

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado

Odontologiako Gradua / Grado en Odontología

CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y PROTOCOLO DE ALMACENAMIENTO A LARGO PLAZO PARA USO TERAPÉUTICO FUTURO

Egilea /Autor:

Ainhoa Beraza Cuesta

Zuzendaria / Director/a:

Alberto Anta Escuredo

Zuzendarikidea/Codirector/a:

Estibaliz Rámila Sánchez

Leioa, 2020ko maiatzaren 23a / Leioa, 23 de mayo de 2020.

Quiero agradecer a mi profesor y tutor, el Dr. Alberto Anta Escuredo, por ser mi guía y apoyo en este trabajo. También por su paciencia y por compartir sus conocimientos en las prácticas clínicas realizadas en la Universidad.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. HISTORIA.....	2
1.2. HISTORIA DE LAS CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE ORIGEN DENTAL	3
1.3. FUENTES DE CÉLULAS MADRE	4
1.4. TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE.....	5
1.5. CARACTERIZACIÓN Y AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE ORIGEN DENTAL	6
1.6. POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS DE LAS CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL	7
2. OBJETIVOS	7
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
3.1. REVISIÓN SISTEMÁTICA.....	8
3.1.1. Criterios de inclusión y exclusión.....	8
3.2. PROTOCOLO DE OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL.....	9
4. RESULTADOS	9
4.1. REVISIÓN SISTEMÁTICA.....	9
4.2. PROTOCOLO DE OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL.....	18
5. DISCUSIÓN	21
6. CONCLUSIONES.....	29
7. BIBLIOGRAFÍA.....	30

RESUMEN

Existen diferentes fuentes de células madre mesenquimales en la cavidad oral. Éstas se caracterizan por su potencial de autorenovación y propiedades de multidiferenciación y han demostrado ser una opción prometedora en las terapias de regeneración en el campo de la odontología y la medicina general.

OBJETIVOS

Realizar una revisión sistemática relativa a las células madre mesenquimales de origen dental., sus principales fuentes, potencial de diferenciación y aplicaciones médicas y odontológicas.

Dar a conocer un nuevo servicio que pueden proporcionar las clínicas odontológicas a sus pacientes vinculado a la obtención y almacenamiento de sus células madre mesenquimales en una empresa especializada durante un período de tiempo para su posible uso terapéutico futuro.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se dividen en dos partes: una relativa a la revisión sistemática y otra relativa a la obtención, transporte y almacenamiento de las células madre dentales.

Para la revisión sistemática realiza una búsqueda manual y electrónica en las bases de datos PubMed, Scielo y Cochrane. Se incluyeron artículos relacionados con células madre de origen dental humanas, escritos en inglés o español y disponibles a texto completo que hubieran sido publicados en los últimos 10 años.

Para la realización del protocolo clínico de obtención y almacenamiento de las células madre dentales se contactó con el laboratorio Biobanco Celular S.L.

RESULTADOS

En la revisión sistemática se incluyeron 34 artículos para su análisis. Los resultados obtenidos en el campo de la odontología demuestran que las células madre mesenquimales de origen dental han logrado regenerar el complejo dentino-pulpar, el tejido periodontal y el tejido óseo siendo una alternativa terapéutica en el campo de

la endodoncia, la periodoncia y la cirugía. Así mismo han demostrado efectos terapéuticos en numerosos procesos patológicos sistémicos.

CONCLUSIONES

Las células madre mesenquimales han demostrado una alta capacidad proliferativa y multipotencial. Se encuentran en varios tejidos de la cavidad oral y son efectivas en tratamientos regenerativos en el campo de la odontología y la medicina general. Los biobancos celulares ofrecen la capacidad de poder criopreservar estas células durante un periodo de tiempo para uso terapéutico futuro.

PALABRAS CLAVE

”STEM CELL” & “DENTAL” & “PULP” & “APICAL PAPILA” & “PERIODONTAL LIGAMENT” & “THERAPY” & “UTILITY” & “ENDODONTIC”.

1. INTRODUCCIÓN

Las células madre, también conocidas como células troncales o stem cells, son un grupo específico de células indiferenciadas con potencial de proliferación elevado, con capacidad de auto-renovarse y de diferenciarse en uno o más tipos celulares que desempeñan funciones especializadas en el organismo (Mayani, 2003).

La autorrenovación consiste en la capacidad que estas células tienen para experimentar sucesivos ciclos de división celular sin diferenciarse (Díaz López, 2018). Es decir, una célula madre se divide dando dos células hijas que al menos una de ellas conserva las características de la madre sin diferenciarse en ningún nuevo tipo celular. Así, la población de células madre va autorrenovándose para conservarse en el organismo un número constante de éstas.

La capacidad de diferenciación consiste en que estas células pueden transformarse en cualquier tipo celular del organismo (Díaz López, 2018).

En condiciones normales estas células no se dividen pero si hay alguna injuria en los sitios donde éstas se encuentran, se diferencian y favorecen el proceso de reparación (Inostroza, 2018).

En el organismo existen distintos tipos de células madre y estas pueden clasificarse según su potencial de diferenciación o según su origen.

Según su potencial de diferenciación distinguimos 4 tipos: totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes. Las células madre totipotentes son las células más indiferenciadas y son las que presentan un potencial de diferenciación máximo. Son capaces de dar origen a tejidos embrionarios y extraembrionarios, es decir, pueden generar un embrión. Este tipo de células son producidas por la fusión de un óvulo y un espermatozoide (las primeras células de la división del cigoto) (González-Andrade y López-Pulles, 2009). El segundo tipo, las células madre pluripotentes, son descendientes de las totipotentes y provienen de la masa celular interna del blastocito. Éstas son capaces de dar origen a cualquier linaje celular pero no son capaces de dar origen a un embrión (Rodríguez Yunta, 2003). El tercer tipo, las células madre multipotentes, también denominadas progenitoras, son células más especializadas que las anteriores y solamente pueden diferenciarse en células de su

propia capa germinal de origen (endodermo, mesodermo o ectodermo). Éstas se encuentran en algunos tejidos adultos (Díaz López, 2018) como la médula ósea, el tejido adiposo, los músculos, algunos tejidos dentarios... (Inostroza, 2018). Por último, tenemos las células madre unipotentes que solo pueden diferenciarse a un tipo celular. Éstas son las que menos potencial de diferenciación tienen pero presentan capacidad de autorrenovación manteniéndose como población celular constante (Díaz López, 2018).

Por otro lado, clasificando estas células madre según su origen se encuentran las células madre adultas y las células madre embrionarias. Las células madre embrionarias provienen de etapas tempranas del embrión, concretamente derivan de la masa interna del embrión en el estadio de blastocito (7-14 días) y son totipotentes y pluripotentes. Estas células en condiciones normales “in vivo” no perduran siendo células madre ya que en la fase intrauterina van diferenciándose en diferentes tipos celulares. Para poder hacernos con ellas lo que se hace es extraerlas del embrión y cultivarlas en condiciones “in vitro” (Jucht, Rujano, Romero y Rondón, 2014). El otro tipo de células madre según su origen son las células madre adultas. Éstas derivan de las sucesivas divisiones de las embrionarias y cumplen funciones específicas del órgano que conforman (Jucht et al., 2014). Tienen un potencial de diferenciación más limitado que las células madre embrionarias por lo que las podríamos considerar células unipotentes o como mucho multipotentes. Su localización es menos definida que las de origen embriológico ya que se encuentran en numerosos tejidos maduros (Díaz López, 2018).

1.1. HISTORIA

A pesar de que el nombre de célula madre se estableció hace 100 años, la aplicación clínica de éstas se puede remontar al Renacimiento, siglo XVI. En esta época, Paracelso propuso la idea de que pequeñas porciones de tejidos vivos podrían usarse para tratar ciertas enfermedades (Díaz López, 2018). Un siglo después, en el año 1667, se realizó la primera transfusión de sangre de un cordero a un ser humano sangrado con sanguijuelas, terapia realizada por el médico francés Jean-Baptiste Denis.

Tras estos acontecimientos el tema quedó en el aire y no fue hasta comienzos del siglo XX cuando se estableció el nombre de célula madre o célula troncal, propuesto por el histólogo ruso Alexander Maksimov. Éste postuló la existencia de células madre hematopoyéticas, una población de células que se encontraba entre las poblaciones circulantes de linfocitos y eran pluripotentes ya que podían dar lugar a diversos tipos celulares sanguíneos.

Estas células se utilizaron a lo largo de la historia bien en trasplantes de médula ósea, bien para clonación de células... y se siguieron estudiando hasta que en el año 1970, Alexander Friedstein descubrió que en la médula ósea también existían células madre no hematopoyéticas que se identificaron como células madre mesenquimales (Díaz López, 2018), capaces de diferenciarse en células no hematopoyéticas como osteoblastos, condrocitos, adipocitos... (Inostroza, 2018). Tras este avance y tras años de investigación las células madre mesenquimales han sido aisladas del cordón umbilical, dermis, cerebro, hígado, dientes... (Gronthos, Mankani, Brahim, Robey y Shi, 2000).

1.2. HISTORIA DE LAS CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE ORIGEN DENTAL

En el año 2000, estudiando la regeneración de los dientes, Gronthos et al. (2000) identificaron células madre de la pulpa dental (DPSC) observando cómo éstas formaban colonias únicas en cultivos con auto-renovación in vivo y multidiferenciación in vitro. Tras aquel descubrimiento, el interés por las células madre de origen dental comenzó a ser mayor. Así pues, en el año 2003 fueron identificadas las células madre de los dientes deciduos (SHED) (Miura et al., 2003). Un año después se aislaron las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) (Seo et al., 2004). Más adelante en 2005 se aislaron las células madre del folículo dental de los cordales (Morsczeck et al., 2005), un año más tarde las de la papila apical de dientes permanentes inmaduros (SCAP) (Sonoyama et al., 2008) y finalmente en 2009 las últimas células madre dentales que fueron aisladas fueron de la encía (Zhang et al., 2009).

1.3. FUENTES DE CÉLULAS MADRE

Las fuentes de células madre dependen del tipo de las mismas.

Las células madre embrionarias como su nombre indica se encuentran en los estadios iniciales del embrión concretamente en la masa celular interna. Cuando éste nace las células madre también se encuentran en la sangre del cordón umbilical, líquido amniótico o placenta, pero estas células se conocen como células madre fetales (Díaz López, 2018).

Como fuentes generales de células madre adultas (**Figura 1**) tenemos como la principal o la más conocida la médula ósea. Aun así, éstas se encuentran en pequeñas cantidades en la mayoría de los tejidos adultos tales como los intestinos, la piel, el tejido adiposo, la sangre periférica (Inostroza, 2018), los vasos sanguíneos, el cerebro, la médula espinal, la córnea (Rodríguez Yunta, 2003)...

