
Reseña actualizada de Ingeniería Tisular en disciplinas Odontológicas

Agüero Romero GA¹, Pulitano Manisagian GE², Mandalunis PM²

¹Cátedra Clínica I de Operatoria Dental, Facultad de Odontología Universidad de Buenos Aires.

²Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Odontología Universidad de Buenos Aires.

Recibido 02/12/2015

Aceptado 09/03/2016

RESUMEN

La ingeniería tisular (IT) ha sido considerada un campo interdisciplinario, aplicando los principios de ciencias de ingeniería y biología para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauran, mantienen o mejoran la función tisular. Se basa en el entendimiento de los principios del crecimiento tisular, y su aplicación, para producir reemplazo de tejidos para uso clínico. Se consideran determinantes para el éxito de la IT las Stem Cells (células madre), morfógenos y las "scaffolds" (constructos). Poner en práctica dicha disciplina requiere el empleo de estrategias terapéuticas biológicas que apuntan a reemplazar, reparar, mantener y/o mejorar la función tisular. El objetivo de este trabajo, ha sido realizar una actualización sobre nuevos conocimientos emergentes de las últimas publicaciones científicas realizadas en el ámbito de esta nueva disciplina. Para ello se realizó una exhaustiva búsqueda de información en la base de datos de Pubmed. Actualmente, la IT concentra sus esfuerzos en lograr la regeneración de tejidos dentarios y para dentarios, así como en lograr la obtención de una pieza dental completa. Su avance clínico ha sido notable. Se han reportado artículos publicados que ya evidencian su aplicación en periodoncia, cirugía, implantología, rehabilitación oral y endodoncia. Si bien, estrategias de la IT ya se utilizan clínicamente en odontología, su rápido desarrollo se convierte entonces en un gran desafío e incógnita tanto para quienes ejercen la profesión en la actualidad, como para aquellos que se encuentran en plena formación académica. Tomar conocimiento de logros y avances resulta entonces fundamental, ya que podría convertirse en un futuro próximo, en una herramienta de uso habitual.

Palabras claves: Ingeniería Tisular células madre, Scaffolds (constructos), morfógenos.

ABSTRACT

Tissue engineering (TE) is considered an interdisciplinary field, and applies principles of engineering and biology to develop biological substitutes that restore, maintain, or improve tissue function. It is based on the application of the principles of tissue growth to produce tissue replacement for clinical use. Stem cells, morphogens, and scaffolds are determinant to the success of TE. Implementation of TE requires the use of biological therapeutic strategies aiming to replace, repair, maintain, and/or improve tissue function. The objective of the present work was to perform an update of new knowledge presented in recent scientific publications in this field. For this purpose, we conducted an extensive search for information on Pubmed. At present, TE focuses on achieving regeneration of dental and para-dental tissues, as well as on obtaining a whole tooth. There have been outstanding clinical advances in this field. There are reports showing successful application of TE in periodontics, surgery, implantology, oral rehabilitation and endodontics. Although TE strategies are already used in dentistry, their rapid development poses a great challenge both to current practitioners and to those who are in the midst of their academic training. Gaining an awareness of the achievements and advances in TE is therefore essential, since it could become widely applied in the near future

Key words: Tissue engineering, stem cells, scaffolds, morphogens

INTRODUCCIÓN

Ante una injuria recibida, se considera que habrá dos tipos de respuestas por parte de un tejido, una de ellas es la reparación que es la resolución de una herida por un tejido distinto del dañado, que lo sustituye, pero que no restituye completamente la arquitectura o la función del tejido; otra es la regeneración que es la resolución de una injuria tisular en la que el tejido dañado o perdido es reemplazado por

tejido de la misma estirpe celular, devolviéndole su arquitectura original, y así su función (Gurtner et al., 2008). Así es que in vivo existen diferencias en la capacidad de regeneración que guardan los tejidos, siendo el tejido epitelial, el conectivo y el óseo los tejidos con mayor capacidad de regeneración y el tejido muscular, nervioso y cartilaginoso los de menor capacidad. Tres elementos son importantes para lograr

regeneración: la exposición del tejido al medio (Davidson y Mustoe, 2001; Albina y Reichner, 2003; Sen, 2009); la presencia de factores de crecimiento (Barrientos et al., 2008) y el factor tiempo (Schultz et al., 2005). Una nueva disciplina, la Ingeniería Tisular (IT), pretende ser mediadora en el estudio y la conjunción de todas estas variables para lograr regeneración en una forma controlada.

