



**REGENERACIÓN PULPAR EN DIENTES MADUROS USANDO CÉLULAS
MADRE, UNA REVISIÓN NARRATIVA.**

Yenifer Caterine Arias González

20571712536

Juan José Martínez Betancourt

20571716163

Universidad Antonio Nariño

Programa Ciencias de la salud

Facultad de Odontología

Armenia, Colombia

2021

**REGENERACIÓN PULPAR EN DIENTES MADUROS USANDO CÉLULAS
MADRE, UNA REVISIÓN LITERARIA.**

Yenifer Caterine Arias Gonzales

Juan José Martínez Betancourt

Proyecto de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:
Odontología@

Universidad Antonio Nariño

Programa Ciencias de la salud

Facultad de Odontología

Armenia, Colombia

2021

NOTA DE ACEPTACIÓN

El trabajo de grado titulado
Regeneración pulpar en dientes maduros usando células madre, una revisión
narrativa.

Cumple con los requisitos para optar
Al título de ODONTOLOGO GENERAL.



Firma del Tutor

Firma Jurado

Firma Jurado

Armenia, 22/10/2021.

Contenido

Lista de Figuras	2
Lista de tablas	3
Preliminares	4
Resumen	8
Abstract	9
Introducción.....	11
Marco teórico.....	13
1. Estado del arte	22
2. Planteamiento del problema	25
3. Justificación:	26
4. Objetivos.....	27
Metodología.	28
1. Criterios de elegibilidad:.....	29
Resultados	30
Discusión	38
Conclusiones	47
Referencias Bibliográficas	49

Lista de Figuras

Pág.

Figura 1.

Esquema de localización celular. Creado con BioRender.com

Lista de tablas

Tabla 1.

Tipos de células madre y su localización descritas por Q. Zhai, Z. Dong, W. Wang, B. Li, Y. Jin. (2019).

Tabla 2.

Protocolo para la preparación del conducto que va recibir las células madre, se describe el proceso de desinfección y acondicionamiento de la dentina.

Tabla 3.

Tasa de éxito de regeneración pulpar usando células madre.

Preliminares

Dedicatoria

Este trabajo de grado va dedicado con todo el amor a nuestros familiares, que con su sacrificio y esfuerzo nos permitieron alcanzar nuestro más alto potencial, que con sus palabras de aliento nos permitieron sortear las dificultades y que con los valores que nos inculcaron nos permitieron desarrollarnos como personas y profesionales.

Gracias a nuestros padres, quienes jugaron un rol fundamental en esta, la culminación de una de las etapas más importantes de nuestras vidas.

Agradecimientos

Primeramente, agradecemos a Dios por darnos la fortaleza para realizar este proyecto, a nuestras familias que siempre nos apoyaron en el proceso.

También nuestro agradecimiento va para nuestros tutores Néstor Iván Cardona Pérez y Viviana Castro Castillo, que nos brindaron de su conocimiento y tiempo para permitir el desarrollo del presente trabajo.

Resumen

En la actualidad la endodoncia convencional es un procedimiento que presenta variedad de efectos secundarios a futuro, por eso se desarrollan terapias de regeneración y/o revascularización pulpar, que normalmente se realizan en dientes permanentes inmaduros con el fin de generar tratamientos más conservadores. En los últimos años y en los avances recientes en la ingeniería de tejidos se ha registrado un camino para la terapia pulpar lo cual permite la regeneración pulpar completa de los dientes maduros, en la cual se toma ventaja de la capacidad de diferenciación de las células madre pulpares residuales. Estas células son capaces de generar un tejido vivo altamente vascularizado y rico en tejido conjuntivo, el cual coloniza el espacio pulpar disponible. Sin embargo y hasta la realización de esta revisión de la literatura, ningún método se ha reportado como viable para su aplicación clínica en humanos.

Objetivo: Evaluar qué métodos de regeneración pulpar en dientes maduros empleando células madre, se encuentran reportados en la literatura.

Materiales y métodos: Se realizó una revisión narrativa mediante la búsqueda en las bases de datos Science Direct, PubMed, Scopus, Web of Science y el motor de búsqueda Google Scholar. Se utilizó una estrategia de búsqueda con una serie de palabras clave y términos MeSH y no MeSH relacionados con la pregunta de investigación y los objetivos.

Resultados: Se identificaron un total de 60 artículos en las siguientes bases de datos: Science Direct (23), Scopus (12), PubMed (21), Google Scholar (3), Web of Science (1). Se eliminaron los artículos duplicados por medio del gestor bibliográfico gratuito Mendeley, y también se eliminaron los que no se referían a dientes maduros, o no tenían

relevancia para el desarrollo del trabajo. Finalmente se seleccionaron 36 artículos que nos permitieron el desarrollo de la presente revisión.

Palabras clave: Revascularización, Revitalización pulpar, Células madre de la pulpa dental, Células madre, Regeneración pulpar, Dientes maduros, Dientes adultos, Regeneración endodóntica, Regeneración pulpar, Trasplante de células madre / progenitoras, Regeneración dental, Ingeniería de tejidos.

Abstract

Background: At present, conventional endodontics is a procedure that presents a variety of side effects in the future, that is why pulp regeneration and/or revascularization therapies are developed, which are usually performed in immature permanent teeth in order to generate more conservative treatments. In recent years and in the recent advances in tissue engineering, a way has been registered for pulp therapy that allows us the complete pulp regeneration of mature teeth, in which advantage is taken of the differentiation capacity of residual pulp stem cells. These cells are capable of generating a highly vascularized living tissue rich in connective tissue, which colonizes the available pulp space. However, until the completion of this review, no method has been reported in the literature as viable for clinical application in humans.

Objective: To evaluate which methods of pulp regeneration in mature teeth using stem cells are reported in the literature.

Materials and methods: A literature review was conducted by searching open access databases (PubMed, google scholar). A search strategy was used with a series of keywords and MeSH and non-MeSH terms related to the research question and the objectives.

Results: A total of 60 articles were identified in the following databases: Science direct (23), Scopus (12), PubMed (21), Google scholar (3), Web of Science (1).

Duplicate articles were eliminated using the free Mendeley bibliographic manager, and those that did not refer to mature teeth, or had no relevance to the development of the study were also eliminated. Finally, 36 articles were reviewed, which allowed us to carry out the present review.

Key words: Revascularization, Pulp revitalization, Dental pulp stem cell, Stem cell, Pulp regeneration, Mature teeth, Adult teeth, Endodontic regeneration, Pulp regeneration, Stem/progenitor cell transplantation, Dental regeneration, Tissue engineering.

Introducción

La preservación de la pulpa dental vital y de su sistema vasculo-nervioso sigue siendo uno de los desafíos más importantes en la odontología moderna. Debido al inmenso potencial de neuro vascularización, el trasplante de células madre mesenquimales (MSC) se ha mostrado prometedor en la medicina regenerativa (Sui et al., 2019). La regeneración pulpar es parte del concepto de endodoncia regenerativa que proporciona reemplazos para las estructuras dentales dañadas, incluido el complejo dentino-pulpar. Es un campo de la medicina regenerativa y una rama de la ingeniería de tejidos, que utiliza células madre, factores bioquímicos y materiales de ingeniería para reemplazar tejidos biológicos perdidos o dañados. Después del aislamiento, las células madre creadas por ingeniería tisular se propagan en un medio especial y se trasplantan dentro del espacio preparado del conducto radicular para convertirse en tejido pulpar nuevo (Saghiri et al., 2015). La ingeniería de tejidos tiene como objetivo restaurar los tejidos perdidos y representa un área de investigación importante en la odontología moderna. El reemplazo total de tejido pulpar perdido debido a causas traumáticas, infección, inflamación o necrosis sería un gran aporte a la Odontología Regenerativa (de Cara et al., 2019). La importancia de esto es que los dientes humanos adultos poseen muy poca capacidad de reparación porque los dientes contienen cantidades limitadas de células madre. Actualmente en la clínica, las terapias de base biológica para restaurar los tejidos dentales dañados se centran principalmente en la reparación de dos tipos de tejidos blandos dentales (Paul, 2020).

En primer lugar, es de gran importancia las células madre ya que son células inmaduras y no especializadas que tienen el potencial de convertirse en muchos linajes celulares diferentes a través de la diferenciación. Según la definición convencional, estas células pueden renovarse indefinidamente a través de la "autorrenovación" y varían en términos de su ubicación en el cuerpo y el tipo de células que pueden producir. Estudios recientes han revelado que los tejidos bucales, que son fácilmente accesibles para los odontólogos, son una rica fuente de células madre. Dadas sus capacidades únicas, las células madre son particularmente importantes para desarrollar tecnologías innovadoras para las estrategias de ingeniería de tejidos, para regenerar o reemplazar tejidos dañados, enfermos o faltantes e incluso órganos mediante la manipulación celular *in vitro* y el diseño del entorno extracelular (Egusa et al., 2012).

