

Algunos fundamentos de la endodoncia regenerativa con células madre en el diente permanente inmaduro no vital

Some basics of the regenerative endodontics with stem cells in the non-vital immature permanent tooth

Dra. Elizabeth Santiago Dager^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7832-3131>

Dra. Niurka Odalmis LaO Salas² <https://orcid.org/0000-0002-8961-8629>

Dra. Ivet Castellanos Coloma¹ <https://orcid.org/0000-0002-0490-4512>

Al. Rachel Marzo Santiago³ <https://orcid.org/0000-0003-3249-4167>

¹Policlínico Docente 30 de Noviembre, Universidad de Ciencias Médicas. Santiago de Cuba, Cuba.

²Clínica Estomatológica Provincial Docente Mártires del Moncada, Universidad de Ciencias Médicas. Santiago de Cuba, Cuba.

³Facultad de Estomatología, Universidad de Ciencias Médicas. Santiago de Cuba, Cuba.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: elizabeth.santiago@infomed.sld.cu

RESUMEN

La endodoncia regenerativa comprende un conjunto de procedimientos biológicos que se efectúan en los dientes permanentes con ápice no formado y necrosis pulpar, cuyo fin es sustituir los tejidos dañados, incluidas la dentina y la estructura radicular, así como las células del complejo pulpodentinario. En este artículo se describen las bases celulares y moleculares de esta terapia, sustentada en una compleja interacción entre las células madre dentales de la papila apical, los factores de crecimiento y los biomateriales con el microambiente donde se va a restablecer. Asimismo, se argumenta cómo las condiciones ambientales en las que se lleva a cabo el proceso terapéutico influyen en la

regeneración, con una función esencial en la regulación de la diferenciación de los tejidos.

Palabras clave: endodoncia regenerativa; dientes permanentes; células madre; revascularización pulpar.

ABSTRACT

The regenerative endodontics comprises a group of biological procedures that are made in the permanent teeth with non-formed apex and pulpar necrosis whose end is to substitute the damaged tissues, including the dentine and radicular structure, as well as the cells of the dentin pulp complex. The cellular and molecular basis of this therapy are described in this work, sustained in a complex interaction between the dental stem cells of the apical papilla, the growth factors and biomaterials with the microenvironment where it will be recover. Likewise, it was argued how the environmental conditions in which the therapeutic process is carried out influence in the regeneration, with an essential function in the regulation of the differentiation of tissues.

Key words: regenerative endodontics; permanent teeth; stem cells; pulpar revascularization.

Recibido: 27/10/2020

Aprobado: 05/02/2021

Introducción

El complejo pulpodentinario tiene como funciones mantener la vitalidad del diente y su funcionalidad y reaccionar ante estímulos. Las afecciones pulpares causadas por traumatismos o caries, como la necrosis pulpar, generan la pérdida de la sensibilidad y vitalidad del diente, dañando gravemente los tejidos periapicales.⁽¹⁾

Actualmente el tratamiento indicado en estas enfermedades es la obturación de conductos. Sin embargo, la infección bacteriana previa y la instrumentación mecánica necesaria para ello debilitan al diente y afectan su pronóstico.⁽¹⁾

La terapia de reemplazo es el concepto que se ha venido utilizando últimamente en la odontología contemporánea, con la cual se elimina completamente el tejido inflamado o infectado y se sustituye por un material inerte que permite recuperar algunas de las funciones en el diente dañado, como la estética, masticación, fonación y deglución; pero no comprende otras propiedades del órgano perdido, como la sensibilidad, defensa, regeneración, mantención de la vitalidad y homeostasis. Debido a esto, los esfuerzos de los investigadores se han volcado en la búsqueda de una alternativa que pueda cubrir estos requerimientos y la mejor opción se ha encontrado en la medicina regenerativa, cuyo objetivo es rehabilitar las estructuras dañadas o perdidas.⁽²⁾

Durante los últimos años la medicina regenerativa ha tenido un gran progreso, con resultados prometedores en las diferentes áreas médicas, entre estas la odontología, que no ha quedado relegada y ha emprendido el desarrollo de diferentes técnicas para la restauración de los tejidos dentarios, con avances notables en los métodos existentes y la aparición de nuevos mecanismos para lograrlo.⁽²⁾

En ese sentido, entre las alternativas que proporcionan un buen pronóstico al diente permanente inmaduro no vital figura la endodoncia regenerativa con células madre, basada en el concepto de que las células madre vitales pueden sobrevivir a la necrosis pulpar y son capaces de diferenciarse en odontoblastos secundarios, de manera que contribuyen a la conformación del tejido radicular. Los procedimientos de regeneración del complejo pulpar están dirigidos a controlar la infección con un mínimo de instrumentos y abundante irrigación, lo que resulta un tratamiento fascinante que aporta beneficios inestimables a los pacientes en quienes se aplica.^(3,4)

El actual renacimiento y auge de la medicina regenerativa y el conocimiento de la amplia gama de posibilidades terapéuticas que brinda a la ciencia estomatológica cobran creciente interés para el gremio de odontólogos, constantemente interesado en la reconstrucción del sistema estomatognático y la restitución del equilibrio biopsicosocial de cada paciente, a fin de lograr la restitución de la salud como concepto integrador.⁽⁵⁾

Tomando en cuenta los planteamientos que anteceden, se valoró la necesidad de identificar y aumentar la información acerca de las bases biológicas —celulares y moleculares— de los procedimientos endodónticos regenerativos que se aplican en pacientes con dientes permanentes inmaduros no vitales, por lo que se efectuó una exhaustiva búsqueda bibliográfica sobre el tema, que condujo al desarrollo y comunicación del presente artículo.