Ingeniería Tisular (IT)

La IT, como disciplina puede ser definida recién a mediados de 1980. Ha sido caracterizada por varios autores (Murray et al., 2007) y en 1993 se la definió como un campo interdisciplinario que aplica los principios de ciencias de ingeniería y biología para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauran, mantienen o mejoran la función tisular (Langer y Vacanti, 1993). En 2005 la explican como el entendimiento de los principios del crecimiento tisular, y su aplicación para producir reemplazo tisular para uso clínico. Por otra parte, en 2005 la IT fue pronunciada como el campo de la restauración funcional de la estructura y fisiología tisular para tejidos dañados a causa de enfermedades o trauma, y que sus elementos clave son las Stem Cells, morfógenos y “scaffolds”, (Nakashima y Akamine, 2005) logrando la introducción de nuevos términos a la definición. En 2007, se la determinó como el empleo de estrategias terapéuticas biológicas que apuntan a reemplazar, reparar, mantener y/o mejorar la función tisular (Murray et al., 2007). El aporte intrínseco o extrínseco de Stem Cells, Morfógenos y Scaffolds, hoy en día son determinantes para el éxito de una terapia con IT. Estos tres elementos fueron ya relacionados en 2008 por Lynch et al., cuya esquematización triangular/piramidal fue modificada en este trabajo para representar que es posible lograr conjunción de estos elementos en una terapéutica dada, siempre y cuando se encuentren todos para lograr alcanzar el éxito (Fig. 1).

Actualmente, se reportó un aumento de artículos publicados en revistas de interés odontológico que hacen referencia a sus aplicaciones en la Periodoncia, la Cirugía, la Implantología, la Rehabilitación y la Endodoncia, siendo esta última remarcable por la peculiaridad del tejido que contempla su especialización.

Células madre o Stem Cells (SC)

Una stem cell (SC) es comúnmente definida como una célula que tiene la habilidad de dividirse continuamente y diferenciarse a varios otros tipos de tipos celulares. Son definidas como “embrionarias/fetales” o “adultas/postnatales”. Se



Figura 1. Elementos Constitutivos de la Ingeniería Tisular. Modificado de Lynch.

Stem Cells según su plasticidad		
Tipo de Stem Cell	Plasticidad celular	Fuente de la Stem Cell
Totipotencial	Cada célula puede desarrollarse en un nuevo individuo	Células de embriones tempranos (1 a 3 días)
Pluripotencial	Células que pueden formar células de cualquier tipo (más de 200)	Algunas células del blastocisto (5 a 14 días)
Multipotencial	Células diferenciadas, pero pueden formar un cierto número de otros tejidos	Tejido fetal, sangre del cordón, y Stem Cells postnatales incluyendo las de la Pulpa Dental

Figura 2. Stem Cells según su plasticidad. Modificado de Murray et al.

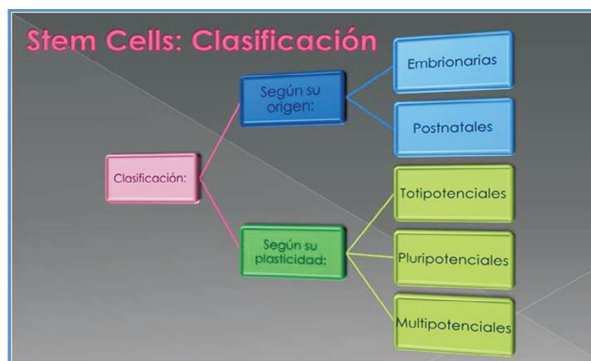


Figura 3. Clasificación de Stem Cells.

Abreviaturas	Factor	Fuente Primaria	Actividad	Utilidad
BMP	Bone Morphogenetic Proteins	Matriz ósea	Induce diferenciación de OB y mineralización del hueso	Se utiliza para hacer que las SC sinteticen y secreten matriz mineral
CSF	Colony Stimulating Factor	Diferentes tipos de células	Son citoquinas que estimulan la proliferación de SC pluripotenciales del tejido óseo	Pueden ser utilizadas para incrementar el número de SC.
EGF	Epidermal Growth Factor	Glándulas Submaxilares	Promueven la proliferación de células mesenquimales, gliales y epiteliales	Pueden ser utilizadas para incrementar el número de SC.
FGF	Fibroblast Growth Factor	Diferentes tipos de células	Promueve la proliferación de muchas células	Pueden ser utilizadas para incrementar el número de SC.
IGF	Insuline-like Grpwth Factor I ó II	I-Hígado; II- células varias	Promueve la proliferación de muchas células	Pueden ser utilizadas para incrementar el número de SC.
PDGF	Platelet-derived Growth Factor	Plaquetas, células endoteliales y placenta	Promueve la proliferación de tejido conectivo, células gliales y células del músculo liso	Pueden ser utilizadas para incrementar el número de SC.
TGF-α	Transforming Growth Factor - Alpha	Macrófagos, células cerebrales y queratinocitos	Pueden ser importantes para la curación normal de las heridas	Induce el desarrollo epitelial y de estructura tisular
TGF-β	Transforming Growth Factor - Beta	Matriz Dentinaria, TH ₁ Activados (T-helper) y NK (natural Killers)	Es anti-inflamatoria, promueve la curación de heridas, inhibe la proliferación de macrófagos y linfocitos.	Está presente en la matriz de la dentina y ha sido usada para promover la mineralización del tejido pulpar.

