

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Odontología

MÁSTER EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS



**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD VOLUMÉTRICA DE LA CÁMARA
PULPAR DE DIENTES TEMPORALES EN RELACIÓN CON EL
AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE**

Autor:

Ainara Ginés Pérez

Tutor:

Nuria Esther Gallardo López

TRABAJO FIN DE MASTER

Madrid, Septiembre de 2020



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. Facultad de Odontología

**TRABAJO DE FIN DE MÁSTER
VISTO BUENO DEL TUTOR
MASTER OFICIAL EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

El profesor/a tutor

Nombre y apellidos:	Nuria Esther Gallardo López
---------------------	-----------------------------

del alumno/a

Nombre y apellidos	Ainara Ginés Pérez
--------------------	--------------------

encuadrado en la línea de investigación

Normalidad y patología odontopediátrica. Determinación de protocolos terapéuticos y evaluación de su aplicabilidad en Odontopediatría.

DA EL VISTO BUENO

para que el Trabajo de Fin de Máster titulado

Estudio de la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de dientes temporales en relación con el aislamiento de células madre.

sea admitido para su defensa ante Tribunal.

En Madrid , a 1 de septiembre de 2020.

Fdo.: el profesor/a

--

El presente Visto Bueno se debe acompañar del Trabajo de Investigación en formato electrónico y tres copias en papel.



MÁSTER EN: CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

COMPROMISO DEONTOLÓGICO PARA LA ELABORACIÓN, REDACCIÓN Y POSIBLE PUBLICACIÓN DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER (TFM)

CENTRO: Facultad de Odontología. Universidad Complutense de Madrid (UCM)

ESTUDIANTE DE MÁSTER: Ainara Ginés Pérez

TUTOR/ES DEL TFM: Nuria Esther Gallardo López

TÍTULO DEL TFM: Estudio de la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de dientes temporales en relación con el aislamiento de células madre.

FECHA DE PRIMERA MATRÍCULA: Junio/2018

FECHA DE SEGUNDA MATRÍCULA (en caso de producirse): Septiembre/2019

1. Objeto

El presente documento constituye un compromiso entre el estudiante matriculado en el Máster en Ciencias Odontológicas y su Tutor/es y en el que se fijan las funciones de supervisión del citado trabajo de fin de máster (TFM), los derechos y obligaciones del estudiante y de su/s profesor/es tutor/es del TFM y en donde se especifican el procedimiento de resolución de potenciales conflictos, así como los aspectos relativos a los derechos de propiedad intelectual o industrial que se puedan generar durante el desarrollo de su TFM.

2. Colaboración mutua

El/los tutor/es del TFM y el autor del mismo, en el ámbito de las funciones que a cada uno corresponden, se comprometen a establecer unas condiciones de colaboración que permitan la realización de este trabajo y, finalmente, su defensa de acuerdo con los procedimientos y los plazos que estén establecidos al respecto en la normativa vigente.



3. Normativa

Los firmantes del presente compromiso declaran conocer la normativa vigente reguladora para la realización y defensa de los TFM y aceptan las disposiciones contenidas en la misma.

4. Obligaciones del estudiante de Máster

- Elaborar, consensado con el/los Tutor/es del TFM un cronograma detallado de trabajo que abarque el tiempo total de realización del mismo hasta su lectura.
- Informar regularmente al Tutor/es del TFM de la evolución de su trabajo, los problemas que se le planteen durante su desarrollo y los resultados obtenidos.
- Seguir las indicaciones que, sobre la realización y seguimiento de las actividades formativas y la labor de investigación, le hagan su tutor/es del TFM.
- Velar por el correcto uso de las instalaciones y materiales que se le faciliten por parte de la Universidad Complutense con el objeto de llevar a cabo su actividad de trabajo, estudio e investigación.

5. Obligaciones del tutor/es del TFM

- Supervisar las actividades formativas que desarrolle el estudiante; así como desempeñar todas las funciones que le sean propias, desde el momento de la aceptación de la tutorización hasta su defensa pública.
- Facilitar al estudiante la orientación y el asesoramiento que necesite.

6. Buenas prácticas

El estudiante y el tutor/es del TFM se comprometen a seguir, en todo momento, prácticas de trabajo seguras, conforme a la legislación actual, incluida la adopción de medidas necesarias en materia de salud, seguridad y prevención de riesgos laborales.

También se comprometen a evitar la copia total o parcial no autorizada de una obra ajena presentándola como propia tanto en el TFM como en las obras o los documentos literarios, científicos o artísticos que se generen como resultado del mismo. Para tal, el estudiante firmará la Declaración de No Plagio del ANEXO I, que será incluido como primera página de su TFM.

7. Procedimiento de resolución de conflictos académicos

En el caso de producirse algún conflicto derivado del incumplimiento de alguno de los extremos a los que se extiende el presente compromiso a lo largo del desarrollo de su TFM, incluyéndose la posibilidad de modificación del nombramiento del



tutor/es, la coordinación del máster buscará una solución consensuada que pueda ser aceptada por las partes en conflicto. En ningún caso el estudiante podrá cambiar de Tutor directamente sin informar a su antiguo Tutor y sin solicitarlo oficialmente a la Coordinación del Máster.

En el caso de que el conflicto persista se gestionará según lo previsto en el SGIC de la memoria verificada.

8. Confidencialidad

El estudiante que desarrolla un TFM dentro de un Grupo de Investigación de la Universidad Complutense, o en una investigación propia del Tutor, que tenga ya una trayectoria demostrada, o utilizando datos de una empresa/organismo o entidad ajenos a la Universidad Complutense de Madrid, se compromete a mantener en secreto todos los datos e informaciones de carácter confidencial que el Tutor/es del TFM o de cualquier otro miembro del equipo investigador en que esté integrado le proporcionen así como a emplear la información obtenida, exclusivamente, en la realización de su TFM.

Asimismo, el estudiante no revelará ni transferirá a terceros, ni siquiera en los casos de cambio en la tutela del TFM, información del trabajo, ni materiales producto de la investigación, propia o del grupo, en que haya participado sin haber obtenido, de forma expresa y por escrito, la autorización correspondiente del anterior Tutor del TFM.

9. Propiedad intelectual e industrial

Cuando la aportación pueda ser considerada original o sustancial el estudiante que ha elaborado el TFM será reconocido como cotitular de los derechos de propiedad intelectual o industrial que le pudieran corresponder de acuerdo con la legislación vigente.

10. Periodo de Vigencia

Este compromiso entrará en vigor en el momento de su firma y finalizará por alguno de los siguientes supuestos:

- Cuando el estudiante haya defendido su TFM.
- Cuando el estudiante sea dado de baja en el Máster en el que fue admitido.
- Cuando el estudiante haya presentado renuncia escrita a continuar su TFM.



ANEXO I: DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

D./Dña. Ainara Ginés Pérez
estudiante de Máster en la Facultad
de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid en el
curso 2019-2020 , como autor/a del trabajo de fin de máster titulado

Estudio de la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de dientes temporales en relación con el aislamiento de células madre.

y presentado para la obtención del título correspondiente, cuyo/s tutor/ es/son:

Nuria Esther Gallardo López

DECLARO QUE:

El trabajo de fin de máster que presento está elaborado por mí y es original. No copio, ni utilizo ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones de cualquier obra, artículo, memoria, o documento (en versión impresa o electrónica), sin mencionar de forma clara y estricta su origen, tanto en el cuerpo del texto como en la bibliografía. Así mismo declaro que los datos son veraces y que no he hecho uso de información no autorizada de cualquier fuente escrita de otra persona o de cualquier otra fuente.

De igual manera, soy plenamente consciente de que el hecho de no respetar estos extremos es objeto de sanciones universitarias y/o de otro orden.

En Madrid, a 2 de Septiembre de 2020.

Fdo.: Ainara Ginés Pérez

Esta DECLARACIÓN debe ser insertada en primera página de todos los trabajos fin de máster conducentes a la obtención del Título.

“Nadie logra el éxito sin la ayuda de los demás”

Agradezco profundamente la paciencia, comprensión, cariño y dedicación que la Dra. Nuria Esther Gallardo López ha puesto en mí y en la realización de este proyecto, sin ella nada de esto hubiese sido posible.

A la Dra. Antonia María Caley Zambrana por confiar en mí y darme la oportunidad. Por enseñarme el verdadero valor de la odontopediatría.

A mis niños, todos los que junto con su diente me regalaron una sonrisa con tal de poder ayudar a los demás. Muchas gracias a todos.

A mis padres por educarme en los valores del esfuerzo, el sacrificio y la responsabilidad, pero sobre todo en la felicidad. Por cuidarme y quererme. Por su apoyo ciego e incondicional.

A Patri la hermana que elegí, compañera de trabajo y de vida. Gracias por prestarme “tu casa” y por apoyarme y ayudarme a cada paso que decido dar.

A Antonio por tratarme como a una nieta. Gracias por darme la oportunidad de luchar por mis sueños.

A todos los que me han apoyado y acompañado en estos meses tan duros y complicados, infundiéndome fuerza, coraje y valor para continuar. Gracias por creer y confiar en mí. Teníais razón al final lo logré.

A mi bisabuela, que se presenta en cada mariposa blanca. Ojalá que desde donde este se sienta orgullosa de mí.

A mi hermana, el regalo más grande que me dio la vida, la razón por la que lucho cada día por ser alguien mejor. Deseo y espero que todos tus sueños se cumplan, yo te acompañare a cada paso que des. La una siempre al lado de la otra.

RESUMEN

En el año 2003, Miura y cols. demostraron la existencia de células madre en el tejido pulpar de dientes temporales. Desde entonces el número de artículos de investigación destinados a entender su aprovechamiento biológico ha aumentado exponencialmente. Sin embargo, tras la realización de una exhaustiva revisión bibliográfica, se observan lagunas en el proceso básico de recolección muestral.

El objetivo principal de este proyecto de investigación es determinar la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de incisivos, caninos y molares temporales exfoliados naturalmente o exodonciados próximos al momento de exfoliación por presentar alguna alteración eruptiva el sucesor permanente. Para la realización del proyecto, se han recogido un total de 50 dientes, ausentes de patología inflamatoria o infecciosa. Para el análisis tridimensional de la muestra se ha recurrido al uso del CBCT y el software de reconstrucción volumétrica Slicer 4.10.2[®].

Se intenta esclarecer cuál de estos tipos dentales es susceptible de contener una mayor cantidad de tejido pulpar remanente y, por tanto, su idoneidad para llevar a cabo el proceso básico de recolección y aislamiento celular. La capacidad volumétrica media de los distintos grupos dentales nos servirá como referencia para establecer un cribado en el proceso de selección muestral y aprovechamiento biológico de dichos dientes temporales.

PALABRAS CLAVE: “Células Madre”, “Pulpa Dental”, “Capacidad Volumétrica”, “Cámara pulpar”, “Dientes Temporales”, “CBCT”, “Slicer 4.10.2[®]”.

ABSTRACT

In 2003, Miura et al. proved the existence of stem cells in the pulp tissue of temporary teeth. Since, the number of research articles aimed at understanding their biological use has increased exponentially. However, after carry out an exhaustive literature review, gaps in the basic sample collection process are observed.

The main objective of this research is to determine the volumetric capacity of the pulp chamber of temporal incisors, canines and molars. Total of 50 teeth exfoliated or exodontized by eruptive alterations of the permanent successor have been collected without any pathology. For three-dimensional analysis of the sample, CBCT and volumetric reconstruction software Slicer 4.10.2® have been used.

An attempt is made to clarify which of these dental types may contain a greater remaining pulp tissue, therefore, its suitability to carry out the basic process of cell collection and isolation. The volumetric capacity average of different dental groups will serve as a reference to establish a screening in the process of selection and biological use of naturally exfoliated deciduous teeth.

KEY WORDS: “Stem Cells”, “Dental Pulp”, “Volumetric Capacity”, “Pulp Chamber”, “Deciduous Teeth”, “CBCT”, “Slicer 4.10.2®”.

ÍNDICE

Pág.

I. INTRODUCCIÓN	1
1. DENTICIÓN TEMPORAL	2
1.1. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIADORAS ENTRE LA DENTICIÓN TEMPORAL Y LA PERMANENTE	2
1.2. IMPORTANCIA DE LA DENTICIÓN TEMPORAL	3
1.3. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DE LA DENTICIÓN TEMPORAL	3
COMPLEJO DENTINOPULPAR EN DENTICIÓN TEMPORAL	8
2.1. CONCEPTO DE PULPA DENTAL	8
2.2. HISTOLOGÍA DE LA PULPA DENTAL	8
2.3. ANATOMÍA PULPAR	8
2.4. FUNCIONES DE LA PULPA DENTAL	11
REABSORCIÓN RADICULAR EN DENTICIÓN TEMPORAL	12
3.1. REABSORCIÓN RADICULAR FISIOLÓGICA	12
3.2. PATRÓN DE REABSORCIÓN RADICULAR	13
3.3. INFLUENCIA DE LA REABSORCIÓN FISIOLÓGICA EN LA CÁMARA PULPAR	14
3.4. REABSORCIÓN PATOLÓGICA	16
CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DENTAL DE DIENTES TEMPORALES	16
4.1. DEFINICIÓN DE CÉLULA MADRE	16
4.2. TIPOS DE CÉLULAS MADRE	17
4.3. CÉLULAS MADRE EN LA CAVIDAD ORAL	17
4.4. CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DENTAL DE DIENTES TEMPORALES: SHED	17
ODONTOMETRÍA	36
5.1. DEFINICIÓN DE ODONTOMETRÍA	36
5.2. APLICACIONES DE LA ODONTOMETRÍA	37
5.3. IMPORTANCIA DE LA ODONTOMETRÍA	37
5.4. ODONTOMETRÍA EN DENTICIÓN TEMPORAL	38
5.5. TÉCNICAS ODONTOMÉTRICAS	39
5.6. PRUEBAS RADIOLÓGICAS EN ODONTOMETRÍA	40
II. JUSTIFICACIÓN	44
III. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	47
IV. MATERIALES Y MÉTODO	49
1. SELECCIÓN MUESTRAL	50
2. RECUENTO MUESTRAL	50
3. DISTRIBUCIÓN MUESTRAL	51
4. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA	52
5. RECOGIDA Y ANÁLISIS DE DATOS	65
6. ASPECTOS LEGALES	67
V. RESULTADOS	68
VI. DISCUSIÓN	81
VII. CONCLUSIONES	87
IX. ANEXOS	90

I. INTRODUCCIÓN

1. DENTICIÓN TEMPORAL

La dentición primaria, también conocida como temporal, de leche o infantil, se completa alrededor de los 2,5 años. Esta dentición permanecerá en boca de manera exclusiva hasta los 6 años de edad, coincidiendo con la erupción de los primeros molares definitivos. Su estado de salud y correcto mantenimiento resulta imprescindible para el desarrollo de la dentición permanente (1-3).

1.1. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIADORAS ENTRE LA DENTICIÓN TEMPORAL Y LA PERMANENTE

Los dientes constituyen los órganos estructurales más resistentes del cuerpo humano. Como tales, una vez completada su formación, experimentan un continuo cambio a lo largo de su vida útil, desde su erupción hasta su exfoliación (4).

La primera dentición se completa alrededor de los 3 años y funciona durante un periodo de tiempo relativamente corto antes de su desaparición completa alrededor de los 11 años (1,4).

Los dientes temporales tienen la misma estructura básica que los dientes permanentes, sin embargo, la morfología general del diente temporal difiere del sucesor permanente.

La principal diferencia radica en la parte coronal que tiende a ser más bulbosa con respecto a la del diente permanente, sobre todo en los molares primarios. Presentan una mayor constricción cervical y tienen un contorno más prominente. Sus áreas de contacto proximal son más anchas y planas, su color más blanquecino y sus superficies oclusales relativamente estrechas.

Las raíces de los dientes temporales son más cortas, más pequeñas y más curvas. El esmalte es más delgado y la cantidad de dentina menor, con respecto a la del diente permanente. Además, la cámara pulpar es más grande y presenta cuernos pulpares más acentuados (1,3,5).

Todas estas características dotan al diente deciduo de una sensibilidad y susceptibilidad mucho mayor que la del diente permanente frente a cualquier agente externo (1-3,5).

1.2. IMPORTANCIA DE LA DENTICIÓN TEMPORAL

La primera dentición cumple una función importante durante la primera fase de dentición temporal completa y también en el periodo de transición hacia la dentición permanente. Es incuestionable la necesidad de prevenir y tratar los deterioros que esta pueda presentar, siendo su trascendencia imprescindible en la masticación, el mantenimiento de espacio y el correcto desarrollo y erupción de la dentición permanente (1,4,5).

1.3. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DE LA DENTICIÓN TEMPORAL

La dentición temporal consta de 20 dientes distribuidos de manera simétrica y equitativa. Cada arcada consta de 10 dientes: cuatro incisivos, dos caninos y cuatro molares. A partir de la línea media, los dientes a cada lado de la arcada se denominan de la siguiente forma: Incisivo Central, Incisivo Lateral, Canino, Primer Molar Temporal y Segundo Molar Temporal (1,2,5).

Cada uno de los tipos dentales descritos presentan características anatómicas únicas dependientes de la función que desempeñen, la arcada en la que se encuentren y la posición que ocupen dentro de la misma (Fig.Nº1), pudiendo distinguir:

1.3.1. INCISIVOS DECIDUOS

1.3.1.1. INCISIVO CENTRAL MAXILAR

Presenta una corona lisa con un borde incisal casi recto en la que el diámetro mesiodistal es mayor que la longitud cervicoincisal. La cara lingual presenta crestas marginales y cingulo muy desarrollados dividiéndola en fosa distal y mesial. Las caras mesial y distal son muy semejantes, aunque la curvatura cervical por distal es menos pronunciada que por mesial. La raíz es cónica con lados aplanados, estrechándose en su cara lingual (1,2,6).

1.3.1.2. INCISIVO LATERAL MAXILAR

Similar al Incisivo Central pero de dimensiones reducidas en todas sus caras. Presenta una corona lisa con un ángulo distoincisal más redondeado en la que la longitud cervicoincisal es mayor que el diámetro mesiodistal. La raíz es cónica con lados aplanadas, semejante a la del incisivo central, sin embargo, es mucho más larga en relación a la corona (1,2,6).

1.3.1.3. INCISIVO CENTRAL MANDIBULAR

Presenta una corona plana convergente hacia la cara lingual con borde incisal recto. Sus lados mesial y distal se estrechan progresivamente desde las zonas de contacto hacia cervical, por lo que su dimensión es menor en el cuello del diente. La convexidad del contorno vestibulolingual es muy pronunciada en el tercio gingival. La corona es proporcionalmente más ancha que larga. En la cara lingual se pueden diferenciar con facilidad crestas marginales y cingulo. Además, puede presentar una superficie plana o ligera concavidad denominada fosa lingual.

La raíz es delgada y uniformemente cónica hacia el ápice, casi dos veces más grande que la corona. A menudo, se observa una depresión de desarrollo en el lado distal (1,2,6).

1.3.1.4. INCISIVO LATERAL MANDIBULAR

Los perfiles fundamentales son similares a los del Incisivo Central. El Incisivo Lateral es ligeramente más grande, excepto vestibulolingualmente, donde son prácticamente iguales. Presenta un cingulo más prominente y una cara lingual más cóncava. El borde incisal se encuentra inclinado hacia distal (1,2,6).

1.3.2. CANINOS DECIDUOS

1.3.2.1. CANINO MAXILAR

Presenta una corona convexa con una gran constricción a nivel cervical. El aumento de volumen vestibulolingual a nivel del tercio cervical le proporciona resistencia. Tiene una cúspide grande, desarrollada y aguda, cuya vertiente mesial es más pronunciada que la distal. En la cara lingual se encuentran el cingulo, las crestas marginales y la cresta lingual que la divide en fosas mesial y distal.