Desarrollo

En los últimos años se ha producido un notable avance en la rama de las ciencias médicas denominada medicina regenerativa, cuyo objetivo es estimular o regenerar células, tejidos u órganos para restablecer su función normal. Esta incluye la aplicación de diversos factores estimuladores y otros elementos solubles que intervienen en variados procesos biológicos, de la terapia génica y de la ingeniería tisular, tanto *in vitro* como *in vivo*; pero, de todos estos métodos, el que más se ha desarrollado, y en corto tiempo, ha sido el de las células madre, que ha condicionado la magnífica posibilidad de influir terapéuticamente en la regeneración de órganos y tejidos.⁽⁴⁾

Por otro lado, el sistema estomatognático no se excluye de esos fenómenos patológicos o degenerativos, todo lo contrario, al estar asociado a múltiples funciones concomitantes, los tejidos bucales son un “blanco” fácil de numerosas enfermedades; no obstante, debido a que presenta elementos de las distintas especies celulares, tales como una rica vascularización y las probables particularidades reparativas, resulta propicio considerar la cavidad bucal como fuente y asiento de los procedimientos biotecnológicos relacionados con la terapia celular, la ingeniería tisular y los bancos de tejidos.

Uno de los grandes retos en la práctica odontológica diaria, por su gran dificultad, es el tratamiento endodóntico del diente permanente inmaduro. El protocolo terapéutico estándar en dientes inmaduros necróticos con ápice abierto se basa en la técnica de apexificación, que se realiza con agregado de trióxido mineral (MTA, por sus siglas del inglés *mineral trioxide aggregate*) o con hidróxido de calcio [Ca(OH)₂]. Sin embargo, con la apexificación se ha demostrado que existe un mayor riesgo de padecer fractura

radicular, porque el uso prolongado del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ conduce a una mayor fragilidad de la dentina radicular, debido a la desnaturalización del carboxilato y los grupos fosfato en la dentina y a que no se desarrollan ni el grosor ni la longitud de la raíz. A su vez, no se produce ningún tipo de recuperación de las funciones pulpares y se pierde su capacidad de detectar los cambios ambientales.⁽⁶⁾

Como alternativa a la apexificación surgió la endodoncia regenerativa. Al respecto, Vicente Suero⁽⁶⁾ señala que cuando se introdujo, en 1971, por Nygaard-Östby y Hjortdal, se conocía como revascularización y comprendía a todas aquellas técnicas “basadas en procesos biológicos destinados a reemplazar el complejo dentino-pulpar enfermo, alterado o traumatizado”. Estos investigadores observaron, en seres humanos y en perros, los efectos del sangrado provocado por la instrumentación, con lo cual concluyeron que se producía una reparación de los tejidos sin evidencia de revascularización. El hecho de que no se evidenciara revascularización, unido a la aparición de infecciones por no usar antibióticos y a la complejidad del protocolo, hizo que desde la década de los 70 en adelante, se declinara este tipo de técnica y se optara por la restauración dental endodóntica; concepto que incluía la desinfección y la obturación de los conductos radiculares.

Sin embargo, según describe este mismo autor,⁽⁶⁾ en 1993 las investigaciones de Langer y Vacanti en el campo de la ingeniería de tejidos produjeron un resurgimiento del interés por la regeneración en el tratamiento endodóntico, que tuvo su retorno tras las publicaciones de Iwaya, en 2001, y Banchs, en 2004, quienes, conjuntamente con otros colegas, estudiaron el diente permanente inmaduro con necrosis pulpar, en el que primeramente se llevó a cabo la desinfección del sistema radicular y luego una laceración del tejido apical, para colocar, por último, la restauración coronal. Con esta técnica se consiguió una resolución para las fístulas y el dolor, así como un incremento en la longitud y anchura de la raíz y el restablecimiento de la capacidad pulpar.

Se ha señalado⁽⁷⁾ que la endodoncia regenerativa es el conjunto de intervenciones de base biológica diseñadas para reemplazar elementos dañados, como la dentina, las estructuras radiculares y las células del complejo pulpodentinario. Tomando como punto de partida el tratamiento del diente con ápice inmaduro, se ha definido la endodoncia regenerativa como el conjunto de procedimientos biológicos efectuados en

dientes permanentes con ápice no formado y necrosis pulpar, encaminados a sustituir los tejidos afectados, incluidas la dentina y la estructura radicular, así como las células del complejo pulpodentinario.