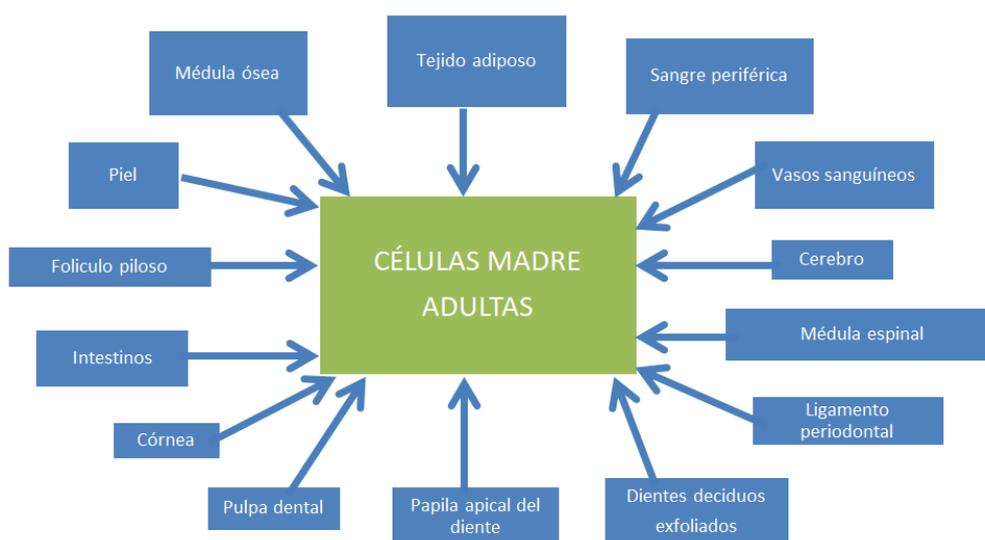


Figura 1. Fuentes de células madre adultas. (Beraza, A. 2020)

Como fuentes dentales de células madre nos encontramos con: la pulpa dental, el diente deciduo exfoliado, el ligamento periodontal, el folículo dental, la papila apical, el tejido gingival (Inostroza, 2018) y la pulpa inflamada, ésta última con menor tasa de proliferación (Wang et al., 2010). Actualmente también están siendo estudiadas las células madre mesenquimales derivadas del periostio (Inostroza, 2018). (**Figura 2**).

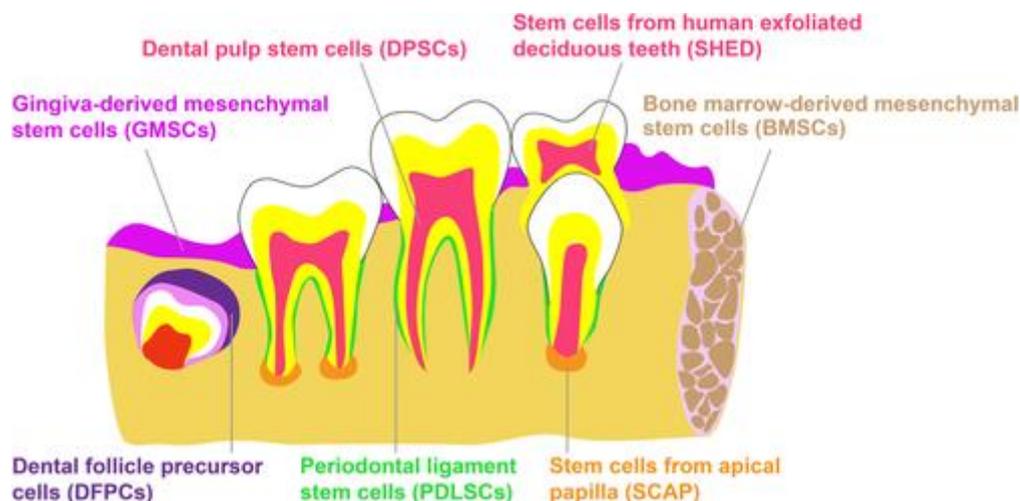


Figura 2. Fuentes de células madre. BMSCs, células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea; DFPCs, células madre del folículo dental; GMSC, células madre del tejido gingival; SHED, células madre de dientes deciduos exfoliados; DPSCs, células madre de la pulpa dental; PDLSCs, células madre del ligamento periodontal; SCAP, células madre de la papila apical. (Shi, Mao y Liu, 2020)

1.4. TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE

La obtención de células madre embrionarias tiene mucha controversia ya que estas células se encuentran en la masa interna del blastocito (Jucht et al., 2014). Por lo tanto para obtenerlas es necesaria la existencia de un cigoto (fusión de óvulo y espermatozoide) (González-Andrade y López-Pulles, 2009). Para ello hay diferentes opciones: los programas de fertilización in vitro y los abortos.

En el caso de los programas de fertilización in vitro lo que se hace es obtener un número elevado de óvulos de una mujer y se congelan hasta lograr un embarazo satisfactorio. Al conseguirlo, los embriones sobrantes se congelan según la legislación de cada país y los padres o madre que se hayan sometido al proceso deciden si los quieren donar a la ciencia (Diáz López, 2018). La otra opción con más carga ética y moral es la de la obtención de células madre embrionarias a partir de abortos. Si el aborto es espontáneo no tiene tantas implicaciones éticas pero si es inducido y no cumple los requisitos legales, sí las tendría.

Cuando ya el niño o niña nace, es posible obtener las células madre fetales de la parte embrionaria de la placenta o de la sangre del cordón umbilical (Estrela, Alencar, Kitten, Vencio y Gava, 2011).

Para la obtención de células madre adultas la técnica más utilizada es la extracción de células de la médula ósea mediante-punción aspiración de la cresta iliaca (Díaz López, 2018). Es una técnica invasiva bastante dolorosa, que se realiza mediante anestesia local (Egusa, Sonoyama, Nishimura, Atsuta y Akiyama, 2012). Se ha investigado otra técnica de obtención que consiste en el uso de fármacos que movilizan las células madre de la médula ósea a la sangre circulante. Así estas células se pueden obtener extrayendo una muestra de sangre (Díaz López, 2018). También es posible obtener células madre adultas mediante aspirados de médula ósea obtenidos de procedimientos quirúrgicos tales como tratamientos de implantes, extracciones (Egusa et al., 2012), prótesis de cadera (Díaz López, 2018)...

Tras obtenerlas tendrán que ser purificadas ya que suelen venir acompañadas de otros tipos celulares o restos de tejido. Para ello existen dos métodos: la columna de aspiración y la citometría de flujo con separación celular.

1.5. CARACTERIZACIÓN Y AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE ORIGEN DENTAL

Las células madre mesenquimales (CMM) se caracterizan por su capacidad de autorenovación, su alto potencial de proliferación y su multipotencialidad (Inostroza, 2018). A la hora de aislar y caracterizar las CMM tienen que cumplir unos criterios mínimos según la recomendación de *La Sociedad Internacional de Terapia Celular* que son:

- 1) Adherencia al plástico en condiciones estándar de cultivo.
- 2) Forma fusiforme alargada.
- 3) Capacidad multipotencial de diferenciación hacia linaje osteogénico, adipogénico y condrogénico.
- 4) Expresión de marcadores de superficie en el que el 95% de la población es positivo para STRO-1, CD73, CD90, CD105, CD29 y CD44 y la carencia de CD34,

CD45, CD14, CD11, CD79 y HLA-DR (complejo histocompatibilidad). (Cea-Sanhueza y Sánchez-Sanhueza, 2016)

1.6. POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS DE LAS CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL

Actualmente las CMM de origen dental gracias a su potencial de multidiferenciación, auto-renovación y a su facilidad de obtención son una fuente prometedora de la medicina regenerativa o reparativa, sobre todo en el campo de la odontología.

En el campo de la medicina regenerativa estas células han sido beneficiosas en el tratamiento de algunas enfermedades sistémicas como el lupus eritematoso sistémico (Yamaza et al., 2010), la diabetes mellitus (Govibdasamy et al., 2011), la enfermedad de Alzheimer (Mita et al., 2015), la terapia de infarto agudo de miocardio (Gandía et al., 2008)... Por otro lado en el campo de la odontología se han conseguido resultados favorables en la terapia de regeneración ósea (D'Aquino et al., 2007), en la regeneración de una estructura dentino-pulpar (Gronthos et al., 2000), en la del tejido periodontal (Seo et al., 2004)... Estos resultados hacen que las CMM de origen dental puedan ser una alternativa terapéutica futura para el tratamiento de diferentes enfermedades o lesiones.

2. OBJETIVOS

1. Por medio de una revisión sistemática actualizada se pretende:

*Determinar las principales fuentes de obtención de células madre vinculadas al área odontológica.

*Comparar las ventajas e inconvenientes de cada una de estas fuentes.

*Determinar las utilidades que tienen las células madre en el ámbito médico-odontológico y sus principales perspectivas de futuro.

2. Establecer un protocolo de obtención de células madre y almacenamiento en una empresa especializada para su posterior potencial empleo, adecuado a la normativa

administrativa y ético-legal vigente, para su utilización como un servicio adicional en la práctica odontológica habitual.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se diferenciará para cada una de las partes constitutivas del trabajo: la revisión sistemática relativa a células madre de origen dental y otra relativa a la elaboración de un protocolo para la obtención de células madre de origen dental, transporte y almacenamiento en una empresa especializada para su posterior potencial empleo.

3.1. REVISIÓN SISTEMÁTICA

Se realizó una búsqueda electrónica en las bases de datos PubMed, Scielo, y Cochrane, y manual en libros, tesis doctorales y otras publicaciones relacionadas con el tema. En la búsqueda electrónica se utilizaron las palabras clave "stem cells", "dental", "pulp", "apical papila", "periodontal ligament", "therapy", "utility", "endodontic", en tres ecuaciones diferentes. "DENTAL STEM CELLS"; "DENTAL PULP STEM CELLS"; "DENTAL STEM CELLS" and "DENTAL PULP STEM CELLS".

3.1.1. Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión fueron: 1) Artículos relacionados con células madre de origen dental humanas, 2) Publicados en los últimos 10 años, 3) Escritos en inglés o en castellano y 4) Disponibles a texto completo. Los criterios de exclusión fueron los trabajos que no cumplían los criterios de inclusión.

Los trabajos han sido clasificados en base al nivel de evidencia y grado de recomendación siguiendo la propuesta del Centro Oxford de Medicina Basada en la Evidencia.

3.2. PROTOCOLO DE OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL

Para la elaboración del protocolo de obtención, análisis, transporte y almacenamiento de células madre de origen dental se contactó con el laboratorio BIOBANCO CELULAR S.L situado en el Polígono Las Marismas, calle Calafates número 5, 39740 Santoña, Cantabria, España, que proporcionó la información necesaria para el desarrollo del procedimiento.

4. RESULTADOS

Se dividirán en dos partes. La selección de estudios incluidos en la revisión y el protocolo de obtención de células madre de origen dental en la clínica, su transporte, almacenamiento y los aspectos administrativos, económicos y legales. (leyes que lo regulan, el consentimiento informado, la protección de datos...).

4.1. REVISIÓN SISTEMÁTICA

Mediante la búsqueda electrónica en las bases de datos citadas, se identificaron 667 artículos. Tras leer el título y resumen de cada artículo, identificar los duplicados y por no cumplir los criterios de inclusión se descartaron 642. Por tanto, la búsqueda electrónica proporcionó 25 artículos. Añadiendo además los 9 artículos obtenidos mediante la búsqueda manual, fueron 34 los artículos que fueron incluidos en esta revisión. Este proceso de selección está recogido en el diagrama de flujo. (**Figura 3**).