La raíz es robusta, cónica y larga, más del doble de la corona. Se ahúsa lingualmente y suele estar inclinada hacia distal a partir del tercio medio (1,2,6).

1.3.2.2. CANINO MANDIBULAR

Las diferencias anatómicas con el Canino Maxilar son escasas. Su corona y raíz son más cortas y su anchura vestibulolingual menor. Su grosor es mayor en el cuello del diente, por lo que, no presenta una constricción cervical tan pronunciada. Presenta una cúspide aguda cuya vertiente distal es mayor a la vertiente mesial, contrario a su antagonístico que presenta la característica opuesta facilitando la intercuspidación (1,2,6).

1.3.3. MOLARES TEMPORALES

1.3.3.1. PRIMER MOLAR MAXILAR

Presenta una corona lisa con surcos de desarrollo poco marcados. Converge progresivamente hacia lingual donde su diámetro mesiodistal es menor que en la cara vestibular. El tercio cervical presenta una gran convexidad a nivel vestibular, su diámetro es mayor que el del tercio oclusal. La distancia mayor se encuentra entre los puntos de contacto mesial y distal. La cara oclusal tiene un aspecto ligeramente festoneado con cúspides poco marcadas. La cúspide mesiolingual es la más prominente, la más grande y la más aguda. La convergencia de la corona hacia lingual y distal no se refleja en la superficie oclusal que presenta un aspecto rectangular con crestas marginales de tamaño reducido.

Presenta tres raíces largas, delgadas y muy separadas. La raíz distal es más corta que la mesial. La raíz lingual es la más larga. Su bifurcación comienza prácticamente en la línea cervical y afecta a las tres raíces (1,2,6).

1.3.3.2. SEGUNDO MOLAR MAXILAR

Presenta una corona de diámetro mayor que la del Primer Molar Maxilar Temporal, sobre todo, en lo que anchura vestibulolingual se refiere. Convergente hacia cervical, es más estrecha en el cuello que en las zonas de contacto mesiodistal. El diámetro distal es menor que el diámetro mesial. El perfil lingual es liso, mientras que, en la cara vestibular se aprecian dos cúspides bien definidas con un surco de desarrollo vestibular entre ellas. Desde la cara oclusal se parece al Primer Molar Permanente, ligeramente romboidal con cuatro cúspides bien desarrolladas y una suplementaria: mesiovestibular, distovestibular, mesiolingual, distolingual y la quinta cúspide o tubérculo de Carabelli. La cúspide mesiolingual es la más grande y desarrollada. Presenta una cresta oblicua prominente que conecta la cúspide mesiolingual con la distovestibular.

Al igual que el Primer Molar Maxilar presenta tres raíces. La raíz lingual es la más grande y gruesa. El punto de bifurcación de las raíces vestibulares se encuentra junto a la línea cervical. La raíz lingual, sin embargo, se bifurca 23mm apical de la línea cervical (1,2,6).

1.3.3.3. PRIMER MOLAR MANDIBULAR

No se parece a ningún otro diente. Su aspecto es extraño y primitivo. Presenta un perfil vestibular prácticamente recto con una ligera constricción a nivel cervical. La cara distal es más corta que la mesial donde la línea cervical desciende hacia apical, presentando una curvatura más pronunciada. La corona y la raíz convergen hacia lingual por la parte mesial, mientras que, en la parte distal ocurre lo contrario. La longitud mesiovestibular de la corona es mayor que la mesiolingual, por lo que, la línea cervical tiene una dirección ascendente en dirección vestibulolingual. Por el contrario, la longitud distovestibular es similar a la distolingual y la línea cervical vista desde el perfil distal es prácticamente recta. Presenta una cresta marginal mesial muy desarrollada en comparación con la cresta marginal distal que no es tan recta ni esta tan bien definida. Visto desde la cara oclusal presenta un contorno romboidal en el que destaca la prominencia

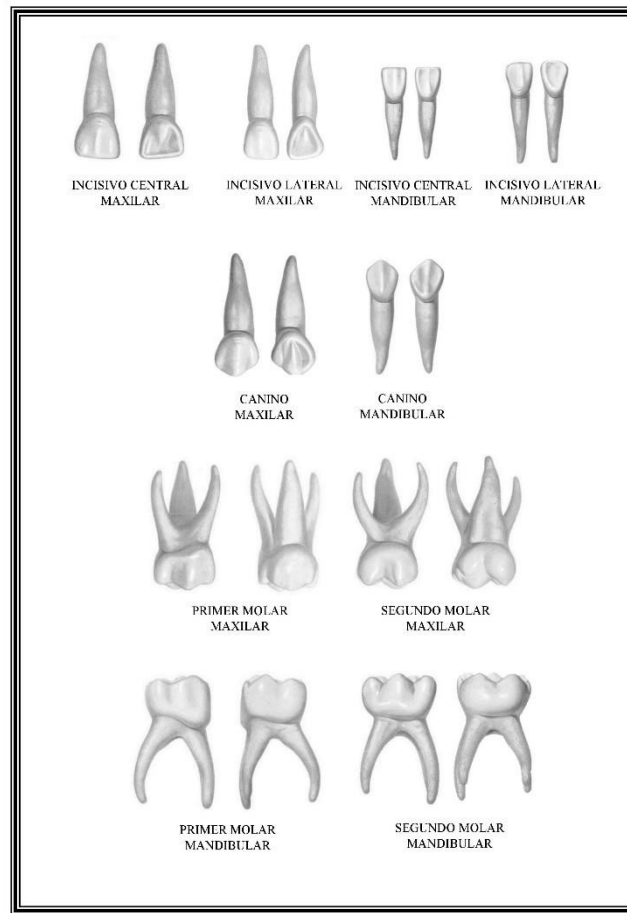
mesiovestibular de la corona hacia apical. Presenta cuatro cúspides: mesiovestibular, distovestibular, mesiolingual y distolingual. La cúspide mesiolingual es la más grande y prominente. El gran desarrollo de la cresta marginal mesial permite considerarla como otra pequeña cúspide lingual.

Presenta dos raíces anchas y delgadas que se ensanchan en el tercio apical, más allá de la longitud coronal. La raíz mesial desciende recta desde la parte mesial de la corona, estrechándose ligeramente al llegar al tercio apical presentando un extremo plano casi cuadrado. La raíz distal es más corta y redonda (1,2,6).

1.3.3.4. SEGUNDO MOLAR MANDIBULAR

Presenta una corona cuya dimensión mesiodistal es más estrecha en el área cervical que en las áreas de contacto, lo que justifica su convergencia hacia el cuello del diente. La superficie vestibular es recta con una disposición irregular de las cúspides mesiovestibular, vestibular y distovestibular. La corona se estrecha hacia lingual donde se encuentran las cúspides mesiolingual y distolingual, cuya anchura es menor que la de las cúspides vestibulares. La línea cervical se puede considerar recta y regular con una ligera inclinación vestibulolingual vista desde los perfiles mesial y distal del diente. La corona es más ancha mesial que distalmente. La cresta marginal distal desciende de forma más pronunciada y es más corta que la cresta marginal mesial. La cara oclusal es rectangular y convergente hacia distal.

Presenta dos raíces largas y delgadas con un abombamiento mesiodistal característico en el tercio medio-apical. La raíz mesial es ancha y plana con el ápice romo. La raíz distal es similar a la raíz mesial estrechándose más en el tercio apical. Se bifurcan a nivel de la línea amelocementaria (1,2,6).



*Figura N°1: Imágenes anatómicas de la Dentición Temporal.
Tomado de Pineda Paz C. Atlas de Anatomía Dental (6).*

2. COMPLEJO DENTINOPULPAR EN DENTICIÓN TEMPORAL

El complejo dentinopulpar constituye un entramado biológico que surge de la íntima interacción entre el tejido pulpar y el tejido dentinario. Se trata de uno de los principales mecanismos de defensa del diente. Adquiere especial relevancia en la dentición temporal donde su correcto funcionamiento resulta imprescindible en el proceso fisiológico de reabsorción radicular y mantenimiento biológico del diente (3,5,7).

2.1. CONCEPTO DE PULPA DENTAL

El tejido pulpar es el componente de tejido conectivo laxo que ocupa la cavidad interna del diente.

La pulpa dental es un tejido vital, reactivo y dinámico que tiene su origen embrionario en la papila dentaria (3,4).

Fundamentalmente, está compuesta por vasos sanguíneos y nervios simpáticos asociados confiriendo al diente de nutrición, propiocepción y defensa frente a los patógenos externos (1,3,7).

2.2. HISTOLOGÍA DE LA PULPA DENTAL

La pulpa de un diente primario es histológicamente similar a la de un diente permanente. Se trata de un sistema de tejido conectivo especializado de origen mesenquimático (1,3).

Los odontoblastos recubren la periferia del espacio pulpar y extienden sus procesos citoplasmáticos hacia los túbulos dentinarios permitiendo la comunicación intercelular y la estabilización estructural del tejido.

Debajo de la capa odontoblástica se encuentra una zona libre de células que contiene un extenso plexo de nervios no mielinizados y capilares sanguíneos. Los nervios y grandes vasos sanguíneos se encuentran en el núcleo de la pulpa y están rodeados de tejido conectivo laxo (1,3,4,7).

Numerosos artículos de investigación han evidenciado la presencia de células madre en el tejido pulpar. Actualmente, la pulpa dental se considera un nicho de células madre de origen mesenquimal (8).

2.3. ANATOMÍA PULPAR

Por lo general, las características anatómicas del tejido pulpar coinciden con el perfil externo del diente. La parte de la corona y raíz que contienen tejidos pulpares se denominan cámara pulpar y conducto pulpar respectivamente. El límite entre ambos no es preciso. Su tamaño depende de la edad del diente y los antecedentes de traumatismos previos (1,5).

Las características anatómicas más relevantes de la morfología pulpar de la dentición decidua son las siguientes (Fig.Nº2):

2.3.1. INCISIVOS TEMPORALES

La cámara pulpar sigue el contorno externo del diente con tres proyecciones a nivel del borde incisal donde presenta su mayor diámetro. El cuerno pulpar mesial es el más prominente. No existe diferenciación entre el final de la cámara pulpar y el comienzo del conducto pulpar.

Presenta un único canal pulpar amplio y ovalado que se estrecha a nivel del ápice.

Los incisivos centrales y laterales temporales mandibulares presentan las mismas características en una proporción menor acorde a su tamaño (5,6).

2.3.2. CANINOS TEMPORALES

Presentan una cámara pulpar amplia con tres cuernos pulpares. El cuerno pulpar central es el más prominente. No existe una delimitación clara entre la cámara pulpar y el conducto pulpar.

Tienen un único conducto pulpar amplio que se estrecha en el tercio apical de la raíz (5,6).

2.3.3. MOLARES TEMPORALES

2.3.3.1. PRIMER MOLAR MAXILAR

Presenta una cámara pulpar amplia que sigue el contorno externo del diente. Vista desde oclusal tiene apariencia de un triángulo de vértices redondeados cuya base se encontraría localizada en la cara vestibular. Presenta tres cuernos pulpares ordenados de menor a mayor encontraríamos: cuerno pulpar distovestibular, cuerno pulpar palatino y cuerno pulpar mesiovestibular. En ocasiones puede presentar un cuarto cuerno pulpar.

Presenta tres conductos pulpares, uno por cada raíz. El conducto palatino es el más largo (5,6).

2.3.3.2. SEGUNDO MOLAR MAXILAR

Presenta una cámara pulpar amplia que sigue el contorno externo del diente. Vista desde oclusal tiene forma cuadrangular. Presenta cuatro cuernos pulpares, ordenados de menor a mayor, se encuentran: distopalatino, distovestibular, mesiopalatino, mesiovestibular. En ocasiones puede presentar un quinto cuerno pulpar en relación con el tubérculo de Carabelli.

Presenta tres conductos pulpares, uno por cada raíz. El palatino es el más largo. El distovestibular el más corto y estrecho (5,6).

2.3.3.3. PRIMER MOLAR MANDIBULAR

Presenta una cámara pulpar amplia que sigue el contorno externo del diente. Vista desde oclusal la sección transversa tiene aspecto trapezoidal siendo el lado más largo el correspondiente a la cara vestibular. Presenta cuatro cuernos pulpares en orden creciente se encuentran: distolingual, distovestibular, mesiolingual y mesiovestibular.

Presenta tres conductos pulpares, dos en la raíz mesial: mesiolingual y mesiovestibular, y uno en la raíz distal (5,6).

2.3.3.4. SEGUNDO MOLAR MANDIBULAR

Presenta una cámara pulpar amplia que sigue el contorno externo del diente. Su sección transversal tiene aspecto pentagonal. Presenta cinco cuernos pulpares, ordenados de menor a mayor, se encuentran: distal, distolingual, distovestibular, mesiolingual y mesiovestibular. Al igual que en el caso anterior presenta tres conductos pulpares, dos alojados en la raíz mesial y uno en la distal (5,6).

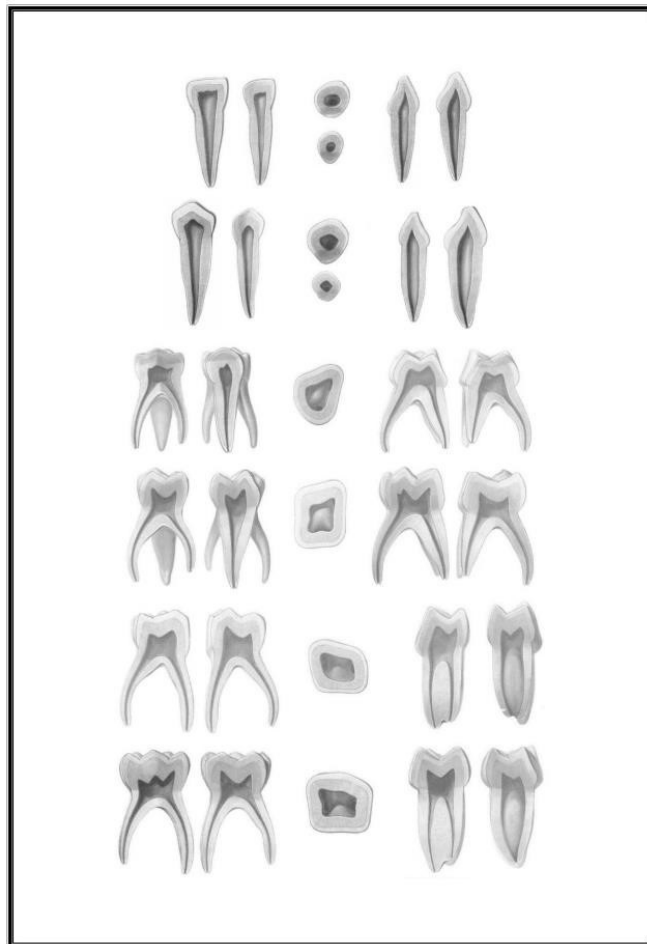


Figura N°2: Imágenes anatómicas del complejo dentinopulpar de la Dentición Temporal. Tomado de Pineda Paz C. Atlas de Anatomía Dental (6).

2.4. FUNCIONES DE LA PULPA DENTAL

La pulpa dental presenta numerosas funciones entre las que cabe destacar la de desarrollo o formación, la nutritiva, la sensorial y la defensiva.

Su función principal es la formación de dentina. La dentina secundaria se genera de forma continua durante toda la vida del diente siempre que la pulpa permanezca vital (1).

La dentina y la pulpa permanecen estrechamente unidas formando lo que, comúnmente, se conoce como complejo dentinopulpar. Ante una agresión externa el complejo reacciona en un intento de defender la pulpa generando dentina terciaria o reparativa (1,7).

La comunicación intermolecular, a través de los túbulos dentinarios, permite la activación de las células madre presentes en el tejido pulpar. En respuesta a lesiones traumáticas, estímulos físicos o infecciones bacterianas las células madre del tejido pulpar activan su mecanismo de diferenciación. La generación de odontoblastos y la consecuente formación de dentina reactiva permiten el mantenimiento de la vitalidad biológica y fisiológica del diente (3-5).

El sistema sensorial controla el flujo sanguíneo y tiene gran influencia en la mediación del dolor (1,4,7).

3. REABSORCIÓN RADICULAR EN DENTICIÓN TEMPORAL

El recambio dentario tiene lugar gracias a un proceso de reabsorción radicular fisiológica conocido como rizólisis o rizoclasia. Además, es necesario comprender que el diente temporal puede experimentar procesos de reabsorción patológica que pueden dañar su integridad estructural e histológica (9-12).

3.1. REABSORCIÓN RADICULAR FISIOLÓGICA

Durante el proceso de rizólisis o rizoclasia, las raíces de los dientes deciduos experimentan una serie de cambios que desencadenan la reabsorción tanto del tejido radicular duro como del tejido pulpar y de las estructuras de soporte dentario, ligamento periodontal y hueso alveolar, permitiendo la erupción del sucesor permanente(9,10).

La etiología de la rizólisis es un tema de gran controversia. Aunque parece estar estimulada por las fuerzas generadas por los propios dientes permanentes en su intento de erupción, este no sería el único factor determinante. Factores hereditarios, endocrinos, nutricionales, así como, factores locales inflamatorios estarían en íntima relación con el origen de la rizoclasia. El aumento de las fuerzas de masticación implícitas en el crecimiento y la presencia de un potencial de reabsorción inherente a la estructura de los dientes primarios, también influirían en el desarrollo de dicho proceso, el cual, no es continuo. Los periodos de reabsorción activa son seguidos por periodos intermitentes de descanso y reparación (9,10,13,14).

Son varios los tipos celulares que se encuentran directamente relacionados con el proceso de reabsorción fisiológica: odontoclastos, macrófagos, fibroblastos, cementoblastos u osteoclastos entre otros. Se cree que el papel más importante lo desempeñan los odontoclastos responsables de la reabsorción tanto del tejido mineralizado como no mineralizado. El factor nuclear ligando kappa B (RANKL) y la citoquina osteoprogenitora (OPG), se encuentran involucrados en dicho proceso de activación odontoclástica. Sin embargo, los estudios más actuales analizan la influencia que tienen las células madre presentes en el tejido pulpar de los dientes deciduos en el proceso de reabsorción (13,15).

3.2. PATRÓN DE REABSORCIÓN RADICULAR

El proceso de reabsorción sigue siendo un tema de gran controversia en la actualidad (9-12,16).

Existe poca información sobre el patrón de reabsorción radicular de los dientes temporales, aunque se entiende que la ubicación del germen del sucesor permanente tiene una gran influencia en el origen de dicho proceso (9-12,16).

Existen numerosos proyectos de investigación destinados a esclarecer su funcionamiento. Como ejemplo de ello tenemos la tesis realizada por la Dra. Antonia María Caleyá en la Universidad Complutense de Madrid. A través de dicho proyecto de investigación se intentan relacionar parámetros de maduración dentaria con el grado de reabsorción radicular de los molares temporales. Como conclusiones se extraen, entre otras, que tanto la longitud radicular como el ratio corono radicular

(RCR) disminuyen con el aumento de la edad cronológica. El desarrollo del sucesor permanente influye notablemente en la disminución del RCR. Se considera que la medición del RCR es más precisa que la medición de la longitud radicular para valorar el ritmo de la rizólisis (9).

Otro ejemplo es la tesis publicada en la misma universidad por la Dra. Ana Sanz Coarasa, a través de la cual, se pretende analizar la asimetría en el proceso de reabsorción radicular en molares inferiores. Se encuentran un 50% de asimetrías en la reabsorción de una muestra total estudiada de 304 molares. En casos de reabsorción asimétrica la raíz con mayor grado de reabsorción suele ser la distal (16).