Posterior a la selección de la célula madre, se encuentra que las terapias pulpares vitales para reparar la pulpa dental parcialmente dañada se han utilizado con cierto éxito en la clínica dental, donde la endodoncia regenerativa se ha centrado en revitalizar la pulpa dental y mantener el desarrollo continuo de la raíz en dientes permanentes inmaduros. Pero en la odontología moderna se han desarrollado nuevos métodos que nos permiten la regeneración pulpar completa que se centra en la regeneración pulpar total y la revascularización de los dientes completamente desarrollados al facilitar la diferenciación de odontoblastos derivados de las células DPSC (células madre de la pulpa dental) entre otras para la regeneración pulpar (Paul, 2020), pero no se han establecido métodos para su aplicación. Por eso el objetivo de la presente revisión es evaluar qué métodos de regeneración pulpar en dientes maduros empleando células madre se encuentran reportados en la literatura.

Marco teórico

La endodoncia regenerativa tiene sus raíces en el trabajo de Nygaard-Østby en la década de 1960. En 2001, Iwaya e Ikawa reabrieron el campo mostrando un informe de caso sobre el crecimiento continuo de la raíz de un diente permanente inmaduro con periodontitis apical y un tracto sinusal (Paul, 2020).

La pulpa dental, es el único tejido conectivo blando y vascular en una estructura tan rígida y mineralizada como el diente, juega un papel indispensable en el mantenimiento de la homeostasis del diente como órgano viable (Paul, 2020). La necrosis pulpar siempre provoca la desnutrición de los dientes. Existe deficiencia y desarrollo anormal de la raíz dental, lo que conduce a pigmentación, fractura, abscesos o incluso pérdida de los dientes. Se ha investigado ampliamente la aplicación de tipos de células madre para regenerar la pulpa dental funcional (Paul, 2020). La pulpa dental es un tejido altamente vascularizado e innervado que realiza varias funciones que van desde la respuesta a la agresión bacteriana y la lesión, proporcionando sensibilidad neuronal a la transmisión de estímulos mecánicos para su reparación y regeneración. La pérdida de este tejido da como resultado una pérdida de vitalidad dental que conlleva a muchos efectos adversos. La endodoncia es el tratamiento ideal y de elección actual para tratar los dientes permanentes que presentan patologías pulpares y periapicales. En la clínica el material de relleno utilizado para este procedimiento es un compuesto inorgánico conocido como la gutapercha. Por lo tanto, este procedimiento conduce a la pérdida permanente de la vitalidad dental y la sensibilidad. Debido a la falta de respuesta inmune de un diente insensible, las infecciones posteriores pueden pasar desapercibidas y aumentar la

probabilidad de infecciones secundarias como abscesos. Por lo tanto, mantener la funcionalidad de la pulpa dental es de vital importancia para la integridad dental. Los enfoques de ingeniería de tejidos destinados a regenerar la pulpa dental pueden abordar fácilmente estos problemas (Saoud et al., 2016). Además, la pulpa dental tiene altos mecanismos de defensa contra agentes infecciosos con un robusto sistema de reconocimiento de patrones microbianos que, además de las células inmunes, incluyen odontoblastos, fibroblastos e inervación nociceptiva densa (Diogenes, 2020). Durante mucho tiempo se ha pensado que la pulpa dental contiene una subpoblación de células madre que pueden sufrir odontoblastogénesis para formar dentina reparadora después de una lesión (Sui et al., 2019). Los dientes humanos adultos poseen muy poca capacidad para su reparación debido a que contienen cantidades limitadas de células madre. Actualmente, las terapias de base biológica para restaurar los tejidos dentales dañados se centran principalmente en la reparación de los tipos de tejidos blandos dentales (Paul, 2020).

Según estudios las células madre vitales pueden sobrevivir a la necrosis pulpar, son capaces de diferenciarse en odontoblastos secundarios y contribuir a la conformación del tejido radicular (Méndez González et al., 2014). Existe un enorme crecimiento en el conocimiento sobre los principios biológicos de los procedimientos de regeneración pulpar desde los estudios fundacionales en la década de 1960 y el primer informe de caso contemporáneo en 2001. Los investigadores y odontólogos iniciales optaron por la revascularización (provocar sangrado intraconducto) con el objetivo principal de formar un coágulo de sangre para promover la angiogénesis. En 2011, un estudio clínico (Chrepa et al., 2015) que utilizó técnicas de biología molecular y antígenos (son cualquier sustancia que provoca que el sistema inmunitario produzca anticuerpos contra sí

mismo; Estos antígenos para este tipo de estudios los usan como marcadores en pruebas de laboratorio para identificar los tejidos o células. También demostró que los REP en dientes inmaduros, también llamados procedimientos de regeneración, eran procedimientos basados en células madre. Más tarde, se demostró que las células madre mesenquimales indiferenciadas (CMM) también podrían transferirse a los conductos radiculares después de una hemorragia provocada a dientes maduros en pacientes adultos. Por lo tanto, estos datos apoyan colectivamente la hipótesis de que las técnicas actualmente utilizadas en los REP son, de hecho, procedimientos basados en células madre (Diogenes & Hargreaves, 2017)

El proceso del desarrollo dental, conocido como odontogénesis, es iniciado y regulado por las interacciones ocurridas entre el epitelio y las células madre mesenquimales (CMMs). Estas últimas están presentes en todo momento y permanecen durante estadios adultos del organismo para servir como reguladoras de la homeostasis y reparación de injurias. Son células indiferenciadas capaces de autorrenovarse, multipotentes, de morfología blastoidea y con capacidad de diferenciación hacia células como adipocitos, condrocitos, osteocitos, entre otras. Es por esto que representan una gran oportunidad para la medicina regenerativa como parte de un campo aún en desarrollo; la ingeniería tisular (W. Zhang & Yelick, 2021).

Las células madre tienen el potencial de autorrenovarse y producir diferentes tipos de células, proporcionando así nuevas estrategias para regenerar los tejidos faltantes. En el campo de la odontología, se han identificado células madre mesenquimales / estromales (MSCs) adultas en varios tejidos orales y maxilofaciales, lo que sugiere que los tejidos orales son una fuente rica de células madre, y se espera que las células madre y mucosas

orales proporcionan un producto ideal fuente de células reprogramadas genéticamente, como las células madre pluripotentes inducidas (iPS). Además, se espera que los tejidos orales no solo sean una fuente, sino también un objetivo terapéutico para las células madre, ya que las terapias de ingeniería de tejidos y células madre en odontología continúan atrayendo un interés clínico cada vez mayor (Egusa et al., 2012).

Hasta la fecha, se han aislado y caracterizado 5 tipos de células madre / progenitoras dentales humanas diferentes: células madre de la pulpa dental (DPSC), células madre de dientes deciduos exfoliados (SHED), células madre de ligamento periodontal (PDLSC), células madre de la papila apical (SCAP) y células progenitoras del folículo dentario (DFPC). Estas poblaciones posnatales tienen cualidades similares a las de las células madre mesenquimales (MSC), incluida la capacidad de autorrenovación y el potencial de diferenciación multilínea (Fomby et al., 2010) ver figura 1.

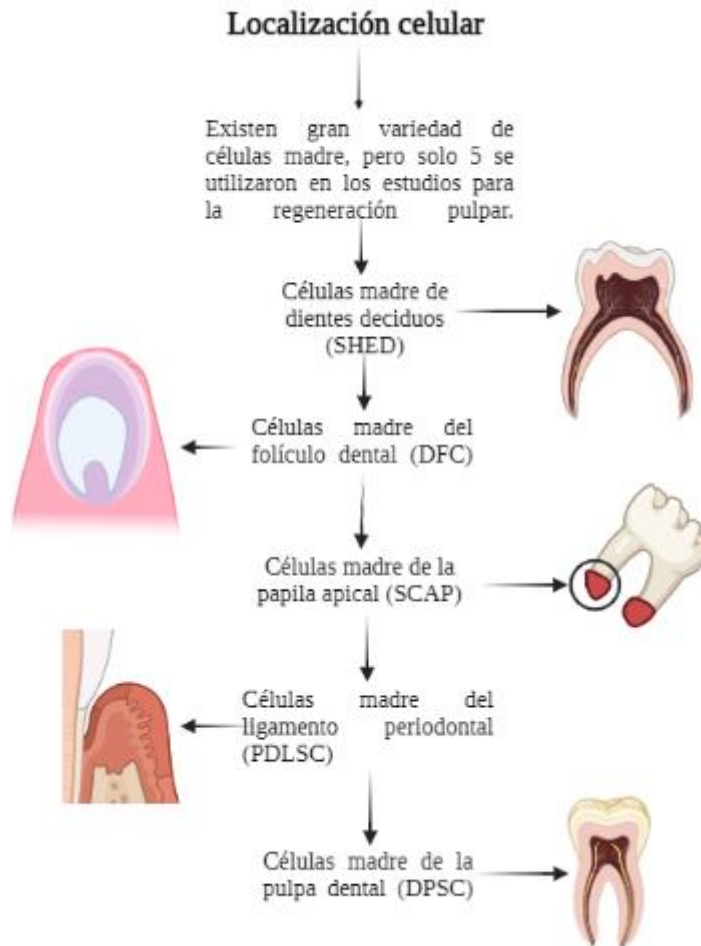


Figura 1.

Esquema de localización celular.