Varios estudiosos del tema^(7,8) se refieren a la endodoncia regenerativa como revascularización. De acuerdo con Diogenes *et al.*⁽⁹⁾ este término se basa en que algunos dientes con ápice inmaduro pueden revascularizarse tras un traumatismo; sin embargo, este vocablo se usa más propiamente para indicar la revascularización de un tejido isquémico, y la endodoncia regenerativa incluye otros aspectos, además del vascular, a saber: células madre de la papila apical (SCAP), soportes o “andamiajes” y factores de crecimiento, pues la creación de un adecuado microambiente condiciona la proliferación y diferenciación de estas células, previo control de la infección en el conducto radicular.

Con referencia a lo anterior, y en correspondencia con los argumentos ofrecidos por otros investigadores,⁽¹⁰⁾ los autores del presente artículo definen la endodoncia regenerativa como los procedimientos biológicos que se aplican en dientes permanentes inmaduros no vitales con el fin de sustituir los tejidos dañados del complejo pulpodentinario por un tejido conectivo laxo constituido por elementos vasculares, celulares y nerviosos, rodeado de un tejido mineralizado y guiado por una compleja interacción entre las células madre de la papila apical, los factores de crecimiento y los biomateriales con el microambiente donde se desarrolla dicho proceso.

Hargreaves y Law⁽⁸⁾ señalan tres factores que pueden contribuir al éxito de la regeneración pulpar: el primero es la existencia de células madre capaces de diferenciarse en células similares a los odontoblastos o neododontoblastos; el segundo, la presencia de moléculas mediadoras en la estimulación celular, en su proliferación y en su diferenciación, así como en la revascularización y la formación de tejidos calcificados, y el tercero, la existencia de una matriz que pueda controlar la diferenciación celular, unir y organizar la formación hística, la migración y adhesión celulares; contener en su interior factores de crecimiento y degradarse con el tiempo.

Células madre

Los términos utilizados en español para identificar estas células han sido diversos. Inicialmente se empleó el mismo que en inglés “*stem cells*”, pero posteriormente han ido

introduciéndose otras denominaciones: células troncales, células tronco, células precursoras, células progenitoras y células estaminales; sin embargo, suele preferirse el de células madre, como se alude en este documento.⁽⁴⁾

Morales Navarro⁽¹¹⁾ expone que las células madre (CM) son aquellas que pueden dividirse simultáneamente para mantener, por un lado, su autorrenovación, con la producción de más CM semejantes a esta y, por el otro, para generar células hijas relacionadas con diversas clases celulares que se diferencian en disímiles grupos de células especializadas, no solo morfológicamente, sino también funcionalmente.

En el cuerpo humano existen diferentes fuentes de células madre, desde donde son aisladas: el tejido adiposo, la médula ósea, la dermis, el cordón umbilical, el cerebro, el hígado, los pulmones, el músculo esquelético y los dientes; ubicadas en microambientes especialmente mantenidos para ellas, denominados “nichos”.⁽¹²⁾

Las células madre derivadas de los dientes destacan por su elevado potencial de multidiferenciación, tanto en tejidos óseos como odontogénicos, adipogénicos y neurogénicos. Estas residen en “nichos” específicos del complejo dental: células madre de la pulpa dentaria (DPSC), células madre de dientes temporales recientemente exfoliados (SHED), células madre del ligamento periodontal (PDLSC), células madre de la papila apical y células madre del folículo periapical (PAFSC).^(11,12,13,14)

Las SCAP se encuentran en los dientes permanentes inmaduros, los cuales, a pesar de haber brotado y alcanzado el plano oclusal, no presentan su ápice radicular completamente formado. Estas células se encuentran específicamente en la papila apical —de donde proviene su nombre—, que es uno de los tejidos blandos del órgano dental y está representada por un tejido conectivo denso.^(15,16,17)

Resulta oportuno añadir que las células madre de la papila apical se encuentran en el ápice de las raíces de los dientes en desarrollo. Se sugiere que “en desarrollo” los tejidos dentales pueden proporcionar una mejor fuente de células madre inmaduras que los tejidos dentales “desarrollados”.⁽⁵⁾ Aunque determinados estudios^(9,18) se basan en muestras obtenidas de pacientes menores de 25 años de edad, cabría destacar que las células madre multipotentes se han extraído de pulpas de adultos de hasta 41 años, por lo que los procedimientos de regeneración son aplicables a pacientes jóvenes y de edad media.

Gucciardino y Miegimolle⁽¹⁹⁾ plantean que la esperanza de vida replicativa de las células madre está limitada por la longitud del ácido desoxirribonucleico (ADN) telomérico y puede mantenerse por la expresión de un bajo nivel de actividad de la telomerasa. Cada vez que hay regeneración, el ADN telomérico se acorta; entonces, el potencial de regeneración y diferenciación depende de la edad del paciente y de la etapa de desarrollo de la raíz.

Los autores de esta investigación consideran que, a pesar de haberse evidenciado científicamente la existencia de células madre multipotentes en adultos de edad media, los procedimientos endodónticos regenerativos serán más exitosos en pacientes jóvenes, ya que con el paso de los años se produce un acortamiento progresivo de los telómeros cromosómicos, con una consecuente disminución de la capacidad replicativa celular y, por ende, del éxito en los procedimientos regenerativos endodónticos.