La mayoría de los autores llegan al consenso de que la rizólisis comienza en la parte más próxima al germen del sucesor permanente produciéndose la destrucción del cemento y la dentina desde la periferia hacia el interior de la raíz del diente temporal (10-12).

El primer centro de reabsorción se encuentra situado en el tercio medio de la superficie lingual de incisivos y caninos y en las superficies interradiculares de los molares. Posteriormente, aparece un segundo centro de reabsorción situado en los ápices radiculares (11).

Se debe tener en cuenta que el proceso de reabsorción varía tanto la estructura como la composición celular básica del complejo dentinopulpar y el ligamento periodontal (9,11,12,16).

3.2.1. PATRÓN DE REABSORCIÓN EN DIENTES UNIRRADICULARES

La reabsorción de Incisivos y Caninos temporales tiene lugar en la cara lingual de la raíz del diente. El diente se exfolia con gran parte de la cámara pulpar intacta (11).

3.2.2. PATRÓN DE REABSORCIÓN EN DIENTE MULTIRRADICULARES

El patrón de reabsorción de los molares temporales es controvertido, depende, en gran medida, de la posición que adopta el premolar sucesor con respecto al mismo.

La reabsorción comienza en la cara interna de las raíces. Cemento y dentina radicular son reabsorbidos junto con el contenido de la cámara pulpar y la dentina coronaria. Por tanto, el tejido pulpar se ve más comprometido en este caso (11).

3.3. INFLUENCIA DE LA REABSORCIÓN FISIOLÓGICA EN LA CÁMARA PULPAR

Resulta importante tener en consideración que el tejido pulpar de los dientes temporales se encuentra en íntima relación con el proceso de reabsorción dental fisiológica. Con el desarrollo del proceso, dicho tejido experimentará una serie de cambios no solo a nivel estructural, como ya se ha mencionado previamente, sino también a nivel celular (10,12,13,15,17).

Cuando el proceso de exfoliación está a punto de completarse las células inflamatorias se infiltran en el tejido pulpar y los odontoblastos se degradan.

Posteriormente, una población de células multinucleadas, similares a los osteoclastos, aparecen activando la resorción a lo largo de la cámara pulpar (18).

Durante el proceso de rizólisis la cámara pulpar presenta un estado de granulación o atrofia tisular con aumento de infiltrado inflamatorio en periodos de gran actividad de reabsorción. Autores como Monteiro y cols. observaron el incremento de células de la inmunidad tales como macrófagos y linfocitos B y T. También observaron un aumento en la vascularización del tejido en detrimento de la inervación (10). Por su parte, Yildirim y cols. reafirmaron la importancia del tejido pulpar como mediador del proceso de rizoclasia, al contener citoquinas responsables de la activación osteoclástica y odontoclástica (17).

El descubrimiento de Miura y cols. en el año 2003 de una población de células madre indiferenciadas aisladas del remanente de tejido pulpar de dientes exfoliados en ausencia de patología, supuso una revolución en el entendimiento del proceso de reabsorción fisiológica(8).

Los estudios más actuales se encuentran destinados a entender el papel que juegan dichas células madre en el proceso de rizólisis. Estudios como el publicado por Wang y cols. demuestran la influencia del receptor de acetilcolina nicotínico $\alpha 7$ ($\alpha 7$ nAChR) en la activación de la osteoclastogénesis. El $\alpha 7$ nAChR, es un receptor situado en la

membrana de las células madre presentes en el tejido pulpar que se activa con la estimulación mecánica, promoviendo la expresión del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B) y, en consecuencia, la activación osteoclástica implícita en el proceso de reabsorción (19).

Otros autores como Zhu y cols. afirman la influencia de las células madre del tejido pulpar de los dientes deciduos en la activación de la osteoclastogénesis, promoviendo la reabsorción de la raíz en la etapa media y suprimiéndola en la etapa final. Los receptores de membrana de dichas células madre promoverían la actividad osteoclástica a través de la regulación de la expresión RANKL-OPG (13).

Por su parte Wang y cols. han demostrado la estimulación de la osteoclastogénesis in vitro, a través de la activación de las células madre del tejido pulpar de dientes temporales con el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (18).

Otros estudios como el de Bernardi y cols. están destinados a investigar la influencia del proceso de resorción en el tejido pulpar remanente de los dientes exfoliados, intentando demostrar su validez como nicho celular. Bajo las condiciones del estudio el autor afirma la plausibilidad biológica de las células madres aisladas, pero insiste en la realización de estudios que acrediten su validez (15).

En resumen, existe una correlación entre el tejido pulpar y el proceso de reabsorción fisiológico. El tejido pulpar de los dientes temporales y las células madre presentes en él, tienen una gran responsabilidad en el origen del proceso de rizólisis (13,17,18). Sin embargo, el desarrollo del mismo afecta de manera notable a la composición celular e integridad estructural del complejo dentinopulpar (15,18).

3.4. REABSORCIÓN PATOLÓGICA

Es necesario entender que, además de los mecanismos de reabsorción fisiológica, existen otros factores que pueden influir en el proceso de exfoliación ralentizando la erupción del sucesor permanente (11,12).

La anquilosis del diente temporal, el trauma oclusal, factores endocrinos y metabólicos, infecciones, pulpitis o procesos periapicales, constituyen posibles agentes etiológicos ante una alteración eruptiva (12).

4. CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DENTAL DE DIENTES TEMPORALES

La existencia de células madre en el tejido pulpar de dientes temporales fue descrita por primera vez en el año 2003 por Miura y colaboradores (8). Desde entonces el número de artículos destinados a entender su plausibilidad biológica ha crecido exponencialmente.

4.1. DEFINICIÓN DE CÉLULA MADRE

Se reconoce como célula madre a cualquier organismo celular indiferenciado con capacidad de proliferación ilimitada.

También conocidas como células precursoras o estaminales, tienen la capacidad de diferenciarse en otros tipos celulares especializados que en su conjunto componen los diferentes tejidos del organismo (20).

Se trata de células inmaduras esencialmente caracterizadas por su capacidad de autorrenovación, basada en la proliferación ilimitada y su conservación como organismo celular indiferenciado, así como, su habilidad para generar uno o más tipos de células diferenciadas(21-24).

4.2. TIPOS DE CÉLULAS MADRE

En la actualidad, quedan establecidas dos clasificaciones para describir los diferentes tipos de células madre (20,25).

4.2.1. TIPOS DE CÉLULAS MADRE SEGÚN SU POTENCIALIDAD

Atendiendo al potencial o capacidad de diferenciación se pueden distinguir:

- **Células madre totipotentes**: Las células pertenecientes a este grupo tienen la capacidad de originar un nuevo embrión desarrollando un organismo completo en su totalidad. Pueden diferenciarse en cualquier tipo celular tanto a nivel embrionario (ectodermo, endodermo y mesodermo) como extraembrionario (placenta, saco vitelino, líquido amniótico...). Se encuentran en los estadios iniciales del desarrollo embriológico. El cigoto es la célula madre totipotencial por excelencia (25).

- Células madre pluripotentes: Las células que conforman este grupo pueden diferenciarse en cualquier célula o tejido embrionario bien sea de origen ectodérmico, mesodérmico o endodérmico. A diferencia de las anteriores, no pueden originar un individuo completo. El blastocito es la célula pluripotente por excelencia (25).
- Células madre multipotentes: Este grupo celular origina células pertenecientes a la capa embrionaria de la que provienen, ectodermo, mesodermo o endodermo. También son conocidas como células madre órgano-específicas, ya que, pueden generar un nuevo órgano en su totalidad. A este grupo celular pertenecen las células madre extraídas de la pulpa dental, así como, ligamento periodontal, papila apical, médula ósea o cordón umbilical. En la actualidad se estudia su inducción a la pluripotencialidad a través de mecanismos epigenéticos (22,26,27).
- Células madre unipotentes: También conocidas como células oligopotenciales, son las que presentan menor capacidad de potencialidad. Únicamente se diferencian en un linaje celular exclusivo. Un ejemplo de este tipo de células son los neumocitos tipo II del pulmón (20,25).

4.2.2. TIPOS DE CÉLULAS MADRE SEGÚN SU ORIGEN

Por otro lado, atendiendo al origen o procedencia de la célula podemos distinguir:

- Células madre embrionarias (CME): Son consideradas organismos celulares indiferenciados que, como su propio nombre indica, derivan del embrión. En las fases iniciales del desarrollo, hasta cuatro días posteriores a la fecundación, estas células son consideradas totipotenciales, esto quiere decir que son capaces de diferenciarse en cualquier estirpe celular del organismo, pudiendo llegar a generar un individuo en su totalidad. Transcurridos los primeros cuatro días tras la fecundación, las células madre embrionarias totipotenciales, comienzan a especializarse originando el blastocito. La masa celular interna del blastocito se encuentra constituida por células madre pluripotenciales, es decir, células que tienen

la capacidad de diferenciarse en cualquier estirpe celular, pero en ningún caso, pueden originar un embrión completo (25).

- Células madre adultas (CMA): Este tipo de células se encuentran en los tejidos adultos y en el cordón umbilical pudiendo ser multipotenciales o unipotenciales. Por lo general, son células multipotenciales, es decir, organismos celulares indiferenciados que pueden replicarse indefinidamente hasta originar tejidos pertenecientes a la capa embrionaria de la que provienen. En la actualidad el desarrollo de la epigenética tiene por constante objetivo su inducción a la pluripotencialidad (iPS). Para que una célula madre adulta pueda considerarse pluripotente debe ser capaz de diferenciarse en células especializadas procedentes de cualquier capa embrionaria; ectodermo, mesodermo o endodermo, así como, demostrar su funcionalidad in vitro e in vivo (20,22,24,25).

4.2.2.1. CÉLULAS MADRE ADULTAS (CMA) VS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS (CME)

El estudio y aprovechamiento biológico de las células madre embrionarias es un tema de gran controversia. La legislación vigente restringe el uso de células madre embrionarias como organismos celulares totipotenciales, a través de los cuáles, se podrían desarrollar procesos de clonación. Además, las células madre embrionarias pluripotenciales aisladas de la masa interna del blastocito, se suelen obtener de los embriones que se producen en exceso durante la fertilización in vitro. Este hecho es muy controvertido, ya que se destruye un embrión que podría implantarse y desarrollarse con éxito (23).

Por su parte, el origen de las células madre adultas las exime del sesgo legislativo que llevan implícitas las células madre embrionarias. Además, han demostrado tener la misma plasticidad que las CME y a diferencia de estas, no presentan tendencia a la proliferación excesiva ni generación de tumores. Así mismo, la utilización de CMA disminuye el riesgo de rechazo al presentar el mismo contenido genético del individuo a tratar. Por todos estos motivos, las células madre de mayor uso clínico son las CMA, lo que ha traído consigo un incremento exponencial en el número de estudios experimentales y ensayos clínicos

relacionados con las células madre adultas y su capacidad de maduración en otros tipos celulares (23,28).

4.2.3. CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

En el año 1967, Friedenstein y colaboradores descubrieron en la médula ósea una fuente potencial de aislamiento de células madre de origen mesenquimal (29). Este hecho supuso una revolución en el campo de la medicina regenerativa, ya que, el empleo de este tipo celular en el campo de la ingeniería tisular traería consigo una serie de ventajas que la convertirían en la opción terapéutica más interesante.

Las células madre mesenquimales (MSC) son células madre adultas, multipotentes que pueden aislarse de tejidos como la médula ósea, el músculo esquelético, el tejido adiposo, la pulpa dental o el tejido sinovial entre otros (25).

Las células madre mesenquimales constituyen una población única de células multipotenciales con alta capacidad proliferativa y de diferenciación en una multitud de linajes celulares específicos (25,29).

En la actualidad no existe un marcador específico de membrana que permita identificar las células madre mesenquimales, por lo que las poblaciones aisladas continúan siendo heterogéneas (25).

4.2.3.1. CARACTERÍSTICAS DEFINITORIAS DE LAS MSC

Aunque como ya se ha mencionado anteriormente, no existe una característica definitoria concreta o marcador de membrana específico para la identificación de células madre de origen mesenquimal, la Sociedad Internacional para la Terapia Celular (ISCT), ha establecido una serie de requisitos mínimos a tener en consideración para reconocer dicho tipo celular (30):

- Deben presentar adherencia plástica mantenidas en un medio de cultivo estándar.
- Deben expresar los marcadores específicos de membrana: CD73, CD90 y CD105 pero no deben expresar los marcadores: CD45, CD34, CD14, CD19, CD11b o CD79a.

- Deben diferenciarse en condroblastos, adipocitos y osteoblastos en condiciones *in vitro* estándar.
- Presentan un comportamiento similar a los fibroblastos en cultivo.

Su tendencia a proliferación ilimitada, su estado de indiferenciación y su capacidad para adaptarse fenotípicamente al entorno tisular, constituirían la base de la regeneración y el reemplazo celular (16).

Además, se ha demostrado su capacidad para modular el sistema inmune mediante la supresión de los linfocitos T y B, regulando la reacción antígenoanticuerpo y disminuyendo notablemente el riesgo de rechazo (31,32).

4.2.3.2. IMPORTANCIA DE LAS MSC

El proceso de regeneración tisular requiere, entre otros factores, de una alta disponibilidad de células progenitoras con capacidad de respuesta y adaptación a los mecanismos biológicos desencadenantes (25,29).

La presencia de MSC en los tejidos adultos, así como, su posibilidad de aislamiento e inducción a la diferenciación las convierte en una alternativa atractiva dentro del campo de la medicina bioregenerativa. Todas las características esenciales anteriormente nombradas, permiten una regeneración de alta calidad de los tejidos dañados sin formación de cicatriz fibrosa. Además, la terapia celular presenta una morbilidad mínima del sitio donante en comparación con los injertos autólogos, así como, bajo riesgo de rechazo autoinmune y transmisión de la enfermedad (25).

4.3. CÉLULAS MADRE EN LA CAVIDAD ORAL

Como ya se ha mencionado anteriormente, el poder terapéutico de las MSC ha supuesto una revolución en el campo de la ingeniería tisular. Hasta el momento, la mayoría de proyectos de investigación destinados a demostrar su plausibilidad biológica se ha basado en el aprovechamiento de las MSC extraídas de la médula ósea espinal (BMSCs), sin embargo la presencia de células madre adultas con características similares ha sido contrastada en otras localizaciones corporales(26,27,33).

Por su parte, la cavidad oral además de considerarse una zona de aplicación de dicha terapia celular constituye un nicho de células madre adultas multipotenciales de

origen mesenquimal con capacidad de inducción a la diferenciación, lo que la convierte en una potencial fuente de aislamiento y, en consecuencia, una alternativa atractiva dentro del campo de la medicina bioregenerativa (24-27).

La primera población de células madre aislada en la cavidad oral pertenecía al tejido pulpar de dientes permanentes, recibiendo el nombre de células madre postnatales de la pulpa dental humana (DPSCs). En el año 2000 Gronthos y cols. demostraron, por primera vez, la presencia de MSC en el entorno de la cavidad oral, presentando las DPSCs aisladas unas características inmunofenotípicas muy similares a las BMSCs (25,33).

Posteriormente, otras cinco poblaciones de MSCs han sido aisladas del tejido pulpar de dientes exfoliados (SHED) (8), ligamento periodontal (PDLSCs) (34), papila apical de dientes en desarrollo (SCAP) (35,36), folículo dental (37) y tejido gingival (38).

De todos los tipos celulares anteriormente mencionados, las células madre extraídas del tejido pulpar de dientes temporales exfoliados, constituirían la opción menos invasiva y de baja morbilidad (39).

4.4. CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DENTAL DE DIENTES TEMPORALES: SHED

En el año 2003, Miura y cols. evidenciaron la presencia de células madre en el tejido pulpar de dientes exfoliados. Las poblaciones celulares aisladas demostraron una alta capacidad clonogénica y proliferativa, así como, capacidad de diferenciación en células neurales, adipocitos y odontoblastos. Su trasplante in vivo en ratones probó con éxito su capacidad para inducir la formación de hueso y dentina. Además, las células trasplantadas permanecían en el cerebro de los ratones mediante la expresión de marcadores neurales (8,25,40).

Este descubrimiento supuso una revolución en el marco de la ingeniería tisular, pues los dientes temporales se convertían así en una fuente de aislamiento de células madre multipotenciales con características similares a las MSCs extraídas de la medula ósea espinal. Su localización permitía el aislamiento celular con una morbilidad muy baja en comparación con las anteriormente mencionadas BMSCs. Su expansión y

proliferación *in vitro* demostró generar colonias celulares abundantes para su posterior aplicación *in vivo*. Las SHED se convertían así en un recurso accesible y de baja morbilidad para las terapias con células madre y los injertos autólogos (41).

Posteriormente, han sido varios los autores que han demostrado la capacidad proliferativa y de inducción a la diferenciación celular odontoblástica, osteoblástica, neurogénica, angiogénica, cardíaca, hepática, pancreática y miogénica de las SHED (41-46).

4.4.1. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE LAS SHED

Morfológicamente las SHED presentan características similares a las células madre de la pulpa dental de dientes permanentes, papila apical o células precursoras del folículo dental, pero su tasa de proliferación es mucho mayor que la de las células madre mesenquimales de la médula ósea (BMMSCs) y las células madre de la pulpa dental de dientes permanentes (DPSCs) (25,47).

Las SHED expresan los marcadores de membrana Oct4, CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146 y CD166 pero no CD14, CD34 ni CD45 (25,48).

Se trata de una población de células madre mesenquimales, multipotenciales que han demostrado tener capacidad de diferenciación en linajes celulares específicos tales como células neurales, odontoblastos, osteoblastos, condrocitos, adipocitos y miocitos entre otros (25,41-46,48,49).

Tienen la capacidad de diferenciarse en células endoteliales y angiogénicas, así como generar un tejido dentinario ectópico similar a la dentina tubular, pudiendo llegar a generar un neo-complejo dentinopulpar *in vivo* bajo las condiciones de cultivo y tratamiento celular adecuadas (50,51). Además, constituyen una población celular con capacidad de osteoinducción y regeneración de tejido mineral y defectos óseos (8,39,52). El origen celular de la pulpa dental y su relación con la cresta neural podría considerarse el motivo por el cual las SHED tienen la capacidad de expresar marcadores de células neurales y gliales como la β III-tubulina, la descarboxilasa de glutamato o la proteína del núcleo neuronal también conocida como NeuN (Fig.Nº3) (8,16,34,42,53).

ORIGEN- Nicho celular	Marcadores de membrana		Capacidad de diferenciación	
	Expresión +	Expresión -	Tipo celular	Expresión de moléculas asociadas
Tejido pulpar de dientes temporales	STRO-1	CD45	Osteoblastos	CBFA1, ALP, MEPE
	CD146	CD34		Sialoproteína ósea
	CD105	CD31		Osteocalcina y osterix
	CD90	CD106	Odontoblastos	DSPP, DMP1, MEPE
	CD71	CD184		
	CD73	CD197		
	CD44	CD133	Condrocitos	SOX 9, Col 2, Col X
	CD29	CD63		
	CD10	CD49e	Adipocitos	PPAR- γ ₂
	CD166	CD18		Lipoproteína lipasa
	CD117	CD7	Células Neuronales	Nestina, Tubulina β III
	SSEA4	HLA-II/HLA-DR		Ácido glutámico descarboxilasa NeuN Proteína ácida fibrilar glial NFM 2,3-nucleótido cíclico-3-fosfodiesterasa

Figura N°3: Propiedades y características fenotípicas de las SHED.

Tabla modificada de: "Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth: A Growing Literature" de Martínez Saez y cols (54).