Las células madre poseen una potencial variabilidad y se diferencian en varios tipos de células madre en el cuerpo. Se han identificado dos tipos de células madre según su potencial de diferenciación. Una son las células madre embrionarias (ESC) y la otra son las células madre adultas. Las células madre mesenquimales (MSC) son células madre adultas que pueden aislarse de fuentes animales y humanas. Las células madre

embrionarias tienen características pluripotentes y pueden diferenciarse en la mayoría de las capas embrionarias que se localizan normalmente en el cordón umbilical. Debido a problemas éticos que rodean el uso de ESC, los estudios más recientes se han centrado en células madre derivadas de adultos (Abbass et al., 2020).

Las CMM se identificaron por primera vez como precursores de fibroblastos en la médula ósea en la década de 1950 y, posteriormente, se han investigado por sus importantes propiedades multipotentes y autorrenovables. Se ha demostrado que las CMM se diferencian en hueso, músculo esquelético, tejido adiposo, cartílago, tendón y células neurales. Las células que muestran características de MSC pueden aislarse de casi todos los tejidos, incluida la zona perivascular de los tejidos dentales (Abbass et al., 2020).

Las células madre pulpares, identificadas por primera vez por (Misako Nakashima et al., 2009) post natalmente como DPSC, poseen capacidad de autorrenovación, capacidad de diferenciación multilínea y eficiencia clonogénica y, lo más sorprendente, pueden regenerar ectópicamente un complejo de dentina-pulpa similar en una disposición similar a la del complejo natural de dentina-pulpa. Más tarde, las células madre pulpares que se conocieron como SHED fueron identificadas en dientes deciduos exfoliados en niños humanos. Los SHED son altamente proliferativos y son capaces de generar tejido similar a la pulpa cuando se implantan por vía subcutánea (Guo et al., 2020). Las células madre de la pulpa dental (DPSC), poseen capacidad de autorrenovación, capacidad de diferenciación multilínea y eficiencia clonogénica y lo más sorprendente, pueden regenerar ectópicamente un complejo de dentina-pulpa similar en una disposición similar a la del complejo natural de dentina-pulpa. Desde su

descubrimiento, las DPSC y las SHED se han investigado exhaustivamente con respecto a su potencial como fuentes celulares óptimas para la regeneración pulpar, ya que son claramente ventajosas para la aplicación clínica debido a su origen en el tejido pulpar, su fácil aislamiento de los recursos (incluidos los terceros molares), (Sui et al., 2019). Las células madre del ligamento periodontal (PDLSC) fueron descubiertas por primera vez en 2004 por el profesor Songtao (W. Zhang & Yelick, 2021) utilizando marcadores relacionados con las células madre mesenquimales. Los PDLSC pueden diferenciarse a lo largo del linaje de células mesenquimales para producir células similares a osteoblastos, adipocitos y células formadoras de colágeno *in vitro*. Además, los PDLSC expresan un mayor nivel de factores de transcripción, lo que sugiere que los PDLSC pertenecen a la población única de células madre mesenquimales posnatales. Las células madre de la papila apical SCAP, que tiene un alto potencial proliferativo, es adecuada para la regeneración de los dientes a base de células. SCAP parece ser la fuente de odontoblastos primarios cuando se forma la dentina radicular, mientras que las DPSC son la fuente probable de odontoblastos de reemplazo para formar dentina reparadora (Zhai et al., 2019). Ver tabla 1.

Tabla 1.

Tipos de células madre y su localización descritas por Q. Zhai, Z. Dong, W. Wang, B. Li, Y. Jin. (2019).

TIPOS DE CÉLULAS DENTALES	LOCALIZACIÓN
CÉLULAS MADRE DEL FOLÍCULO DENTAL (DFC)	Son las células más comunes del saco del tercer molar. Se localizan en el folículo dental.
CÉLULAS MADRE DE LA PAPILA APICAL (SCAP)	Tiene una mayor capacidad proliferativa y potencia de mineralización. SCAP parece ser la fuente de odontoblastos primarios cuando se forman la dentina radicular. Se localizan en la papila apical.
CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DENTAL (DPSC)	Muestran una gran capacidad para proliferar y autorrenovar y, finalmente, diferenciarse en células de tipo odontoblastos y osteoblastos para formar dentina y hueso, se obtiene mejor en el tercer molar. Localizadas en el tejido pulpar.
CÉLULAS MADRE DE LA PULPA HUMANA DE DIENTES DECIDUOS EXFOLIADOS (SHED)	No solo generaron hueso y dentina a partir de los odontoblastos, sino que también se diferenciaron en otras células madre derivadas mesenquimales y no mesenquimales in vitro, tales como adipocitos y células neurales. Además de formar tejido mineralizado. Se localizan en el tejido pulpar de dientes deciduos exfoliados.
CÉLULAS MADRE DEL LIGAMENTO PERIODONTAL (PDLSC)	Pueden diferenciarse a lo largo de linaje de células mesenquimales para producir células similares a osteoblastos, adipocitos y células formadoras de colágeno. Se localizan en el ligamento periodontal.

El folículo dental es una cápsula de tejido conectivo laxo derivada del ectomesénquima y rodea al germen del diente en desarrollo. El folículo dental contiene células progenitoras que pueden diferenciarse en células del ligamento periodontal y osteoblastos. Las células del folículo dentario humano (DFC) son las células más comunes extraídas del saco del tercer molar. Su capacidad para adherirse a la superficie

de plástico hace que los DFC sean fáciles de aislar de los folículos dentales humanos durante el cultivo (Zhai et al., 2019).

El éxito de la ingeniería de tejidos depende del transporte de oxígeno, nutrientes a las células implantadas, además no pueden existir microfiltraciones que puedan dar paso a microorganismos. Si el suministro de sangre no se puede establecer rápidamente, se producirá la necrosis del trasplante. Esta regla también es aplicable a la regeneración de la pulpa dental, donde la angiogénesis es clave tanto para el desarrollo como para la regeneración del complejo dentina-pulpa (Saghiri et al., 2015).

1. Estado del arte

La pulpa dental es un tejido blando altamente especializado en una estructura mineralizada, que puede ser afectada por diversas agresiones, principalmente por caries dental o traumatismo. La regeneración del complejo pulpar es de suma importancia para recuperar la vitalidad del diente. El procedimiento de endodoncia regenerativa (REP) es un enfoque relativamente moderno, que tiene como objetivo regenerar el complejo pulpar mediante la estimulación de la diferenciación de células madre / progenitoras residentes o trasplantadas (Abbass et al., 2020).

Se han identificado varias poblaciones de células madre adultas en el diente. Células madre de la pulpa dental (DPSC) y se han aislado del complejo pulpar células madre de dientes deciduos humanos conocidas como (SHED). Las células derivadas de ellos se diferencian *in vitro* en odontoblastos, adipocitos, osteoblastos o condroblastos y forman dentina / tejidos parecidos a la pulpa. También se han aislado células madre del ligamento periodontal o células madre de la papila apical de la raíz en desarrollo (SCAP). Las células derivadas de estas células pueden diferenciarse en odontoblastos, células parecidas a cementoblastos, adipocitos y tejido conectivo, ambos (*in vitro*, *in vivo*). Finalmente, las células madre del folículo dental (DFSC), las células progenitoras potenciales de las células madre del ligamento periodontal, las células progenitoras de los gérmenes dentales. Los nuevos avances a nivel celular y molecular están proporcionando información interesante para comprender mejor este potencial regenerativo, el conocimiento de esta información es crucial tanto para comprender el proceso y diseñar REP en humanos basados en modificaciones genéticas (Marí-Beffa et al., 2017).

Los REP son aplicaciones diversas de un procedimiento común como la endodoncia convencional que se inicia con la desinfección con irrigación de hipoclorito de sodio y medicación intraconducto de hidróxido de calcio (Marí-Beffa et al., 2017).

La ESE Sociedad Europea de Endodoncia sugirió un protocolo que incluye la preparación de la cavidad de acceso y la extracción del tejido pulpar necrótico seguido de la desinfección. El hipoclorito de sodio (NaOCl) es la primera opción para la desinfección debido a su potencial antimicrobiano (Ivica et al., 2021). Aunque no existe consenso sobre la aplicación de hidróxido de calcio como medicamento entre dos citas, varios estudios han demostrado un efecto positivo de este medicamento sobre la supervivencia de las células madre (Diogenes & Hargreaves, 2017).

El acondicionamiento de la dentina con algún agente quelante como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) elimina el conocido barrillo dentinario o smear layer el cual puede inhibir en la proliferación de las células madre, la aplicación del (EDTA) ayuda a reclutar células madre y diferenciarlas en células que se asemejan a las que se encuentran en las pulpas normales (Diogenes & Hargreaves, 2017). El sangrado inducido por el exceso de instrumentos se utiliza para formar un coágulo de sangre. Sin embargo, la formación de coágulos de sangre no siempre se puede lograr y puede provocar la decoloración de los dientes por la difusión de hemoglobina en los túbulos dentinarios (Saoud et al., 2016). Un cemento de silicato cálcico hidráulico (por ejemplo, MTA o cemento de silicato tricálcico) se coloca coronalmente a este coágulo, que luego es seguido por la restauración final. Los parámetros que definen el éxito de dicho tratamiento son la cicatrización de una lesión periapical preexistente, el aumento del grosor y la longitud de la raíz, el cierre apical y la respuesta positiva a las pruebas de

sensibilidad (formación radicular completa) (Kim et al., 2018). La evaluación histológica de los dientes humanos, tratados con los enfoques regenerativos que están permitidos actualmente, mostró en su mayoría una reparación tisular o una combinación de reparación y regeneración (Kim et al., 2018).

