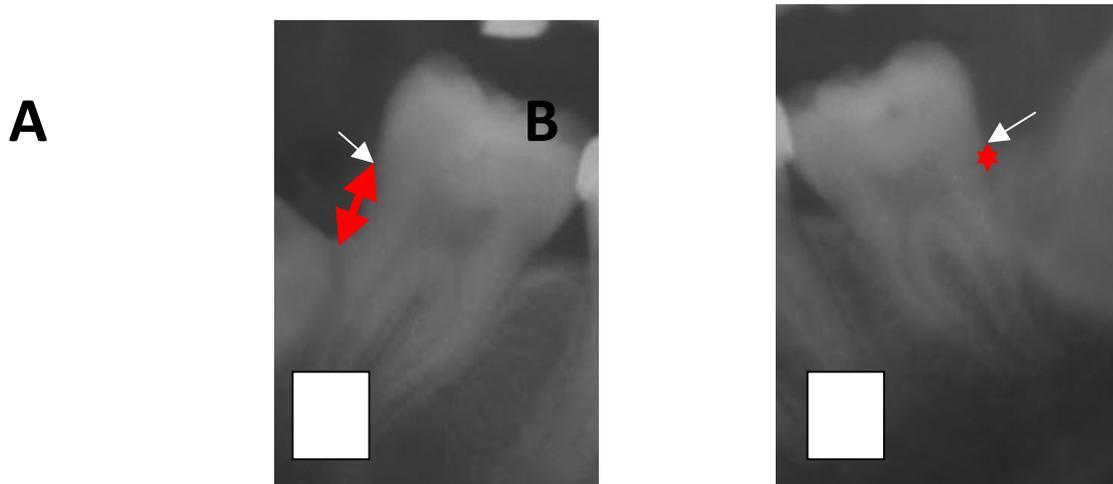


**Fig. No. 18: muestra**  
**Fuente: Estefanía Macías Acosta**



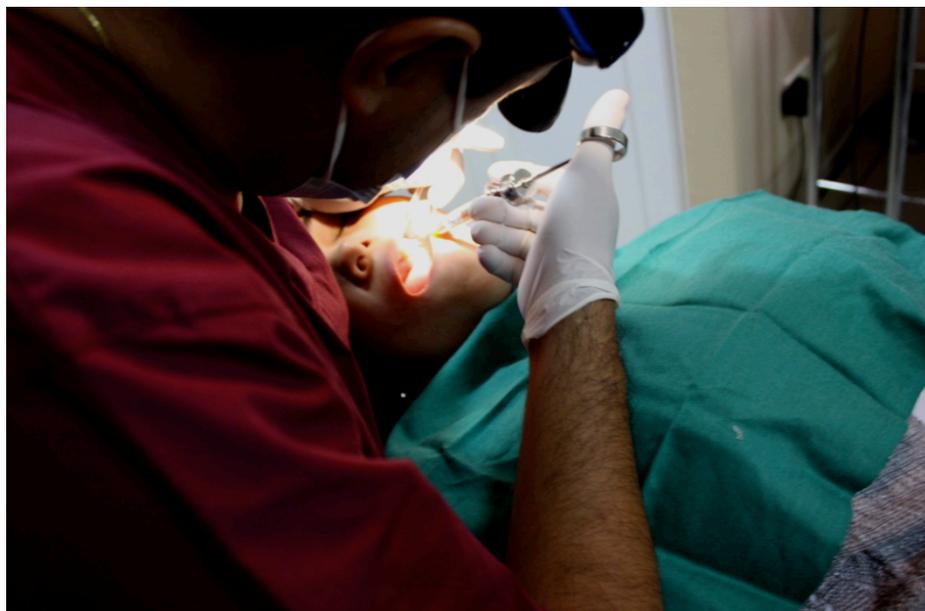
**Fig. No. 19: Extracción piezas inferiores e implantación**  
**Fuente: Estefanía Macías Acosta**

*Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.*



**Fig. No. 20: Comparación de tejido óseo neo formado. Lado "A" (-3,0mm), sin células madre, lado "B" (-0,5 mm), con células madre**  
**Fuente: Estefanía Macías Acosta**