4.4.2. VENTAJAS DEL USO DE LAS SHED FRENTE A LAS BMSCS COMO CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Como ya se ha mencionado anteriormente, las SHED comparten características comunes con las MSCs extraídas de la médula ósea espinal, también conocidas como BMSCs. Entre ellas cabe destacar las propiedades fibroblásticas, la expresión de antígenos de membrana CD73, CD90 y CD105, la capacidad de proliferación celular, clonogenicidad y potencia de multidiferenciación en otros linajes celulares específicos tales como células musculares esqueléticas, marcadores neurogénicos, condroblastos o hepatocitos entre otros (40,42,46,55).

Autores, como Yamaza y cols., han demostrado que las SHED presentan características similares a las BMSCs en cuanto a la diferenciación odontogénica, osteogénica y adipogénica. Sin embargo, a nivel inmunológico las SHED inhiben los niveles de linfocitos T cooperadores Th17, promoviendo la aparición de células T reguladoras (Tregs), modulando así la respuesta inmune y disminuyendo el riesgo de rechazo o enfermedad autoinmune (40,56).

Otros autores, como Hara y cols., han demostrado la validez de ambos tipos celulares en el proceso de diferenciación odontogénica-osteogénica. Sin embargo, dicho proceso de regeneración se regula por diferentes mecanismos en cada uno de los tipos celulares. En términos de inmunofluorescencia, la expresión génica del marcador BMP-4 es mayor en las SHED que en las BMSCs, dicho gen juega un papel importante en la diferenciación odontoblástica y osteoblástica. Este hallazgo indicaría que las SHED presentarían mayor potencial que las BMMSCs en la formación de tejido mineralizado (39).

Estudios como el de Nakamura y cols. han revelado que las SHED presentan mayor capacidad de proliferación celular que las BMMSCs. Además, las SHED expresan los factores de crecimiento FGF, TGF- β , CTGF, NGF, y BMP.

En comparación con las BMMSCs y las DPSCs, el factor CTGF se expresa en mayor proporción en las SHED. El CTGF es una molécula de señalización matricial involucrada en la proliferación, síntesis matricial, angiogénesis, migración y diferenciación osteoblástica. La alta capacidad proliferativa, así como, la abundancia de matriz extracelular y factores de crecimiento suponen una gran ventaja en el campo de la ingeniería tisular y el aprovechamiento biológico de las células madre. Por este motivo, las SHED se convierten en una alternativa altamente atractiva en la aplicación clínica de la terapia celular y el tratamiento de enfermedades sistémicas (57).

Artículos actuales como el de Kunimatsu y cols. insisten en que las SHED presentan mayor capacidad de proliferación que las BMMSCs, lo que clínicamente, las convierte en una alternativa más atractiva en medicina regenerativa al acortarse el tiempo de trasplante celular(58).

A diferencia de otros tipos celulares, las SHED constituyen una población celular que puede obtenerse de dientes deciduos con un nivel muy bajo de morbilidad. Los dientes temporales constituyen una fuente fácilmente accesible de recolección mínimamente invasiva de MSCs altamente proliferativas, multipotentes y con capacidad inmunomodulatorias. Todas estas ventajas convierten a este tipo celular en una alternativa de elección frente a otros tipos celulares al presentar unas restricciones éticas prácticamente nulas (39,40).

4.4.3. APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS SHED

Desde su descubrimiento en el año 2003 por Miura y cols., el potencial terapéutico de las SHED ha sido un tema de gran controversia dentro del campo de la ingeniería tisular y la medicina regenerativa, incrementándose exponencialmente el número de artículos de investigación destinados a conocer sus múltiples aplicaciones terapéuticas (8).

4.4.3.1. REGENERACIÓN DEL COMPLEJO-DENTINOPULPAR

En el año 2008, Cordeiro y cols. demostraron el potencial *in vivo* de las SHED para generar un neo-complejo con características morfológicas similares a un complejo dentinopulpar normal. Aunque el potencial de diferenciación endotelial y angiogénico de las SHED queda probado, al igual que Sakai y cols., insisten en la necesidad de implementar una estructura tridimensional o andamiaje que favorezca la adherencia y proliferación celular dentro del propio diente. La composición y morfología estructural de dicha matriz, así como, la incorporación de factores de crecimiento pertinentes y una alta vascularización se requieren para asegurar el éxito del proceso. Ambos autores insisten en la necesidad de desarrollar proyectos de investigación que perfeccionen, abalen y aseguren el éxito del proceso (50,51).

Artículos posteriores han demostrado el potencial de regeneración *in vivo* a longitud de trabajo completa. Las SHED implantadas con una matriz de colágeno inyectable generaron un tejido dentinario y perivascular muy similar al del grupo control en morfología y densidad (59).

Su aplicación en el ámbito endodóntico para el tratamiento de lesiones periapicales en dientes permanentes con ápice inmaduro ha demostrado la regeneración nerviosa al originar un tejido en características muy similares al tejido pulpar convencional. Los dientes tratados recobraron la respuesta térmica y, en consecuencia, la inervación tisular. La aplicación de las SHED intraradicularmente provocó la resolución exitosa de la lesión periapical, al diferenciarse en odontoblastos y osteocitos a su llegada al ápice (60).

Artículos más actuales demuestran la capacidad *in vitro* e *in vivo* de las SHED para promover la angiogénesis y reducir la apoptosis generando nuevas estructuras vasculares. En el interior del canal radicular se genera un neo-tejido conectivo con características muy similares a la pulpa dental y un riesgo de rechazo inmunológico muy bajo (61).

4.4.3.2. REGENERACIÓN PERIODONTAL

Son varios los autores que han estudiado el potencial antiinflamatorio, de respuesta inmunológica y regeneración ósea de las SHED frente a las BMMSCs o PDLSCs para el tratamiento de la enfermedad periodontal (62-64).

En el año 2013 Fu y cols. demostraron que el potencial de regeneración ósea alveolar, formación de cemento y del ligamento periodontal era equivalente al de las PDLSCs *in vivo*. Las SHED trasplantadas demostraron regenerar defectos óseos de furca con un nivel de inmunogenicidad menor que el de las PDLSCs. A falta de estudios que dieran validez externa a los resultados obtenidos, las SHED ya se convertían en una alternativa altamente atractiva para el tratamiento de la enfermedad periodontal (62).

A posteriori, las propiedades inmunomodulatorias de las SHED han sido ampliamente estudiadas demostrando que su administración reduce el nivel de citoquinas proinflamatorias e incrementa el nivel de citoquinas antiinflamatorias permitiendo la osteogénesis y disminuyendo la osteoclastogénesis. Las SHED aplicadas *in vivo* inducen la polarización macrofagocitaria M2, disminuyen el nivel de inflamación, frenan el proceso de reabsorción alveolar y regeneran el hueso perdido (63).

Los estudios más actuales demuestran, a través del uso del micro-CT (μ CT), que el trasplante de SHED en la zona periodontalmente afecta, aumenta el nivel de regeneración ósea y disminuye la distancia entre la unión amelocementaria y la cresta ósea alveolar. A nivel histopatológico las SHED disminuyen las citoquinas proinflamatorias inhibiendo la generación de osteoclastos lo que promueve la regeneración ósea alveolar (64).

4.4.3.3. PATOLOGÍA ATM

El desarrollo de patología articular inflamatoria y degenerativa es cada vez más frecuente en el campo odontológico a nivel de la articulación temporomandibular. La mayoría de las estrategias terapéuticas están destinadas a paliar los síntomas de la enfermedad. En la actualidad son varios los autores que estudian el potencial de las SHED en el tratamiento de dicha enfermedad (65,66).

Estudios como el publicado por Luo y cols. recientemente, han demostrado la capacidad antiinflamatoria de las SHED, así como, su diferenciación y regeneración condrogénica. Lo que las abala como una alternativa terapéutica en auge teniendo en consideración su bajo riesgo de rechazo inmunológico (65).

Otros autores han demostrado su capacidad de regeneración in vivo sobre ratones con osteoartritis articular degenerativa. La infiltración de las SHED aisladas, así como, su mecanismo de activación molecular promueven la regeneración y reparación de los tejidos de la ATM tanto a nivel condrogénico como osteogénico (66).

4.4.3.4. REGENERACIÓN ÓSEA

Hasta el momento la capacidad de osteoinducción y regeneración ósea de las SHED ha sido la más avalada. Numerosos artículos han acreditado su potencial de diferenciación osteogénico tanto in vitro como in vivo(67-73).

Defectos óseos mandibulares han sido regenerados con éxito in vivo en varias especies animales. Las SHED se consolidan como un grupo celular con alta capacidad de inducción a la diferenciación mineral. Además, su alto grado de proliferación y bajo riesgo de rechazo inmunológico las convierte en una alternativa óptima para el tratamiento de lesiones óseas degenerativas(67,68).

La mayoría de estudios se encuentran destinados a entender los mecanismos específicos de diferenciación, así como, las moléculas implicadas y la composición y estructura de las matrices celulares que favorecen el trasplante, proliferación y capacidad de osteoinducción de las SHED. Autores como Alphy-Alphonsa y cols. han demostrado que la interleuquina- 17A promueve la diferenciación osteogénica al regular el sistema OPG/RANKL (69).

En el campo odontológico la regeneración ósea en enfermedades orofaciales congénitas como la fisura palatina o el labio leporino cobra especial relevancia. Por este motivo, son varios los autores que han estudiado su potencialidad tanto *in vitro* como *in vivo*, demostrando su validez. Las células trasplantadas expresan marcadores osteogénicos tales como el osterix, la osteocalcina o la osteopontina. Además, son capaces de regenerar defectos óseos palatales en ratones inmunodeprimidos transcurridas 8 semanas tras su injerto. Aunque se insiste en la necesidad de continuar investigando, las SHED se consolidan como una alternativa poco invasiva y de bajo riesgo inmunológico para el tratamiento de dichas enfermedades (70,71).

Otros procedimientos más habituales y frecuentes dentro del campo odontológico también han sido puestos a prueba, véase el caso de la regeneración ósea alveolar. Prahasanti y cols. han demostrado que el trasplante celular de las SHED junto con estructuras de andamiaje osteoinductivas de hidroxiapatita favorecen la regeneración alveolar *in vivo* a través de la regulación del sistema OPG/RANKL. Otros autores como Novais y cols. han demostrado que la incorporación del factor de crecimiento de fibroblastos FGF2 favorece el proceso de osteoinducción y diferenciación celular *in vivo* (72,73).

Las SHED constituyen una alternativa de baja morbilidad con respecto al injerto autólogo en el proceso de regeneración ósea. Su alto grado de proliferación y su bajo riesgo inmunológico las acredita como una opción terapéutica firme en procesos óseos degenerativos (67-73)

4.4.3.5. REGENERACIÓN NERVIOSA

La inducción a la diferenciación neurogénica y la aplicación de las SHED en procesos neurodegenerativos es uno de los temas de mayor controversia dentro del campo científico. La expresión de marcadores neurales y el bajo riesgo de rechazo inmunológico ha hecho que las SHED se conviertan en una alternativa de elección para el tratamiento de patologías neurológicas traumáticas o degenerativas altamente prevalentes, como es el caso del Parkinson o el Alzheimer (54,74-76).

El Parkinson es una enfermedad crónica degenerativa del sistema nervioso central que afecta al sistema motor. Hasta la actualidad, no existe ninguna terapia efectiva para dicha patología a excepción del tratamiento sintomático paliativo de la enfermedad. Son múltiples los autores que han intentado demostrar la efectividad de las SHED *in vivo* como alternativa terapéutica (54,75,76). La pérdida de neuronas dopaminérgicas nigroestriatales y el agotamiento de la dopamina estriatal se considera una de las causas de la enfermedad. Autores como Fujii y cols. han demostrado que los efectos paracrinos de las SHED contribuyen a la neuroprotección y restauración del tracto nigroestriatal frente a una neurodegeneración inducida en ratas. Los datos obtenidos sugieren que las SHED pueden ofrecer beneficios terapéuticos en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (75). Artículos más actuales como el de Chen y cols. han demostrado que la inyección intravenosa de SHED en ratas con neurodegeneración inducida, mejora la neuroinflamación, la recuperación del daño mitocondrial y mejora de los déficits motores (76).

Por su parte, el Alzheimer constituye una enfermedad neurodegenerativa prevalente caracterizada por la pérdida de la capacidad cognitiva y aparición de placas amiloides en el cerebro. Estudios *in vivo* como el de Mita y cols. han demostrado que la administración intranasal de SHED mejora sustancialmente el deterioro cognitivo, a través de la neuroregeneración, neuroprotección, alargamiento axonal, neurotransmisión, supresión de la inflamación y regulación microglial. Las SHED administradas atenuaron las respuestas proinflamatorias inducidas por las placas amiloides generando un ambiente antiinflamatorio y de regeneración de tejidos. A falta de estudios que continúen acreditando su viabilidad las SHED se consolidan como una alternativa potente para la terapia neurodegenerativa (74).

El accidente cerebrovascular es la tercera causa de muerte en todo el mundo y la causa más frecuente de discapacidad por isquemia cerebral. Autores como Inoue y cols. han demostrado que el trasplante de SHED en ratas con alteraciones isquémicas agudas promueven la neurogénesis y la vasculogénesis, además de la liberación del factor de crecimiento endotelial vascular y la migración y diferenciación de células progenitoras neuronales endógenas. Los hallazgos encontrados sugieren que la administración intranasal de SHED puede ayudar en

la recuperación de pacientes que han sufrido un accidente cerebrovascular agudo (77). Por su parte, la isquemia cerebral crónica se considera una enfermedad tanto neurológica como cerebrovascular caracterizada por el deterioro cognitivo y conductual progresivo causado por insuficiencia de perfusión sanguínea cerebral a largo plazo. Se encuentra relacionada con enfermedades como la arterioesclerosis cerebral, el infarto cerebral o la demencia entre otras. Autores como Zhu y cols. han demostrado que la administración de SHED en el hipocampo mejora el deterioro cognitivo en ratas con isquemia cerebral crónica inducida. El trasplante de SHED disminuyó la apoptosis de las células neuronales mediante la regulación a la baja de la caspasa-3 escindida, protegiendo la función neuronal. Sugieren que las SHED constituyen una fuente prometedora para el tratamiento de enfermedades neurológicas (78).

La lesión cerebral traumática es una de las principales causas de mortalidad y discapacidad en todas las edades en todo el mundo. Autores como Li y cols. han demostrado que los exosomas de las SHED generan un cambio en la polarización de la microglía ayudando a reducir la neuroinflamación generada por el trauma (79). Por su parte, las lesiones traumáticas de la médula ósea espinal conducen a déficits importantes o pérdida completa de la función sensorial y motora, así como, la interrupción de la función autonómica. Las lesiones generadas suelen ser crónicas e irreversibles y su tratamiento sigue siendo un tema de gran controversia dentro del campo de la investigación biomédica. Autores como Nicola y cols. han demostrado que el trasplante de SHED en la fase aguda tras la contusión medular promueve la recuperación funcional al actuar como un agente neuroprotector, a través de la señalización paracrina y mecanismos de plasticidad tisular (80).

La encefalomiелitis autoinmune, tal y como su propio nombre indica, es una enfermedad generada por una reacción autoinmune contra el sistema nervioso central con infiltrados de células inflamatorias que generan la desfragmentación de la mielina y la degeneración neuronal. Se asocia a procesos degenerativos como la esclerosis múltiple. Las lesiones originadas pueden encontrarse en la médula espinal, el nervio óptico, tronco encefálico o cerebelo. Cada una de estas localizaciones estará relacionada con un tipo de déficit neurológico diferente. Rossato y cols. han demostrado que el trasplante in vivo de SHED disminuye los

linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ que se infiltran en el SNC. Las SHED son capaces de suprimir la encefalomiелitis modulando periféricamente la regulación de las células inmunes. Este hallazgo cuestiona la viabilidad de las SHED como posible tratamiento en enfermedades autoinmunes del SNC (81). Otros autores como Shimojima y cols. han demostrado la eficiencia de las SHED en el tratamiento de la encefalomiелitis autoinmune. Una sola inyección de SHED genera una mejora sostenida de la enfermedad al promover la inmunomodulación, reducir la inflamación y promover un ambiente antiinflamatorio (82). Los resultados de estos estudios proporcionan una evidencia científica para el tratamiento de otras enfermedades autoinmunes del SNC como la esclerosis múltiple (81,82).

La regeneración nerviosa periférica también ha sido demostrada por varios autores. Sugimura-Wkayama y cols. han demostrado la reinervación del nervio ciático del músculo objetivo en ratones. Las SHED secretan factores tróficos que mejoran la regeneración nerviosa periférica a través de múltiples mecanismos

(83). Otros autores como Pereira y cols. han demostrado la regeneración del nervio facial en ratas (84).

4.4.3.6. DIABETES

La diabetes es una enfermedad altamente prevalente en el mundo entero. Su origen radica en las células β -pancreáticas disfuncionales y/o insuficientes lo que lleva a una pérdida de insulina y homeostasis de la glucosa a medida que la enfermedad avanza. Se trata de un problema de salud crónico difícil de manejar. Son varios los autores que han tratado de demostrar la efectividad de las SHED en el manejo de dicha enfermedad, tanto en diabetes tipo I insulín-dependiente, como en diabetes tipo II (85-87).

Autores como Kim y cols. han demostrado la conversión in vitro de las SHED en células similares a las células β -pancreáticas secretoras de insulina (85). Por su parte, Xu y cols. han demostrado que la terapia celular con SHED combinada con oxígeno hiperbárico es eficaz en el tratamiento de la diabetes tipo II in vivo. Las SHED promueven la proliferación y transdiferenciación de las células de los islotes β -pancreáticos y disminución de citoquinas proinflamatorias(86). Rao y

cols. también han demostrado la efectividad de las SHED, in vivo, en el tratamiento de la diabetes tipo II, su aplicación mejora la hiperglucemia, la resistencia a la insulina, el funcionamiento de los islotes β -pancreáticos y el daño hepático. Disminuye la síntesis de glucógeno, inhibe la glucólisis y aumenta la gluconeogénesis en el hígado (87).

La diabetes mellitus está asociada a una serie de complicaciones secundarias que afectan a la calidad de vida del paciente como enfermedades cardiovasculares, retinopatías, neuropatías diabéticas y nefropatías diabéticas. La nefropatía diabética es una de las principales causas de enfermedad renal crónica. Rao y cols. han demostrado in vivo, que las SHED previenen las lesiones renales derivadas de la diabetes mellitus, regulando la hiperglucemia, la hiperlipidemia, el aumento de la proteinuria y su acumulación en la matriz extracelular(88). Por su parte, la neuropatía diabética periférica se manifiesta con sensaciones periféricas anormales tales como parestesias, alodinia, hiperalgesia y dolor espontáneo, entre otras. Estudios como el de Xie y cols. han demostrado que el trasplante de SHED in vivo, puede prevenir la neuropatía diabética al participar en la regeneración de tejidos, aumentando el flujo sanguíneo y confiriendo protección neurotrófica (55).

Los mecanismos paracrinos de actuación de las SHED las convierten en una alternativa altamente atractiva para el tratamiento de la diabetes y las enfermedades derivadas de la misma. Aun así, se sigue alentando al desarrollo de estudios que acrediten su viabilidad (55,85-88).

4.4.3.7. REGENERACIÓN HEPÁTICA, RENAL, PULMONAR Y CARDIOVASCULAR

Artículos recientes como el de Takahashi y cols. han demostrado la eficiencia in vivo de las SHED para el tratamiento de la cirrosis y las enfermedades hepáticas degenerativas. Las SHED infiltradas se diferenciaron en células tipo hepatocitos convertidos que expresan genes específicos de hepatocitos y perfiles funcionales asociados con el almacenamiento de glucógeno, la producción de albúmina y urea y actividad del citocromo p450(89). La insuficiencia hepática aguda también ha sido tratada con éxito en ratones inmunodeprimidos por Matsushita y colaboradores. El trasplante de SHED regenera el daño hepático, atenúan la

muerte hepatocelular, aumentan la angiogénesis e inducen un entorno antiinflamatorio (90).