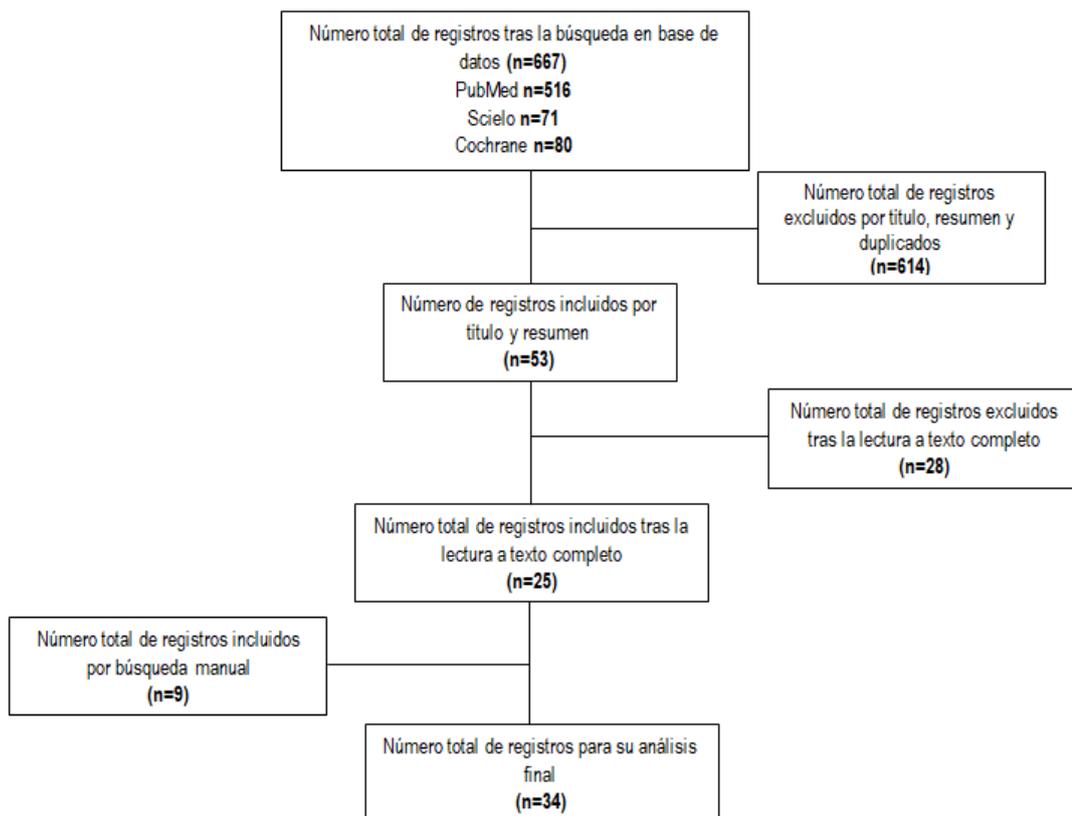


Figura 3. Diagrama de flujo.

En primer lugar se realizó una tabla comparando los diferentes tipos de células madre mesenquimales de origen dental, la fuente y el método de obtención de éstas y la capacidad de diferenciación que poseen (**Tabla 1**).

TIPO DE CÉLULA	AUTORES Y AÑO DE AISLAMIENTO	FUENTE DE OBTENCIÓN	METODO OBTENCION	CAPACIDAD DE DIFERENCIACIÓN (LINAJE)
DPSC	Gronthos et al. 2000	Pulpa de dientes permanentes (3° molares, dientes impactados)	Extracción y corte del diente a nivel de la línea amelocementaria	-Odontogénica -Osteogénica -Neurogénica -Adipogénica -Condrogénica -Miogénica
SHED	Miura et al. 2003	Pulpa dental de dientes deciduos	Extracción y separación de la pulpa coronal	-Odontogénica -Osteogénica -Neurogénica -Adipogénica -Condrogénica -Miogénica
PDLSC	Seo et al. 2004	Ligamento dental de dientes extraídos por motivos ortodóncicos, 3° molares impactados o dientes retenidos	Extracción del diente y separación cuidadosa del ligamento periodontal	-Odontogénica -Osteogénica -Adipogénica -Condrogénica -Cementogénica
DFSC	Morszeck et al. 2005	Folículo dental de 3° molares sin desarrollar	Extracción de la pieza y separación del folículo cuidadosamente	-Osteogénica -Neurogénica -Adipogénica -Cementogénica
SCAP	Sonoyama et al. 2006	Papila apical de 3° molares sin desarrollar	Extracción del diente y recogida de la papila apical	-Odontogénica -Osteogénica -Neurogénica -Adipogénica -Condrogénica
GMSC	Zhang et al. 2009	Encía (capa espinosa)	Muestras de encía sana	-Osteogénica -Neurogénica -Adipogénica -Condrogénica -Endotelial
Células madre de pulpa con pulpitis irreversible	Wang Z et al. 2010	Dientes diagnosticados con pulpitis irreversible	Obtención de la pulpa inflamada antes de realizar el tratamiento de conductos	-Odontogénica -Osteogénica -Adipogénica -Condrogénica

Tabla 1. Tipos de células madre mesenquimales dentales (CMM), fuente y método de obtención y capacidad de diferenciación de cada una. DFSC, células madre del folículo dental; DPSCs, células madre de la pulpa dental; GMSC, células madre de células madre del tejido gingival; PDLSCs, células madre del ligamento periodontal; SCAP, células madre de la papila apical; SHED, células madre de dientes deciduos exfoliados.

A continuación, los estudios se clasificaron en las siguientes tablas ordenadas en base al objetivo final de cada una de las publicaciones analizadas (**Tablas 2 y 3**). Se especificó el nombre de los autores, la fuente de obtención de las CMM dentales (todas ellas de origen humano), tipo de célula madre dental, andamio usado para el trasplante, medio de evaluación, período observacional y los resultados del estudio.

AUTOR/AÑO	NIVEL DE EVIDENCIA Y GRADO DE RECOMENDACIÓN	FUENTE	TIPO CÉLULA	BIOMATERIAL (ANDAMIO)	MEDIO DE EVALUACIÓN	CONTROL	PERIODO OBSERVACIONAL	OBJETIVO	RESULTADO
Gronthos et al. 2000	5D	3° molares humanos impactados (19-29 años)	DPSC	HA/TCP	Ratones inmunocomprometidos (superficie dorsal)		6 semanas	Regeneración de la estructura dentino-pulpar	Formación de estructura similar al complejo dentino/pulpar
Huang et al. 2010	5D	3° molares impactados con o sin raíces inmaduras (16-24 años)	SCAP y DPSC	Poli D-L-lactida-glicolida	Se insertaron en fragmentos de dientes con conductos vaciados y se trasplantaron en ratones		3 meses	Regenerar pulpa dental humana vascularizada en el espacio del conducto vaciado de un diente y producir nueva dentina	En el espacio del conducto vaciado se formó un tejido similar a la pulpa con vascularidad y en la pared del canal se formó una capa de tejido continua similar a la dentina
Piva et al. 2017	5D	3° molares 18-22 años	DPSC	-15% de FBS+ α MEM -15% de suero humano + α MEM	Trasplante a lámina de diente de 1mm de grosor y después al ratón inmunocomprometido (espacio subcutáneo)	-DPSC+FBS -DPSC+suero humano	30 días	Regenerar tejido pulpar in vivo expandida en suero humano (sin factores de crecimiento exógenos ni suero animal)	Regeneración in vivo de la pulpa utilizando las DPSC aisladas en condiciones completamente desprovistas de suero animal o de factores de crecimiento exógenos
Miura et al. 2003	5D	Incisivos deciduos exfoliados (7-8 años)	SHED	HA/TCP	Ratones inmunocomprometidos (cerebro)		8 semanas	Valorar la capacidad de inducir la formación de hueso y dentina	Regeneración dentinaria e inducción de formación de hueso
Sonoyama et al. 2008	5D	3° molares impactados con raíces inmaduras (16-24 años)	SCAP		Estudio in vitro			Identificación	Capaces de formar células parecidas a odontoblastos y producir dentina

Tabla 2. Estudios con células madre para aplicaciones odontológicas. AFSC, células madre del líquido amniótico; BMMSC, células madre de médula ósea; DPSC, células madre de pulpa dental; FBS, suero bovino; HA, hidroxiapatita; PDLSC, células madre del ligamento periodontal; PRP, plasma rico en plaquetas; SCAP, células madre de la papila apical; SHED, células madre de dientes deciduos exfoliados; TCP, fosfato tricálcico; α MEM, medio esencial mínimo alfa.

AUTOR/ AÑO	NIVEL DE EVIDENCIA Y GRADO DE RECOMENDA- CIÓN	FUENTE	TIPO CÉLULA	BIOMATE- RIAL (ANDAMIO)	MEDIO DE EVALUACIÓN	CONTROL	PERIODO OBSERVACIONAL	OBJETIVO	RESULTADO
Seo et al. 2004	5D	3° molares	PDLSC	HA/TCP	12 ratones/6ratas (cortical bucal de molar mandibular)		10 semanas	Evaluar capacidad regenerativa y reparadora del tejido periodontal	Capacidad de regenerar estructura parecida al cemento y al LPD y contribuir la reparación del tejido periodontal implantadas in vivo
Sonoyama et al. 2006	5D	3° molares (18-20 años)	SCAP+PD LSC	HA/TCP	Ratones inmunocomprometidos y en cerdos con sus células madres autólogas	-SCAP +PDLSC+HA/T CT -HA/TCP	8 semanas (TAC y análisis histológico)	Generar complejo raíz/periodontal capaz de soportar una corona de porcelana	En los cerdos se logró generar una estructura mineralizada rodeada de tejido similar al periodontal capaz de soportar una corona de porcelana. Con una resistencia a la compresión significativamente mejor que los que no recibieron células madre. En humano solo se conseguió la formación de cemento
Yamamiya et al. 2008	2B	Láminas periostio humano	Láminas periostio	Plasma rico en plaquetas y HA	Defectos intraóseos interproximales 30 pacientes	-Láminas periostio+PRP+ HA -HA+PRP	12meses (clínica +RX)	Respuesta clínica en el tratamiento de defectos periodontales infraóseos humanos	Grupo experimental: mejor resultado en ganancia de fijación clínica, y densidad ósea incluso cuando el grupo control obtuvo buenos resultados
D'Aquino et al. 2007	5D	Dientes extraídos por motivos de ortodoncia	DPSC	Carbonato de trimetileno y ácido poliglicólico lácteo	Ratas inmunocomprometidas (superficie dorsal)	Andamio solo Andamio+DPS C	60 días	Formación tejido óseo	Formación de tejido óseo. Capaces de inducir la osteogénesis, la angiogénesis y la vascularización del tejido óseo
D'Aquino et al. 2009	2B	3° molares bilaterales	DPSC	Espónja de colágeno	Alvéolos post exodoncia	DPSC+coláge- no Colágeno	3 meses. (RX y análisis histopatológico)	Reparación de defecto óseo alveolar secundario a exodoncia	Lado control cantidad de hueso menor. 4.4 ± 1.2 mm ganancia. Lado experimental: 6.2 ± 2.3 mm A los 3 años en las muestras lado experimental hueso uniformemente vascularizado y más compacto (Giuliani. et al. 2013)