Tabla 1. Factores de Crecimiento. Modificado de Murray et al.

prefiere el término embrionarias, más que fetales, porque la mayoría de estas células son embrionarias, como así el término postnatal, más que adultos, porque estas mismas células están presentes en bebés, infantes y niños. Esta distinción es importante porque estas células tienen un potencial diferente para su desarrollo en varias células especializadas (plasticidad). La plasticidad define su habilidad para producir células de distintos tejidos. La de las SC embrionarias es mucho mayor que la de las postnatales, pero estudios recientes indican que las Stem Cells postnatales son más plásticas de lo que imaginaban (Menasche, 2005). En función de la mencionada plasticidad, son subdivididas en las categorías de totipotenciales, pluripotenciales, y multipotenciales (Fig. 2). La mayor plasticidad de las SC embrionarias las hace más valiosas entre los investigadores para el desarrollo de nuevas terapias (Fig. 3). Estas células se nombran como “Mesenchymal stem cells” (MSCs) (Sonoyama et al., 2008), las cuales no son otra cosa que células mesenquimáticas indiferenciadas (Multipotenciales), entre las que se encuentran las “Dental pulp stem cells” (DPSCs) y las “Stem cells from human exfoliated deciduous teeth” (SHED) (Cordeiro et al., 2008), las cuales reciben su nombre según el tejido del cual son “cosechadas”, ya sean pulpas de piezas dentarias permanentes o temporarias.

En 2008 lograron aislar exitosamente células del tipo DPSCs de terceros molares humanos en desarrollo, extraídos previa erupción; observaron que las DPSCs aisladas de las coronas completamente desarrolladas del diente mostraron mayor proliferación, pero cualquier célula aislada en cualquier estadio mantenía la capacidad de formar “estructura similar dentina” (dentin like structure) cuando fueron transplantadas a ratones inmunosuprimidos (Takeda et al., 2008).

Morfógenos (MG)

Son todas aquellas moléculas que actúan como mediadores químicos entre célula-célula / célula-matriz extracelular y modulan su diferenciación, síntesis de matriz y/o mitosis. Este grupo, que anteriormente incluía sólo a los factores de crecimiento (GFs) (Tabla 1) se ha ido ampliando hasta contemplar dentro de la definición a elementos como el boro (Gorustovich et al., 2006, 2008); el fosfato tricálcico combinado con simvastatin (Nyan et al., 2009). Otros ejemplos son las “proteínas humanas recombinadas” (recombinant human proteins); y los “derivados de la matriz de esmalte” (enamel matrix derivative) (EMD) que contienen principalmente amelogenina, obtenida de embriones porcino.

Las proteínas morfogenéticas óseas o BMPs

(“bone morphogenetic proteins”) son parte de la superfamilia de TGF- β , y tienen relevancia en la regeneración ósea (Gerstenfeld et al., 2003). En la odontología se utilizan en la integración de injertos óseos con finalidades implanto-rehabilitadoras (Giannoudis et al., 2005; Veillette et al., 2007; Tudor et al., 2008., Togashi et al., 2009).

“Scaffolds”

Se tradujo al español como “matriz”, “constructo”, “andamiaje”, sin embargo; cuando se refiere a matriz, no se refiere a la matriz extracelular, sino a un “molde” a partir del cual se llevará a cabo la regeneración tisular; el término constructo se refiere al soporte tanto físico como químico que proveerá un material para oficiar como estructura sobre la cual se desarrollará la regeneración; cuando se refiere a andamiaje, remite a la necesidad de la presencia de una unidad estructural que permita a los demás elementos biológicos participar de la regeneración. Son ejemplos las “esponjas” de colágeno o los materiales puramente osteoconductores (Bashutski y Wang, 2009). Proveen un microambiente tridimensional fisicoquímico y biológico para el crecimiento y la diferenciación celular, promoviendo la adhesión celular, y la migración. Sirven como carriers para morfógenos en la terapia de proteínas y para células en la terapia celular y deben ser efectivas para el transporte de nutrientes, oxígeno y desechos (Davidson y Mustoe, 2001; Albina y Reichner, 2003; Sen, 2009). Deben ser gradualmente degradadas y reemplazadas por tejido regenerado, manteniendo las características de la estructura tisular final. Deben ser biocompatibles, no-tóxicas y tener apropiadas características mecánicas. Polímeros naturales como el colágeno y los glicosaminoglicanos ofrecen buena biocompatibilidad y bioactividad, y polímeros sintéticos pueden reproducir características fisico-mecánicas como la tasa de degradación, microestructura y propiedades mecánicas. Hidrogeles sintéticos incluyen polímeros con base de Polietilenglicol (PEG), y aquellos modificados con péptidos de adhesión de superficies celulares, como la arginina, glicina y ácido aspártico (RGD), pueden aumentar la adhesión celular y la síntesis de matriz en la red tridimensional. Los “scaffolds” que contienen compuestos inorgánicos como la hidroxiapatita y el fosfato de calcio son usados para aumentar la conductividad en el tejido óseo (osteoconducción) (Bashutski y Wang, 2009).

Antecedentes relacionados a disciplinas odontológicas

Las estructuras de cabeza y cuello son verdaderamente únicas en su desarrollo y función. Los huesos oro faciales, derivan embriológicamente de las

crestas neurales, del mesodermo paraxial y mesodermo lateral mientras que los huesos del resto del esqueleto son sólo de origen mesodérmico. Además, las estructuras óseas oro faciales son sometidas a un estrés y tensión producidas por los diferentes músculos de la masticación y presentan una respuesta diferente hacia factores de crecimiento y el estímulo mecánico (Herring y Ochearon, 2005). La ingeniería tisular actualmente, se encuentra clínicamente enfocada en lograr la regeneración de los tejidos dentarios y parodontarios, así como de la pieza dental completa (Fig. 4).