El tratamiento de la lesión renal isquémica a través del trasplante in vivo de SHED, ha sido demostrado con éxito por Hattori y colaboradores. La administración de SHED atenuó la lesión tisular ejerciendo una actividad antiinflamatoria y promoviendo la proliferación y migración de células epiteliales tubulares a través de mecanismos paracrinos de regeneración celular (91).

Wakayama y cols. han demostrado la eficiencia de las SHED en el tratamiento de enfermedades pulmonares degenerativas. El tratamiento experimental en ratas con lesión pulmonar inducida proporciona un ambiente antiinflamatorio y regenerativo (92).

La capacidad de las SHED en procesos regenerativos angiogénicos y perivasculares ha sido probada con éxito tanto in vitro como in vivo por Kim y colaboradores. Las células aisladas, cultivadas y trasplantadas son capaces de generar estructuras tubulares similares a los vasos sanguíneos. Aun así, se insiste en la necesidad de realizar estudios de investigación que acrediten su caracterización específica para poder desarrollar el proceso exitosamente (93). Su diferenciación en cardiomiocitos y su posible aprovechamiento biológico para el tratamiento de enfermedades cardíacas también han sido estudiados, demostrando su potencialidad, pero insistiendo en la necesidad de realizar artículos de investigación que acrediten su viabilidad frente a otros tipos celulares (44).

4.4.3.8. SÍNDROMES Y PACIENTES ESPECIALES

El Síndrome de Down es una alteración genética producida por la presencia de un cromosoma extra en el par 21, por este motivo, también es conocida como trisomía del par 21. Afecta al desarrollo cerebral y del organismo y es la principal causa de discapacidad. Incluye deterioro de las funciones cognitivas, memoria, lenguaje y autonomía del individuo.

La dopamina es un neurotransmisor encargado de regular la función cognitiva. Los pacientes con síndrome de Down experimentan un deterioro del sistema de

señalización y regulación de los niveles de dopamina en el cerebro y el líquido cefalorraquídeo. Artículos como el de Mai Pham y cols. se basan en el estudio de las SHED extraídas de dientes deciduos de pacientes afectados por Síndrome de Down para analizar las características distintivas en comparación con las extraídas de un grupo control sano. Las SHED aisladas de los pacientes sindrómicos muestran una disminución de la expresión de nestina y disminución del crecimiento y ramificación de neuritas en comparación con el grupo control. Además, se observó una expresión aberrante de las moléculas implicadas en la homeostasis dopaminérgica.

Se sugiere que el aislamiento, cultivo y estudio de las SHED constituye una alternativa para entender el funcionamiento y el origen de la enfermedad, intentando esclarecer métodos de actuación para paliar o mejorar el desarrollo cognitivo (94).

El síndrome de Leigh es una afección degenerativa heterogénea originada por mutaciones patológicas en regiones del ADN mitocondrial. Aunque los síntomas neurológicos son los más prominentes, muchos otros órganos pueden verse afectados. Autores como Han y cols. han investigado el estado de déficit osteogénico en pacientes con síndrome de Leigh a partir del análisis de las células madre extraídas del tejido pulpar de dientes deciduos(95).

La enfermedad de Wilson es un trastorno metabólico hereditario que surge de la mutación del gen ATP7B que codifica para la síntesis del polipéptido β de la ATPasa transportadora de cobre. El ATP7B es un gen crítico para el metabolismo hepático del cobre. En porcentaje menor al 5% de los casos dicha enfermedad puede generar un fallo hepático fulminante, siendo el trasplante hepático la única alternativa de tratamiento para la supervivencia del paciente. La mayoría de estos pacientes suelen morir rápidamente a no ser que se sometan a un trasplante hepático de manera prácticamente inmediata. Sin embargo, la terapia de trasplante es difícil de completar debido a la falta de donantes en el momento diagnóstico. Además, dicha terapia lleva complicaciones secundarias añadidas tales como el tratamiento con fármacos inmunosupresores de por vida y las complicaciones neurológicas. Se requieren estrategias alternativas para rescatar, retrasar, paliar y

prevenir la enfermedad. Autores como Fujiyoshi y cols. han probado la terapia celular in vivo para el tratamiento de la enfermedad. Los hallazgos encontrados sugieren que las SHED son una fuente eficaz para el tratamiento de la insuficiencia hepática fulminante en pacientes con enfermedad de Wilson, al restaurar la función deficiente del gen ATP7B y disminuir el estrés oxidativo inducido por el cobre (96).

El trastorno de espectro autista es un trastorno del neurodesarrollo muy heterogéneo caracterizado por interacciones sociales emparejadas, intereses restrictivos y comportamientos estereotipados repetitivos. Se sugiere que el origen etiopatogénico de la enfermedad podría estar relacionado con las disfunciones de la señalización dopaminérgica y mitocondrial. Son varios los autores que han estudiado las SHED en niños con espectro autista para intentar entender el mecanismo biológico que desencadena la enfermedad. Afirman que las SHED constituyen una alternativa celular accesible y de baja morbilidad que facilita el estudio de la enfermedad para plantear estrategias terapéuticas futuras (97,98).

Otros autores han empleado las SHED para entender el mecanismo biológico que desencadena el déficit de atención e hiperactividad (99).

4.4.3.9. OTRAS APLICACIONES

La regeneración dérmica y epidérmica ha sido demostrada con éxito in vivo por autores como Huang y colaboradores. Las SHED se consolidan como una alternativa eficaz para la curación de heridas y el trasplante de tejidos dérmicos y epidérmicos (100).

Otros autores como Yu-Yuang Dai y cols. han demostrado el potencial antiinflamatorio de las SHED en el tratamiento de la rinitis alérgica in vivo. Los hallazgos encontrados sugieren que las SHED tienen una excelente capacidad inmunomodulatoria, siendo potenciales agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades alérgicas (101).

La regeneración del epitelio corneal in vitro ha sido probada por autores como Chia-Ling Tsai y colaboradores. La incorporación de SHED en la reconstrucción corneal puede mejorar los resultados clínicos en el futuro (102). Otros estudios in

vivo como el de Xiao-Xia Li y cols., han demostrado que las SHED son una fuente prometedora para el tratamiento de enfermedades degenerativas de la retina, mejorando la visión y manteniendo la estructura de los sistemas operativos de los fotorreceptores (103).

5. ODONTOMETRÍA

5.1. DEFINICIÓN DE ODONTOMETRÍA

El concepto Odontometría radica su origen en el léxico griego. El elemento prefijal odonto- se utiliza en la formación de nombres y adjetivos con el significado de “diente”. Por otro lado, el término -metría constituye un elemento sufijal que significa “medida” o “medición”.

La Odontometría es la ciencia que se encarga del estudio de las variaciones del tamaño dentario (104).

Se debe considerar que cualquier proyecto de investigación destinado al estudio métrico del diente, bien sea a nivel externo o interno, constituye un estudio Odontométrico (104,105).

5.2. APLICACIONES DE LA ODONTOMETRÍA

A nivel antropológico, la variabilidad en el tamaño del diente se entiende como una consecuencia de la interacción entre varias variables biológicas como son: el sexo, la raza, la etnia o la ubicación geográfica.

La determinación de la forma y tamaño del diente permite comparar poblaciones actuales con civilizaciones anteriores. Las variaciones odontométricas se pueden correlacionar con diferentes costumbres, hábitos alimenticios y estilos de vida (105,106).

Atendiendo a las asociaciones antropológicas anteriormente mencionadas, en Odontología forense, la Odontometría se aplica como prueba antropométrica en la necroidentificación y datación de cadáveres(104).

A nivel terapéutico la Odontometría tiene varias aplicaciones dentro del campo odontológico. En relación con la terapéutica endodóntica, es común su asociación a la conductometría. En Ortodoncia, la Odontometría se considera un predictor de maloclusión. La medida mesiodistal de cada uno de los dientes en relación con el perímetro del arco dentario, sirve como pronóstico y planificador del tratamiento ortodóncico (105).

5.3. IMPORTANCIA DE LA ODONTOMETRÍA

El estudio de la morfología dental resulta imprescindible para conocer y entender la distribución de las estructuras dentales tanto a nivel externo como interno (104,105,107).

La Odontometría juega un papel importante en estudios de investigación tanto a nivel odontológico como antropológico y genético (104,105,107,108). Determinar parámetros de normalidad anatómicos, así como, las variaciones histológicas y morfométricas de los órganos dentales constituye un precepto básico en el desarrollo de dichas disciplinas.

La mayoría de los estudios de investigación odontométrica se basan en la realización de mediciones bidimensionales del perímetro dental. Sin embargo, en la actualidad, la medida volumétrica de la capacidad estructural del diente es considerada por muchos autores como la más relevante (106,109-112).

5.4. ODONTOMETRÍA EN DENTICIÓN TEMPORAL

El estudio anatómico de la dentición temporal se considera escaso con respecto a la dentición permanente. Las primeras referencias bibliográficas datan del 1897, año en el que Black estableció por primera vez las medidas de los órganos dentales temporales y su descripción anatómica (2).

Posteriormente, en el 1959, Kramer, analizó las dimensiones corono radiculares de los dientes temporales (113).

Otros estudios basados en variables geográficas y raciales, dimorfismo sexual, e importancia clínica del tamaño coronal de molares temporales han sido publicados a

posteriori (105,108,114). Sin embargo, poco se conoce sobre la topografía pulpar de los dientes temporales.

5.4.1. EVOLUCIÓN DE LA ODONTOMETRÍA PULPAR EN LA DENTICIÓN TEMPORAL

Hasta el año 1925, el estudio anatómico de la morfometría pulpar de la dentición decidua era completamente ignorado. Fue en ese mismo año cuando Zurcher, como apéndice al trabajo de Hess, incluyó una descripción detallada de la estructura interna de la dentición temporal (115).

En el año 1957, Hibbard realizó el primer estudio de la morfometría pulpar en primeros molares temporales. Para ello, realizó una disgregación y disolución enzimática del tejido pulpar e infiltró resina epoxi en la cavidad molar resultante. Se llegó a la conclusión de que existe una gran variabilidad en la morfología endodóntica de los molares primarios (116).

Posteriormente, Barker en el año 1975 estudio el sistema de conductos radiculares de los dientes temporales mediante la técnica de inyección de resina epoxi, observando una diferencia importante entre la simplicidad de la morfometría endodóntica incisiva con respecto a la molar (117).

El primer estudio radiográfico fue publicado en el año 1983 por Puddhikarant (118). Se realizó un estudio in vitro destinado a determinar la relación del borde oclusal con el techo de la cámara pulpar en molares temporales. Como conclusiones, el autor extrae parámetros de interpretación radiológica a tener en consideración en la actualidad, tales como, la superposición de cuernos pulpares o el tamaño predominante de la sección bucal del ancho de la cámara pulpar frente al ancho lingual o palatino.

Sin embargo, hasta el año 2005 no se publicó el primer estudio radiográfico tridimensional de la estructura pulpar en dentición temporal. Zoremchhingi y cols. estudiaron la morfología del complejo radicular en molares temporales a través de tomografía computarizada (119).

Posteriormente, en el año 2006, Amano y cols. emplearon por primera vez el μ CT en dentición temporal (106). Se estudió la relación del contorno coronal con el techo de la cámara pulpar en segundos molares temporales maxilares.

Cabe destacar el artículo publicado en el año 2010 por Arpana y cols. en el cual, se estudian las dimensiones de la cámara pulpar en segundos molares temporales (106). Se trata de un proyecto basado en el uso de la radiovisiografía, que establece tablas de contingencia media y puntos de referencia para la medición de la cámara pulpar de molares temporales.

Los artículos más actuales se basan en la reconstrucción tridimensional del complejo dentinopulpar y tienen una finalidad eminentemente terapéutica.

Suelen encontrarse dirigidos a grupos poblacionales específicos (110,111,120,121).

5.5. TÉCNICAS ODONTOMÉTRICAS

La práctica simple de la Odontometría no requiere tecnología altamente sofisticada. A lo largo de la historia son varios los métodos que han sido empleados con este fin (116-118,122,123):

- Seccionamiento en serie de dientes extraídos
- Microscopia electrónica de barrido
- Moldes de la cavidad pulpar con metal o resina
- Modelos de dientes transparentes
- Radiografías dentales

Se han empleado, sin mucho éxito, técnicas como la realización de modelos transparentes o la reconstrucción volumétrica, a través de, cortes transversales seriados observados al microscopio electrónico. Se trata de técnicas invasivas que causan la destrucción y pérdida parcial de la estructura dental durante su ejecución, pudiendo generar resultados con alta variabilidad (106,111,118).

Todos estos métodos presentan trabas, ya que, la mayoría de ellos, no permiten estudiar la estructura externa e interna del diente de manera simultánea (106,111). La evolución de las pruebas radiológicas ha solventado este inconveniente, adquiriendo mayor relevancia en la actualidad.

5.6. PRUEBAS RADIOLÓGICAS EN ODONTOMETRÍA

Cualquier medición sobre la estructura dental externa puede realizarse fácilmente con reglas o calibres. Sin embargo, la toma y recogida de mediciones sobre la estructura dental interna, resulta mucho más compleja.

Las pruebas radiográficas nos permiten obtener una información aproximada sobre el interior del diente sin causar aberraciones morfológicas o estructurales irreversibles.

Constituyen la única técnica in vivo para el estudio morfológico de la cámara pulpar (107,118,124).

5.6.1. EVOLUCIÓN DE LAS PRUEBAS RADIOLÓGICAS EN ODONTOMETRÍA

Convencionalmente, el interior dental ha sido estudiado a través de series radiográficas. Las técnicas radiográficas de contraste han sido empleadas sin mucho éxito (107,118,124,125).

Las radiografías periapicales ofrecen una visión lateral bidimensional del diente a examinar. La superposición de estructuras dificulta su interpretación.

Las medidas recogidas sobre dichas radiografías son limitadas. La omisión del plano axial ofrece una reconstrucción aproximada de la cámara pulpar, pudiendo llegar a establecerse áreas perimetrales y parámetros longitudinales medios, pero en ningún caso, dimensiones volumétricas (106,111,125,126).

El desarrollo de pruebas radiológicas tridimensionales, como el CBCT o el μ CT, ha impulsado un campo de investigación odontométrica basado en el estudio volumétrico del diente, la morfometría endodóntica y la capacidad de la cámara pulpar (106,110,111,119).

5.6.2. PRUEBAS RADIOGRÁFICAS TRIDIMENSIONALES: μ CT vs CBCT

Desde la implementación del μ CT han sido varios los autores que han recurrido a su uso para la reconstrucción tridimensional de la morfometría endodóntica en dentición temporal (106,110,111,119).

La técnica tomográfica del μ CT ha ganado popularidad porque proporciona precisión, alta resolución y puede aplicarse para mediciones anatómicas detalladas, cuantitativas y cualitativas, del conducto radicular y la cámara pulpar(111,127).

Sin embargo, la técnica ideal para el estudio del complejo pulpar debe ser simple, precisa, no destructiva, pero también y lo más importante, factible y reproducible en un escenario vivo (127).

El μ CT emplea los rayos X para crear secciones transversales de un objeto físico ex vivo. Por lo que, a pesar de todas las ventajas anteriormente mencionadas, no se puede considerar como la prueba radiológica más idónea para el estudio de la topografía pulpar, al no ser una prueba reproducible in vivo. Además, presenta un alto coste.

La tomografía computarizada (CT) se ha sugerido como la modalidad de imagen preferencial en situaciones complejas que requieren una reconstrucción tridimensional del sistema dentinopulpar y los conductos radiculares nerviosos (127,128).

No obstante, la tomografía computarizada de haz cónico o digital (CBCT) permite el escaneo y reconstrucción tridimensional de cualquier estructura del complejo maxilofacial con un nivel de radiación considerablemente más bajo (128).

La disminución de radiación del CBCT con respecto al CT no justifica su uso indiscriminado como prueba diagnóstica, sobre todo, en el paciente infantil. Aun así, se podría considerar la prueba complementaria más idónea en casos de interpretación compleja y pronóstico incierto.

Por tanto, el CBCT, puede considerarse como la prueba radiológica tridimensional ideal, para el estudio odontométrico del complejo dentinopulpar (128,129).

La reconstrucción volumétrica planteada con el uso del CBCT permite esclarecer los límites entre la cámara pulpar y la estructura dental circundante de manera precisa, simple y sin generar aberraciones estructurales. Además, es factible y

reproducibles in vivo, por lo que, los resultados obtenidos se pueden extrapolar a la situación clínica real.

5.6.3. PROGRAMA DE RECONSTRUCCIÓN TRIDIMENSIONAL VOLUMÉTRICA

La reconstrucción tridimensional de estructuras anatómicas a partir de imágenes tomográficas se ha convertido en una herramienta importante para el diagnóstico y la planificación terapéutica (112,130).

En la actualidad, existe una gran variabilidad de sistemas de navegación guiada por imágenes: OsiriX, InVesalius, OnisViewer, 3D Doctor, Slicer 3D, itK o Arc 3D, entre otros.

Los métodos de superposición tridimensional pueden estar basados en (130):

- Software en puntos de referencia: Dependen de la identificación de puntos de referencia. A mayor número de puntos de referencia identificados, mayor precisión volumétrica presentará la reconstrucción tridimensional.
- Software en superficie: Se basan en la superposición de superficies de CBCTs. Requieren la segmentación de las superficies sobre las tomografías.
- Software en vóxel¹: Se basan en la superposición de vóxeles. Se requiere la segmentación de las superficies tomográficas en base al valor que presenta cada vóxel. Los datos volumétricos originales se superponen a través de un enfoque de mayor ajuste.

Aunque la mayoría de estudios demuestran que no existen diferencias estadísticamente significativas de unos sistemas a otros, es importante tener en cuenta que el rendimiento del software no solo está relacionado con el algoritmo utilizado, sino principalmente, con el manejo del operador (131).

Las secuencias de comandos permiten generar biomodelos tridimensionales a partir de imágenes de CBCT transferidas en formato DICOM.

La escala de grises que presentan las imágenes tomográficas obtenidas por CBCT, no se encuentra estandarizada, es decir, no se corresponde con la escala de unidades de Hounsfield, escala cuantitativa universal utilizada para describir los diferentes niveles de radiodensidad en función del valor de gris (130).

Para una adecuada reconstrucción volumétrica, resulta imprescindible ajustar los valores de las imágenes tomográficas a la escala de Hounsfield. El operador deberá establecer el umbral, en unidades de Hounsfield, para el tejido a estudiar, en relación con la densidad que esté presente.

El posicionamiento, los parámetros establecidos y el dispositivo utilizado también influirán en la tomografía, su relación con la escala Hounsfield y la reconstrucción tridimensional del software (112,130,131).

A pesar de los inconvenientes anteriormente mencionados, los modelos tridimensionales obtenidos gracias al continuo desarrollo de la tecnología CBCT y el uso de dichos software, permiten comprender mejor la morfometría endodóntica, el tamaño de la cámara pulpar y su relación con los tejidos circundantes (112).

1

(unidad cúbica que compone un objeto tridimensional. Unidad mínima procesable de una matriz tridimensional. Equivalente del píxel).

II. JUSTIFICACIÓN

El aprovechamiento biológico del tejido pulpar de los dientes naturalmente exfoliados es un tema de gran controversia en la actualidad.