## CASO CLÍNICO # 2

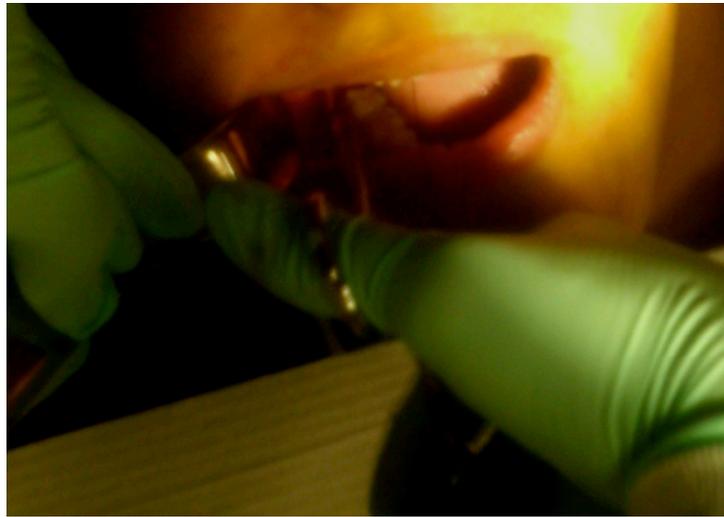


**Fig. No. 21: Extracción piezas superiores**  
**Fuente: Estefanía Macías Acosta**

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***



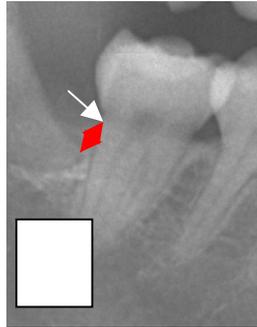
**Fig. No. 22:muestra**  
**Fuente: Estefania Macias Acosta**



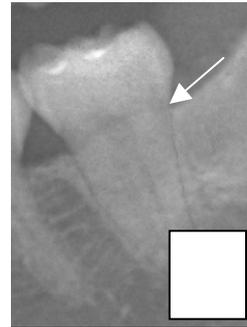
**Fig. No. 23: Extracción terceros molares inferiores e implantación y suturas**  
**Fuente: Estefania Macias Acosta**

*Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.*

**A**



**B**



**Fig. No. 24: Comparación de tejido óseo neo formado. Lado A (-3mm), sin células madre, lado B, con células madre (0mm)**

Fuente: Estefanía Macías Acosta

## **CONCLUSIONES**

En esta muestra se encontró que la implantación de células madre induce a la neo formación ósea de una forma más rápida (66,67%) que de forma fisiológica, demostrando el potencial regenerador de las CM.

El uso de células madre presenta cambios óseos tempranos que se compararon con el lado sin implantación. La cicatrización de alveolo es mejor mostrando una perdida mínima de volumen en el reborde alveolar.

## **RECOMENDACIONES**

Para posteriores investigaciones en este tipo de estudio se aconseja:

1. Contar con un laboratorio de aislamiento y crio preservación de células madre en el país.
2. Realizar estudios con una muestra más grande y con un largo plazo de seguimiento, mínimo de un año.
3. Tomar en cuenta las muestras histológicas de las muestras óseas obtenidas en el estudio, respetando los protocolos de investigación en humanos.
4. Contar con recursos ya sea de la universidad, del estado o de organizaciones destinadas a la investigación ya que este procedimiento de crio preservación y el aislamiento de células madre es de alto costo

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Terese Winslow, **Celulas Madre. Progreso científico y futuras líneas de investigación**, National Institutes of Health department of health and human services, Junio 2001, capitulos # 1,2,3,4
- 2.- Jeremy J. Mao, DDS, PhD and Fiona M. Collins, **Stem Cells: Sources, Therapies and the Dental Professional A Peer-Reviewed Publication**, Academy of Dental Therapeutics and Stomatology, 2006
- 3.- F. Prósper, C.M. Verfaillie, **Células madre adultas**, Anales Sis. San Navarra v.26 n.3 Pamplona dic. 2003, versión impresa ISSN 1137-6627
- 4.- Myriam Magallanes Fabian, et al. **Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental**, Revista odontológica mexicana. Vol 14 núm. 1, Marzo 2010 pp 15-20.
- 5.- Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T, Blackstad M, Reyes M, **Verfaillie CM. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain.** Exp Hematol 2002; 30: 896-904.
- 6.- Grant MB, May WS, Caballero S, Brown GA, Guthrie SM, Mames RN et al. **Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization.** Nat Med 2002; 8: 607-612.
7. Donald G. Phinney, **Adult Stem Cells Biology and Methods of Analysis**, DOI 10.1007/978-1-61779-002-7, 2011
- 8.- J Bone Miner Shi S, Gronthos S., **Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp**, Source Craniofacial and Skeletal Diseases Branch, National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. 2003 Apr;18(4):696-704
- 9.- Eduardo garcia peregrin, **Bioetica, temas para el debate**, capitulo II pag 69. PM 1931 2008