Las SCAP representan un grupo de células troncales mesenquimales involucradas en la formación apical durante la rizogénesis, por esto se consideran como una potencial estrategia de terapia celular superior para la regeneración de tejidos, en particular para inducir el cierre apical. Se les identificó como las principales células no diferenciadas que forman parte en el proceso de desarrollo de las raíces y se ha demostrado que poseen una fuerza de proliferación mayor que la de las células troncales de la pulpa dental. Además, tienen una importante función en la producción y secreción de una variedad de factores solubles, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el de crecimiento similar a la insulina (IGF) y el de crecimiento endotelial vascular (VEGF).⁽¹⁴⁾

De igual manera, las células troncales mesenquimales de papila apical proliferan de 2 a 3 veces más que las de la pulpa en cultivo celular; sin embargo, las SCAP y las DPSC poseen un elevado potencial de diferenciación osteo-dentinogénica, como el de las células madre mesenquimales (MSC) de médulas óseas, mientras que el potencial adipogénico es menor.⁽¹⁴⁾

Para Cortés Gaitán *et al*⁽¹⁴⁾ las SCAP también tienen la propiedad de expresar marcadores positivos de las células troncales mesenquimales, como CD105, CD90, CD73 y, en menos de 2 %, CD45 y CD34; y de diferenciar en tipos de células mesenquimales: osteoblastos, condrocitos, condroblastos, adipocitos, odontoblastos y células neurales *in vitro*.

Dhillon *et al*,⁽¹⁶⁾ por su parte, plantean que las SCAP presentan un potencial osteogénico por la presencia de marcadores como el STRO-1 (MSC marcador humano), el CD 34 (marcador de adhesión de células madre) y el CD 146 (marcador de células hematopoyéticas).

A su vez, Sonoyama *et al*⁽¹⁷⁾ caracterizaron la papila apical de dientes permanentes inmaduros e identificaron las SCAP a través de marcadores moleculares como el STRO-1, el cual es un antígeno de superficie de células mesenquimales que se manifestó junto a marcadores dentinogénicos, como la sialofosfoproteína ósea, la osteocalcina y los receptores para factores de crecimiento: fibroblástico (FGF) R1 y transformante (TGF) beta 1; lo que significa que estas células tienen potencial dentinogénico.

Factores de crecimiento

Canalda⁽⁷⁾ expone que en los últimos años ha crecido el interés por una serie de moléculas biológicas activas que pueden realizar una importante función en la reparación mediante la formación de neodentina.

Los factores de crecimiento constituyen un elemento esencial para regular la morfogénesis de la regeneración apical, pues controlan la diferenciación, proliferación y secreción de elementos de la matriz extracelular. Igualmente, la señalización celular es necesaria para la regeneración del complejo dentino-pulpar. La formación de tejidos duros engloba a los TGF, entre los que destaca la subfamilia TGF beta 1, que se presenta de forma activa en la matriz de la dentina, con una función crucial en la diferenciación de los odontoblastos, la secreción de la matriz dentinaria y, por ende, en el desarrollo del diente y la regeneración de tejidos. Otros TGF son las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), que actúan en la diferenciación de los ameloblastos (BMP 4 y 5) y odontoblastos (BMP 2) o en la formación de tejido mineralizado (BMP 7). También figuran otros factores de crecimiento necesarios para la diferenciación, como la sialoproteína ósea (DSP) y el FGF.⁽⁷⁾

En el proceso de angiogénesis se generan niveles altos de FGF, VEGF y PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas), que propician la quimiotaxis, la diferenciación y el crecimiento vascular. Resulta interesante que el plasma rico en plaquetas presente un

incremento entre 3 y 6 veces del VEGF y PDGF y que incremente la tasa de cicatrización de las heridas, según se ha descrito.^(6,8,20)

Respecto a la neurogénesis, se presentan niveles altos del factor de crecimiento nervioso, el factor de crecimiento fibroblástico, los activadores de la proteína quinasa C y las vías de monofosfato de adenosina cíclico. Debe señalarse que, hasta el momento, la regeneración nerviosa es el aspecto más desconocido de la regeneración endodóntica.⁽⁶⁾

Los factores de crecimiento se activan, a su vez, por las llamadas moléculas de señalización, como las citoquinas, los compuestos químicos y las hormonas. Es necesario conocer la simbiosis que surge al englobar neurogénesis, angiogénesis y odontogénesis, con el fin de regenerar el complejo dentino-pulpar.⁽⁶⁾ Dhillon *et al*⁽¹⁶⁾ consideran que para controlar los tres procesos es necesario regular la matriz (o microambiente) y saber cuál tipo es el más adecuado.

Microambiente

Las condiciones microambientales en las que se lleve a cabo el procedimiento influyen en la regeneración, con una función esencial en la regulación de la diferenciación de los tejidos. De acuerdo con Canalda,⁽⁷⁾ se ha demostrado dicha influencia al exponer la misma población de células madre a diversos ambientes, con la obtención de diferentes células. Esto indica que no solo se deben depositar las células en el conducto, sino que se han de tener o proporcionar determinadas condiciones para lograr las células del complejo dentino-pulpar.