Las SHED han demostrado tener alta capacidad clonogénica y proliferativa, así como, idoneidad en el proceso de inducción a la diferenciación en una multitud de tipos celulares. Sin embargo, la literatura no esclarece el tipo muestral más conveniente para asegurar el éxito del proceso.

Con la realización del presente proyecto se podría determinar si todos los dientes temporales naturalmente exfoliados o extraídos en un momento próximo a la exfoliación, por presentar alguna alteración eruptiva el sucesor permanente, son susceptibles de presentar una cantidad de tejido pulpar suficiente como para llevar a cabo su posterior procesamiento y aprovechamiento biológico.

Conocer la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de los distintos tipos dentales facilitaría conocer cuál de ellos es susceptible de presentar una mayor cantidad de tejido pulpar. El establecimiento de tablas de contingencia volumétrica permitiría el proceso de selección y recolección muestral.

Aunque presumiblemente, los molares temporales presentarían una mayor capacidad volumétrica que los incisivos y caninos temporales, la influencia que puede llegar a tener el proceso de reabsorción fisiológica sobre los distintos tipos dentales estudiados puede alterarla de forma significativa.

Establecer la diferencia volumétrica de unos tipos dentales con respecto a otros, así como, entre las muestras dentales pertenecientes a un mismo grupo, permitiría entender la influencia del proceso de reabsorción radicular sobre el tamaño de la cámara pulpar.

Teniendo en consideración el impacto biomédico que puede llegar a tener el aprovechamiento biológico de las células madre aisladas del tejido pulpar de dientes temporales, conocer la variación volumétrica que experimenta la cámara pulpar de los distintos tipos dentales con el avance de la reabsorción radicular fisiológica, podría determinar si, en algunos casos, estaría justificada la realización de una extracción prematura

teniendo en consideración que las consecuencias derivadas de esta praxis tienen una repercusión sistémica mucho menos invasiva que la extracción de un diente definitivo

JUSTIFICACIÓN

o la realización de una punción medular en pacientes inmunodeprimidos que experimentan procesos degenerativos irreversibles.

Además, la aplicación del CBCT in vitro nos permitirá validar su fiabilidad como prueba complementaria para el estudio anatómico del complejo dentinopulpar. Con la comparación de las distintas medidas recogidas podremos esclarecer su exactitud con respecto a la radiografía periapical convencional.

La utilización del software de reconstrucción tridimensional Slicer 4.10.2[®] permitirá valorar su manejabilidad para ser empleado como prueba diagnóstica complementaria en casos complejos de difícil resolución y pronóstico incierto.

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS

A nivel estadístico se plantea la siguiente hipótesis nula:

H₀= No existirán diferencias estadísticamente significativas en la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de molares, caninos e incisivos temporales sanos naturalmente exfoliados o extraídos en un momento próximo a la exfoliación por alteración eruptiva del sucesor permanente.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de molares, caninos e incisivos temporales sanos, exfoliados naturalmente o extraídos en un momento próximo a la exfoliación.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el tipo dental óptimo para el aislamiento de células madre en relación con la capacidad volumétrica pulpar.
- Establecer tablas de contingencia volumétrica que faciliten el proceso de recolección muestral.
- Analizar la proporción volumétrica entre la cámara pulpar y el volumen dental total para cada tipo dental.
- Comprobar la validez del CBCT como prueba radiológica complementaria para el estudio del complejo dentinopulpar.

IV. MATERIALES Y MÉTODO

Nos encontramos ante un estudio in vitro realizado sobre dientes temporales de corte transversal.

1. SELECCIÓN MUESTRAL

Para la realización del proyecto se procedió a la recolección de dientes temporales exfoliados fisiológicamente o extraídos por presentar algún tipo de alteración eruptiva del sucesor permanente.

Para llevar a cabo dicha recolección se establecieron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Dientes temporales exfoliados
- Dientes temporales extraídos por alteraciones eruptivas del sucesor permanente
- Dientes sanos en ausencia de cualquier tipo de alteración patológica

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Dientes cariados
- Dientes restaurados u obturados
- Dientes con afectación o tratamiento pulpar previo
- Dientes que han experimentado algún trauma con anterioridad
- Dientes que hayan experimentado un sobrecrecimiento de tejido blando alrededor y/o en el interior del diente por movilidad y estando cercana su exfoliación
- Dientes con alteraciones estructurales a causa de una extracción invasiva

2. RECUENTO MUESTRAL

Una vez finalizado el proceso de recolección muestral se obtuvieron un total de 60 dientes temporales. Tras la aplicación de los consiguientes criterios, la muestra total se redujo a 50 dientes temporales.

Se registraron de 10 pérdidas: 5 dientes fueron excluidos por patología infecciosa, 4 dientes por sobrecrecimiento de tejido blando y 1 de ellos por alteraciones estructurales debidas al proceso de extracción (Fig.Nº4).

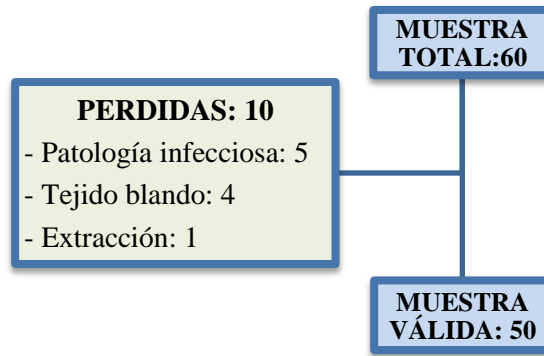


Figura N°4: Síntesis del recuento muestral.

3. DISTRIBUCIÓN MUESTRAL

En el diseño del proyecto quedaron establecidos 3 grupos muestrales comparativos formados por: 9 Incisivos, 18 Caninos y 23 Molares temporales (Fig.N°5).

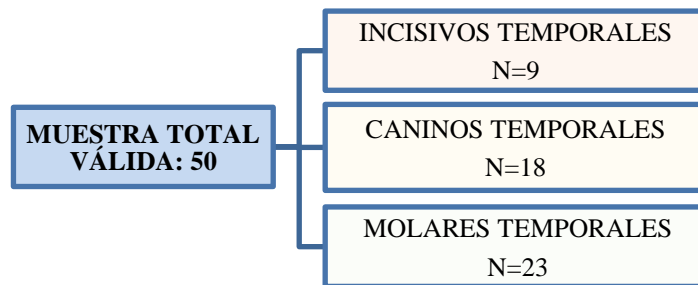


Figura N°5: Distribución grupal de la muestra.

Cada uno de los dientes temporales recogidos se asignó a un grupo en función de sus características anatómicas, realizándose una asignación numérica aleatoria simple, en función del orden de llegada (Fig.N°6).

MUESTRA TOTAL VÁLIDA 50 Dientes Temporales		
Incisivos Temporales:9 $X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9$	Caninos Temporales:18 $X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9$ $X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14} X_{15} X_{16}$ $X_{17} X_{18}$	Molares Temporales:23 $X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7$ $X_8 X_9$ $X_{10} X_{11} X_{12} X_{13} X_{14} X_{15}$ X_{16} $X_{17} X_{18} X_{19} X_{20} X_{21} X_{22}$ X_{23}

Figura N°6: Distribución muestral y asignación numérica simple en función del orden de llegada.

4. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

4.1 RECEPCIÓN Y ALMACENAMIENTO MUESTRAL

De manera inmediata a su exfoliación y/o extracción, cada diente fue sumergido en clorhexidina al 0,12%. La clorhexidina tiene dos funciones fundamentales. Por un lado, actúa como agente antiséptico y al mismo tiempo, propicia la disgregación enzimática de los restos de tejido adheridos al diente (Fig.Nº7).

Trascurridas las primeras 48 h se realizó un lavado de la muestra y la renovación de clorhexidina.

Los dientes fueron almacenados en botes de recogida de muestras a temperatura ambiental. Permanecieron, de manera constante, sumergidos en clorhexidina. La clorhexidina cubrió la totalidad del diente hasta un tercio por encima de su límite estructural (Fig. Nº7). En cada uno de los botes se especificó la siguiente información: Diente extraído o exfoliado, Grupo dental, Sexo y Edad del individuo (Fig.Nº8).



Figura Nº7: Recepción de la muestra y almacenamiento en clorhexidina

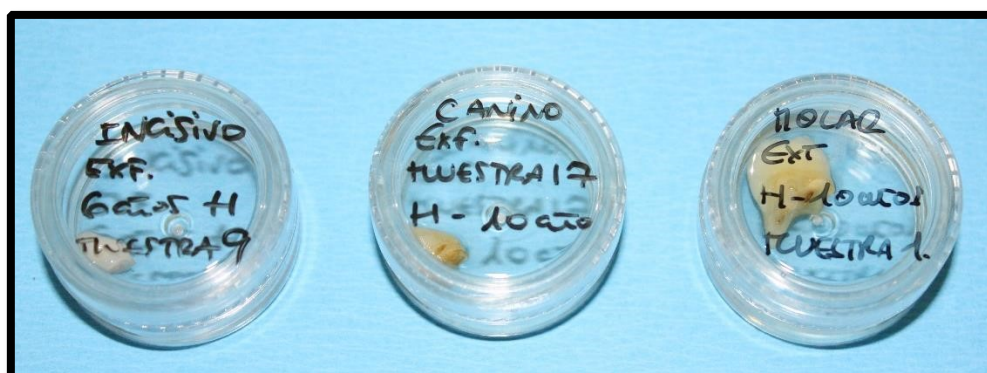


Figura Nº8: Codificación de cada una de las muestras en relación con el tipo dental. Se especifica origen extraído o exfoliado, edad y sexo del individuo.

4.2 MEDICIÓN SOBRE LA ESTRUCTURA DENTAL

Una vez que el diente estuvo completamente limpio en ausencia de cualquier tipo de tejido residual, se procedió a la toma de medidas de la estructura dental externa con un calibre de pie de rey digital marca Stainless (Fig.Nº9).

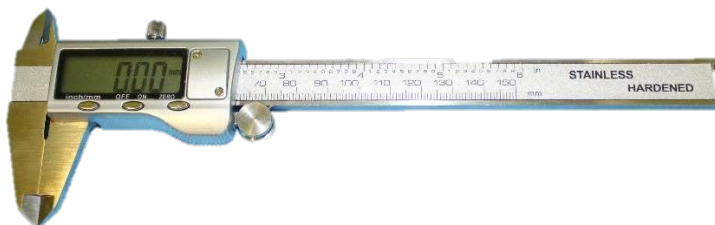


Figura Nº9: Calibre de pie de rey digital marca Stainless utilizado para realizar las mediciones dentales.

Basándonos en los estudios anatómicos de Black realizados sobre dientes temporales (1,2), procedimos a recoger las siguientes medidas:

GRUPO INCISIVO

- Distancia Oclusogingival OG: Desde el centro del borde incisal del diente hasta el límite amelocementario (LAC) (FigNº10).
- Distancia Mesiodistal MD: Desde el punto de máximo contorno del margen mesial del diente hasta el punto de máximo contorno del margen distal (FigNº11).
- Distancia Vestibulolingual VL: Desde el punto de máximo contorno de la cara vestibular del diente al punto de máximo contorno de la cara lingual o palatina del diente. Suele encontrarse hacia el tercio gingival del diente, siendo coincidente con la zona del cingulo (Fig Nº12).

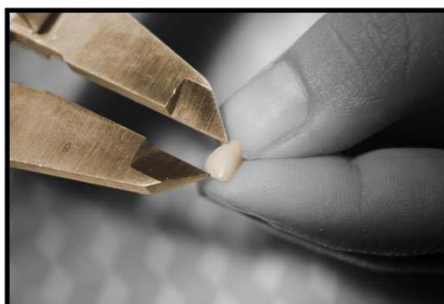


Figura Nº10: Medida distancia OG en incisivo temporal con calibre Stainless.



Figura N°11: Medida distancia MD en incisivo temporal con calibre Stainless.



Figura N°12: Medida distancia VL en incisivo temporal con calibre Stainless.

GRUPO MOLAR

- Distancia Oclusogingival OG: Desde la cúspide vestibular del diente hasta el límite amelocementario (LAC) (Fig.N°13).
- Distancia Mesiodistal MD: Desde el punto de máximo contorno del margen mesial hasta el punto de máximo contorno del margen distal del diente (Fig. N°14).
- Distancia Vestibulolingual VL: Desde el punto de máximo contorno de la cara vestibular al punto de máximo contorno de la cara lingual o palatina del diente (Fig. N°15).

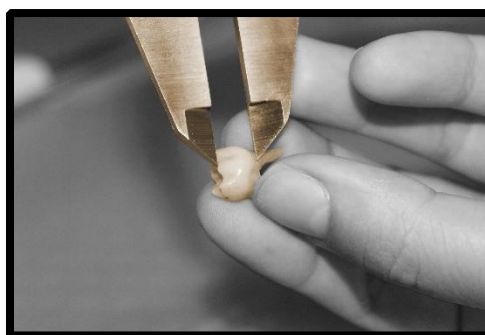


Figura N°13: Medida distancia OG en molar temporal con calibre Stainless.



Figura N°14: Medida distancia MD en molar temporal con calibre Stainless.

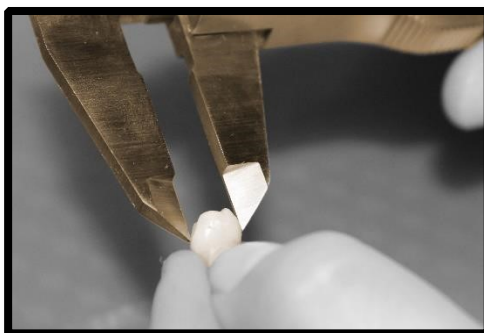


Figura N°15: Medida distancia VL en molar temporal con calibre Stainless

GRUPO CANINO

- Distancia Oclusogingival OG: Desde la punta de la cúspide del diente hasta el límite amelocementario (LAC) (Fig.N°16).
- Distancia Mesiodistal MD: Desde el punto de máximo contorno del margen mesial al punto de máximo contorno del margen distal del diente (Fig.N°17).
- Distancia Vestibulolingual VL: Desde el punto de máximo contorno de la cara vestibular al punto de máximo contorno de la cara lingual o palatina del diente. Suele encontrarse hacia el tercio gingival siendo coincidente con la zona del cingulo (Fig.N°18).

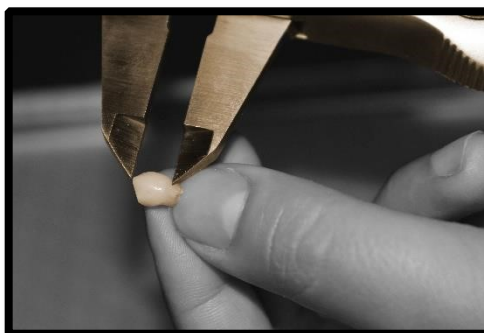


Figura N°16: Medida distancia OG en canino temporal con calibre Stainless.

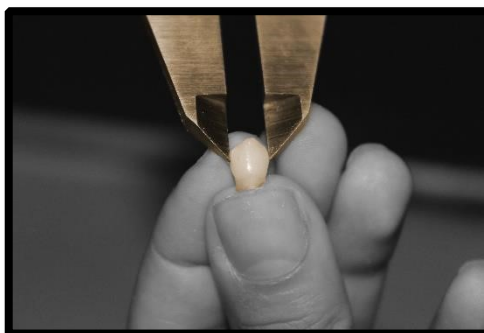


Figura N°17: Medida distancia MD en canino temporal con calibre Stainless.

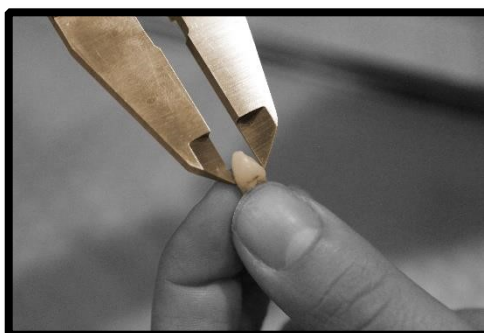


Figura N°18: Medida distancia VL en canino temporal con calibre Stainless.

4.3 RADIOGRAFÍA PERIAPICAL

Una vez realizadas las pertinentes mediciones sobre la estructura dental se procedió a la toma de una radiografía periapical de la muestra.

El diente se colocó en una posición natural sobre el captador radiográfico Kodak RVG 6100. El cabezal del aparato de rayos Kodak 2200 Intraoral Xray System fué colocado, en sentido vestibulolingual, a una distancia focal de 15 cm, aproximadamente. En el panel de control se ajustaron el kilovoltaje (Kv) y el miliamperaje (mA) con valores de 61 y 4.0, respectivamente (Fig. N°19).

Dicha radiografía fué procesada a través del programa Kodak Dental Imaging Software versión 6.12.32.0, pudiendo observarla en formato DICOM, de manera directa, a través del ordenador (Fig. N°20).

Cada radiografía fué codificada y guardada en el sistema con la referencia al grupo dental al que pertenecía la muestra y el número que le correspondía según el orden de llegada (Ej.: *GRUPO INCISIVO – Muestra 1*).



Figura N°19: Colocación de molar temporal exfoliado sobre captador Kodak RVG 6100 para toma de radiografía periapical de la muestra.

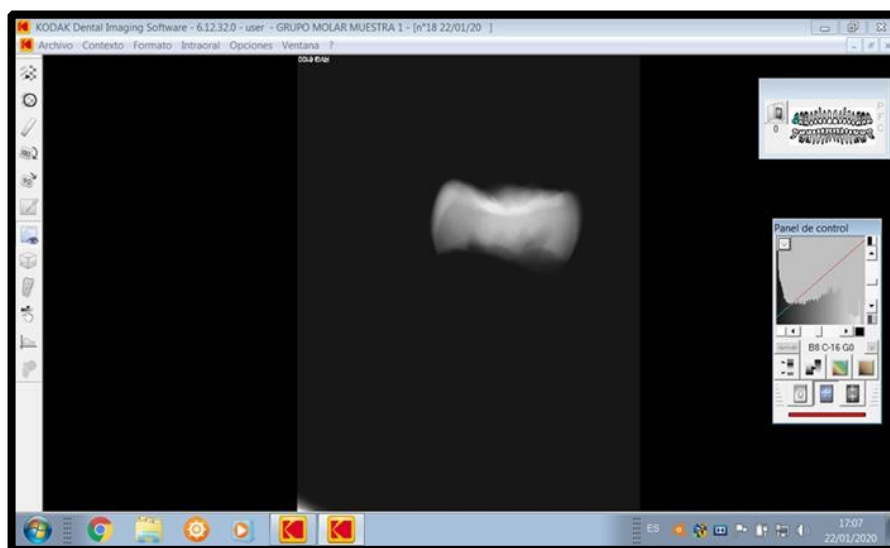


Figura N°20: Kodak Dental Imaging Software versión 6.12.32.0. Radiografía periapical de molar temporal exfoliado. GRUPO MOLAR-Muestra 1.