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

- 10.- Viviana Marcela Rodríguez-Pardo, **Células madre: conceptos generales y perspectivas de investigación**, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Cra. 7, No. 43-82, Bogotá, D.C. Vol. 10, No. 1, 5-14 2005
11. Gerardo Romero Jasso, Mtra. Beatriz C. Aldape Barrios, **Bioingeniería dental, ¿El futuro de la terapia en odontología?**, Facultad de Odontología. UNAM, CU. Revista /vol. LXVIII. NO.4. pp. 169174 aDM /Julio-agosto 2011
12. Vipin Arora, Pooja Arora, AK Munshi, **Banking Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED): Saving for the Future**, The Journal of Clinical Pediatric Dentistry Volume 33, Number 4/2009
13. Wataru Sonoyama,#1,3 Yi Liu,#2 Dianji Fang,2 Takayoshi Yamaza,1Byoung-Moo Seo,4 Chunmei Zhang,2 He Liu,5 Stan Gronthos,6 Cun-Yu Wang,7 Songtao Shi,2\* and Songlin Wang1, Mesenchymal Stem Cell-Mediated Functional Tooth Regeneration in Swine, Emory University, United States of America, diciembre 2006
14. Noriaki koyama, DDS, yasunori okubo, DDS, Phd, Kazumasa Nakao, DDS, and kazubisa Bessho, DDS, DMsc, **Evaluation of pluripotency in human dental pulp cells**, American Association of oral and maxillofacial surgeons 67:501-506, 2009
15. Virginia Tirino & Francesca Paino & Riccardo d Aquino & Vincenzo Desiderio & Alfredo De Rosa & Gianpaolo Papaccio, **Methods for the Identification, Characterization and Banking of Human DPSCs: Current Strategies and Perspectives**, Stem cell Rev and Rep. Department of experimental medicine, section of histology and embryology, second university of naples, DOI 10.1007/s1201-5-011-92359Italy. Febrero 12 2011
16. Vipin Arora, Pooja Arora, AK Munshi, **Banking Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth (SHED): Saving for the Future**, The Journal of Clinical Pediatric Dentistry Volume 33, Number 4/2009
17. Erdal Karaöz, Burcu Nur Dofan, Ayça Aksoy, Gülçin Gacar, Serap Akyüz, Selda Ayhan, Zehra Seda Genç, Sinan Yürüker, Gökhan Duruksu, PÂnar Çetinalp Demircan, Ayla Eker SarÂboyac, **Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth**, Histochem Cell Biol (2010) 133:95–112 DOI 10.1007/s00418-009-0646-5