Complejo dentino-pulpar

Su regeneración, lograda a través de la colocación de materiales tales como hidróxido de calcio, agregados de trióxido mineral, Biodentina®, ha sido correlacionada con la estimulación y diferenciación de células progenitoras pulpares en células simil-odontoblastos (Tecles et al., 2008) o la secreción de TGFβ1 (Laurent y Camps, 2012), el cual juega un rol clave en la angiogénesis, reclutamiento de células progenitoras, diferenciación celular y, finalmente, la mineralización del área injuriada. Por otra parte, los tejidos dentarios y parodontarios son fuente para la obtención de células madre. Entre ellos, la pulpa dental (Neslihan et al., 2013), la papila apical (Na, et al., 2013), el ligamento periodontal de dientes humanos retenidos (Ji et al., 2013) o bien, células del tejido pulpar de dientes deciduos exfoliados (DPSCs) (Ma et al., 2012), así como también los tejidos conectivos de la mucosa bucal (Zhang et al., 2012). Células madre incluidas en hidrogeles estimularon la formación del complejo dentino pulpar en conductos radiculares vacíos de incisivos permanentes jóvenes de perros Beagles (Wang et al., 2013).

Debido al tamaño y al confinamiento de la pulpa dentro del conducto radicular, la terapia celular mediante el empleo de hidrogeles inyectables representó el enfoque estratégico más empleado (Abou Neel et al., 2014). No obstante, se requieren nuevas investigaciones para desarrollar tecnologías que permitan reproducir el diseño de su organización celular jerárquica, respetando así la arquitectura tisular original.

Periodonto de inserción

La regeneración de las estructuras de soporte dentario (cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar) conforma un campo de investigación desafiante, que requiere de la sinergia de todos los eventos celulares y moleculares involucrados en la obtención de dichos tejidos. La regeneración tisular guiada utiliza membranas oclusivas para mantener el

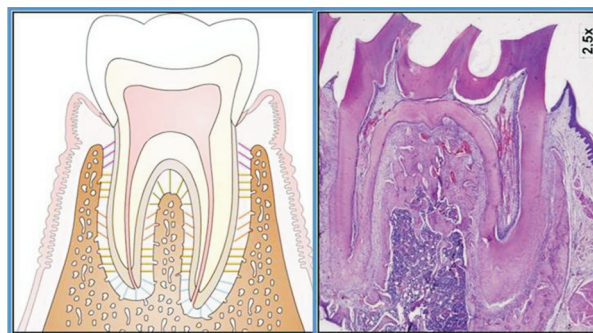


Figura 4. Esquema de pieza dental in situ con sus periodontos de inserción y de protección (izquierda). Microfotografía de diente de rata in situ, con tejidos dentarios y parodontarios. Ausencia de esmalte dental, dada su pérdida tras la técnica histológica por descalcificación. Coloración Hematoxilina-Eosina (derecha). 25X.

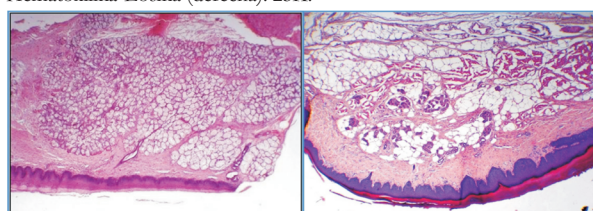


Figura 5. Microfotografías ópticas donde puede apreciarse la similitud histológica entre la mucosa bucal (izq) y la piel (der). H&E. 25X

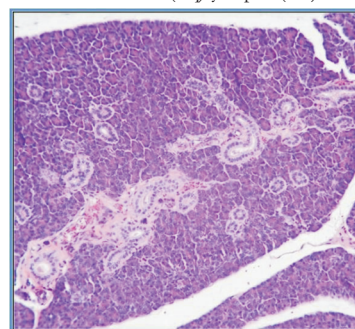


Figura 6. Microscopía óptica de glándula parótida, H&E. 25X.

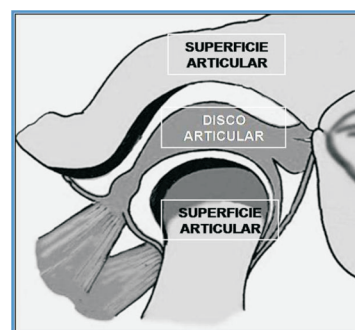


Figura 7. Esquema de corte sagital de articulación temporomandibular. Imagen modificada del libro de Histología, Embriología e Ingeniería tisular de la Dra. Gomez de Ferraris (Gómez de Ferraris, 2009).