A través de la función “medidas” del Software Kodak Dental Imaging versión 6.12.32.0, procedimos a realizar las pertinentes mediciones sobre la radiografía periapical:

4.3.1 MEDICIONES DENTALES (Fig.N°21)

- Distancia desde la superficie oclusal al límite coronal inferior
- Distancia mesiodistal desde los puntos de máximo contorno

4.3.2 MEDICIONES PULPARES: ATENDIENDO A LA METODOLOGÍA ESTABLECIDA POR ARPANA Y COLS. (124) (Fig.N°22)

- Anchura de la cámara pulpar en Cervix

- Altura del cuerno mesial al suelo pulpar
- Altura del cuerno distal al suelo pulpar

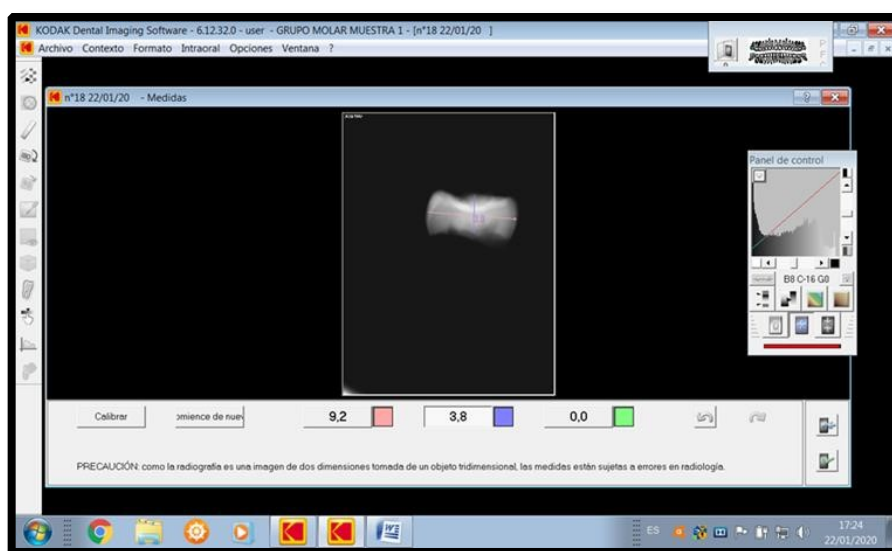


Figura N°21: Medidas dentales recogidas con la función “Medidas” del software Kodak Dental Imaging versión 6.12.32.0.

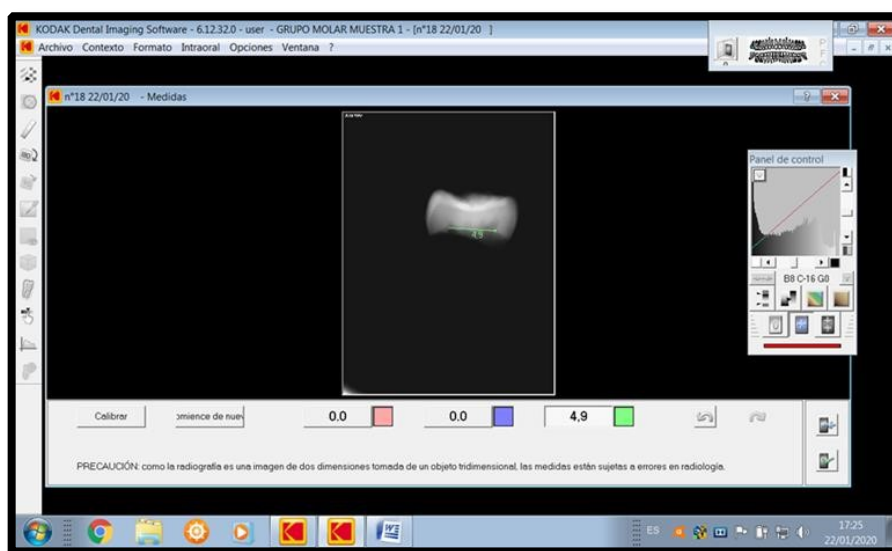


Figura N°22: Medida del ancho de la cámara pulpar en radiografía periapical según metodología de Arpana y cols. (124).

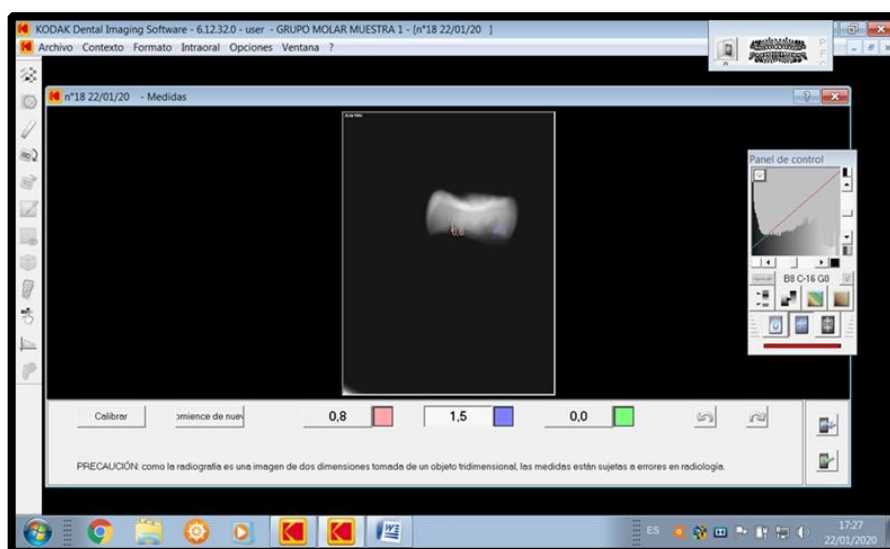


Figura N°23: Medida distancia cuernos pulpaes a límite coronal inferior según metodología de Arpana y cols. (124).

4.4. CBCT

Tras realizar la toma de medidas de manera directa sobre la estructura dental, así como, sobre la radiografía periapical, se procedió a la realización del CBCT del diente temporal.

Para su ejecución se usó el Ortopantomógrafo Kodak 9000 Extraoral Imaging System. La imagen radiográfica fue procesada con el mismo programa Carestream models 3D imaging versión 3.8.7. La base de datos es conjunta a la del programa empleado para la toma de la radiografía periapical, por lo que, no resultó necesario volver a codificar y guardar la muestra.

El diente se colocó en el soporte del ortopantomógrafo encajado en una base de cera de encofrar rectangular de 1,7 cm de ancho, 2,7 cm de largo y 0,7 cm de alto. Dicha cera sirvió de sujeción y, al mismo tiempo, simuló el lecho sobre el que debería estar soportado el diente en una situación real (Fig.N°24).

El diente se ajustó sobre el soporte hasta encontrar la posición central idónea para la realización del CBCT. Dicha posición varió en función del tipo y el tamaño dental. Para su colocación nos sirvieron de guía las luces referenciales de color rojo que presenta el ortopantomógrafo (Fig.N°25).

Una vez fijada la posición del diente, así como, la posición del soporte del ortopantomógrafo para la realización de la imagen radiográfica tridimensional o CBCT, desde el ordenador seleccionamos los siguientes parámetros: 61 Kv, 4.0 mA y tamaño de vóxel 100.

Transcurrido un tiempo de 24 segundos, aproximadamente, obtuvimos una imagen radiográfica tridimensional del diente temporal.

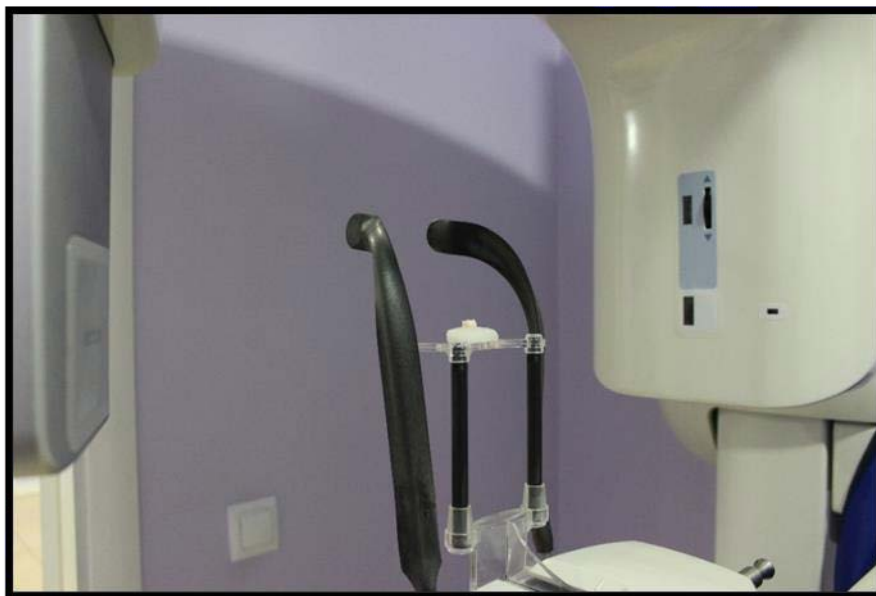


Figura N°24: Muestra colocada en el ortopantomógrafo sujeta sobre rectángulo de cera de encofrado.

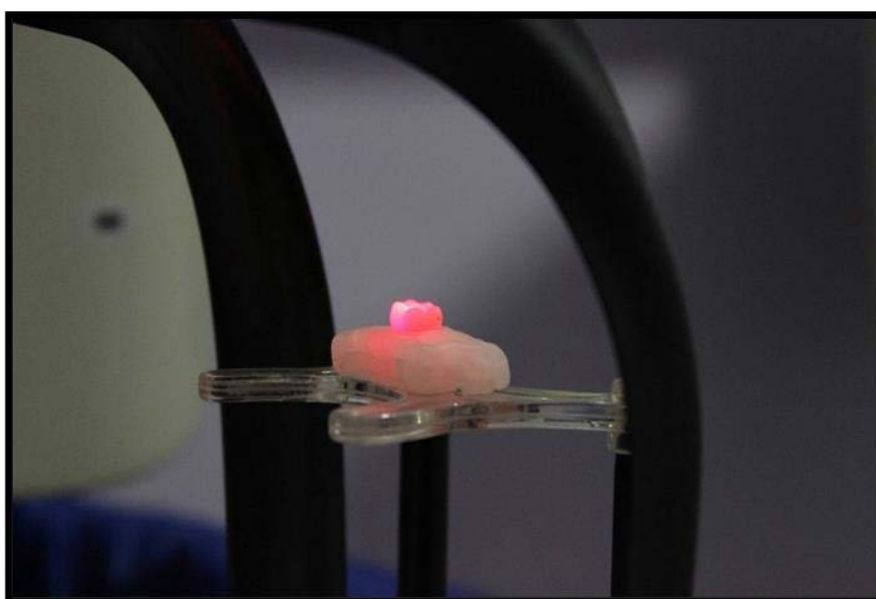


Figura N°25: Ajuste de la muestra gracias a las referencias lumínicas del Ortopantomógrafo.

Sobre la imagen obtenida, procedimos a la recogida de medidas del CBCT de la muestra. A través de la función: “Herramientas modo medición”, que ofrece el programa Carestream models 3D imaging versión 3.8.7., tomamos mediciones dentales y pulpares.

4.4.1. MEDICIONES DENTALES (Fig.Nº26)

- Distancia desde la superficie oclusal al límite coronal inferior
- Distancia mesiodistal desde los puntos de máximo contorno
- Distancia vestibulolingual

4.4.2. MEDICIONES PULPARES (Fig.Nº27)

- Anchura de la Pulpa en Cervix
- Altura del cuerno mesial al suelo pulpar
- Altura del cuerno distal al suelo pulpar

Para la toma de medidas se seleccionaron los 3 cortes tomográficos (coronal, axial y sagital) en los que la proporción corono pulpar es la máxima visible.

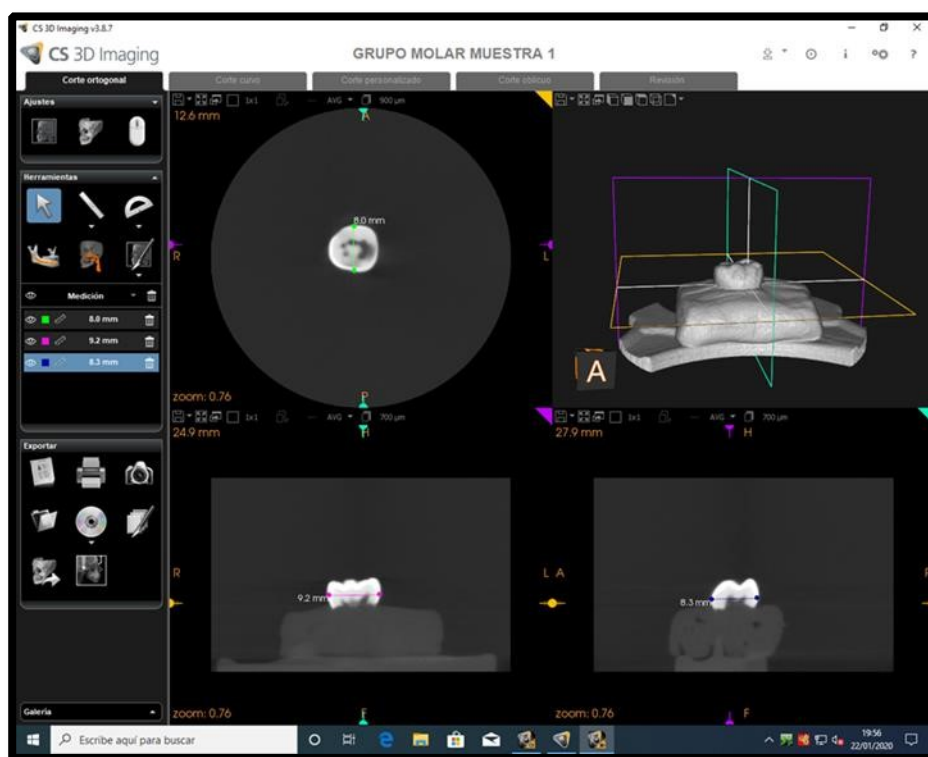
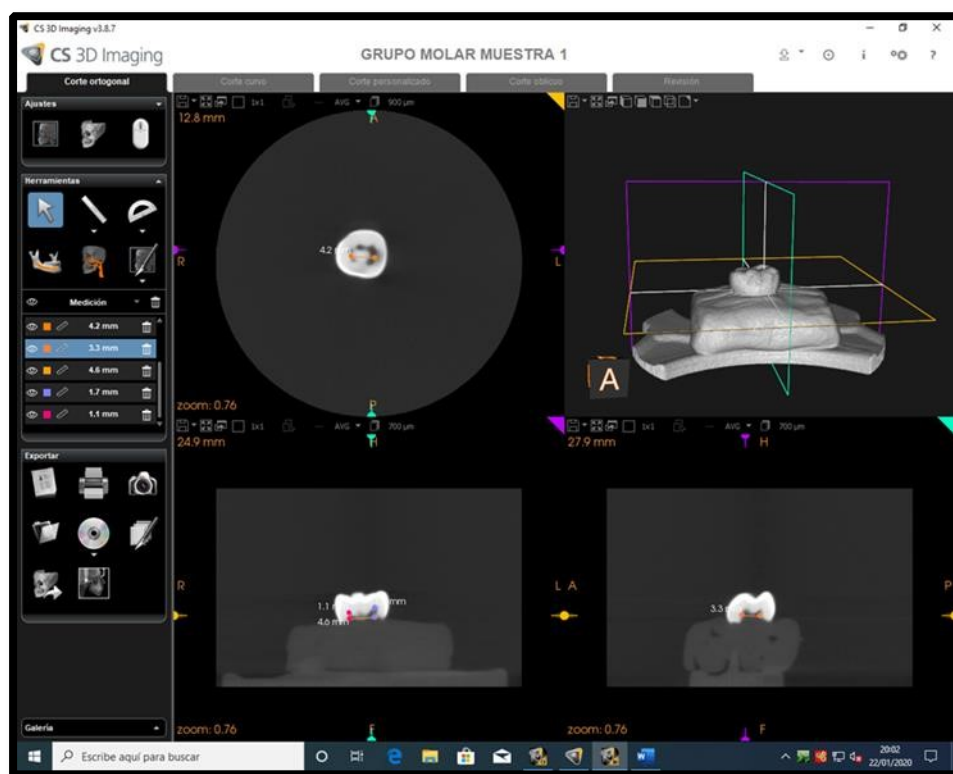


Figura Nº26: Toma de mediciones dentales sobre CBCT de la muestra. Programa Carestream models 3D imaging versión 3.8.7.



*Figura N°27: Toma de mediciones pulpares sobre el CBCT de la muestra.
Programa Carestream models 3D imaging versión 3.8.7.*

4.4.3. RECONSTRUCCIÓN VOLUMÉTRICA

Una vez que el CBCT de la muestra se realizó con éxito, se procedió a su reconstrucción tridimensional volumétrica con el programa 3D Slicer 4.10.2 (132).

El software 3D Slicer 4.10.2 es una plataforma médica informática de código abierto, la cual se puede descargar de manera gratuita. A través de ella se pueden visualizar pruebas diagnósticas tridimensionales y realizar reconstrucciones volumétricas de las mismas (132).

Los cortes tomográficos del CBCT fueron exportados en formato DICOM a una base de datos portátil independiente. Posteriormente, dicho CBCT se cargó y procesó en el programa 3D Slicer 4.10.2, desde un ordenador portátil con una memoria gráfica de 16 GB (Fig.N°28).

A través de la función “Segmentation” del programa 3D Slicer 4.10.2 se procedió a la selección del tejido pulpar como segmento individual. La parte seleccionada y

segmentada del CBCT en los diferentes cortes tomográficos apareció en color verde como “Segment_pulp”(Fig.Nº29) (Fig.Nº30).

Para realizar la segmentación fué necesario ajustar los valores de Hounsfield a un mínimo de -500 y un máximo de 226. Posteriormente, con la opción “Volumen Rendering” se generó una reconstrucción tridimensional del segmento seleccionado (Fig.Nº29) (Fig.Nº30) (Fig.Nº31).

La opción “Quantification” nos ofreció una tabla en la que se recogió el área y volumen, tanto del segmento seleccionado como del total de la muestra (Fig.Nº32).

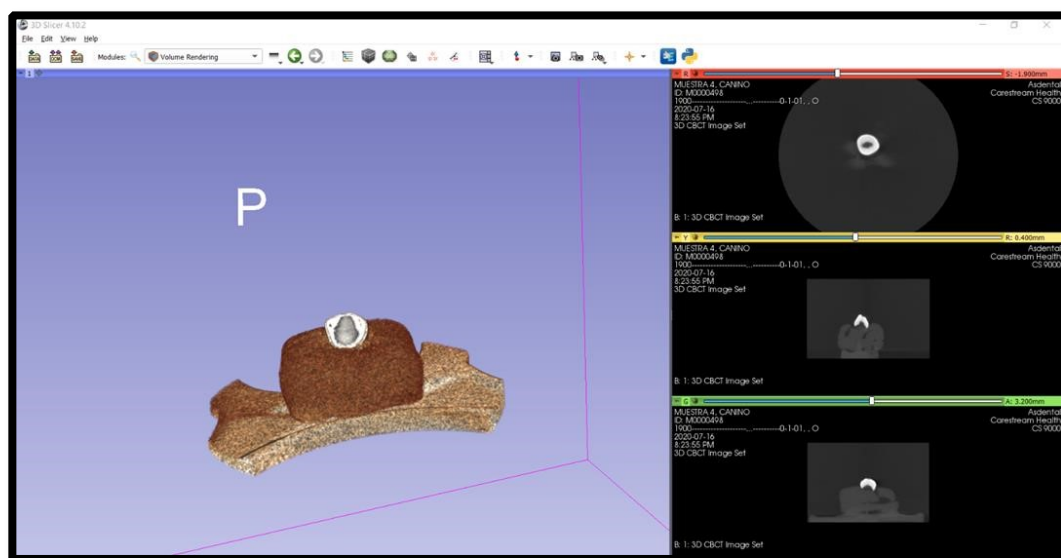


Figura N°28: Análisis del CBCT de un canino temporal con software 3D Slicer

4.10.2. Reconstrucción volumétrica del CBCT para la muestra 4- Grupo Canino.

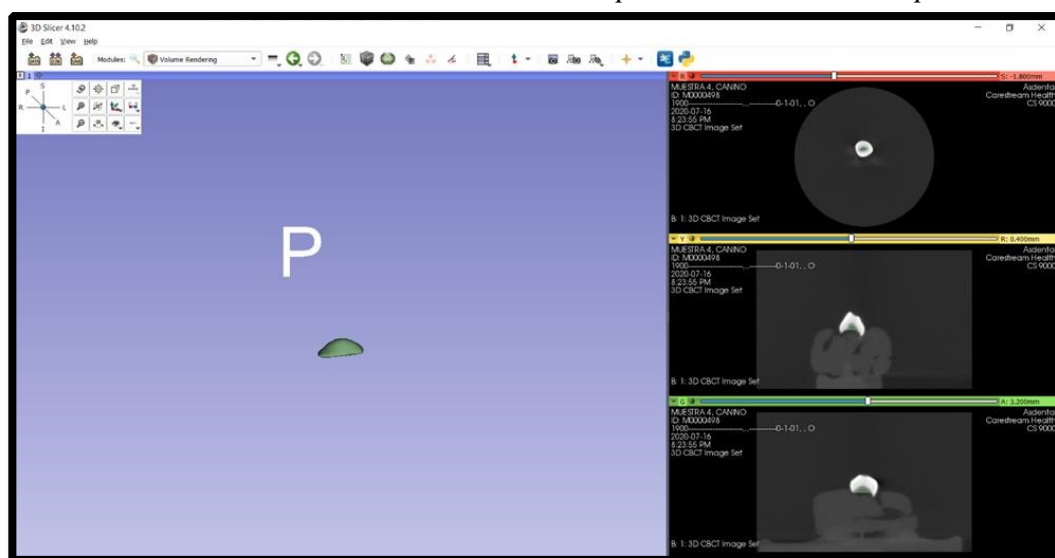


Figura N°29: Reconstrucción tridimensional del segmento pulpar seleccionado en

los cortes tomográficos del CBCT a través de la función “Segmentation” del software 3D Slicer 4.10.2.