Tabla 2. Continuación

AUTOR/ AÑO	NIVEL DE EVIDENCIA Y GRADO DE RECOMENDA- CIÓN	FUENTE	TIPO CÉLULA	BIOMATERIAL (ANDAMIO)	MEDIO DE EVALUACIÓN	CONTROL	PERIODO OBSERVAC IONAL	OBJETIVO	RESULTADO
D'Aquino et al. 2016	2B	Microinjerto derivado del periostio pacientes en tratamiento periodontal	Periostio	Colágeno	Alveolo post exodoncia. 1 lado control y otro experimental	-Microinjerto derivado del periostio+colágeno -Colágeno solo	45, 60, 90 y 120 días	Evitar reabsorción ósea	Reducción de la reabsorción ósea y el aumento de la formación de nuevo tejido óseo. Menor reabsorción y osificación más rápida en el grupo experimental
Barbier et al. 2018	1B	Exodoncia bilateral 3° molares mandibulares (18-30 años)	DPSC	Matriz colágeno	Alveolo post-exo bilateral	-DPSC+ colágeno -Colágeno solo	6 meses	Evaluar regeneración ósea (densidad cavidad y respuesta reabsorción)	No se encontraron diferencias significativas
Chen et al. 2016	1B	3° molares (22/37 años)	PDLS	Biooss-Bio-Guide	Defectos intraóseos ≥3mm con inflamación	-DPLS+Bio-oss -Bio-oss	3, 6, 12 meses	Eficacia células madre en regeneración ósea	No se encontraron resultados significativos
Seo et al. 2008	5D	Incisivos deciduos exfoliados	SHED y BMMSC	HA/TCP	Ratones.	-SHED+HA/TCP -BMSC -HA/TCP	6-8 semanas o 6 meses	Reparación de defecto óseo craneal de tamaño crítico	Potencial de diferenciación osteogénica, reparación de defectos y formación ósea sustancial. SHED eran capaces de formar e inducir la formación de huesos in vivo
Mendoca Costa et al. 2008	5D	Dientes no exfoliados	SHED	Membrana colágeno	Ratas no inmunosuprimidas	-DPSC+ membrana colágeno -Membrana colágeno	120 días	Reconstrucción defectos craneales de gran tamaño	Regeneración de hueso
Riccio et al. 2012	5D	No procede	DPSC+AFSC	Fibroína	15 ratas macho (defecto hueso parietal)		4 semanas	Reparación defecto craneal 5-8mm en región parietal	Regeneración ósea

Tabla 2. Continuación

AUTOR/ AÑO	NIVEL DE EVIDENCIA Y GRADO DE RECOMEN- DACIÓN	FUENTE	TIPO CÉLULA	BIOMATERI AL (ANDAMIO)	TRASPLANTE	CONTROL	PERIODO OBSERVA- CIONAL	OBJETIVO	RESULTADO
Zhang et al. 2009	5D	Tejido gingival sano	Células madre tejido gingival sano	HA/TCP	Ratones hembra		4 semanas	Identificación	Propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias. Mejoró la gravedad de las lesiones inflamatorias del colon (colitis) Formación tejidos mineralizados en condiciones
Makino et al. 2013	5D	Dientes supernumerar ios maxilares, mesiodens (5- 7 años)	DPSC y BMMSC				4 semanas	Evaluar capacidad inmunomoduladora y eficacia en tratamiento de enfermedades inmnoológicas	dentino/osteogénicas. El trasplante de DPSC mejora los trastornos del LES mediante la supresión de la reacción hiperinmune en ratones Propiedades similares.
Yamaza et al. 2010	5D	Incisivos exfoliados (6-8 años)	SHED	HA/TCP	Ratones inmunocompro- metidos	-SHED -BMMSC	8 semanas	Evaluar propiedades inmunomoduladoras. Comparar con médula	Diferenciación osteo/odontogénica y adipogénica in vitro, formación tejido mineralizado in vivo. El trasplante sistémico de SHED efecto terapéutico en LES ratón
Gandía et al. 2008	5D	3° molares 18-21 años	DPSC y BMMSC		Ratas macho inducidas a infarto de miocardio agudo		4 semanas	Terapéutica en infarto de miocardio agudo	Mejoró función ventrículo izquierdo, la angiogénesis y redujo el área de infarto
Arthur et al. 2009	5D	No se especifica. Humano.	DPSC humanas		Embriones de gallina (cerebro posterior)			La CM pueden inducir la neuroplasticidad	DPSC implantadas causan un cambio neuroplástico en el sistema nervioso receptivo del huésped
Govindasam y et al. 2011	5D	Molares deciduos sanos (7-11 años)	SHED		No se trasplantó			Utilización CM autólogas para el tratamiento de la diabetes.	In vitro DPSC derivadas de los dientes deciduos pueden diferenciarse en células productoras de insulina, ofreciendo una fuente no pancreática, no invasiva ni rechazo
Izumoto- Akita et al. 2015	5D	Dientes deciduos exfoliados (6- 12 años)	SHED		Ratones diabéticos inducidos por estreptoizotocina		3 semanas	Evaluar el efecto terapéutico de las SHED en la diabetes	La inyección SHED aumentó el contenido de insulina en el páncreas y la proliferación celular β y una prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal reveló una mayor secreción de insulina

Tabla 3. Estudios con células madre para aplicaciones médicas. BMMSC, células madre de médula ósea; DMEM, Dulbecco's Modified Eagle Medium; DPSC, células madre de pulpa dental; HA, hidroxiapatita; LES, lupus eritematoso sistémico; SHED, células madre de dientes deciduos exfoliados; TCP, fosfato tricálcico.

AUTOR/ AÑO	NIVEL DE EVIDENCIA Y GRADO DE RECOMENDA- CIÓN	FUENTE	TIPO CÉLULA	BIOMATE- RIAL (ANDAMIO)	TRASPLANTE	CONTROL	PERIODO OBSERVA- CIONAL	OBJETIVO	RESULTADO
Sakay et al. 2012	5D	3° molares (18-30 años) y dientes deciduos de (6-12 años)	SHED y DPSC		Ratas (transección completa, lesión médula espinal)	BMMSC (20-22 años) y fibroblastos (36-40 años)	8 semanas	Actividad neurogenerativa	Promovieron recuperación locomotora de miembros posteriores tras una sección transversal de médula espinal de rata. Las ratas que recibieron SHED y DPSC pudieron mover 3 articulaciones mientras que el grupo control movimientos de 1-2 articulaciones
Ma et al. 2012	5D	Dientes deciduos exfoliados (5- 7 años)	SHED		Vía intravenosa en ratones con trastorno osteoporótico	-SHED criopreservadas	8 semanas	Evaluar el efecto terapéutico en defectos osteoporóticos	Ambas mejoraron significativamente el desorden osteoporótico de las tibias, aumentando los parámetros trabeculares
Inoue et al. 2013	5D	Dientes deciduos exfoliados	SHED		Vía intranasal en ratas con isquemia de la arteria cerebral media	-BMMSC -DMEM		Evaluar el efecto terapéutico en la isquemia cerebral inducida en ratas	Promovió la neurogénesis y la angiogénesis, mejorando la lesión cerebral isquémica
Mita et al. 2015	5D	Dientes deciduos humanos	SHED		Ratones con disfunción cognitiva	-BMMSC -Fibroblastos -DMEM		Evaluar los efectos terapéuticos de las SHED en la enfermedad de Alzheimer	Mejóro los déficits cognitivos asociados con la enfermedad de Alzheimer de los ratones. Les proporcionó una neuroprotección y la supresión de la inflamación
Hattori et al. 2015	5D	Dientes deciduos exfoliados (niños entre 6-12 años)	SHED		Cápsula sub-renal de ratones con lesión por isquemia- reperfusión	-BMMSC -Fibroblastos	14 días	Evaluar el efecto terapéutico de las SHED en la insuficiencia renal aguda inducida por una lesión de isquemia	Atenuó los niveles de citoquinas inflamatorias y mejoró la función renal en la insuficiencia renal aguda

Tabla 3. Continuación

AUTOR/ AÑO	NIVEL DE EVIDENCIA Y GRADO DE RECOMEN- DACIÓN	FUENTE	TIPO CÉLULA	BIOMATE- RIAL	TRASPLANTE	CONTROL	PERIODO OBSERVACI ONAL	OBJETIVO	RESULTADO
Shimoji- ma et al. 2016	5D	Dientes deciduos exfoliados (niños entre 6-12 años)	SHED		Ratones	-DMEM	28 días	Evaluar la eficacia del SHED en el tratamiento de la encefalomielitis autoinmune experimental	La inyección de SHED-CM mostró una mejora significativa en los resultados de la enfermedad, redujo la infiltración de células inflamatorias, la desmielinización y la lesión axonal
Syed- Picard et al. 2015	5D	3° molares	DPSC diferenciadas a queratocitos		Estroma corneal de ratón		5 semanas	Evaluar el efecto terapéutico de las DPSC en la reparación del estroma corneal (ceguera)	DPSC fueron capaces de diferenciarse en queratocitos in vitro e in vivo y generaron un tejido similar al estroma corneal.
Martínez- Sarr et al. 2017	5D	3° molares humanos (14-21 años)	DPSC		Intramuscularmen te en ratones con distrofia muscular		28 días	Evaluar el efecto de las DPSC en la distrofia muscular y la curación de heridas en ratones	DPSC estimuló la angiogénesis, la reepitelización y mejoró el depósito de colágeno y la organización en la curación de las heridas

Tabla 3. Continuación.

4.2. PROTOCOLO DE OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE CÉLULAS MADRE DE ORIGEN DENTAL

Debido a las aplicaciones terapéuticas y a la fácil accesibilidad de las células madre mesenquimales de origen dental, el interés por ellas ha aumentado estos últimos años. Tanto es así que se han creado bancos de células madre en el que se almacenan y conservan las células madre de un diente de un individuo para su posterior uso en un futuro en terapias odontológicas o médicas. Un ejemplo de ello es el Biobanco Celular S.L creado en Santoña, Cantabria, en el que obtienen células madre de la pulpa dental de los dientes deciduos para su posterior almacenamiento.

Se trata de un proceso sencillo. En el caso de que un padre/madre/tutor legal quiera almacenar las células madre de los dientes de su hijo, tendrá que contactar la empresa y firmar un consentimiento de procesamiento y almacenamiento de células madre de la pulpa dental por el que permite que Biobanco Celular procese esas células.

Tras ello envían un kit de recogida a la persona prestadora del servicio en el que deberá depositar el diente. Ese kit contiene tampón fosfato salino (PBS) en el que se ha demostrado que las células mantienen sus propiedades durante 3-4 días a temperatura ambiente. A pesar de ello, es conveniente que el reenvío se realice antes de que pasen varios días y que el kit se transporte en un paquete frío a 3-4°C.