2. Planteamiento del problema

El tratamiento endodóntico convencional es un procedimiento común en odontología el cual se centra en la preparación mecánica tridimensional, la desinfección y la posterior obturación del espacio del conducto radicular utilizando materiales inertes biocompatibles sin regeneración de los tejidos pulpares. Aunque los dientes pueden salvarse después de tratamientos de endodoncia exitosos, están desvitalizados y, por lo tanto, son susceptibles a infecciones y fracturas. Dado el impacto de la pérdida de vitalidad pulpar en el pronóstico de los dientes, la reparación y/o regeneración del complejo dentino-pulpar sigue siendo un objetivo principal de la endodoncia.

En la actualidad se desarrollan terapias de regeneración y/o revascularización pulpar, que normalmente se realiza en dientes permanentes inmaduros. Pero en los últimos años y en los avances recientes en la ingeniería de tejidos se ha registrado el camino para la terapia pulpar regenerativa o reparadora biológica, que nos permiten la regeneración pulpar completa de los dientes maduros, en la cual se toma ventaja de la capacidad de diferenciación de las células madre pulpares residuales. Estas células son capaces de generar un tejido vivo altamente vascularizado y rico en tejido conjuntivo, el cual coloniza el espacio pulpar disponible.

En la literatura se han reportado diferentes protocolos de aislamiento, formas de trasplante, materiales usados para el cultivo de estas células madre, pero ninguno de estos métodos se ha reportado como viable para su aplicación en la regeneración pulpar en humanos. Por esta razón, se plantea el siguiente objetivo de investigación: Evaluar qué métodos de regeneración pulpar en dientes maduros empleando células madre, se encuentran reportados en la literatura.

3. Justificación

En la actualidad la endodoncia convencional es un procedimiento que presenta gran variedad de efectos secundarios a futuro. Por esto se plantea esta revisión literaria con el propósito de estudiar el potencial de las células madre usadas para la realizar una regeneración pulpar. En la literatura se proponen resultados positivos usando las células madre para regenerar los tejidos pulpares, usando los diferentes tipos de células madre con un método adecuado, gracias a su potencial de proliferación y multi diferenciación las células madre podrían ser una opción ideal para devolver la vitalidad pulpar del diente. El tratamiento con células madre promete ser la terapéutica ideal a futuro en este caso para regenerar un diente maduro con patología pulpar como la necrosis o pulpitis irreversible, adicionalmente puede presentar mayores beneficios que efectos secundarios en comparación con la endodoncia convencional, debido a que causa vitalidad pulpar a un diente, recuperara su función y sensibilidad, además este procedimiento no causaría efectos secundarios como una fractura o la pérdida de la pieza dental.

Por lo anterior, con esta revisión literaria se pretende hacer uso de manera crítica, ordenada, precisa y analítica de los estudios relacionados con el tema de modo tal que se fundamente el uso de células madre en procesos de regeneración pulpar.

4. Objetivos

Objetivo general:

- Evaluar qué métodos de regeneración pulpar en dientes maduros empleando células madre, se encuentran reportados en la literatura.

Objetivos Específicos:

- Evaluar las tasas de éxito en tratamientos de regeneración pulpar usando células madre.
- Analizar el éxito terapéutico de la regeneración pulpar usando células madre en comparación con la endodoncia convencional.
- Identificar cuál método basado en el uso de células madre para la regeneración pulpar tiene mayor accesibilidad.

Metodología

La presente revisión literaria se realizó seleccionando una serie de palabras clave y términos MeSH y no MeSH relacionados con la pregunta de investigación y los objetivos. Terminos Mesh: (((("Tooth"[Mesh]) AND "Regeneration"[Mesh]) AND "Regenerative Endodontics"[Mesh]) AND "Dental Pulp"[Mesh]) AND "Stem Cells"[Mesh].

Con las palabras claves se realizó la búsqueda en la base de datos de acceso libre PubMed y el motor de búsqueda Google Scholar y por medio de la biblioteca de la UAN (Scopus, Science Direct, Web of Science). Las palabras claves usadas fueron: Revascularization, pulp revitalization, dental pulp stem cell, stem cell, pulp regeneration, mature teeth, adult teeth, endodontic regeneration, pulp regeneration, stem/progenitor cell transplantation, dental regeneration, tissue engineering.

1. Criterios de elegibilidad

Se tuvo en cuenta como criterios de inclusión artículos que reportan trabajos en humanos y modelos animales, sin restricción de años, idioma inglés y español, que muestren datos sobre el éxito y fracaso del tratamiento (presencia de sensibilidad preoperatorio y posoperatorio, análisis histológico, análisis radiográfico preoperatorio y postoperatorio). Se organizaron en una tabla de Excel donde se dividieron según la base de datos de origen, aceptación si presenta relación con el tema de la revisión, y el tipo de estudio.

Se extrajo la información relacionada con los criterios de inclusión, la pregunta de investigación y los objetivos de este trabajo. Se analizó y sintetizó la información de modo que se permita comparar la evidencia aportada por cada uno de los estudios, y que facilite la generación de conclusiones que sugieren una nueva contribución a la literatura existente. Además, se utilizó el gestor bibliográfico gratuito Mendeley para organizar los artículos y para formatear las referencias.

Resultados

Se identificaron un total de 60 artículos en las siguientes bases de datos: Science Direct (23), Scopus (12), Pubmed (21), Google Scholar (3), Web Of Science (1). Se eliminaron los artículos duplicados por medio del gestor bibliográfico gratuito Mendeley, y también se eliminaron los que no se referían a dientes maduros, o no tenían relevancia para el desarrollo del trabajo. Finalmente se revisaron 36 artículos que nos permitieron el desarrollo del presente trabajo.

Métodos de regeneración

El proceso de regeneración pulpar usando células madre en dientes maduros, es un tratamiento muy moderno que abarca diferentes métodos, considerando esto y los resultados que arrojaron la gran parte de artículos, en donde de los 36 artículos aceptados, 20 hablaban de métodos de cultivo celular para la aplicación en una regeneración pulpar, donde el proceso de preparación mecánica del conducto es muy similar en la mayoría los artículos revisados, se inicia con la apertura cameral, instrumentación del conducto, desinfección con hipoclorito de sodio (NaOCl), solución salina, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), Hidróxido de calcio (Ca (OH)₂), irrigación nuevamente, se realiza el secado del conducto con puntas de papel y continúa con la implantación mediante inyección de las células madre a elección y selle de la cavidad con material a elección (ionómero tipo IX y resina compuesta). Los porcentajes de los materiales y la cantidad suministrada varía según el autor. Lo que causa un cambio en el resultado del tratamiento es el tipo de célula que involucra: métodos de cultivos (andamios), materiales usados y el método de inyección de las células. ver tabla 2.

Tabla 2

Protocolo para la preparación del conducto que va recibir las células madre, se describe el proceso de desinfección y acondicionamiento de la dentina.

Procedimiento	Instrumental	Razón de uso	Artículo
Apertura cameral	Fresa redonda o cucharilla para eliminar tejido careado	Da visibilidad para poder realizar todo el proceso de regeneración.	(Ivica et al., 2021)
Extirpación del órgano dentario (pulpa)	Limas endodónticas	Se elimina la pulpa dental inflamada o necrótica, para su posterior desinfección	(Ivica et al., 2021)
Desinfección del conducto	Hipoclorito de sodio (NaClO)	Tiene una potente actividad antimicrobiana y proteolítica	(Misako Nakashima et al., 2017)
Aplicación del medicamento intracanal	Hidróxido de calcio	Se utiliza durante dos citas, mejora la desinfección del conducto	(Misako Nakashima et al., 2017)
Acondicionamiento del conducto	Acido etilendiaminotetraacético (EDTA)	Tiene una actividad quelante y se utiliza como enjuague final para la eliminación de la capa de smear layer, puede aumentar la viabilidad de las DPSC e inducir la unión de las células de las DPSC y la diseminación y diferenciación odontoblástica / osteoblástica	(Misako Nakashima et al., 2017)
Secado del conducto	Puntas de papel.	Evita que el agente quelante o la humedad del conducto evite la proliferación celular.	(Misako Nakashima et al., 2017)
Implantación de las células madre	Cánula (aguja permanente)	Se presta mucha atención a no introducir ninguna burbuja en el interior, se espera la evolución del proceso de regeneración.	(Misako Nakashima et al., 2017)
Selle de la cavidad	Resina compuesta o ionómero tipo IX	Evita la microfiltración de agentes bacterianos que puedan inhibir la regeneración con células madre	(Misako Nakashima et al., 2017)

Métodos basados en el uso de células madre

En cuanto a todos los artículos en el proceso de selección y cultivo celular, fueron diferentes, donde se usaron células DPSC en 10 artículos, hDPSC en 2 artículos, células SHED en 2 artículos, células UC-MSC en 1 artículo, células MSC en 1 artículo, y en células madre en general (varias células) 20 artículos. Con respecto a estos artículos se hallaron los siguientes métodos, microgotas electrostáticas (R. Zhang et al., 2020), aislamiento de una sola colonia (Gronthos & Shi, 2009), movilización inducida por G-CSF (Misako Nakashima & Iohara, 2014), aislamiento mediante citometría de flujo (M. Nakashima & Iohara, 2011), cultivo usando vitamina C por 10 días (Guo et al., 2020), cultivo con medio condicionado de células germinales (Hu et al., 2018). Así mismo, en cuanto a métodos de regeneración pulpar en dientes maduros, que ya emplean células madre se encontraron 10 artículos en donde explican todo el proceso, desde el cultivo hasta el protocolo que usaron en la regeneración, los cuales fueron (R. Zhang et al., 2020), (de Cara et al., 2019), (M. Nakashima & Iohara, 2011), (C. C. Huang et al., 2016), (Torabinejad et al., 2018), (Misako Nakashima & Iohara, 2014), (Iohara et al., 2013), (Guo et al., 2020), (Brizuela et al., 2020) y (Misako Nakashima et al., 2017).