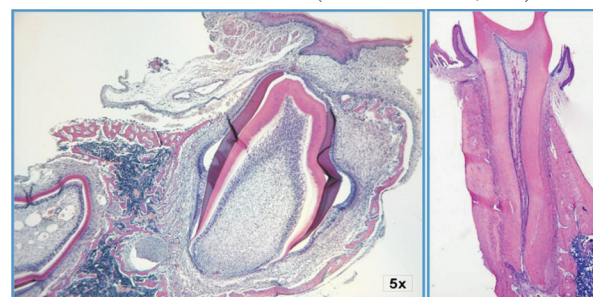


Figura 8. A la izquierda, germen dental, aumento 50X, a la derecha, pieza dental unirradicular erupcionada. H&E. 25X.

espacio del defecto, estimular a las células apropiadas para regenerar los tejidos perdidos y soportar a los recientemente formados (Kozlovsky et al., 2009). Dicha técnica ha sido desarrollada para tratar defectos periodontales (Oortgiesen et al., 2012) y alveolares (Moses et al., 2005), así como para mantener la integridad del hueso alveolar luego de las extracciones dentarias (Retzepey y Donos, 2010). Para su elaboración se han utilizado varios polímeros sintéticos, no obstante, materiales biomiméticos, tales como las membranas de colágeno fueron una alternativa al uso de los polímeros sintéticos (Duskova et al., 2006; Bunyaratavej y Wang, 2001). Actualmente se emplean factores de crecimiento y citoquinas para la regeneración periodontal, factor de crecimiento transformador $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), factor de crecimiento fibroblástico 2 (FGF-2), proteínas morfogenéticas-2 (BMP-2), proteína morfogenética ósea humana recombinante (rhBMP-2), entre otros (Kaigler et al., 2011). Independientemente de la efectividad clínica de las membranas de colágeno en combinación con injertos óseos o factores de crecimiento, la degradación in vivo del colágeno podría ser muy rápida como para ser empleado en grandes defectos, sin embargo, la presencia del mismo no sólo genera una biocompatibilidad excelente sino que también mejora la respuesta tisular. Por lo mismo, podría resultar una opción el empleo de membranas multicapa, las cuales presentan la combinación de una capa interna constituida por polímeros sintéticos flexibles, encerrada entre dos capas externas de polímeros naturales, como el colágeno. La flexibilidad de los polímeros sintéticos ofrecería mejor adaptación, oclusión y manipulación de los tejidos. Otra alternativa podría ser el uso de constructos de nano fibras biológicamente activas (Abou Neel et al., 2014).

La tecnología regenerativa endógena depende de recursos endógenos claves, como células, factores de crecimiento y proteínas para la regeneración de tejidos funcionales. El cultivo y la implantación celular son enfoques prometedores, en donde los elementos celulares serían los encargados de una restauración completa y fiable del periodonto (Chen et al., 2012). El uso de derivados de la matriz de esmalte como el Emdogain® (que contiene más de 90% de amelogenina y el resto de otras proteínas) (Parrish et al., 2009), para la regeneración periodontal se debió a su efecto estimulante sobre la proliferación y diferenciación de fibroblastos de ligamento periodontal humano (Zhang et al., 2012). Se observó que la amelogenina, en particular, fue incorporada por los fibroblastos y procesada a péptidos cuyas diferencias en sus residuos laterales generarán diferente comportamiento biológico: la inhibición o el estímulo

de la osteogénesis a nivel periodontal. Estos distintos efectos podrían ser empleados para limitar el crecimiento óseo patológico o bien mejorar la formación ósea, en el caso de patologías periodontales u ortopédicas (Amin et al., 2012). Dichos derivados adamantinos también actúan como factores pro-angiogénicos in vitro y estimulan la formación de vasos sanguíneos durante la regeneración periodontal (Kasaj et al., 2012).

Los resultados en estas investigaciones son todavía impredecibles y varían mucho entre las diferentes especies y modelos experimentales y, en los humanos, dependerían de una serie de factores ambientales que pueden desempeñar un papel importante en el resultado exitoso (o no) de la terapia periodontal.

Mucosa bucal

Debido a la similitud entre la piel y la mucosa bucal (Fig. 5), la ingeniería de esta última se inició siguiendo el mismo protocolo que para la piel, a través de cultivo de capas de queratinocitos (Sasaki et al., 2012). El epitelio bucal tiene una capacidad de renovación continua (Phillips, 1988) y puede sufrir diferenciación luego de su injerto (Faure et al., 1987). Esta lámina epitelial, sin embargo, es muy friable a la manipulación y sutura. Se emplearon compuestos de mucosa bucal por siembra de queratinocitos sobre dermis humana cadavérica. Se ha observado que sustitutos de mucosa bucal y de piel, pueden emplearse de forma indistinta para uno u otro fin (Bornstein et al., 2011). Debido a la elasticidad, flexibilidad y buena tolerancia los reticulados de membranas de colágeno han encontrado su potencial como injertos mucosos, luego de la extirpación quirúrgica de lesiones precancerosas o bien tras la aplicación de un injerto óseo en zonas cancerosas a nivel oro-facial (Rastogi et al., 2009).