Es recomendable que la extracción del diente la realice un odontólogo para incrementar el éxito de la obtención de las células madre ya que no se permiten dientes que tengan caries evidentes ni que hayan sido expuestos a tóxicos o desinfectantes. No obstante, se aceptan dientes que se hayan caído de forma natural.

Cuando el kit llega al laboratorio, lo primero que se hace es comprobar que el diente no tenga patología. La obtención de la pulpa la realizan mediante punción evitando romper el diente. A continuación cultivan las células, las expanden y realizan un control de calidad analizando el número de células y confirmando que éstas sean células madre mesenquimales. En el caso de que no haya células viables en el primer diente Biobanco Celular ofrece hasta tres posibilidades de obtención para lograr la muestra.

Después de ser obtenidas llega el proceso de criopreservación en el que las células se congelan a -80°C y se introducen en nitrógeno líquido con criovirales específicos. Tras ello esas células se almacenarán para su uso autólogo en un futuro a -197°C en el repositorio extranjero de alto prestigio BioKryo GmbH de Alemania, con el que Biobanco Celular tiene concertado un acuerdo con tal de cumplir la normativa española vigente. Según el Real Decreto-ley 9/2014, del 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos, en España se permite el uso o almacenamiento de células y tejidos humanos para uso alogénico (público) y no así el uso autólogo de estos servicios. Es decir, no se permite el almacenaje privado. Por ello, Biobanco Celular almacenando las células en un Banco Autorizado de la Unión Europea, cumple la legislación española de recogida de muestras biológicas desechables y se ajusta a la parte del almacenamiento privado, modalidad permitida por ejemplo en Alemania.

El tiempo de almacenaje que proporcionan es de 20 años pudiendo hacer una renovación del contrato tras acabar ese periodo. En ese tiempo las células pasan controles de calidad, garantizando la estabilidad y viabilidad de la muestra. En el momento que se quiera hacer uso de las células madre criopreservadas, la persona que contrató el servicio se tendrá que poner en contacto con el repositorio Alemán.

Biobanco Celular ofrece a las clínicas odontológicas un acuerdo comercial con el fin de que éstas presten a sus pacientes el servicio de preservación de células madre de la pulpa dental, ampliando los servicios de dicha clínica y obteniendo un beneficio mutuo.

El coste del servicio para los pacientes es de 400€ divididos en 3 plazos y 50€ anuales para la conservación de las células madre en el biobanco alemán, y será gestionado directamente entre el paciente interesado y Biobanco Celular S.L.

Por último, los datos personales de los clientes prestadores de este servicio se incorporarán a un Fichero de Datos de la Red de Dentistas de Biobanco Celular, cuya

titularidad corresponde a Biobanco Celular S.L. ajustándose en materia de confidencialidad a la normativa establecida en el Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos.

1. Se garantizará a los donantes la confidencialidad de todos los datos relacionados con su salud y facilitados al personal autorizado, así como de los resultados y la trazabilidad de sus donaciones, de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

2. Los establecimientos de tejidos deberán adoptar, en el tratamiento de los datos relacionados con los donantes, las medidas de seguridad de nivel alto previstas en el Reglamento de medidas de seguridad de los ficheros automatizados que contengan datos de carácter personal, aprobado por el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre.

3. Los datos de carácter personal tendrán carácter confidencial y estarán exclusivamente a disposición de los interesados, conforme a lo dispuesto en la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica y, en su caso, de la autoridad judicial para el ejercicio de las funciones que tiene encomendadas. Su utilización se limitará a fines asistenciales o de interés para la salud pública y será recogida y custodiada conforme a lo dispuesto en el artículo 10 de la Ley 14/1986, de 25 de abril, en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, y en la Ley 41/2002, de 14 de noviembre.

4. El deber de confidencialidad no impedirá la adopción de medidas preventivas cuando se sospeche la existencia de riesgos para la salud individual o colectiva en los términos previstos en los artículos 25 y 26 de la Ley 14/1986, de 25 de abril, o, en su caso, conforme a lo que establece la Ley Orgánica 3/1986, de 14 de abril, de

Medidas Especiales en Materia de Salud Pública, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, y la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre.

5. No podrán facilitarse ni divulgarse informaciones que permitan la identificación de donantes y receptores de células y tejidos humanos, ni podrán facilitarse a los donantes o sus familiares los datos identificadores de los receptores o viceversa.

5. DISCUSIÓN

Si se comparan las fuentes de células madre analizadas, todas ellas al ser células de origen mesenquimal presentan una alta capacidad clonogénica, un gran nivel de proliferación y capacidad de diferenciación multilínea, dando lugar a otros tipos celulares (Inostroza, 2018).

Las células madre de pulpa dental de los dientes permanentes y deciduos presentan capacidad de diferenciación odontogénica, osteogénica, neurogénica, adipogénica, condrogénica y miogénica (Miura et al, 2003). Las células del ligamento periodontal, demostraron capacidad odontogénica, osteogénica, adipogénica, condrogénica y cementogénica (Seo et al., 2004).

En el caso de las células madre del folículo dental, Morsczech et al., (2005) lograron la diferenciación osteogénica, neurogénica, adipogénica y cementogénica de las células madre del folículo dental. Las de la papila apical presentaron diferenciación odontogénica, osteogénica, neurogénica, adipogénica y condrogénica (Sonoyama et al., 2006). Otra fuente de obtención menos estudiada pero no por ello menos importante son las células madre del tejido gingival que se diferencian a linajes odontogénicos, osteogénicos, adipogénicos y condrogénicos (Zhang et al., 2009).

Comparando la capacidad de proliferación, es importante recordar que las células madre de la pulpa dental tienen una mayor capacidad de proliferación que las de la médula ósea (Gronthos et al., 2000). En cambio, entre las células madre mesenquimales de origen dental, las de los dientes deciduos exfoliados y las derivadas de la papila apical son las que presentan mayor capacidad de proliferación

comparadas con las de la pulpa de dientes permanentes (Miura et al., 2003; Sonoyama et al., 2008).

En el caso de las células madre de la pulpa con pulpitis irreversible se demostró que mantienen propiedades de células madre pero con una menor tasa de proliferación que las de la pulpa sana (Wang et al., 2010).

Teniendo en cuenta la fuente de obtención, todas ellas se consiguen tras haber extraído un diente, aunque son dientes que van a ser extraídos por motivos ortodóncicos o se van a perder como es el caso de los dientes deciduos, siendo esta última una opción muy atractiva.

En cambio, hay dos casos en los que van a poder ser obtenidas sin sacrificar un diente. Este es el caso de las células madre dentales con pulpitis irreversible (Wang et al., 2010) y las de la encía (Zhang et al., 2010). La obtención de la pulpa inflamada se realizará en el momento que se vaya a hacer el tratamiento de conductos de un diente permanente. La validez de la pulpa se confirmará en el momento de acceso. En el caso de estar necrótica ésta no será apta y se desechará, ya que cuanto más grave es la inflamación hay un mayor grado de apoptosis (Wang et al., 2010).

Por otro lado, para hacerse con las células madre del tejido gingival se obtendrán de los tejidos remanentes o desechados tras procedimientos dentales de rutina como cirugías, exodoncias...(Zhang et al., 2009).

Tras la exodoncia del diente, éste se limpia para su manipulación. En el caso de las células madre del folículo, del ligamento periodontal y de la papila apical no será necesario hacer ningún corte en la pieza ya que podrán obtenerse cuidadosamente con una cureta (Morszeck et al., 2004; Seo et al., 2004; Sonoyama et al., 2006). En cambio, para el aislamiento de las DPSC y SHED será necesario hacer un corte alrededor de



Figura 2. Obtención de las células madre (Viña, 2014).

la unión amelocementaria con la turbina y una fresa para exponer la pulpa y poder recogerla con una pinza estéril (Gronthos et al., 2000) (**Figura 2**). A partir de ahí el

tejido se digiere en una solución de 3 mg/ml de colagenasa tipo I (Worthington Biochem, Freehold, NJ) y 4 mg/ml de dispasa (Boehringer Mannheim) durante 1 h a 37°C y tras ello se obtienen las suspensiones unicelulares pasando las células por un colador de 70- μ m (Gronthos et al., 2000). El tiempo de digestión varía según los autores pero no sobrepasa la hora. A partir de ahí las células se siembran en los cultivos y están listas para su estudio o experimentación.

Desde el año 2000 en el que se aislaron por primera vez las células madre de la pulpa dental (Gronthos et al., 2000) ha habido grandes avances. Varios autores realizando estudios preclínicos en animales y en humanos han logrado utilizar las diferentes fuentes de células madre humanas para su uso en la terapia endodóntica, periodóntica, en la regeneración ósea y en la medicina regenerativa.

De los 16 estudios incluidos en las tablas de experimentación con las células madre en el campo de la odontología 3 de ellos estudian la regeneración del complejo dentino-pulpar, 2 de ellos la regeneración dentinaria, 3 la regeneración periodontal y 8 la regeneración ósea.

En cuanto a la regeneración de estructuras no dentales son 15 los estudios incluidos. Como fuente de obtención utilizan 3° molares impactados, dientes extraídos por motivos ortodóncicos, dientes deciduos exfoliados o láminas de periostio que contienen células madre mesenquimales, todas ellas de origen humano. Algunos autores cultivan las células madre en diferentes andamiajes para tratar de conseguir el objetivo del estudio. Se han utilizado materiales como la hidroxiapatita/fosfato tricálcico, el colágeno, la fibroína... A pesar de ello no se ha establecido ningún protocolo de cuál de ellos utilizar para cada tipo celular ni para el objetivo de la investigación.

En cuanto a la **regeneración del complejo dentino-pulpar**, Gronthos et al., (2000), Huang et al., (2010) y Piva et al., (2017) lograron regenerar una estructura dentino-pulpar vascularizada. Para ello aislaron las células madre de la pulpa dental (DPSC) de 3° molares humanos impactados, las cultivaron en diferentes biomateriales y los trasplantaron en ratones inmunocomprometidos. En el caso de Huang et al., (2010) se combinaron las células madre de la pulpa dental y las de la papila apical. Todos ellos

consiguieron resultados similares por lo que se puede deducir que las DPSC son una fuente ideal en la regeneración pulpo-dentinaria.

En el caso de la **regeneración dentinaria** Miura et al., (2003) y Sonoyama et al., (2008) la lograron haciendo uso de las células madre de los dientes deciduos exfoliados (SHED) y de las de la papila apical (SCAP) en ratones inmunocomprometidos. Hay que añadir que también lograron la formación de hueso.

Otra área estudiada ha sido la **regeneración del tejido periodontal**. De los 3 estudios analizados en este campo los autores utilizan células madre del ligamento periodontal. Seo et al., (2004), Sonoyama et al., (2006) y Yamamiya et al., (2008) utilizan células madre mesenquimales del periostio humano. Los dos primeros estudios generaron una estructura parecida al cemento y al ligamento periodontal y además, en cerdos se formó una estructura similar a una raíz con ligamento periodontal capaz de soportar una corona de porcelana (Sonoyama et al, 2006).