Tasa de éxito en tratamientos de regeneración pulpar usando células

madre

Se evaluaron 10 artículos de ensayos clínicos sobre regeneración pulpar usando células madre, donde 8 estudios fueron en animales, y 2 en humanos, entre los cuales, (R. Zhang et al., 2020) realizó su estudio en ratones desnudos y presentó éxito completo, de igual manera (de Cara et al., 2019) pero realizando el método de citometría de flujo, (M. Nakashima & Iohara, 2011) también realizó su estudio en ratones, y fue completamente exitoso, al igual que (C. C. Huang et al., 2016) en ratones desnudos, a diferencia de (Torabinejad et al., 2018) en perros machos jóvenes, y (Misako Nakashima & Iohara, 2014), (Iohara et al., 2013) en perros maduros, de igual manera 100% exitosos, a diferencia de (Guo et al., 2020) el cual realizó su ensayo clínico en minipigs hembras. Todos estos estudios realizados en animales presentaron 100% de éxito, a diferencia de estos se hallaron 2 estudios en humanos; el primero por (Brizuela et al., 2020) el cual se desarrolló en 36 pacientes entre los 16 a 58 años de edad, y presento un eficacia clínica del 100% , por otro lado (Misako Nakashima et al., 2017) realizo un estudio en 5 pacientes entre los 20 a 55 años de edad tuvo como resultado una tasa de éxito del 80% , de los 10 artículos reportados en esta revisión en ensayos clínicos in vivo sobre regeneración pulpar usando células madre se encontró un 100% de éxito en 9 estudios y un 80% en solo uno de ellos, lo cual nos arroja un resultado general de tasa de éxito del 98% sobre el valor total de los artículos evaluados, ver tabla 3.

Tabla 3.

Tasa de éxito de regeneración pulpar usando células madre.

Autor	Población	Edad	Método	Tiempo	Resultado	Éxito
(R. Zhang et al., 2020)	Ratones desnudos inmunodeficientes. N= 4	6 a 8 semanas	Preparación y cultivo de microesferas de hidrogel encapsulada cargada de hDPSC (Vía subcutánea).	Muestras recolectadas al mes.	Demostaron el gran potencial de las microesferas de hidrogel potenciadas con laponita en la regeneración de la pulpa dental.	100%
(M. Nakashima & Iohara, 2011)	Extremidad trasera isquémica de ratón. N= 5	No refiere	Citometría de flujo de la pulpa dental canina Células CD31/CD146-SP/CD105+ con potencia angiogénico y neurogénico.	Regeneración completa en 14 días.	Regeneración completa de la pulpa repleta de nervios y vasculatura.	100%
(de Cara et al., 2019)	Roedores	10 semanas	Citometría de flujo. Células SHED.	30 días presentaron formación de tejido conectivo.	Formación de tejido conectivo similar a la pulpa dentro del conducto radicular.	100%
(Torabinejad et al., 2018)	Caninos N= 28	Machos jóvenes	Evaluación histológica y datos analizados con chi-square test.	3 meses de estudio.	Regeneración pulpar posible si se mantiene control apical.	100%
(C. C. Huang et al., 2016)	Ratones desnudos	No refiere	Implantación vía cutánea en la espalda. Exosomas derivados de células de la pulpa dental.	2 semanas	Los exosomas se pueden utilizar para recrear un entorno extracelular completo y regeneración pulpar.	100%
(Misako Nakashima & Iohara, 2014)	Perros	Jóvenes y de edad avanzada	Mobilización de células madre inducida por G-CSF.	180 días se regenero el tejido pulpar.	Se estableció seguridad, factibilidad, regeneración pulpar por MDPSC y G-CSF.	100%
(Guo et al., 2020)	Mini pings Hembras	12 meses de edad	Incisivos permanentes extrajo la pulpa antes de la implantación. Se usaron células SHED.	3 meses de implantación después.	Se regenero todo el tejido de la pulpa dental. Mostró tejido similar a la pulpa normal.	100 %
(Iohara et al., 2013)	Perros N= 18	9 a 11 meses de edad	Citometría de flujo. Trasplante autólogo, análisis morfológico, células madre inducida por G-CSF.	Desde el día 60 y 180 se observó respuesta positiva.	La investigación demuestra la seguridad de las células pulpare de grado clínico y su potencial para la regeneración de la pulpa.	100%

(Brizuela et al., 2020)	Humanos N= 36	16 a 58 años de edad	Células madre mesenquimales del cordón umbilical humano encapsuladas. Prueba exacta de Fisher, prueba de Mam-Whitney.	6 a 12 meses	Eficacia completa. Alternativa prometedora para el tratamiento de la patología periapical.	100%
(Misako Nakashima et al., 2017)	Humanos N= 5 3 =Hombres 2 =Mujeres	20 a 55 años de edad	Células (MDPSC)Se trasplantaron con factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) en atelocolágeno	24 semanas	Hubo respuesta positiva en 4 pacientes, sin embargo 1 de los pacientes presento respuesta del tejido negativa después de 24 semanas.	80%

Comparación endodoncia convencional con regeneración pulpar

El éxito terapéutico de la regeneración pulpar usando células madre como se menciona anteriormente es del 98% arrojando una tasa de fracaso del 2%, estos estudios se realizaron por especialistas en el tema, y en su mayoría *in vivo* con animales. En comparación con (He et al., 2017) el cual realizó un estudio para determinar tasa de éxito y fracaso del tratamiento de endodoncia convencional con artículos basados en el tema y con resultados de diferentes países, en uno de ellos se obtuvo una tasa general de falla del 19.1% para el tratamiento de endodoncia convencional en Estados Unidos, en un total de 1312 dientes. También se comparó con Alemania en donde la tasa global de fallas fue del 15.7% en 556,067 dientes tratados con endodoncia y en Japón fue del 19.5% en 9733 dientes, Reino unido del 25.3% en 15544 dientes (He et al., 2017) determinan que las tasas de fracaso endodóntico fueron realizados por odontólogos generales en lugar de odontólogos especializados en endodoncia.

Con esta comparación podemos decir que la regeneración pulpar usando células madre fue más exitosa que la endodoncia convencional, pero es determinante decir que la tasa de éxito de esta revisión fueron resultados de solo 10 artículos.

Accesibilidad

En cuanto al método más accesible basado en la regeneración pulpar usando células madre; se determinó por medio del costo, cantidad de elementos usados, fallas adicionales, equipo y aditamentos de laboratorios utilizados, todo lo que suma un valor agregado. Se realizó la lectura de cada artículo que elaboró un estudio, y se comparó entre ellos, los factores mencionados anteriormente. Con esto se encontró que (M. Nakashima & Iohara, 2011) , en donde realizaron un artículo llamado “Regeneration of dental pulp by stem cells” donde se desarrolla un estudio clínico un poco más claro, en cuestión del uso de menos antígenos ya que el costo de estos es bastante elevado, de igual manera ya habían desarrollado estudios anteriores, y determinaron que antígenos usar, (molécula de adhesión de células endoteliales) CD31- (molécula de adhesión celular de melanoma o la glucoproteína) CD146-SP (endoglina) CD105 +/- y así disminuir muchos más costos, y tiempo en el desarrollo del estudio, en cuanto al método de cultivo fue el de citometría de flujo de la pulpa dental con el uso de un colorante fluorescente de unión al ADN, en este estudio dio como resultado la regeneración completa de la pulpa. Por las razones expuestas anteriormente se determina que (M. Nakashima & Iohara, 2011) es el estudio más accesible debido a los pocos fallos, y usos de materiales extras y así evita aumento de costos en el estudio, y permita que sea más accesible saber que materiales usar en el momento de hacer el proceso de regeneración pulpar y evitar errores experimentales.