Como plantea Escobar Villegas,⁽²¹⁾ el equilibrio entre la desinfección y la creación de un microambiente favorable en el conducto radicular para la proliferación de las SCAP es de vital importancia en el éxito de las terapias endodónticas regenerativas. La presencia de un agente tóxico podría crear condiciones desfavorables para la supervivencia, migración, adherencia y proliferación de las células implicadas en los procesos de regeneración tisular.

Igualmente, Vicente Suero⁽⁶⁾ considera que es muy necesario lograr una adecuada matriz, la cual consiste en una estructura de tejido de configuración tridimensional en la que se dispondrán las células, a fin de promover la unión e interacción celular, proporcionar un entorno adecuado y actuar como reservorio para los factores de

crecimiento, liberándolos localmente; dicha liberación debe ser controlada por moléculas de señalización para que el proceso tenga continuidad. El microambiente demuestra potencial para resolver la sintomatología y la periodontitis apical, y favorece el desarrollo de las raíces. Puede ser de origen endógeno —colágeno, dentina, fibronectina, ácido hialurónico, glucosaminoglucanos o quitosano, que se caracterizan por ser biocompatibles y biodegradables— o exógeno —hidrogeles, MTA, ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), policaprolactona (PCL), plasma rico en plaquetas (PRP) o plasma rico de fibrina (PRF)—.

El tipo de matriz tiene una importante función en la diferenciación celular, pues se ha observado que según la clase se favorece o perjudica determinada variedad celular. En el microambiente también influyen los agentes irrigantes que se empleen, así como el tiempo y la concentración a la que actúen; en procedimientos donde se aplicó hipoclorito sódico (NaOCl) a 5,25 % con abundante lavado se produjo una dentina que condujo a la diferenciación de células con actividad clástica, lo que provocó resorción dentinaria.^(6,7)

Escobar Villegas⁽²¹⁾ además señala que las concentraciones elevadas de hipoclorito incrementan la citotoxicidad de las SCAP, pues al entrar en contacto con el tejido vital se desencadena una respuesta inflamatoria con un perjuicio grave para ese tejido; también desnaturalizan los factores de crecimiento derivados de la dentina, los cuales son indispensables para la adherencia y diferenciación de las células madre. Recientemente en estudios *in vitro*^(22,23) se ha demostrado que la exposición de la dentina a una alta concentración de NaOCl a largo plazo puede tener un efecto perjudicial sobre su módulo de elasticidad y fuerza flexible, de manera que la irrigación con hipoclorito en algunas situaciones puede aumentar el riesgo de fractura radicular vertical.

El NaOCl a bajas concentraciones se ha usado con excelentes resultados por su potente actividad antibacteriana y proteolítica, que logra disolver tejido orgánico. Igualmente, se observó que dicha concentración a 1,5 % tuvo efectos mínimos sobre la supervivencia y diferenciación celular.^(21,24)

Sin embargo, el NaOCl no puede eliminar la capa de barrido de la superficie de la dentina, por lo que se ha recurrido al uso de sustancias adicionales como los agentes quelantes (EDTA), que pueden eliminar esta capa dejando una superficie limpia con

túbulos abiertos; de esta manera se mejora el efecto antibacteriano de los agentes desinfectantes que se usan localmente en capas más profundas de la dentina.⁽²¹⁾

Hashimoto *et al*⁽²⁴⁾ consideran que la descalcificación de la dentina que produce el EDTA conduce a la exposición de las fibrillas de colágeno, lo que favorece la unión celular de las SCAP con la matriz extracelular dentinaria a través de receptores del tipo integrina, que inducen señales de fosfatidilinositol 3 quinasa, que activan las vías intracelulares y así contribuyen a la diferenciación osteo-odontoblástica. Adicionalmente el uso de EDTA expone determinados factores de crecimiento atrapados en la matriz de la dentina, entre ellos el TGF beta 1, el BMP, VEGF y FGF. Se ha demostrado que estos elementos estimulan la secreción de la matriz de la dentina, la diferenciación odontoblástica y la formación de dentina terciaria. Los protocolos de irrigación que incluyen EDTA de 3 a 17 %, durante 10 minutos, parecen generar la supervivencia de las SCAP y su adherencia a las paredes del conducto radicular, lo que sugiere que la baja concentración a 3 % es suficiente para evitar daños innecesarios en la dentina, pues reducen la erosión y la microdureza de las paredes dentinarias; la aplicación por más de 10 minutos no incrementa la viabilidad de las células madre. El análisis ultraestructural reveló que estas concentraciones de EDTA exponen algunos componentes orgánicos, como el colágeno de tipo I, pequeñas cantidades de colágeno de los tipos III y IV, y glicosaminoglucanos, los cuales son esenciales para las uniones celulares.^(21,24)

Algunos autores⁽²⁵⁾ evaluaron el efecto del EDTA residual en la formación del coágulo sanguíneo y comprobaron que inactiva las plaquetas y la formación de fibrina; por ello se sugiere la irrigación de EDTA y a continuación 20 mililitros de solución salina por 5 minutos.