En el estudio de Yamamiya et al., (2008) se comparó como mejoraban los defectos intraóseos interproximales en humanos y se demostró que los defectos que recibían la terapia con células madre presentaban una mayor ganancia de fijación clínica y densidad ósea que los defectos que no las recibían. De este modo, las células madre del ligamento periodontal pueden ser útiles en la terapia periodontal en pacientes con defectos infraóseos.

Otro campo de los más estudiados de utilización de células madre dentales es la **regeneración ósea**. La mayoría de los autores hacen uso de las células madre de la pulpa dental. En cambio, las células madre de los dientes deciduos exfoliados (Seo et al., 2008; Mendonça Costa et al., 2008) y las del ligamento periodontal (Chen et al., 2016) también son capaces de regenerar hueso cuando fueron trasplantadas en ratones. D'Aquino et al., (2007) lograron formar tejido óseo en ratones inmunocomprometidos haciendo uso de DPSC.

Se han realizado ensayos clínicos que comparan la regeneración ósea tras la exodoncia de dos molares bilaterales en un mismo paciente. En el lado experimental incluyen las células madre de pulpa dental en un andamio de colágeno y en el lado control el andamio de colágeno únicamente. En este caso hay autores que no

encuentran diferencias significativas en cuanto a la regeneración ósea (Chen et al., 2016; Barbier et al., 2018). En cambio D'Aquino et al., (2009) encontraron una diferencia en la que el lado experimental tenía una ganancia de 6.2 ± 2.3 mm comparado con el lado control 4.4 ± 1.2 mm. Los pacientes de este ensayo se evaluaron a los tres años y se vio que las muestras del lado experimental contenían un hueso uniformemente vascularizado y más compacto que el grupo control (Giuliani et al., 2013).

Anteriormente se ha hablado del uso de células madre en la medicina regenerativa. Las más estudiadas en este campo son las de la médula ósea, pero también se ha valorado el empleo en este sentido de las de origen dental debido a su capacidad inmunomoduladora, antiinflamatoria y regenerativa (Zhang et al., 2009).

Se puede apreciar que la mayoría de los autores utilizan las de pulpa dental de los dientes permanentes (DPSC) y de los deciduos (SHED), a veces combinadas con de la médula ósea. Yamaza et al., (2010) y Makino et al., (2013) obtienen que las células madre de la pulpa dental de los dientes permanentes y deciduos exfoliados mejoran los trastornos del lupus eritematoso sistémico en ratones por las propiedades inmunomoduladoras que éstas presentan.

También se ha estudiado la terapia en infarto de miocardio agudo (Gandía et al., 2008). Se trasplantaron DPSC y BMMSC a ratas inducidas a sufrir un infarto de miocardio agudo. En ellas se consiguió mejorar la función del ventrículo izquierdo, la angiogénesis y se redujo el área de infarto. Govindasamy et al., (2011) demostraron in vitro que las células madre de los dientes deciduos exfoliados pueden diferenciarse en células productoras de insulina siendo una terapia efectiva en el tratamiento de la diabetes mellitus.

Además, Izumoto-Akita et al., (2015) inyectando SHED a ratones diabéticos hizo que aumentara el contenido de insulina en el páncreas y la proliferación de células β , demostrando la efectividad de estas células en el tratamiento de la diabetes.

Sakai et al., (2012) haciendo uso de SHED y DPSC mejoraron la actividad neurogenerativa en ratas promoviendo la recuperación locomotora de sus miembros posteriores tras realizarles una sección transversal de médula espinal.

Se ha estudiado la efectividad de las células madre de dientes deciduos exfoliados (SHED) en el tratamiento de varias enfermedades y se ha demostrado que ofrecen una terapia beneficiosa para algunas de ellas. Ma et al., (2012) demostraron que las SHED eran efectivas en el tratamiento de las lesiones de tipo osteoporótico de las tibias de rata aumentando los parámetros trabeculares.

Mita et al., (2015) redujeron los déficits cognitivos asociados a la enfermedad de Alzheimer proporcionando neuroprotección y supresión de la inflamación. Hattori et al (2015) mejoraron la función renal en la insuficiencia renal aguda de los ratones atenuando los niveles de citoquinas inflamatorias. Shimojima et al (2016) redujeron la infiltración de células inflamatorias, la desmielinización y la lesión axonal en ratones con encefalomiелitis autoinmune.

Haciendo uso de las células madre de la pulpa dental de los dientes permanentes se ha logrado reparar los defectos del estroma corneal que producen ceguera en ratones (Syed-Picard et al 2015). Martínez-Sarr et al (2017) han logrado efectos terapéuticos en la distrofia muscular en ratones estimulando la angiogénesis y en la curación de las heridas promoviendo la reepitelización y el depósito de colágeno.

Actualmente, debido a la fácil accesibilidad y a las posibilidades terapéuticas de las células madre de origen dental se está extendiendo la oportunidad de poderlas almacenar en biobancos, para poder usarlas como terapia en un futuro.

En el caso de Biobanco Celular S.L. las obtienen y almacenan de los dientes deciduos. También han logrado aislar las células madre de los cordales pero el servicio que este biobanco ofrece se centra en los dientes deciduos debido a que muestran un mayor potencial de proliferación.

A pesar de ello también se pueden emplear los dientes permanentes como los cordales impactados (Gronthos et al., 2000), dientes extraídos por motivos ortodóncicos (D'Aquino et al., 2007)... En estos casos existe la opción de obtenerlas de la pulpa dental, del ligamento periodontal, del folículo dental y/o de la papila apical en caso que no se haya completado la formación de la raíz del diente.

Además de por el potencial de diferenciación, el empleo de células madre de los dientes deciduos exfoliados por Biobanco Celular S.L. se fundamenta en el interés de los verdaderos impulsores de su proyecto científico y empresarial: padres o madres que por alguna razón no pudieron almacenar las del cordón umbilical de sus hijos/hijas.

Aun así, podría ser interesante incorporar otras fuentes a los protocolos de extracción para de este modo aumentar el número potencial de pacientes que podrían acceder a este servicio.

Después de obtenerlas se almacenan a través de un proceso de criopreservación con el fin de conservar su viabilidad y propiedades en un largo período de tiempo. El tiempo que se ha estimado que pueden ser almacenadas es de 20 años.

Existen diferentes protocolos de criopreservación. En el realizado por Ma et al, (2012), se separa el tejido pulpar de los dientes para después someter a la pulpa a un medio criopreservante (10% dimetilsulfóxido y 90% de suero fetal bovino) y tras ello, las muestras se congelan en nitrógeno líquido. Otra alternativa es criopreservar el diente entero haciéndole previamente microcanales a nivel del cuello atravesando las capas de esmalte y dentina y sin causar daño a la pulpa. Las perforaciones se realizan con la ayuda de un láser y tras ello las muestras se almacenan a -80°C (Gioventú et al, 2012). Ambas técnicas son efectivas y no causan ningún daño a la pulpa, aunque parece ser que la segunda es menos costosa ya que no requiere la separación del tejido pulpar ni utiliza ningún medio criopreservante.

En el caso de Biobanco Celular S.L., extraen la pulpa dental de los dientes deciduos mediante punción y tras ello congelan las muestras de las células madre que previamente han pasado un control de calidad en nitrógeno líquido a -197°C junto con medios criopreservantes especiales. Mediante este método, Biobanco Celular garantiza que a los 20 años las células madre sean viables y mantengan sus propiedades de origen.

En cambio con el método de criopreservación de Gioventú et al, (2012) en el que se congela el diente entero con microfisuras, está la incertidumbre de que la pulpa

dental puede no ser viable y que sea imposible la obtención de células madre adecuadas para su posterior uso.

En caso de querer hacer uso de este servicio será necesario firmar un consentimiento informado por el que se permite la obtención y almacenamiento de las células madre en un repositorio. El responsable del consentimiento informado es Biobanco Celular S.L. que lo envía a la persona solicitante del servicio teniendo esta que firmarlo para posteriormente recibir el kit de depósito del diente.

Respetando el Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de julio, el consentimiento informado deberá de firmarlo el donante siempre que sea mayor de edad y con plena capacidad de obrar. En su defecto se encargará el representante legal de la persona de la que se aislan las células madre, con frecuencia menores de edad de los que se obtienen los dientes deciduos, los cuales a su vez se consideran desechos biológicos.

Además la persona que otorga su consentimiento deberá de recibir información del responsable sanitario de la obtención sobre los diferentes pormenores vinculados: las consecuencias y riesgos de la intervención si los hubiera, dónde se registrarán sus datos y cuáles serán los fines terapéuticos a los que podrá optar en un futuro.

El consentimiento podrá ser revocado en cualquier momento antes de la obtención de las muestras.

Los datos del prestador del servicio se registrarán en el Fichero de Datos de la Red de Dentistas de Biobanco Celular S.L. garantizando su privacidad. Por último en cuanto a los fines terapéuticos que podrá optar en un futuro serán terapias de regeneración en los campos de la medicina y la odontología regenerativa.

La relación económica referente a la obtención y mantenimiento de las células madre se establece entre los pacientes y la empresa Biobanco Celular S.L., quedando la parte odontológica al margen de los aspectos administrativos y legales vinculados a esa relación comercial.

La relación económica que podría afectar a la parte odontológica se efectuaría con la empresa de obtención de las células madre en términos de acuerdo de colaboración y en las condiciones previamente establecidas entre ellos.

El Real Decreto-ley 9/2014, del 4 de julio, también establece que los biobancos podrán almacenar tejidos humanos y obtener células madre de ellos. No obstante en España solo se admite el almacenaje para uso público. Es por ello que algunas empresas dedicadas a este servicio realizan la obtención y transportan las muestras a otros países de la Unión Europea en los que sí está permitido el almacenamiento privado para uso autólogo en un futuro. En el caso de Biobanco Celular S.L. establece un convenio con el repositorio de células Alemán BioKryo GmbH en el que se almacenarán las células madre de los dientes deciduos de la persona prestadora del servicio del biobanco.

Por último, se debe tener en cuenta que se trata de un nuevo servicio, que puede ser una inversión de salud en un futuro debido a los logros que se han obtenido en la actualidad con las células madre en el campo de la medicina y odontología regenerativa y que con certeza se incrementarán en los próximos años.

A pesar de que supone un gasto presente y mantenido durante años, más extendido socialmente en otros terrenos como el económico (fondos de inversión, planes de jubilación etc), replantear la filosofía de actuación hacia la salud, acorde siempre a principios éticos y legales, puede constituir una herramienta muy válida en lo que a la odontología y medicina preventiva de nuestros pacientes se refiere.

6. CONCLUSIONES

1. La cavidad oral constituye una fuente válida para la obtención de células madre mesenquimales, habiéndose identificado en la pulpa dental de los dientes permanentes y deciduos exfoliados, en el ligamento periodontal, en el folículo dental, en la papila apical, en el tejido gingival y en la pulpa inflamada, todas ellas con un alto potencial de diferenciación.
2. Su obtención representa un procedimiento no invasivo y relacionado habitualmente con extracción de órganos o tejidos durante procesos fisiológicos (exfoliación de dientes deciduos) o terapéuticos (exodoncia de cordales, por motivos ortodóncicos o pulpitis irreversible entre otros).