18. D'Aquino R, Papaccio G, Laino G, Graziano A. **Dental Pulp Stem Cells: A Promising Tool For Bone Regeneration.** Stem Cell Rev.; 4:21-26. 2008
19. Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. **Mesenchymal Stem Cells derived form dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in Regenerative Medicine.** J Dent Res; 88(9):792-806, 2009
20. Zhao Z, Wang Y, Wang D, Liu H, **The Regulatory Role of A Disintegrin and Metalloproteinase 28 on the Biologic Property of Human Periodontal Ligament Stem Cells.** J Periodontol. 81:934-944, 2010;
21. Riccardo d'Aquino, Alfredo De Rosa, Vladimiro Lanza, Virginia Tirino, Luigi Laino, Antonio Graziano, Vincenzo Desiderio, Gregorio Laino and Gianpaolo Papaccio **Human mandible bone defect repair by the grafting of dental Pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes,** Dipartimento di Discipline Odontostomatologiche, Ortodontiche e Chirurgiche, Division, Secondo Ateneo di Napoli, Naples, Italy REu dr'oApqeaunin Co eeltlsala.n d Materials V o l . 18 ( pages 75 - 83 ), 2009
22. S.E. Duailibi, M.T. Duailibi, W. Zhang, R. Asrican, J.P. Vacanti and P.C. Yelick, **Bioengineered Dental Tissues Grown in the Rat Jaw,** Journal of Dental Research, DOI: 10.1177/154405910808700811, 2008.
23. Andre' de Mendonca Costa, MD,\* Daniela F. Bueno, DDS, PhD,1 Marlia T. Martins, DDS, PhD,2, **Reconstruction of Large Cranial Defects in Nonimmunosuppressed Experimental Design With Human Dental Pulp Stem Cells,** J DENT RES 2008 87: 745
24. Huang GT, Yamaza T, Shea LD, Djouad F, Kuhn NZ, Tuan RS, Shi S., **Stem/Progenitor Cell-Mediated De Novo Regeneration of Dental Pulp with Newly Deposited Continuous Layer of Dentin in an In Vivo Model,** Pub Med; September 8, 2009.
25. George T.-J. Huang, DDS, MSD, DSc, Wataru Sonoyama, DDS, PhD, Yi Liu, DDS, PhD, He Liu, DDS, PhD, Songlin Wang, DDS, PhD, and Songtao Shi, DDS, PhD, **The Hidden Treasure in Apical Papilla: The Potential Role in Pulp/Dentin Regeneration and BioRoot Engineering,** J Endod. Author manuscript; available in PMC 2009 March 9.
26. Olga Golonzhkaa, Daniel Metzgerb, Jean-Marc Bornertb, et al. **Ctip2/Bcl11b controls ameloblast formation during mammalian odontogenesis,**

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

Departments of aPharmaceutical Sciences, Mechanical Engineering, and Biochemistry and Biophysics, Oregon State University, Corvallis University of California, San Diego at La Jolla, CA, January 16, 2009

27. J. Liu, T. C. Jin, S. Chang, A. Czajka-Jakubowska, B. H. Clarkson, **Adhesion and growth of dental pulp stem cells on enamel-like fluorapatite surfaces**, Wiley Online Library , 4 January 2011 in. DOI: 10.1002/jbm.a.33002
28. AGNES ARTHUR, GRIGORI RYCHKOV, SONGTAO SHI, SIMON ANDREA KOBLAR, STAN GRONTHOS, **Adult Human Dental Pulp Stem Cells Differentiate Toward Functionally Active Neurons Under Appropriate Environmental Cues**, USA STEMCELLS 2008;26:1787–1795
29. Furong Li<sup>1</sup>, Caihong Chang<sup>2</sup>, Hanxin Zhou<sup>1</sup>, Feili Gong, **Bone marrow mesenchymal stem cells orthotopic transplantation reverse diabetes**, Cell Research (2008) 18:s69.
30. CAROLINA GANDIA, ANA ARMINAN, et al. , **Human Dental Pulp Stem Cells Improve Left Ventricular Function, Induce Angiogenesis, and Reduce Infarct Size in Rats with Acute Myocardial Infarction** Hospital Universitario La Fe, Valencia, Spain STEMCELLS 2008;26:638–645
31. Etsuko Ikeda . Kiyohito Yagi . Midori Kojima, et al. **Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease**, national Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST) (Japan). Journal compilation, 2007
32. Scott G. Kitchen, Bernard R. Levin, et al. **In Vivo Suppression of HIV by Antigen Specific T Cells Derived from Engineered Hematopoietic Stem Cells**, Plos pathogens, 2012.
33. Guillermo raspall, **Cirugia oral e implantologia**, Medica panamericana segunda edición, 2007, capitulo 12, paginas 289-329.
34. James R. Hupp, et all, **Cirugía oral y maxilofacial contemporánea** quinta edición, travesera de gracia, parte I pag 48-56 2009
35. Peterson L. J., Hupp J., Ellis E., Tucker R. **Contemporary of oral and maxillofacial surgery**. St. Louis: Mosby;1988
36. Ganong W. **Fisiología médica**. 18.<sup>a</sup> edición. México: Editorial El Manual Moderno; 2002.

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

37. Lars Andersson, Karl- Erik Kahnberg, M. Anthony Pogrel, **Oral and maxillofacial surgery**, Blackwell Publishing, cap 10, complications associated with dentoalveolar surgery pag 155

***Cicatrización fisiológica vs. Cicatrización con implantación de células madre en terceros molares extraídos.***

## **ANEXOS**