Discusión

Con esta revisión narrativa se tuvo como objetivo evaluar qué métodos de regeneración pulpar en dientes maduros empleando células madre, se encuentran reportados en la literatura. En donde se hace necesario resaltar que para realizar una regeneración pulpar empleando células madre, es de total importancia usar un adecuado método de cultivo y tipo de célula madre. En la literatura se encuentran reportes de diferentes estudios *in vitro*, y revisiones sobre el tema. En tal sentido (Moonesi Rad et al., 2019), realizó un estudio en donde usaron células (hDPSC) de los terceros molares, y tuvieron como objetivo desarrollar y caracterizar B-BG-NP (nanopartículas de vidrio bioactivo con boro) que contiene andamios tridimensionales CA / ox-PULL / GEL con morfología tubular para la regeneración del complejo dentino pulpar, utilizando el método de separación de fases inducida térmicamente / lixiviación porógena por primera vez en la literatura. Así mismo (Diogenes, 2020) describe un método de regeneración y de cultivo de microgotas electrostáticas para producir microesferas de hidrogel, encapsuladas con células hDPSC; las cuales se centrifugaron para obtener un sedimento donde suspendieron con soluciones de hidrogel previamente preparados en condiciones estériles, y las cultivaron a 37°C con 5 % Co₂. En este mismo contexto (Saghiri et al., 2015) con respecto al potencial de diferenciación endotelial de las hDPSC, varios investigadores han indicado que, en presencia de un medio de diferenciación especializada, las hDPSC pueden expresar algunos de los marcadores de células endoteliales, incluidos los CD31, CD105, CD 34 y el factor Von Willebrand, como lo afirmó (Misako Nakashima et al., 2009), en donde utilizaron un método de aislamiento

de una sola colonia, lo que demuestra la capacidad de autorrenovación, la diferenciación multipotente y su diferenciación en odontoblastos que forman dentina tubular *in vivo* después del trasplante con hidroxiapatita, fosfato tricálcico en ratones inmunodeprimidos, en donde usaron células DPSC con los mismos marcadores mencionados anteriormente, pero en donde el CD 105, presentó mejor resultado. Además (Bertassoni, 2020), menciona en su revisión que la AAE (asociación estadounidense de endodoncistas) considera una multitud de estrategias que se han investigado cómo la terapia con células madre posnatal, los implantes de andamios, la impresión de células tridimensionales, los andamios inyectables y la terapia génica, Fawzy El-Sayed, (Fawzy El-Sayed et al., 2019), cree que el portador/andamio de biomaterial seleccionado para la administración de células madre progenitoras es decisivo para influir en el resultado del tratamiento y en los tipos de tejido regenerado. Un ejemplo de esto es (Diana et al., 2020) donde usaron un andamio proporcionando un entorno adecuado para regenerar la matriz extracelular (MEC). Una vez que las células están unidas a un andamio ocurre una reacción química entre ambas células y el andamio. El andamio juega un papel clave en la regeneración del diente. Para tal efecto (Saghiri et al., 2015) describe una regla aplicable para la regeneración de la pulpa dental, donde sugiere que el éxito de la ingeniería de tejidos depende del transporte de oxígeno y nutrientes a las células implantadas. Si el suministro de sangre no se puede establecer rápidamente, se producirá la necrosis del trasplante.

Por otro lado, para el cultivo de las DPSC se han encontrado varios métodos como lo menciona inicialmente (Gronthos & Shi, 2009), en su estudio, después de trasplantar DPSC humanas junto con polvo de hidroxiapatita / fosfato tricálcico (HA / TCP) en ratones inmunodeprimidos, descubren estructura similar a la dentina que recubre las

superficies de las partículas HA / TCP, compuesta por una matriz de colágeno altamente ordenada depositada perpendicular a la capa similar a un odontoblastos, para corroborar esta información (Gronthos & Shi, 2009) volvió a aislar las células estromales de los trasplantes primarios de DPSC de 3 meses de antigüedad. Después *in vitro* expansión, las células humanas se volvieron a trasplantar en ratones inmunodeprimidos. Estos trasplantes secundarios produjeron odontoblastos humanos dentro de una dentina - complejo similar a la pulpa que contiene colágeno organizado, mostrando así que las DPSC humanas fueron capaces de autorrenovarse en vivo. Además (Misako Nakashima & Iohara, 2014) inició un ensayo clínico con MDPSC caninas de ratones, optimizando un método para aislar subconjuntos de DPSC humanas mediante la movilización de células madre inducida por G-CSF, lo que produce MDPSC en un grado clínico, donde aislaron en un sistema totalmente cerrado (Panasonic Healthcare, Tokio, Japón) en una instalación que cumple con las GMP. El " tallo " de las MDPSC caninas, las analizaron mediante marcadores de antígenos de superficie celular CD105, CXCR4 y G-CSFR y la expresión de ARNm de marcadores de células madre Sox2, Bmi1, CXCR4, Stat3, y Rex1, era similar a las MDPSC humanas. Así mismo (Misako Nakashima et al., 2017) realizó el mismo método de movilización inducido por G-CSF en un estudio clínico piloto en pacientes humanos, en donde las células pulpares las aislaron mediante digestión enzimática en 0,04 mg / ml de Liberase MTF de grado GMP (Roche, Mannheim, Alemania) durante 30 min a 37 ° C y se sembraron en placas a 5,60C. - 32,0 × 10⁴ células en un matraz T25 (25 cm²; Sumitomo Bakelite Co.Ltd., Tokio, Japón) en (DMEM; Sigma, St. Louis, MO, EE. UU.) suplementado con suero autólogo al 10% (autoserum), 2,5 mg / ml de anfotericina B (Bristol Myers Squibb, Tokio, Japón) y gentamicina al 0,3% (Nitten, Nagoya, Japón)) que solo está permitido en cultivo celular

para uso clínico en Japón y tiene baja citotoxicidad. El producto celular final, MDPSCs, se caracterizó por citometría de flujo después de inmunomarcaje con los marcadores de superficie de antígeno CD29, CD44, CD105 y CD31. Anteriormente para determinar los estudios (Egusa et al., 2012) realizó inyección de células autólogas con andamio de colágeno tipo I y III (1: 1) en la parte inferior de los conductos radiculares. Estas células eran células pulpares CD31- / CD146- SP, pulpa CD105 + células o células pulpares totales no fraccionadas, 1×10^6 celdas, en la tercera a cuarta pasajes. La parte superior de los conductos radiculares las rellenaron con SDF-1 y el andamio de colágeno. Siete días después del trasplante de células pulpares CD31- / CD146- SP y células CD105 + con SDF-1, la parte inferior del conducto radicular se llenaron con tejido conectivo laxo que contenían capilares y forma fusiforme celular. Por otro lado, (Gronthos & Shi, 2009) describe las células SHED que forman racimos en esfera cuando se cultivan en medio neurogénico, este se debe a que estas células son altamente proliferativas que se agregan en grupos en forma de esfera, pueden disociarse pasándose a través de agujas y posteriormente cultivarse en placas recubiertas de gelatina al 0,1% como células fibroblásticas individuales, para tal efecto (de Cara et al., 2019) realizaron una investigación utilizando células madre de dientes exfoliados humanos SHED, en las cuales usaron como medio de condicionado moléculas pequeñas, metabolitos y factores de crecimiento liberados, que se usan como estrategia para disminuir la incidencia de rechazo después de los trasplantes. De las evidencias anteriores (Guo et al., 2020) realizó un ensayo de citometría de flujo para probar la expresión de marcadores de superficie con células R-SHED y SHED de los cuales usaron anticuerpos como CD90, 105, 146, 34,45 marcado con APC, y FITC, posterior a esto realizaron implantación de estas células en conductos radiculares vacíos de “mini pigs”, en donde demostraron 3 meses después por medio de un análisis

histológico formación de tejido de la pulpa dental que contenía capas de odontoblastos y vasos sanguíneos.

Vinculando toda esta relación con respectos a las células madre y los diferentes métodos de cultivo, se halla el concepto de regeneración pulpar, en donde (Ivica et al., 2021) describe un método de regeneración para su uso posterior en ratones en donde limpiaron e instrumentaron los conductos, usando (EDTA) al 17%, yodóforo, NaClO al 5,25%. Como resultado de las microesferas mencionadas anteriormente las cuales podrían regenerar tejido similar a la pulpa. Estos resultados, combinados con el procedimiento de preparación de alta eficiencia y la inyectabilidad de las células encapsuladas, claramente hacen de este sistema de microesferas de hidrogel una estrategia de andamio instructiva celular prometedor en la odontología regenerativa endodóntica vascularizada. Como lo afirma (Abbass et al., 2020). Para lograr una regeneración pulpar exitosa se necesitan 2 requisitos previos: desinfección del conducto radicular y tamaño adecuado del foramen apical. Por lo tanto, los irrigantes del conducto radicular utilizados en el comportamiento celular y la diferenciación es crucial. El hipoclorito de sodio (NaOCl) tiene una potente actividad antimicrobiana y proteolítica, sin embargo, podría causar una respuesta inflamatoria severa y daño a los tejidos vitales. Además, NaOCl no puede eliminar la capa de frotis en la superficie de la dentina, lo que puede hacer que la superficie de la dentina sea irreconocible para las células sembradas y dificultar la interacción celular. El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), por otro lado, tiene una actividad quelante y se utiliza como enjuague final para la eliminación de la capa de frotis, o en combinación con soluciones de NaOCl y gluconato de clorhexidina (CHX). La adición de EDTA a otras soluciones de enjuague puede aumentar la viabilidad de las DPSC e inducir la unión de las células de las DPSC y la diseminación y