También se asevera⁽²¹⁾ que el uso de hipoclorito como irrigación final después del EDTA produce una erosión grave de las paredes dentinales del conducto radicular. Widbiller *et al*⁽²⁶⁾ mencionan que los protocolos de irrigación que incluyen clorhexidina son perjudicial para las SCAP. Los postulantes consideran que las sustancias irrigantes tienen una función crucial en el acondicionamiento de la superficie que actuará como microambiente.

Conforme refieren Facchin *et al*,⁽²⁷⁾ la terapia pulpar regenerativa se ha propuesto como procedimiento alternativo en dientes no vitales dañados por caries o por trauma, lo que

permite el desarrollo radicular y la aposición de tejido duro en las paredes del conducto. Este proceso se basa en el concepto de supervivencia de las células madre, que pueden permanecer viables en la zona periapical, incluso en caso de existir necrosis pulpar.

La inducción del coágulo de sangre en el conducto radicular y sus factores de crecimiento constituyen la matriz de la revascularización del diente inmaduro por su contenido de fibrina entrecruzada, que actúa como vía para la migración celular de macrófagos y fibroblastos.⁽¹⁾

Desde entonces se han realizado innumerables estudios clínicos para obtener un mejor resultado biológico en esa dirección.^(28,29,30,31) En la mayoría de los pacientes que recibieron regeneración endodóntica desaparecieron las manifestaciones clínicas y las lesiones periapicales, se logró el cierre apical, se alargó la raíz y se incrementó el espesor de la pared dentinaria radicular. Antes era impensable que el tejido de la región pulpar de una pieza dentaria infectada pudiera revitalizarse.

La gran ventaja de esa terapéutica, además de tratarse de una técnica sencilla y económica, es que evita el rechazo inmunológico y la transmisión de gérmenes patógenos.

Morales Navarro⁽⁵⁾ señala que la capacidad inmunomoduladora que poseen las células madre mesenquimales (CMM) evita el rechazo alógeno mediante diferentes mecanismos y que en numerosas investigaciones se ha demostrado que estas impiden el reconocimiento de antígenos al interferir en la función de las células dendríticas y de los linfocitos T, de manera que producen un efecto inmunosupresor local debido a su capacidad de secretar citosinas, el cual se potencia cuando las células son expuestas a un medio con actividad inflamatoria o con altos niveles de interferón gamma. Igualmente refiere que en estudios *in vitro* se ha comprobado que las CMM no expresan los antígenos del sistema principal de histocompatibilidad de clase II, lo que indica que constituyen una potente terapéutica en la enfermedad “injerto contra huésped” porque pueden reducir o suprimir las reacciones inmunológicas inducidas.

De igual modo pueden inhibir la proliferación de linfocitos inducida por aloantígenos y mitógenos, como la fitohemaglutinina y concavalina A, así como su activación por anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28. Se ha señalado, además, que pueden inhibir la expresión de moléculas involucradas en la presentación de antígenos y en cultivos con

células mononucleares de sangre periférica, e incrementan la proporción de subpoblaciones de linfocitos T con fenotipo de células reguladoras.

Las CMM *in vitro* pueden inhibir la proliferación de los linfocitos T y B, apoyan el desarrollo de células T reguladoras, disminuyen la actividad lítica de las células citotóxicas naturales y de los linfocitos T citotóxicos e inhiben la diferenciación de monocitos en células dendríticas.⁽⁵⁾

Los estudios histológicos de dientes revascularizados en animales han mostrado que los tejidos que crecen en el espacio pulpar son el conectivo blando fibroso y el duro cemento similar al hueso. Más recientemente se han confirmado estos resultados en seres humanos, como en el caso publicado por Becerra *et al*,⁽³²⁾ quienes analizan un primer premolar inferior inmaduro revascularizado, con una evolución positiva de dos años. Los dos primeros premolares inferiores se extrajeron por un tratamiento de ortodoncia y se aprovecharon para un análisis histológico en relación con el diente contralateral. Los resultados mostraron que el espacio del canal estaba lleno de tejido conectivo fibroso y el cierre apical fue realizado por la deposición de cemento sin dentina; el cemento se formó en las paredes de la dentina del canal.

En una revisión⁽¹⁰⁾ sobre resultados histológicos en pacientes tratados con procedimientos endodónticos regenerativos, se obtuvo la formación de tejido conectivo fibroso con fibroblastos en forma de huso, células mesenquimales y vasos sanguíneos en todos los dientes. El tejido anterior parecía ser una extensión del tejido periapical y del ligamento periodontal en algunos casos. También se observó inflamación del tejido con presencia de leucocitos polinucleares, así como de neuronas y paquetes nerviosos en 3 dientes. No se observaron odontoblastos ni células similares a los odontoblastos que recubren el tejido mineralizado recién formado en la mayoría de los casos. Las células polarizadas similares a los odontoblastos que recubren el tejido de dentina recién formado figuraron en tres dientes. De la misma manera, se evidenciaron calcificaciones distróficas en forma de islas mineralizadas dentro del espacio del canal.