Glándulas salivales

La ingeniería tisular podría ofrecer un sustituto biológico para glándulas salivales con hipofunción. No obstante, el principal desafío consistiría en cultivar células de glándulas humanas (Fig. 6), que son altamente diferenciadas y de difícil proliferación in vitro (Abou Neel et al., 2014). Un trabajo científico publicado manifiesta que, por medio de la siembra de células sobre constructos de polímeros biodegradables, se observó que las mismas generaban una estructura histológica similar acino glandular, (Chan et al., 2012). En otra publicación anterior, se reportó también que dicha estructura podía elaborar amilasa salival humana, una proteína celular acinar (Joraku et al., 2005). El funcionamiento químico

de los constructos degradables empleados, con actividad química selectiva, provee las señales químicas para la proliferación de las células epiteliales, así como también promueve la polaridad apico-basal, necesaria para la secreción orientada de dichas células (Cantara et al., 2012).

La terapia génica es otro enfoque potencial para la regeneración de la glándula salival. En el año 2013 se reportó el inicio de la fase I de un ensayo clínico referido al empleo de dicho adenovirus para tratar clínicamente la hipofunción de glándulas salivales en pacientes humanos (Nguyen et al., 2013).

Articulación temporomandibular

Es una de las estructuras más difíciles de tratar, dada su escasa vascularización, lo cual genera una capacidad limitada de auto reparación (Fig. 7). Para la regeneración del cartílago articular, la terapia celular es la primera opción. Como es sabido, las células autogénicas son las de elección para los procedimientos de ingeniería tisular, sin embargo, resulta muy dificultoso recolectar células aptas de articulaciones patológicas. Dada esta cuestión, el hallazgo de otra fuente de condrocitos inmersos en una matriz extracelular de naturaleza hialina resultaría esencial como estrategia para lograr la regeneración del cartílago condilar (Wang et al., 2009). En cuanto a la transferencia de dichas células (sobre defectos del cartílago articular) podrían emplearse hidrogeles “inteligentes”, inyectables a base de celulosa como vehículo de células condrocíticas nasales autólogas, sobre los sitios articulares a regenerar (Vinatier et al., 2009).

Los enfoques empleados han variado desde la terapia de inyección de células, hasta el uso de andamios sintéticos o naturales. El resultado crítico del éxito de todos los reemplazos de ATM, no sólo es medida por la restauración de la función articular, sino también por la prevención de adherencias fibrosas o anquilosadas, principales complicaciones de muchas intervenciones quirúrgicas. Por otra parte, el diseño de la interfase osteocondral con su compleja estructura y sus distintas áreas cartilaginosas constituye un gran desafío, requiriéndose constructos con gradientes específicos de las señales reguladoras de la comunicación entre los distintos tipos celulares y la matriz extracelular allí presente (Abou Neel et al., 2014).

Ingeniería tisular de piezas dentales completas

Se emplearon células aisladas de tejidos epiteliales y mesenquimáticos, obtenidos de gérmenes dentales pre y postnatales para la obtención de un germen dental in vitro. Se logró la obtención de una pieza dental

completa (Fig. 8) a partir del trasplante al medio ambiente bucal de un germen dental obtenido por bioingeniería. (Ikeda et al., 2009). Como antecedentes de ello, se relata la implantación de constructos biodegradables (con morfología dentaria), previamente sembrados con células mesenquimáticas procedentes de un tercer molar de origen porcino, y su posterior colocación en ratas, por 20 a 30 semanas. Dicho procedimiento permitió la obtención satisfactoria de dentina, cámara pulpar bien definida, vaina epitelial radicular de Hertwig, y órgano dental con esmalte completamente formado. Pese a ello, el tamaño de la pieza dental obtenida fue muy pequeño y no se correspondió con la forma y tamaño del constructo empleado (Young et al., 2002). Actualmente, este desafío presenta complejidad creciente, ya que involucra la participación interdisciplinaria de científicos, clínicos y la posibilidad de trabajar en pacientes (Snead, 2008).

CONCLUSIÓN

En la actualidad los modelos experimentales publicados sobre IT son en su mayoría realizados in vitro o aplicados sobre animales experimentales. Los alcances de esta disciplina parecen ser prometedores pero aún es necesario contar con más herramientas técnicas y cognitivas para llevar a cabo la regeneración íntegra de una pieza dentaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Amin HD, Olsen I, Knowles JC, Donos N. Differential effect of amelogenin peptides on osteogenic differentiation in vitro: identification of possible new drugs for bone repair and regeneration. *Tissue Eng Part A* 2012; 18: 1193-202.
- Abou Neel EA, Chrzanowski W, Salib VM, Kim HW, Knowles JC. *Tissue engineering in dentistry*. *J Dent* 2014; 42: 915-28.
- Albina JE, Reichner JS. Oxygen and the regulation of gene expression in wounds. *Wound Repair Regen*. 2003; 11:445-51.
- Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 585-601.
- Basbutski JD, Wang HL. Periodontal and endodontic regeneration. *J Endod* 2009; 35: 321-8
- Bornstein MM, Reichart PA, Buser D, Bosshardt DD. Tissue response and wound healing after placement of two types of bioengineered grafts containing vital cells in submucosal maxillary pouches: an experimental pilot study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011; 26: 768-75.
- Bunyaratavej P, Wang H-L. Collagen membranes: a review. *J Periodontol* 2001; 72: 215-29.