diferenciación odontoblástica / osteoblástica. A diferencia de (Misako Nakashima et al., 2017). Realizaron un estudio en humanos en donde utilizaron para desinfectar el conducto NaOCl al 6% y 2 O 2 3%, solución salina. y 2 ml de EDTA al 3% durante 2 minutos, posterior se seca el conducto con puntas de papel, continúa con la implantación de células MDPSC autólogas las cuales se descongelaron y se suspendieron en 40 µl de un armazón de atelocolágeno de grado clínico y 300 ng de G-CSF, donde se lavaron con solución salina, y se trasplantó al conducto radicular mediante una cánula (aguja permanente, calibre # 26) prestando mucha atención a no introducir ninguna burbuja en el interior, la cavidad se selló con cemento de ionómero de vidrio tipo IX y resina compuesta. El estudio se realizó en 5 pacientes, hubo una respuesta positiva después de 4 semanas en cuatro pacientes, lo que sugiere una re inervación funcional en el tejido pulpar regenerado. Sin embargo, uno de los pacientes demostró una respuesta negativa a las 24 semanas de seguimiento, la evaluación de la eficacia se realizó mediante la prueba de sensibilidad pulpar utilizando un probador pulpar eléctrico (Misako Nakashima et al., 2017), finalmente demostró la seguridad del trasplante de MDPSC en dientes pulpectomizados, y la eficacia de la terapia regenerativa. Además (de Cara et al., 2019) realizaron un estudio *in vitro* en donde usaron 3 medios de cultivo [M199, DMEM / Ham's F12 y DMEM / Ham's F12 condicionado por células madre SHEDs], posterior a esto continuaron con apertura cameral del primer molar superior, seguido de instrumentación del conducto radicular, e irrigación con hipoclorito de sodio, pero al 1% (NaOCl). Después de la instrumentación del conducto radicular, los animales lo dividieron en 2 grupos diferentes: grupo SHED-CM) (n 1/4 3), donde los conductos radiculares los enviaron a efectos del medio acondicionado, y el grupo de control (n 1/4 2), donde el canal de la raíz no recibió ningún tratamiento. En ambos grupos se introdujo

la lima un poco más allá del ápice. Instrumentando 1 mm más allá del foramen apical para inducir sangrado hasta que todo el canal estuviera lleno por el coágulo de sangre. Antes del procedimiento, las CM se descongelaron y se aplicaron inmediatamente en la entrada del canal radicular, en la parte superior del coágulo de sangre, con el uso de una jeringa de irrigación. Finalmente, los sellaron con coltosol y resina compuesta fotopolimerizable. En ese mismo concepto (Galler & Widbiller, 2017), propone un procedimiento clínico generalizado para la regeneración pulpar con células madre, donde se inicia con diagnóstico y tratamiento del conducto radicular, desbridamiento quimiomecánico del conducto radicular, acondicionamiento con EDTA y eliminación de EDTA del conducto radicular, enjuague con solución salina, activación ultrasónica y recolección de solución, mezcla de factores de crecimiento derivados de la dentina en solución salina con los componentes líquidos de un material de arma.

De las evidencias anteriormente expuestas por cada autor, es importante decir que (Galler & Widbiller, 2017) con el método realizado de separación de fases inducida térmicamente, se desarrolló en completo éxito, en donde sugieren como nuevos biomateriales para la ingeniería de tejidos dentarios los siguiente andamios B-BG-NP. En comparación, (Guo et al., 2020) determinan que el uso de exosomas en el tratamiento de regeneración pulpar tiene un gran potencial; pueden convertirse en un gran biomaterial terapéutico potencial, pero sugieren estandarización y más estudios al respecto. Al igual, (Ivica et al., 2021) sugieren mayor investigación y que es necesario trabajar más para determinar el tamaño y la arquitectura reproducibles necesarios para adaptar la DPSC a la diferenciación deseada para imitar el complejo dentina-pulpa. En efecto (Saghiri et al., 2015), sugiere que debido a la evidencia limitada con respecto a la

diferenciación directa de DPSC a células endoteliales, la cual es absolutamente necesaria para los procedimientos de regeneración de la pulpa dental en dientes con ápice cerrado.

Lo que conlleva a que sea más complejo y difícil de lograr el trasplante de tejido pulpar en dientes maduros. En comparación (Diana et al., 2020) nos menciona algo muy similar con respecto a los autores anteriormente descritos, en donde dicen que es necesario seguir trabajando para determinar el tamaño y la arquitectura reproducibles necesarios para adaptar la DPSC a la diferenciación deseada para imitar el complejo dentina-pulpa.

Además (Misako Nakashima et al., 2009) comenta que la inyección de factores de crecimiento adecuados y/o factores tróficos junto con células CD105 + y armazón de colágeno pueden ser más eficaces que las células solas, de igual manera, el control del efecto inmunomodulador e inmunosupresor de las células madre / progenitoras de la pulpa puede conducir a avances en el desarrollo de células madre inmunocompatibles disponibles para el trasplante alogénico para la regeneración pulpar-dentina en endodoncia. De este modo (G. T. J. Huang et al., 2010) nos menciona cuatro objetivos principales que deben abordarse antes del desarrollo de terapias celulares eficaces para la medicina regenerativa: que se basan en comprender los mecanismos de autorrenovación que permite regular el crecimiento de células madre adultas in vitro para generar el número suficiente de células necesarias para diferentes aplicaciones. También comprender la regulación de las células madre durante la diferenciación y la producción de tejidos específicos, interacciones adecuadas entre las células madre y el sistema inmunitario, y prevenir la transformación de las MSC expandidas ex vivo. Además (de Cara et al., 2019) demostraron que las células SHED-CM fueron capaces de promover

la angiogénesis in vitro e in vivo, lo que conlleva a la formación de tejido conectivo similar a la pulpa. Por eso dicen que un medio acondicionado adecuado con células madre podría ser útil para tratamientos reparadores; al menos, con SHED-CM podría ser interesante para tratamientos reparadores de endodoncia. Por otro lado, (Paul, 2020) concluye que la profundidad del alcance presente en las células madre es enorme, lo que llevaría el procedimiento de regeneración dental a otro nivel, trayendo más éxito en el campo de la Odontología y los diversos enfoques que se iniciaron ahora son solo el comienzo, pero se sabe muy bien cuánto potencial tiene en el futuro para ayudar a los pacientes de todo el mundo. Las diversas tecnologías nuevas y prometedoras.

Conclusiones

Finalmente podemos concluir que el método de regeneración pulpar usando células madre, es un procedimiento innovador, el cual podría ser una nueva alternativa como tratamiento para un diente maduro, que presentó necrosis u alguna patología endodóntica, aunque en la literatura el procedimiento de regeneración pulpar no demuestra ser de gran complejidad debido a que los materiales pueden ser de alcance clínico como el hipoclorito, EDTA y el hidróxido de calcio, entre otros. El problema radica en que no se tiene un protocolo definido para este procedimiento, aunque con los ensayos clínicos realizados se encontró un porcentaje de éxito alto del 98%, es necesario esperar más investigaciones para su posterior uso, de igual manera en cuanto al método para cultivar células madre para la posterior regeneración, es de mayor complejidad, ya que un odontólogo en su clínica presenta los equipos necesarios para sus actividades en procedimientos convencionales, esto radica ser un problema ya que para un cultivo celular se necesita de equipo de gran costo y de un personal altamente capacitado para la utilización de los mismo, al realizar este procedimiento se requiere de un laboratorio especializado en cultivo de células madre, de igual manera el costo para esto es bastante elevado. Por otra parte, es importante resaltar que se reportaron en la literatura más ensayos clínicos en animales que en humanos, según con los resultados de la tasa de éxito obtenida anteriormente la cual fue bastante exitosa, pero, de esto se puede decir que es importante que se desarrollen más ensayos clínicos en humanos sobre el método de regeneración pulpar usando células madre, en dientes maduros, ya que esto, nos brindará mayor confiabilidad para el desarrollo de una tasa de éxito mucho más amplia,

precisa y de igual manera, esto puede permitir una comparación con mayor exactitud con la endodoncia convencional.

En relación a lo expuesto anteriormente, la regeneración pulpar con células madre en dientes maduros, es un procedimiento que puede traer muchos beneficios, pero claramente las limitaciones ya mencionadas, dificultan su accesibilidad en un entorno clínico odontológico común.