3. En el campo de la odontología se ha logrado regenerar el complejo dentino-pulpar, el tejido periodontal y el tejido óseo siendo una alternativa terapéutica en el campo de la endodoncia, la periodoncia y la cirugía.
4. Las células madre de origen dental han demostrado efectos terapéuticos en numerosos procesos patológicos como la diabetes mellitus, infarto de miocardio agudo, lupus eritematoso sistémico, osteoporosis, enfermedad de Alzheimer, insuficiencia renal aguda, encefalomiелitis autoinmune y distrofia muscular entre muchas otras.
5. La mayoría de estudios son pre-clínicos e investigación animal, por lo que serían necesarios más ensayos clínicos en humanos para garantizar los resultados el manejo clínico de estas modalidades terapéuticas
6. Se han creado biobancos que prestan el servicio de almacenaje de células madre de origen dental para su futuro uso autólogo en terapias odontológicas o médicas, representando una nueva posibilidad de prestación de servicios para los pacientes en el ámbito de la práctica odontológica.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Amorim, B. R., Sallum, E. A., Casati, M. Z., Ruiz, K. G. S., Casarin, R. C. V., Kantovitz, K. R., y Nociti Junior, F. H. (2017). Mesenchymal stem cells in periodontics: new perspectives. *RGO-Revista Gaúcha de Odontologia*, 65 (3), 254-259. <https://doi.org/10.1590/1981-863720170002000113459>
- Arthur, A., Shi, S., Zannettino, A.C.W., Fujii, N., Gronthos, S. y Koblar, S.A. (2009, septiembre) Implanted adult human dental pulp stem cells induce endogenous axon guidance. *Stem Cells*, 27 (9), 2229-37. <https://doi.org/10.1002/stem.138>
- Barbier, L., Ramos, E., Mendiola, J., Rodriguez, O., Santamaria, G., Santamaria, J. y Arteagoitia, I. (2018, 1 de julio). Autologous dental pulp mesenchymal stem cells for inferior third molar post-extraction socket healing: A split-mouth randomised clinical trial. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 23 (4), e469-e477. <https://doi.org/10.4317/medoral.22466>

- Benício, D.F.A., Pereira, L.O., Da Silva, C.R., Azevedo, R.B. y Bezerra, A.C.B. (2018). Culture of human dental pulp cells at variable times post-tooth extraction. *Brazilian Oral Research*, 32. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0003>
- Brar, G.S. y Toor, R.S. (2012). Dental stem cells: dentinogenic, osteogenic, and neurogenic differentiation and its clinical cell based therapies. *Indian Journal of Dental Research*, 23 (3), 393-7. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.102239>
- Cea-Sanhueza, M. y Sánchez-Sanhueza, G. (2016). Células madre mesenquimales orales: Estado del arte en Odontología. *Avances en Odontoestomatología*, 32 (2), 97-105.
- Chen, F.M., Gao, L.N., Tian, B.M., Zhang, X.Y., Zhang, Y.J., Dong, G.Y., Lu, H., Chu, Q., Xu, J., Yu, Y., Wu, R.X., Yin, Y., Shi, S. y Jin, Y. (2016, febrero). Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial. *Stem Cell Research and Therapy*, 7, 33. <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0288-1>
- Chisini, L. A., Conde, M. C. M., Grazioli, G., Martin, A. S. S., Carvalho, R. V. D., Sartori, L. R. M., y Demarco, F. F. (2019). Bone, periodontal and dental pulp regeneration in dentistry: a systematic scoping review. *Brazilian Dental Journal*, 30 (2), 77-95. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201902053>
- Daltoé, F.P., Mendonça, P.P., Mantesso, A. y Deboni, M.C. (2014). Can SHED or DPSCs be used to repair/regenerate non-dental tissues? A systematic review of in vivo studies. *Brazilian Oral Research*, 28 (1), 1-7. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2014.vol28.0037>
- D'Aquino, R., De Rosa, A., Lanza, W., Trino, V., Laino, L. y Graziano, A. (2009, 12 de noviembre). Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *European Cells and Materials*, 18, 75–83. <https://doi.org/10.22203/ecm.v018a07>
- D'Aquino, R., Graziano, A., Sanpaolesi, M., Laino, G., Pirozzi, G. y De Rosa, A. (2007, junio). Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblast endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death and Differentiation*, 14 (6), 1162–71. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402121>
- D'Aquino, R., Trovato, L., Graziano, A., Ceccarelli, G., Cusella de Angelis, G. y Marangini, A. (2016). Periosteum-derived micro-grafts for tissue regeneration of human

maxillary bone. *Journal of Translational Science*, 2, 125–9.
<https://doi.org/10.15761/JTS.1000128>

De Mendonça Costa, A., Bueno, D.F., Martins, M.T., Kerkis, I., Kerkis, A., Fanganiello, R.D., Cerruti, H., Alonso, N. y Passos-Bueno, M.R. (2008, enero). Reconstruction of large cranial defects in nonimmunosuppressed experimental design with human dental pulp stem cells. *The Journal of Craniofacial Surgery*, 19 (1), 204-10.
<https://doi.org/10.1097/scs.0b013e31815c8a54>.

Demarco, F.F., Conde, M.C., Cavalcanti, B.N., Casagrande, L., Sakai, V.T. y Nör J.E. (2011). Dental pulp tissue engineering. *Brazilian Dental Journal*, 22 (1), 3-13.
<https://doi.org/10.1590/s0103-64402011000100001>

Demarco, G.T., Kirschnick, L.B., Watson, L.B., Conde, M.C.M., Demarco, F.F., y Chisini, L.A. (2017). What is the clinical applicability of regenerative therapies in dentistry?. *RGO-Revista Gaúcha de Odontologia*, 65 (4), 359-367.
<https://doi.org/10.1590/1981-863720170002000113112>

Díaz López, D. (2018). *La revolución de las células madre. Realidad, potencial y límites de las 'estrellas' de la Biología actual*. España. Ediciones Cálamo.

Egusa, H., Sonoyama, W., Nishimura, M., Atsuta, I. y Akiyama, K. (2012). Stem cells in dentistry--Part II: Clinical applications. *Journal of Prosthodontic Research*, 56 (4), 229-248. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2012.10.001>

Egusa, H., Sonoyama, W., Nishimura, M., Atsuta, I., y Akiyama, K. (2012). Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research*, 56 (3), 151-165. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpor.2012.06.001>

Estrela, C., Alencar, A.H., Kitten, G.T., Vencio, E.F. y Gava E. (2011). Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration. *Brazilian Dental Journal*, 22 (2), 91-98. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402011000200001>

Ferrúa, C. P., Centeno, E. G. Z., Rosa, L. C. D., Amaral, C. C. D., Severo, R. F., Sarkis-Onofre, R., Nascimento, G.G., Cordenonzi, G., Bast, R.K., Demarco, F.F. y Nedel, F. (2017, diciembre). How has dental pulp stem cells isolation been conducted? A scoping review. *Brazilian Oral Research*, 31, e87. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0087>

- Gamboa, K. B., Calderón, J. B., Menéndez, J. G., y Carballo, N. C. (2012). Uso de células madre en el complejo bucofacial. *Archivo Médico de Camagüey*, 16(5), 651-661.
- Gandia, C., Armiñan, A., García-Verdugo, J.M., Lledó, E., Ruiz, A., Miñana, D., Sanchez-Torrijos, J., Payá, R., Mirabet, V., Carbonell-Uberos, F., Llop, M., Montero, J.A. y Sepúlveda, P. (2008, marzo). Human dental pulp stem cells improve left ventricular function, induce angiogenesis, and reduce infarct size in rats with acute myocardial infarction. *Stem Cells*, 26 (3), 638-45. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0484>
- Gioventù, S., Andriolo, G., Bonino, F., Frasca, S., Lazzari, L., Montelatici, E., Santoro, F. y Rebullà, P. (2012). A novel method for banking dental pulp stem cells. *Transfusion and Apheresis Science*, 47 (2), 199-206. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2012.06.005>
- Giuliani, A., Manescu, A., Langer, M., Rustichelli, F., Desiderio, V. y Paino, F. (2013). Three years after transplants in human mandibles, histological and in-line holotomography revealed that stem cells regenerated a compact rather than a spongy bone: biological and clinical implications. *Stem Cells Translational Medicine*, 2 (4), 316–324. <https://doi.org/10.5966/sctm.2012-0136>
- González-Andrade, F. y López-Pulles, R. (2009). Células madre: definiciones y aproximación conceptual. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito)*, 34, 64-70.
- Govindasamy, V., Ronald, V.S., Abdullah, A.N., Nathan, K.R., Ab Aziz, Z.A., Abdullah, M., Musa, S., Kasim, N.H. y Bhonde, R.R. (2011). Differentiation of dental pulp stem cells into islet-like aggregates. *Journal of Dental Research*, 90 (5), 646-52. <https://doi.org/10.1177/0022034510396879>
- Gronthos, S., Mankani, M., Brahimi, J., Robey, P.G. y Shi, S. (2000, 5 de diciembre). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97 (25), 13625–13630. <https://doi.org/10.1073/pnas.240309797>
- Han, J., Menicanin, D., Gronthos, S. y Bartold, P.M. (2014). Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. *Australian Dental Journal* 59, 117-30. <https://doi.org/10.1111/adj.12100>
- Hattori, Y., Kim, H., Tsuboi, N., Yamamoto, A., Akiyama, S., Shi, Y., Katsuno, T., Kosugi, T., Ueda, M., Matsuo, S. y Maruyama, S. (2015). Therapeutic potential of stem cells

- from human exfoliated deciduous teeth in models of acute kidney injury. *PLoS One*, 10 (10), e0140121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140121>
- Honda, M. J., Imaizumi, M., Tsuchiya, S. y Morsczeck, C. (2010). Dental follicle stem cells and tissue engineering. *Journal of oral science*, 52 (4), 541-552. <https://doi.org/10.2334/josnusd.52.541>
- Huang, G.T.J., Yamaza, T., Shea, L.D., Djouad, F., Kuhn, N.Z., Tuan, R.S. y Shi, S. (2010, febrero). Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Engineering. Part A*, 16 (2), 605–615. <https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2009.0518>
- Inostroza, C. (2018). Características funcionales y propiedades inmunomoduladoras de células madre mesenquimales de origen pulpar para el desarrollo de un modelo de regeneración tisular: estudio experimental in vitro (tesis doctoral). Universidad Internacional de Cataluña, Facultad de Odontología, Barcelona.
- Inoue, T., Sugiyama, M., Hattori, H., Wakita, H., Wakabayashi, T. y Ueda, M. (2013). Stem cells from human exfoliated deciduous tooth-derived conditioned medium enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats. *Tissue Engineering Part A*, 19 (1-2), 24-29. <https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2011.0385>
- Izumoto-Akita, T., Tsunekawa, S., Yamamoto, A., Uenishi, E., Ishikawa, K., Ogata, H., Iida, A., Ikeniwa, M., Hosokawa, K., Niwa, Y., Maekawa, R., Yamauchi, Y., Seino, Y., Hamada, Y., Hibi, H., Arima, H., Ueda, M. y Oiso, Y. (2015). Secreted factors from dental pulp stem cells improve glucose intolerance in streptozotocin-induced diabetic mice by increasing pancreatic beta-cell function. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 3(1), e000128. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2015-000128>
- Jucht, D., Rujano, R., Romero, M., y Rondón, L. (2014). Utilización de células madre en el ámbito odontológico. Revisión de la literatura. *Acta Bioclínica*, 101-23.
- Kim, R.H., Mehrazarin, S. y Kang, M.K. (2012). Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for oral and systemic diseases. *Dental Clinics*, 56 (3), 651-675. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2012.05.006>
- La Noce, M., Paino, F., Spina, A., Naddeo, P., Montella, R., Desiderio, V., De Rosa, A., Papaccio, G., Tirino, V. y Laino, L. (2014). Dental pulp stem cells: state of the art