Referente a los tejidos mineralizados recién formados, en la mayoría de los casos eran principalmente del tipo "cemento" en lugar de tejidos óseos. Este tejido similar al cemento fue claramente delimitado de la dentina preexistente por la ausencia de túbulos dentinarios y en secciones de hematoxilina por una "línea manchada oscura". Se

depositó tejido similar al del tipo cemento en las paredes dentinales y alrededor del ápice y causó el estrechamiento del conducto radicular y el alargamiento de la raíz.⁽¹⁰⁾

El resultado de los procedimientos endodónticos regenerativos depende del estado de la pulpa dental y de los tejidos periapicales antes del tratamiento. La presencia de restos de pulpa, la gravedad y la duración de la infección, la introducción de especies microbianas, el control de la infección, el impacto de los agentes antimicrobianos en las células madre, el tamaño del ápice y la inmunidad del huésped, son componentes clave con una importante función en el resultado de la técnica aplicada.

Conclusiones

El proceso de regeneración del complejo pulpodentinario está guiado por la complicada interacción de las células indiferenciadas de origen dental, los factores de crecimiento y los biomateriales con el microambiente donde se va a restablecer. Es esencial comprender detalladamente los mecanismos de señalización y las interacciones involucrados en los procesos biológicos para la formación de un nuevo tejido, además de la identificación de los componentes de los tejidos dentales implicados en este proceso (características del microambiente), ya que representan la base sobre la cual se regenerará. Las condiciones ambientales en las que se lleve a cabo el proceso influyen en la regeneración, con una función esencial en la regulación de la diferenciación de los tejidos.

Referencias bibliográficas

1. Castañeda Revilla KS. Terapia regenerativa pulpar [tesis de grado]. Perú: Universidad de San Martín de Porres; 2019 [citado 24/10/2020]. Disponible en: [https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/5147/casta%**c3%b1**eda_rks.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/5147/casta%c3%b1eda_rks.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

2. Astudillo Ortiz E. Regeneración de la pulpa dental. Una revisión de la literatura. ADM. 2018 [citado 24/10/2020];75(6):350-7. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2018/od186i.pdf>
3. Moyetones-Hernández LE, Zavarce SE. Revascularización en dientes permanentes inmaduros. Estado del Arte Oral. 2018 [citado 24/10/2020];19(60):1615-9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=85224>
4. Santiago Dager E, LaO Salas NO, Urgellés Y, Riesgo Cosme YC, Alí Pérez NA. Ventajas y usos de las células madre en estomatología. MEDISAN. 2014 [citado 20/03/2020];18(9). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v18n9/san14189.pdf>
5. Morales Navarro D. Aspectos generales de la medicina regenerativa en estomatología. Revista Cubana de Estomatología. 2014 [citado 24/09/2020];51(2):206-23. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072014000200009
6. Vicente Suero F. Bases biológicas de la endodoncia regenerativa: revisión de la literatura. Maxillaris. 2018 [citado 24/09/2020]. Disponible en: <https://www.maxillaris.com/foro-20180508-Bases-biologicas-de-la-endodoncia-regenerativa-revision-de-la-literatura.aspx>
7. Canalda C. Tratamiento del diente con ápice inmaduro. En: Canalda C, Brau E. Endodoncia: técnicas clínicas y bases científicas. 4 ed. Madrid: Elsevier; 2019.
8. Hargreaves KM, Law A. Endodoncia regenerativa. En: Hargreaves K, Cohens S, Berman LH. Cohens. Vías de la pulpa. 10 ed. Madrid: Elsevier; 2011.
9. Diogenes A, Simon S, Law AS. Endodoncia regenerativa. En: Hargreaves KM, Berman LH. Cohen. Vías de la pulpa. 11 ed. Barcelona: Elsevier; 2016. p. 447-73.
10. Digka A, Sakka D, Lyroudia. Histological assessment of human regenerative endodontic procedures (REP) of immature permanent teeth with necrotic pulp/apical periodontitis: A systematic review. Australian Endodontic Journal. 2020 [citado 17/06/2020]. Disponible en: <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1111/aej.12371>
11. Morales Navarro D. Regeneración ósea guiada en estomatología. Revista Cubana de Estomatología. 2016 [citado 20/03/2020];51(2):67-83. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072016000100008
12. Cea-Sanhueza M, Sánchez-Sanhueza G. Células madre mesenquimales orales: Estado del arte en Odontología. Av Odontoestomatol. 2016 [citado 20/03/2020];32(2):97-105.

Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852016000200004

13. Guadarrama Plata O, Guadarrama Quiroz LJ, Robles Bermeo NL. Aplicaciones odontológicas de las células madre pulpares de dientes temporales y permanentes. ADM. 2018 [citado 24/10/2020];75(3):127-34. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2018/od183c.pdf>

14. Cortés Gaitán AJ, Cortés Velosa T, Duque Rodríguez AE, Rodríguez Sáenz A, Munévar Niño JC. Células troncales mesenquimales de la papila apical y su papel prometedor en la biología radicular. Revista Mexicana de Estomatología. 2016 [citado 20/03/2020];3(2):61-74. Disponible en: <https://www.remexesto.com/index.php/remexesto/article/view/72/119>

15. Germain L, De Berdt P, Vanacker J, Leprince J, Diogenes A, Jacobs D, et al. Fibrin hydrogels to deliver dental stem cells of the apical papilla for regenerative medicine. Regenerative Medicine. 2015 [citado 08/05/2020];10(2):153-67. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25835480>

16. Dhillon H, Kaushik M, Sharma R. Regenerative endodontics-Creating new horizons. Journal of Biomedical. 2015 [citado 08/05/2020]. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/26699211>

17. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan R, Wang S, Shi S, Huang G. Characterization of the apical papilla and its resident stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. J Endod. 2008 [citado 08/05/2020]. Disponible en: <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC2714367&blobtype=pdf>

18. Wang Y, Zhu X, Zhang C. Pulp revascularization on permanent teeth with open apices in a middle-aged patient. J Endod. 2015;41(9):1571-75.