- Cantara SI, Soscia DA, Sequeira SJ, Jean-Gilles RP, Castracane J, Larsen M. Selective functionalization of nanofiber scaffolds to regulate salivary gland epithelial cell proliferation and polarity. *Biomaterials* 2012; 33: 8372–82.
- Chan YH, Huang TW, Chou YS, Hsu SH, Su WF, Lou PJ, et al. Formation of post-confluence structure in human parotid gland acinar cells on PLGA through regulation of E-cadherin. *Biomaterials* 2012; 33: 464–72.
- Chen F-M, Sun H-H, Lu H, Yu Q. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. *Biomaterials* 2012; 33: 6320–44.
- Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S, Smith AJ, Nör JE. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod* 2008; 34: 962–9.
- Davidson JD, Mustoe TA. Oxygen in wound healing: more than a nutrient. *Wound Repair Regen*. 2001; 9: 175–7.
- Duskova M, Leamerova E, Sosna B, Gojis O. Technical strategies guided tissue regeneration, barrier membranes and reconstruction of the cleft maxillary alveolus. *J Craniofac Surg* 2006; 7: 1153–60.
- Faure M, Mauduit G, Schmitt D, Kanitakis J, Demidem A, Thivolet J. Growth and differentiation of human epidermal cultures used as autografts and allografts in humans. *Br J Dermatol* 1987; 116: 161–70.
- Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA. Fracture healing as a post-natal developmental process: Molecular, spatial and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem* 2003; 88: 873–84.
- Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: An update. *Injury* 2005; 36: 20–7.
- Gorustovich AA, López JM, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biological performance of boron-modified bioactive glass particles implanted in rat tibia bone marrow. *Biomed Mater* 2006; 1: 100–5.
- Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB. Histomorphometric study of alveolar bone healing in rats fed a boron-deficient diet. *Anat Rec (Hoboken)*. 2008; 4: 441–7.
- Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB. A histomorphometric study of alveolar bone modelling and remodelling in mice fed a boron-deficient diet. *Arch Oral Biol* 2008; 53: 677–82.
- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature* 2008; 453: 314–21.
- Herring SW, Ochareon P. Bone - special problems of the craniofacial region. *Orthod Craniofac Res* 2005; 8: 174–82.
- Ikeda E, Morita R, Nakao K, Ishida K, Nakamura T, Takano-Yamamoto T, et al. Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 13475–80.
- Ji K, Liu Y, Lu W, Yang F, Yu J, Wang X, et al. Periodontal tissue engineering with stem cells from the periodontal ligament of human retained deciduous teeth. *J Periodontol Res* 2013; 48: 105–16.
- Joraku A, Sullivan CA, Yoo JJ, Atala A. Tissue engineering of functional salivary gland tissue. *Laryngoscope* 2005; 115: 244–8.
- Kaigler D, Avila G, Wisner-Lynch L, Nevins ML, Nevins M, Rasperini G, Lynch SE, Giannobile WV. Platelet-derived growth factor applications in periodontal and peri-implant bone regeneration. *Expert Opin Biol Ther* 2011; 11: 375–85.
- Kasaj A, Meister J, Lehmann K, Stratul SI, Schlee M, Stein JM, Willershausen B, Schmidt M. The influence of enamel matrix derivative on the angiogenic activity of primary endothelial cells. *J Periodontol Res* 2012; 47: 479–87.
- Kozlovsky A, Aboodi G, Moses O, Tal H, Artzi Z, Weinreb M, Nemcovsky CE. Bio-degradation of a resorbable collagen membrane (Bio-Gide1) applied in a double-layer technique in rats. *Clin Oral Implants Res* 2009; 20: 1116–23.
- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260: 920–6.
- Laurent P, Camps J, About I. Biodentine TM induces TGF- β 1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *Int Endod J* 2012; 45: 439–48.
- Lynch SE, Marx RE, Nevins M, Wisner-Lynch LA. *Tissue Engineering: Applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics*. 2nd Ed. Quintessence 2008.
- Menasche P. The potential of embryonic stem cells to treat heart disease. *Curr Opin Mol Ther* 2005; 7: 293–9.
- Moses O, Pitaru S, Artzi Z, Nemcovsky CE. Healing of debiscence-type defects in implants placed together with different barrier membranes: a comparative clinical study. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16: 210–9.
- Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative Endodontics: A review of current status and a call for action. *J Endod* 2007; 33: 377–90.
- Na S, Zhang H, Huang F, Wang W, Ding Y, Li D, Jin Y. Regeneration of dental pulp/dentine complex with a three-dimensional and scaffold-free stem-cell sheet-derived pellet. *J Tissue Eng Regen Med* 2013. [Epub ahead of print].
- Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod* 2005; 31: 711–8.
- Neslihan TP, Tapsin S, Demirel S, Yalvac ME, Akşuz S, Yarat A, Sabin F. Isolation and characterization of dental pulp stem cells from a patient with Papillon-Lefevre syndrome. *J Endod* 2013; 39: 31–8.