- and suggestions for a true translation of research into therapy. *Journal of Dentistry*, 42 (7), 761-768. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.02.018>
- Ma, L., Makino, Y., Yamaza, H., Akiyama, K., Hoshino, Y., Song, G., Kukita, T., Nonaka, K., Shi, S. y Yamaza, T. (2012). Cryopreserved dental pulp tissues of exfoliated deciduous teeth is a feasible stem cell resource for regenerative medicine. *PLoS one*, 7 (12), e51777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051777>
- Makino, Y., Yamaza, H., Akiyama, K., Ma, L., Hoshino, Y., Nonaka, K., Terada, Y., Kukita, T., Shi, S. y Yamaza, T. (2013, mayo). Immune therapeutic potential of stem cells from human supernumerary teeth. *Journal of Dental Research*, 92 (7), 609–615. <https://doi.org/10.1177/0022034513490732>
- Martínez-Sarr, E., Montori, S., Gil-Recio, C., Núñez-Toldrà, R., Costamagna, D., Rotini, A., Atari, M., Luttun, A. Y Sampaolesi, M. (2017). Human dental pulp pluripotent-like stem cells promote wound healing and muscle regeneration. *Stem Cell Research & Therapy*, 8 (1), 175. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0621-3>
- Mayani, H. (2003). A glance into somatic stem cell biology: basic principles, new concepts, and clinical relevance. *Archives of Medical Research*, 34 (1), 3-15. [https://doi.org/10.1016/s0188-4409\(02\)00450-2](https://doi.org/10.1016/s0188-4409(02)00450-2)
- Mita, T., Furukawa-Hibi, Y., Takeuchi, H., Hattori, H., Yamada, K., Hibi, H., Ueda, M. y Yamamoto, A. (2015). Conditioned medium from the stem cells of human dental pulp improves cognitive function in a mouse model of Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, 293, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.07.043>
- Miura, M., Gronthos, S., Zhao, M., Lu, B., Fisher, L.W., Robey, P.G. y Shi, S. (2003, 13 de mayo). SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 5807–5812. <https://doi.org/10.1073/pnas.0937635100>
- Morscbeck, C., Gotz, W., Schierholz, J., Zeilhofer, F., Kühn, U., Möhl, C., Sippel, C. y Hoffmann, K.H. (2005, abril). Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Journal of the International Society for Matrix Biology*, 24 (2), 155–165. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v11.i9.604>

- Mudda, J.A. y Bajaj, M. (2011). Stem cell therapy: a challenge to periodontist. *Indian Journal of Dental Research*, 22 (1), 132-139. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.79978>
- Neel, E.A.A., Chrzanowski, W., Salih, V.M., Kim, H.W. y Knowles, J.C. (2014). Tissue engineering in dentistry. *Journal of Dentistry*, 42 (8), 915-928. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.05.008>
- Piva, E., Tarlé, S.A., Nör, J.E., Zou, D., Hatfield, E., Guinn, T., Eubanks, E.J., Kaigler, D. (2017). Dental pulp tissue regeneration using dental pulp stem cells isolated and expanded in human serum. *Journal of Endodontics*, 43 (4):568–574. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.11.018>
- Portron, S., Soueidan, A., Marsden, A.C., Rakic, M., Verner, C., Weiss, P., Badran, Z. y Struillou, X. (2019). Periodontal regenerative medicine using mesenchymal stem cells and biomaterials: A systematic review of pre-clinical studies. *Dental Materials Journal*, 38 (6), 867-883. <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-315>
- Ranganathan, K. y Lakshminarayanan, V. (2012). Stem cells of the dental pulp. *Indian Journal Dental Research*. 23 (4), 558. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.104977>
- Riccio, M., Maraldi, T., Pisciotta, A., La Sala, G.B., Ferrari, A., Bruzzesi, G., Motta, A., Migliaresi, C. y De Pol ,A. (2012, mayo). Fibroin scaffold repairs critical-size bone defects in vivo supported by human amniotic fluid and dental pulp stem cells. *Tissue Engineering Part A*, 18 (9-10), 1006-13. <https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2011.0542>
- Rodriguez Yunta, E. (2003). El potencial terapeutico de las celulas madre. Eticidad del uso de las celulas madre. *ARS MEDICA Revista de Ciencias Médicas* 8, 175–188. <https://doi.org/10.11565/arsmed.v32i2.266>
- Rodríguez-Lozano, F. J., Insausti, C. L., Iniesta, F., Blanquer, M., Ramírez, M. D. C., Meseguer, L., Meseguer-Henarejos, A.B., Marín, N., Martínez, S. y Moraleda, J.M. (2012). Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía bucal*, 17 (6), e1062-7. <https://doi.org/10.4317/medoral.17925>
- Rosa, V. (2013). What and where are the stem cells for dentistry?. *Singapore Dental Journal*, 34 (1), 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.sdj.2013.11.003>

- Rosa, V., Botero, T.M. y Nör, J.E. (2011). Regenerative endodontics in light of the stem cell paradigm. *International Dental Journal*, 61, 23-28. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.2011.00026.x>
- Rosa, V., Della Bona, A., Cavalcanti, B.N. y Nör JE. (2012). Tissue engineering: from research to dental clinics. *Dental Materials*, 28 (4):341-348. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.11.025>
- Sakai, K., Yamamoto, A., Matsubara, K., Nakamura, S., Naruse, M., Yamagata, M., Sakamoto, K., Tauchi, R., Wakao, N., Imagama, S., Hibi, H., Kadomatsu, K., Ishiguro, N. y Ueda, M. (2010, enero). Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. *The Journal of Clinical Investigation*, 122 (1), 80-90. <https://doi.org/10.1172/JCI59251>
- Seo, B.M., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, P.M., Batouli, S., Brahimi, J., Young, M., Robey, P.G., Wang, C.Y. y Shi, S. (2004, 10 de julio). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, 364 (9429), 149–155. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16627-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16627-0)
- Seo, B.M., Sonoyama, W., Yamaza, T., Coppe, C., Kikui, T., Akiyama, K., Lee, J.S. y Shi, S. (2008, julio). SHED repair critical-size calvarial defects in mice. *Oral Diseases*, 14 (5), 428-34. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2007.01396.x>
- Shekar, R. y Ranganathan, K. (2012). Phenotypic and growth characterization of human mesenchymal stem cells cultured from permanent and deciduous teeth. *Indian Journal of Dental Research*, 23 (6), 838. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.111281>
- Shi, X., Mao, J., y Liu, Y. (2020). Pulp stem cells derived from human permanent and deciduous teeth: Biological characteristics and therapeutic applications. *Stem Cells Translational Medicine*, 9(4), 445-464. <https://doi.org/10.1002/sctm.19-0398>
- Shimajima, C., Takeuchi, H., Jin, S., Parajuli, B., Hattori, H., Suzumura, A., Hibi, H., Ueda, M. y Yamamoto, A. (2016). Conditioned Medium from the Stem Cells of Human Exfoliated Deciduous Teeth Ameliorates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*, 196, 4164–4171. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501457>

- Sonoyama, W., Liu, Y., Fang, D., Yamaza, T., Seo, B.M., Zhang, C., Liu, H., Gronthos, S., Wang, C.Y., Wang, S. y Shi, S. (2006, 20 de diciembre). Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *Plos One*, 1 (1), e79. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000079>
- Sonoyama, W., Liu, Y., Yamaza, T., Tuan, R.S., Wang, S., Shi, S. y Huang, G.T. (2008, febrero). Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of Endodontics*, 34 (2), 166-171. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.11.021>
- Syed-Picard, F.N., Du, Y., Lathrop, K.L., Mann, M.M., Funderburgh, M.L. y Funderburgh, J.L. (2015). Dental pulp stem cells: a new cellular resource for corneal stromal regeneration. *Stem Cells Translational Medicine*, 4(3), 276-285. <https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0115>
- Telles, P.D., Machado, M.A., Sakai, V.T. y Nör, J.E. (2011). Pulp tissue from primary teeth: new source of stem cells. *Journal of Applied Oral Science*, 19 (3), 189-194. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572011000300002>
- Viña, J. (2014). Obtención y caracterización de células madre de pulpa dental humanas e interacción con β -fosfato tricálcico (tesis doctoral). Universidad de Valencia, Facultad de Medicina y Odontología, Valencia.
- Wang, Z., Pan, J., Wright, J.T., Bencharit, S., Zhang, S., Everett, E.T., Teixeira, F.B. y Preisser, J.S. (2010). Putative stem cells in human dental pulp with irreversible pulpitis-an exploratory study. *Journal of Endodontics*. 36 (5), 820-5. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.02.003>
- Yamamiya, K., Okuda, K., Kawase, T., Hata, K., Wolff, L.F. y Yoshie, H. (2008, mayo). Tissue-engineered cultured periosteum used with plateletrich plasma and hydroxyapatite in treating human osseous defects. *Journal of Periodontology*, 79 (5),811-8. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.070518>
- Yamaza, T., Kentaro, A., Chen, C., Liu, Y., Shi, Y., Gronthos, S., Wang, S. y Shi, S. (2010, marzo). Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Ressearch and Therapy*, 1 (1), 5. <https://doi.org/10.1186/scrt5>

- Yildirim, S., Fu, S. Y., Kim, K., Zhou, H., Lee, C. H., Li, A., Kim, SG, Wang, S. y Mao, J. J. (2011). Tooth regeneration: a revolution in stomatology and evolution in regenerative medicine. *International Journal of Oral Science*, 3(3), 107-116. <https://doi.org/10.4248/IJOS11042>
- Zhang, Q., Shi, S., Liu, Y., Uyanne, J., Shi, Y., Shi, S. y Le, A.D. (2009, 15 de diciembre). Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Gingiva Are Capable of Immunomodulatory Functions and Ameliorate Inflammation-Related Tissue Destruction in Experimental Colitis. *Journal of Immunology*, 183 (12), 7787–7798. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902318>
- Zheng, C., Chen, J., Liu, S. y Jin, Y. (2019, agosto). Stem cell-based bone and dental regeneration: a view of microenvironmental modulation. *International Journal of Oral Science* 11, 23. <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0060-3>