Referencias Bibliográficas

1. Abbass, M. M. S., El-Rashidy, A. A., Sadek, K. M., Moshy, S. El, Radwan, I. A., Rady, D., Dörfer, C. E., & Fawzy El-Sayed, K. M. (2020). Hydrogels and dentin–pulp complex regeneration: From the benchtop to clinical translation. *Polymers*, *12*(12), 1–65. <https://doi.org/10.3390/polym12122935>
2. Bertassoni, L. E. (2020). Progress and Challenges in Microengineering the Dental Pulp Vascular Microenvironment. *Journal of Endodontics*, *46*(9), S90–S100. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.033>
3. Brizuela, C., Meza, G., Urrejola, D., Quezada, M. A., Concha, G., Ramírez, V., Angelopoulos, I., Cadiz, M. I., Tapia-Limonchi, R., & Khoury, M. (2020). Cell-Based Regenerative Endodontics for Treatment of Periapical Lesions: A Randomized, Controlled Phase I/II Clinical Trial. *Journal of Dental Research*, *99*(5), 523–529. <https://doi.org/10.1177/0022034520913242>
4. Chrepa, V., Henry, M. A., Daniel, B. J., & Diogenes, A. (2015). Delivery of apical mesenchymal stem cells into root canals of mature teeth. *Journal of Dental Research*, *94*(12), 1653–1659. <https://doi.org/10.1177/0022034515596527>
5. de Cara, S. P. H. M., Origassa, C. S. T., de Sá Silva, F., Moreira, M. S. N. A., de Almeida, D. C., Pedroni, A. C. F., Carvalho, G. L., Cury, D. P., Câmara, N. O. S., & Marques, M. M. (2019). Angiogenic properties of dental pulp stem cells conditioned medium on endothelial cells in vitro and in rodent orthotopic dental pulp regeneration. *Heliyon*, *5*(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01560>
6. Diana, R., Ardhani, R., Kristanti, Y., & Santosa, P. (2020). Dental pulp stem cells response on the nanotopography of scaffold to regenerate dentin-pulp complex tissue. *Regenerative Therapy*, *15*, 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2020.09.007>
7. Diogenes, A. (2020). Trigeminal Sensory Neurons and Pulp Regeneration. *Journal of Endodontics*, *46*(9), S71–S80. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2020.06.038>
8. Diogenes, A., & Hargreaves, K. M. (2017). Microbial Modulation of Stem Cells and Future Directions in Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics*, *43*(9), S95–S101. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.07.012>

9. Egusa, H., Sonoyama, W., Nishimura, M., Atsuta, I., & Akiyama, K. (2012). Stem cells in dentistry - Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research*, *56*(3), 151–165. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2012.06.001>
10. Fawzy El-Sayed, K. M., Ahmed, G. M., Abouauf, E. A., & Schwendicke, F. (2019). Stem/progenitor cell-mediated pulpal tissue regeneration: a systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, *52*(11), 1573–1585. <https://doi.org/10.1111/iej.13177>
11. Fomby, P., Cherlin, A. J., Hadjizadeh, A., Doillon, C. J., Sueblinvong, V., Weiss, D. J., Bates, J. H. T., Gilbert, T., Liles, W. C., Lutzko, C., Rajagopal, J., Prockop, D. J., Chambers, D., Giangreco, A., Keating, A., Kotton, D., Lelkes, P. I., Wagner, D. E., & Prockop, D. J. (2010). Stem cells and cell therapies in lung biology and diseases: Conference report. *Annals of the American Thoracic Society*, *12*(3), 181–204. <https://doi.org/10.1002/term>
12. Galler, K. M., & Widbiller, M. (2017). Perspectives for Cell-homing Approaches to Engineer Dental Pulp. *Journal of Endodontics*, *43*(9), S40–S45. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.008>
13. Gronthos, S., & Shi, S. (2009). *Derived from Dental Tissues vs . Those from Other Sources : Their Biology and Role in.* <https://doi.org/10.1177/0022034509340867>
14. Guo, H., Zhao, W., Liu, A., Wu, M., Shuai, Y., & Li, B. (2020). Biochemical and Biophysical Research Communications SHED promote angiogenesis in stem cell-mediated dental pulp regeneration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *529*(4), 1158–1164. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.06.151>
15. He, L., Kim, S. G., Gong, Q., Zhong, J., Wang, S., Zhou, X., Ye, L., Ling, J., & Mao, J. J. (2017). Regenerative Endodontics for Adult Patients. *Journal of Endodontics*, *43*(9), S57–S64. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.012>
16. Hu, L., Liu, Y., & Wang, S. (2018). Stem cell-based tooth and periodontal regeneration. *Oral Diseases*, *24*(5), 696–705. <https://doi.org/10.1111/odi.12703>
17. Huang, C. C., Narayanan, R., Alapati, S., & Ravindran, S. (2016). Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: Applications in dental pulp tissue regeneration. *Biomaterials*, *111*, 103–115.

<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.09.029>

18. Huang, G. T. J., Yamaza, T., Shea, L. D., Djouad, F., Kuhn, N. Z., Tuan, R. S., & Shi, S. (2010). 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>
19. Iohara, K., Murakami, M., Takeuchi, N., Osako, Y., Ito, M., Ishizaka, R., Utunomiya, S., Nakamura, H., Matsushita, K., & Nakashima, M. (2013). A Novel Combinatorial Therapy With Pulp Stem Cells and Granulocyte Colony-Stimulating Factor for Total Pulp Regeneration. *STEM CELLS Translational Medicine*, *2*(7), 521–533. <https://doi.org/10.5966/sctm.2012-0132>
20. Ivica, A., Zehnder, M., & Weber, F. E. (2021). Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in regenerative endodontics. *European cells & materials*, *41*, 233–244. <https://doi.org/10.22203/eCM.v041a17>
21. Kim, S. G., Malek, M., Sigurdsson, A., Lin, L. M., & Kahler, B. (2018). Regenerative endodontics: a comprehensive review. *International Endodontic Journal*, *51*(12), 1367–1388. <https://doi.org/10.1111/iej.12954>
22. Marí-Beffa, M., Segura-Egea, J. J., & Díaz-Cuenca, A. (2017). Regenerative Endodontic Procedures: A Perspective from Stem Cell Niche Biology. *Journal of Endodontics*, *43*(1), 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.09.011>
23. Méndez González, V., Cristell Madrid Aispuro, K., Araceli Amador Lizardi, E., Silva-Herzog Flores, D., & Oliva Rodríguez, R. (2014). Revascularización en dientes permanentes con ápice inmaduro y necrosis pulpar: Revisión bibliográfica. Revascularization in permanent teeth with pulp necrosis and immature apex: A review of the literature. *Revista ADM*, *71*(3), 110–114. www.medigraphic.com/admwww.medigraphic.org.mxwww.medigraphic.org.mx
24. Moonesi Rad, R., Atila, D., Akgün, E. E., Evis, Z., Keskin, D., & Tezcaner, A. (2019). Evaluation of human dental pulp stem cells behavior on a novel nanobiocomposite scaffold prepared for regenerative endodontics. *Materials Science and Engineering C*, *100*(May 2018), 928–948. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.03.022>

25. Nakashima, M., & Iohara, K. (2011). Regeneration of dental pulp by stem cells. *Advances in dental research*, 23(3), 313–319. <https://doi.org/10.1177/0022034511405323>
26. Nakashima, Misako, & Iohara, K. (2014). Mobilized dental pulp stem cells for pulp regeneration: Initiation of clinical trial. *Journal of Endodontics*, 40(4 SUPPL.), S26–S32. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.020>
27. Nakashima, Misako, Iohara, K., Murakami, M., Nakamura, H., Sato, Y., Arijji, Y., & Matsushita, K. (2017). Pulp regeneration by transplantation of dental pulp stem cells in pulpitis: a pilot clinical study. *Stem Cell Research and Therapy*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0506-5>
28. Nakashima, Misako, Iohara, K., & Sugiyama, M. (2009). Human dental pulp stem cells with highly angiogenic and neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 20(5–6), 435–440. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2009.10.012>
29. Paul, S. (2020). Stem cells in regenerative dentistry: An overview. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 14(4), 8518–8521. <https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.13031>
30. Saghiri, M. A., Asatourian, A., Sorenson, C. M., & Sheibani, N. (2015). Role of angiogenesis in endodontics: Contributions of stem cells and proangiogenic and antiangiogenic factors to dental pulp regeneration. *Journal of Endodontics*, 41(6), 797–803. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.12.019>
31. Saoud, T. M., Martin, G., Chen, Y. H. M., Chen, K. L., Chen, C. A., Songtrakul, K., Malek, M., Sigurdsson, A., & Lin, L. M. (2016). Treatment of Mature Permanent Teeth with Necrotic Pulp and Apical Periodontitis Using Regenerative Endodontic Procedures: A Case Series. *Journal of Endodontics*, 42(1), 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.09.015>
32. Sui, B., Chen, C., Kou, X., Li, B., Xuan, K., Shi, S., & Jin, Y. (2019). Pulp Stem Cell–Mediated Functional Pulp Regeneration. *Journal of Dental Research*, 98(1), 27–35. <https://doi.org/10.1177/0022034518808754>
33. Torabinejad, M., Alexander, A., Vahdati, S. A., Grandhi, A., Baylink, D., & Shabahang, S. (2018). Effect of Residual Dental Pulp Tissue on Regeneration of Dentin–pulp Complex: An In Vivo Investigation. *Journal of Endodontics*, 44(12),

- 1796–1801. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.09.005>
34. Zhai, Q., Dong, Z., Wang, W., Li, B., & Jin, Y. (2019). Dental stem cell and dental tissue regeneration. *Frontiers of Medicine*, *13*(2), 152–159. <https://doi.org/10.1007/s11684-018-0628-x>
35. Zhang, R., Xie, L., Wu, H., Yang, T., Zhang, Q., Tian, Y., Liu, Y., Han, X., Guo, W., He, M., Liu, S., & Tian, W. (2020). Alginate/laponite hydrogel microspheres co-encapsulating dental pulp stem cells and VEGF for endodontic regeneration. *Acta Biomaterialia*, *113*(14), 305–316. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.07.012>
36. Zhang, W., & Yelick, P. C. (2021). Tooth Repair and Regeneration : Potential of Dental Stem Cells. *Trends in Molecular Medicine*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2021.02.005>