- Nguyen TT, Mui B, Mehrabzadeh M, Chea Y, Chaudbry Z, Chaudbry K, Tran SD. Regeneration of tissues of the oral complex: current clinical trends and research advances. *J Can Dent Assoc* 2013; 79: 1–9.
- Nyan M, Sato D, Kibara H, Machida T, Ohya K, Kasugai S. Effects of the combination with a tricalcium phosphate and simvastatin on bone regeneration. *Clin Oral Implants Res* 2009; 280–7.
- Oortgiesen DAW, Plachokova AS, Geenen C, Meijer GJ, Walboomers XF, Van den Beucken JJ, Jansen JA. Alkaline phosphatase immobilization onto Bio-Gide® and Bio-Oss® for periodontal and bone regeneration. *J Clin Periodontol* 2012; 39: 546–55.
- Parrish LC, Miyamoto T, Fong N, Mattson JS, Cerutis DR. Non-bioabsorbable vs. bio absorbable membrane: assessment of their clinical efficacy in guided tissue regeneration technique. A systematic review. *J Oral Sci* 2009; 51: 383–400.
- Phillips TJ. Cultured skin grafts, past, present, future. *Arch Dermatol* 1988; 124: 1035–8.
- Rastogi S, Modi M, Sathian B. The efficacy of collagen membrane as a biodegradable wound dressing material for surgical defects of oral mucosa: a prospective study. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67: 1600–6.
- Retzepi M, Donos N. Guided bone regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clin Oral Implants Res* 2010; 21: 567–76.
- Sasaki R, Yamato M, Takagi R, Ohki T, Matsumine H, Okano T, Ando T. Punch and spindle-shaped biopsies for collecting oral mucosal tissue for the fabrication of transplantable autologous epithelial cell sheets. *J Biomed Mater Res A Appl* 2012; 100: 2849–54.
- Schultz G, Mozingo D, Romanelli M, Claxton K. Wound healing and TIME; new concepts and scientific applications. *Wound Repair Regen* 2005; 13: 1–11.
- Sen CK. Wound healing essentials: let there be oxygen. *Wound Repair Regen* 2009; 17: 1–18.
- Snead ML. Whole-tooth regeneration: it takes a village of scientists, clinicians, and patients. *J Dent Educ* 2008; 72: 903–11.
- Sonoyama W, Liu Y, Yamaoka T, Tuan RS, Wang S, Shi S, Huang GT. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod* 2008; 34: 166–71.
- Takeda T, Tezuka Y, Horiuchi M, Hosono K, Iida K, Hatakeyama D, Miyaki S, Kunisada T, Shibata T, Tezuka K. Characterization of dental pulp stem cells of human tooth germs. *J Dent Res* 2008; 87: 676–81.
- Tecles O, Laurent P, Aubut V, About I. Human tooth culture: a study model for reparative dentinogenesis and direct pulp capping materials biocompatibility. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008; 85: 180–7.
- Togashi AY, Cirano FR, Marques MM, Pustiglioni FE, Lang NP, Lima LAPA. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-7 (rhBMP-7) on viability, proliferation and differentiation of osteoblast-like cells cultured on chemically modified titanium surface. *Clin Oral Implants Res* 2009; 20: 452–57.
- Tudor C, Srouf S, Thorwarth M, Stockmann P, Neukam FW, Nkenke E, Schlegel KA, Felszeghy E. Bone regeneration in osseous defects—application of particulated human and bovine materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 105: 430–6.
- Veillette, McKee. Growth factors—BMPs, DBMs, and buffy coat products: Are there any proven differences amongst them? *Injury* 2007; 38: 38–48.
- Vinatier C, Gauthier O, Fatimi A, Merceron C, Masson M, Moreau A, Moreau F, Fellab B, Weiss P, Guicheux J. An injectable cellulose-based hydrogel for the transfer of autologous nasal chondrocytes in articular cartilage defects. *Biotechnol Bioeng* 2009; 102: 1259–67.
- Wang L, Lazebnik M, Detamore MS. Hyaline cartilage cells outperform mandibular condylar cartilage cells in a TMJ fibrocartilage tissue engineering application. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17: 346–53.
- Wang Y, Zhao Y, Jia W, Yang J, Ge L. Preliminary study on dental pulp stem cell-mediated pulp regeneration in canine immature permanent teeth. *J Endod* 2013; 39: 195–201.
- Young CS, Terada S, Vacanti JP, Honda M, Bartlett JD, Yelick PC. Tissue engineering of complex tooth structures on biodegradable polymer scaffolds. *Journal of Dental Research* 2002; 81: 695–700.
- Zhang FQ, Meng HX, Han J, Liu KN. Effects of emdogain on human periodontal ligament cells in vitro. *Da Xue Xue Bao* 2012; 44: 6–10.
- Zhang QZ, Nguyen AL, Yu WH, Le AD. Human oral mucosa and gingiva: a unique reservoir for mesenchymal stem cells. *J Dent Res* 2012; 91: 1011–8.

Dirección para correspondencia
Cátedra de Histología y Embriología
Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.
Marcelo T. de Alvear 2142, 1° A, (C1122AAH)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
hista@odon.uba.ar