19. Gucciardino F, Miegimolle M. Revascularización con pasta tri-antibiótica. Revisión bibliográfica. Cient. Dent. 2015 [citado 24/10/2020];12(1):15-20. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-140794?lang=es>

20. Alagl A, Bedi S, Hassan K, Al-Humaid J. Use of platelet-rich plasma for regeneration in non-vital immature permanent teeth: clinical and cone-beam computed tomography evaluation. J Int Med Res. 2017 [citado 24/10/2020];45(2):583-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5536665/>

21. Escobar Villegas PA. Efecto del ácido Hipocloroso sobre la viabilidad y genes de auto-renovación y pluripotencia de células stem de la papila apical [tesis de grado]. Bogotá: Universidad El Bosque; 2019 [citado 24/09/2020]. Disponible en: <https://repositorio.unbosque.edu.co/handle/20.500.12495/1789>
22. Shiqi L, Hanchao Z, Shaoping F, Chengyu C, Jian X, Jinjuan J, et al. Evaluation of the cytotoxic effects of sodium hypochlorite on human dental stem cells. Trop J Pharm Res. 2018 [citado 08/06/2020];17(12):2376. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v17i12.9>
23. Martin D, Almeida JF, Henry MA, Khaing Z, Schmidt C, Diogenes A, et al. Concentration-dependent Effect of Sodium Hypochlorite on Stem Cells of Apical Papilla Survival and Differentiation. J Endod. 2014 [citado 16/06/2020];40(1):51-5. Disponible en: [https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(13\)00647-X/pdf](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(13)00647-X/pdf)
24. Hashimoto K, Kawashima N, Ichinose S, Nara K, Takashi O. EDTA treatment for sodium Hypochlorite-treated dentin recovers disturbed attachment and induces differentiation of mouse dental papilla cells. J Endod. 2018 [citado 24/09/2020];44:256-62. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29275854>
25. Taweewattanapaisan P, Jantararat J, Ounjai P, Janebodin K. The effects of EDTA on blood clot in regenerative endodontic procedures. J Endod. 2019 [citado 24/10/2020];45:281-6. Disponible en: <https://sci-hub.se/10.1016/j.joen.2018.10.010>
26. Widbiller M, Althumairy R, Diogenes A. Direct and indirect effect of chlorhexidine on survival of stem cells from the apical papilla its neutralization. J Endod. 2019 [citado 24/01/2020];45:156-60. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30711171>
27. Facchin C, D'Anselmo G, Jiménez L. Procedimiento endodóntico regenerativo en diente permanente no vital con ápice inmaduro. Reporte de caso. Odous Científica. 2018 [citado 24/10/2020];19(1):29-41. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/odontologia/revista/vol19-n1/art03.pdf>
28. Chen SJ, Chen LP. Radiographic outcome of necrotic immature teeth treated with two endodontic techniques: a retrospective analysis. Biomed J. 2016 [citado 24/09/2020];39(5):366-71. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27884384>

29. Silujjai J, Linsuwanont P. Treatment outcomes of apexification or revascularization in nonvital immature permanent teeth: a retrospective study. J Endod. 2017 [citado 08/05/2020];43(2):238-45. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28132710>
30. López C, Mendoza A, Solano B, Yáñez R. Revascularization in immature permanent teeth with necrotic pulp and apical pathology: case series. Case Rep Dent. 2017 [citado 24/10/2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2017/3540159>
31. Li L, Pan Y, Mei L, Li J. Clinical and radiographic outcomes in immature permanent necrotic evaginated teeth treated with regenerative endodontic procedures. J Endod. 2017 [citado 24/09/2020];43(2):246-51. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27955921>
32. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, Lin LM. Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. J Endod. 2014 [citado 18/06/2020];40(1):133-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24332005>

Conflictos de intereses

Los autores no declaran conflictos de intereses.

Contribución de los autores

Elizabeth Santiago Dager: Concepción y diseño del trabajo. Redacción y revisión del texto. Aprobación del envío de la versión final. Nivel de participación: 55 %.

Niurka LaO Salas: Concepción y revisión del trabajo. Aprobación del envío de la versión final. Nivel de participación: 15 %.

Ivet Castellanos Coloma: Concepción y revisión del trabajo. Aprobación del envío de la versión final. Nivel de participación: 15 %.

Rachel Marzo Santiago: Colaboró en la búsqueda bibliográfica sobre el tema en bases de datos biomédicas y en la acotación de las referencias por las Normas de Vancouver. Aprobación del envío de la versión final. Nivel de participación: 15 %.