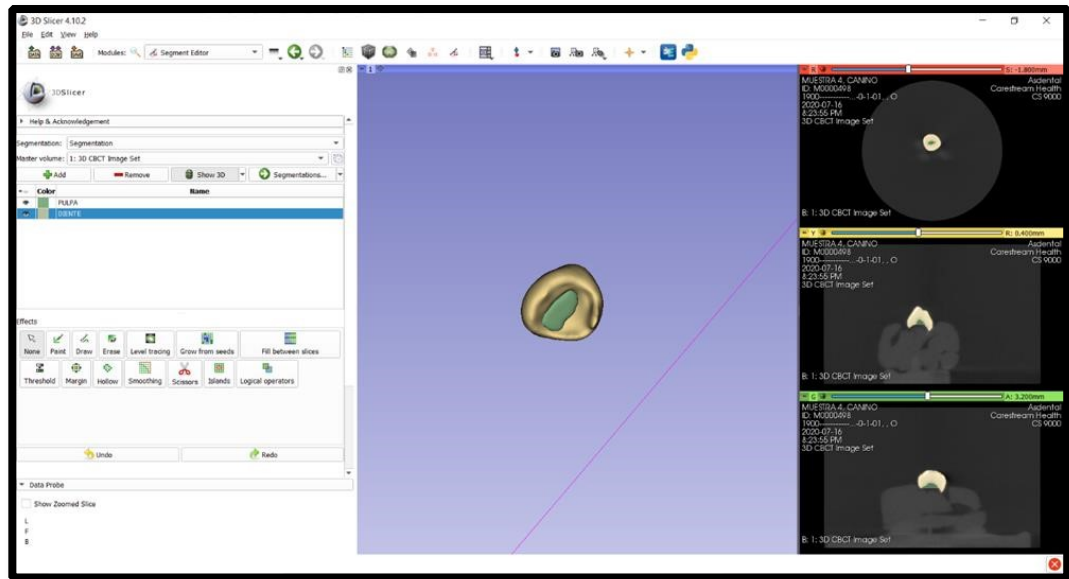


Figura N°30: Reconstrucción tridimensional de los segmentos pulpar y dental seleccionados en los cortes tomográficos del CBCT a través de la función “Segmentation” del software 3D Slicer 4.10.2.

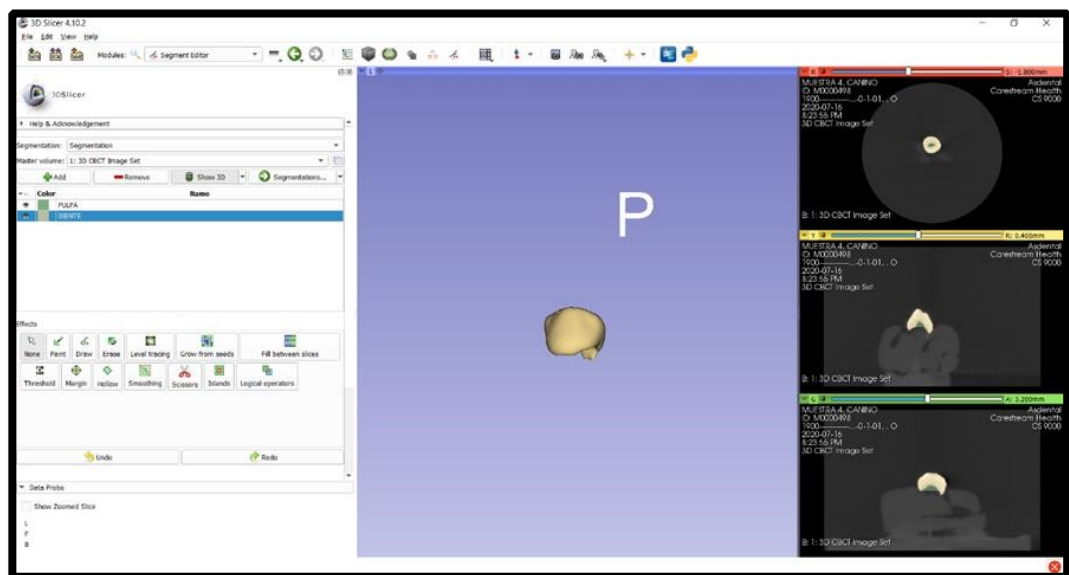


Figura N°31: Reconstrucción tridimensional del segmento dental seleccionado en los cortes tomográficos del CBCT a través de la función “Segmentation” del software 3D Slicer 4.10.2.

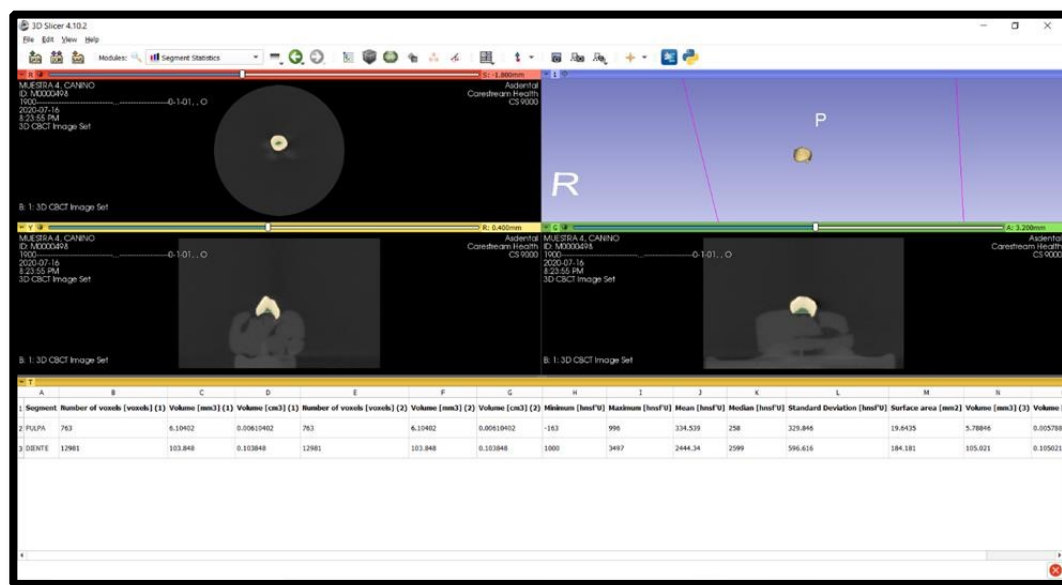


Figura N°32: Tabla con valores medios que ofrece la función “Quantification” del software 3D Slicer 4.10.2 para los segmentos seleccionados. Se incluyen área y volumen para ambos segmentos.

5. RECOGIDA Y ANÁLISIS DE DATOS

La recogida de los datos se realizó a través del programa Microsoft Excel. Se recogieron las siguientes variables:

5.1. VARIABLES DEPENDIENTES

- Volumen pulpar
- Área pulpar

5.2. VARIABLES INDEPENDIENTES

- Tipo dental
- Edad del individuo
- Sexo del individuo

Todas las mediciones realizadas sobre la estructura dental y la cámara pulpar iban destinadas a encontrar el área y volumen de cada uno de los dientes y se han relacionado, posteriormente, con el grupo o tipo dental al que pertenecen. (ANEXO 1)

5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó a través del programa SPSS 25.0 para Windows .

A través de las funciones EXPLORE y DESCRIPTIVE se procedió a la realización de la estadística descriptiva básica de las variables cuantitativas para cada uno de los grupos muestrales establecidos: media, desviación estándar, máximo, mínimo, mediana, moda y variancia.

Teniendo en cuenta el tamaño muestral reducido, sobre todo en el grupo incisivos donde $N=9$, se decidió contrastar la normalidad de la distribución muestral a través de la prueba de Shapiro-Wilk.

Tras la realización de la prueba anteriormente mencionada se observó que no todos los parámetros establecidos cumplían criterios de normalidad para todos los grupos estudiados, por lo que se decidió proceder con la realización de las consecuentes pruebas no paramétricas.

Con el fin de aceptar o rechazar la hipótesis nula (H_0), se aplicó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para la comparación de una variable cuantitativa entre más de dos grupos. Volúmenes y áreas fueron examinados y comparados a través de dicho test.

Quedó aceptado un error tipo α del 0,5%, con un nivel de confianza del 95%. Se aceptaron diferencias estadísticamente significativas para $p < 0,05$. Para $p \geq 0,05$ no se aceptaron diferencias estadísticamente significativas.

Posteriormente, se aplicó el test de Wilcoxon en cada uno de los grupos muestrales a fin de analizar las diferencias entre las medidas tomadas de la radiografía periapical y el CBCT. Se estudió su similitud o discrepancia, así como, su nivel de significación no solo entre ellas sino también, con respecto a la medida dental real.

Para estudiar la asociación de cada una de las variables cuantitativas con el sexo del individuo, así como, con la exfoliación o extracción de la pieza se realizó la prueba U de Mann-Whitney para cada uno de los grupos.

Por último, para analizar si existía alguna asociación entre las variables recogidas y la edad de los individuos se realizó el coeficiente de correlación de Spearman (133).

6. ASPECTOS LEGALES

Teniendo en consideración que el proyecto a desempeñar no entraña ningún riesgo sobre la salud del paciente, ni se pretende realizar la extracción de material génico de la misma, se informó a cada uno de los donantes, así como, madres, padres y/o tutores, del proyecto a desempeñar y la finalidad eminentemente investigadora del mismo. Se estableció un consentimiento verbal, a través del cual se procedió a la recogida de la muestra.

En los casos en los que el diente no hubo completado el proceso de exfoliación natural y hubo que proceder a la extracción, se firmó un consentimiento informado para la extracción del diente temporal. Teniendo en cuenta que el diente se extrajo por un motivo meramente terapéutico, independiente a la realización de proyecto, dicho consentimiento se firmó bajo cualquier circunstancia, posteriormente el paciente y sus tutores decidieron si donaban el diente o no. La donación fue totalmente anónima, libre, gratuita y desinteresada. (ANEXO 2)

Las muestras fueron almacenadas, tratadas y desechadas como material biológico, atendiendo al RD1716/2011 por el que se regulan las actividades relativas a la utilización de tejidos humanos.

V-RESULTADOS

1. **ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA BÁSICA: COMPARACIÓN DE MEDIAS, ESTUDIO DE LA PROPORCIONALIDAD VOLUMÉTRICA Y TABLA DE CONTINGENCIA DE MEDIAS PARA CADA GRUPO MUESTRAL.**

Tras el análisis de la estadística descriptiva básica podemos afirmar que la edad de los individuos donantes oscila entre un mínimo de 4,5 años y un máximo de 15 años de edad. Siendo la media de participación de 9,9 años de edad. Los rangos de edad menores los encontramos en el grupo incisivo donde el máximo se corresponde con 7,5 años de edad lo que concuerda con la edad cronológica de erupción habitual.

En cuanto al tamaño dental a nivel oclusogingival (OG), el grupo canino presenta de media un tamaño mayor que el grupo molar e incisivo. Sin embargo, tanto a nivel vestibulolingual (VL) como mesiodistal (MD), el grupo molar presenta de media un tamaño mayor que caninos e incisivos. De nuevo los valores mínimos quedarían registrados en el grupo incisivo cuya distancia menor sería la VL según la media de los datos recogidos.

En cuanto al valor medio de las medidas recogidas en la radiografía periapical relacionadas con el tamaño de la cámara pulpar, podemos observar que existe una gran similitud en la longitud media de los cuernos pulpaes para los tres grupos muestrales. Sin embargo, a nivel del cervix, los molares presentan una longitud media proporcionalmente mayor que caninos e incisivos, lo que puede estar relacionado con el mayor diámetro MD y/o con el patrón de reabsorción radicular.

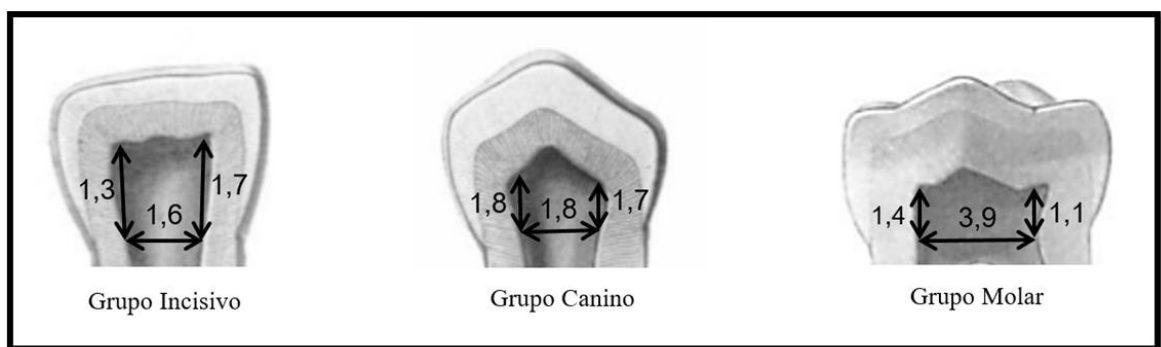


Figura N°33: Media de las medidas recogidas en la radiografía periapical para cada uno de los grupos muestrales en relación con el tamaño de la cámara pulpar.

(Cuerno pulpar distal/Cervix/Cuerno pulpar mesial).

Por otro lado, el valor medio de las medidas recogidas sobre el CBCT muestra, al igual que la radiografía periapical, que las diferencias de longitud de los cuernos pulpaes son mínimas entre los diferentes grupos. Sin embargo, a nivel del cervix, aunque queda establecido que la longitud media mayor la presentan los molares, se observa una proporcionalidad más equitativa entre los diferentes grupos siendo las discrepancias

menores que en la radiografía periapical. En orden creciente y atendiendo a la longitud del cervix quedarían establecidos de la siguiente manera: Incisivos, Caninos y Molares.

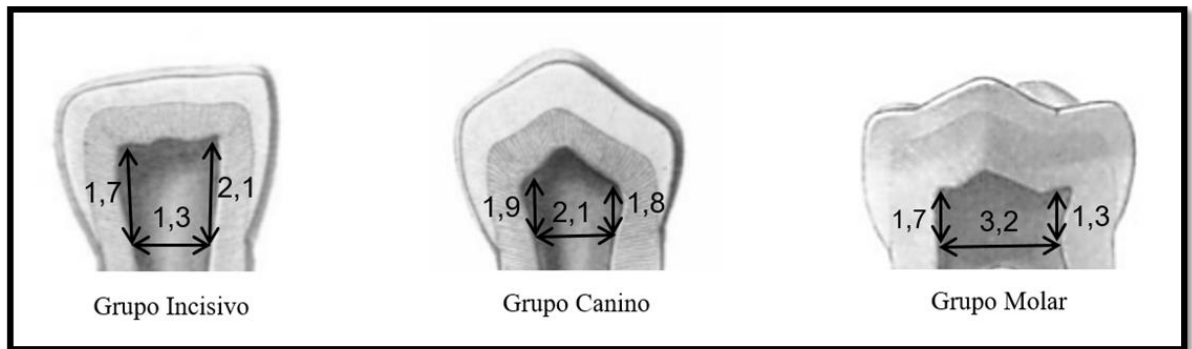


Figura N°34: Media de las medidas recogidas en el CBCT para cada uno de los grupos muestrales en relación con el tamaño de la cámara pulpar. (Cuerno pulpar distal/Cervix/Cuerno pulpar mesial).

En cuanto al volumen dental el grupo molar presenta superioridad con respecto a los otros dos grupos muestrales, con un valor de media de $121,1 \text{ mm}^3$ de diferencia con respecto al grupo canino y $164,9 \text{ mm}^3$ de diferencia con respecto al grupo incisivo. Dicha superioridad se mantiene en los valores medios del área dental en los que se puede observar que el grupo molar presenta una media de $264,8 \text{ mm}^2$ mayor que el grupo canino y de 349 mm^2 mayor que el grupo incisivo.

Atendiendo únicamente a la estadística descriptiva, se observa que la superioridad del grupo molar prevalece en cuanto a volumen y área pulpar con respecto a los otros dos grupos muestrales. La aplicación de los consecuentes test estadísticos nos ayudará a conocer si dichas diferencias son estadísticamente significativas y por tanto a demostrar la validez de nuestra H_0 .

Resulta interesante mencionar que el análisis de la proporcionalidad volumétrica del tejido pulpar nos indica que para el grupo incisivo el volumen pulpar se corresponde con un 3,74% de media con respecto al volumen total, para el grupo canino se corresponde con un 3,98% de media con respecto al volumen total y para el grupo molar se corresponde con un 4,72% de media con respecto al volumen total. Se observan valores parejos para todos los grupos muestrales, siendo ligeramente superior en el grupo molar (Fig.N°35).

	Volumen Dental ()	Volumen Pulpar ()	Volumen Total ()	Volumen Pulpar (%)
G.Incisivo	66,9	2,6	69,5	3,74%
G.Canino	110,7	4,6	115,3	3,98%
G.Molar	231,8	11,5	243,3	4,72%

Figura N°35: Suma de medias. Proporcionalidad de la media volumétrica pulpar con respecto a la media volumétrica total.

Atendiendo a la estadística descriptiva, para los valores: área dental, volumen dental, área pulpar y volumen pulpar, en orden ascendente, los grupos muestrales quedarían establecidos de la siguiente manera: Incisivos, Caninos y Molares. (ANEXO 3)

A continuación, se incluye una tabla con los valores medios establecidos para cada grupo muestral, tanto a nivel dental como pulpar. Quedan registradas áreas y volúmenes (Fig.N°36).

	Medidas dentales			Medidas pulpares						Volumen dental	Volumen pulpar	Área dental	Área pulpar
				Medidas Rx periapical			Medidas CBCT						
	OG	MD	VL	C.Mesial	C.Distal	Cervix	C.Mesial	C.Distal	Cervix				
G.Incisivo	5,7	4,9	4,5	1,7	1,3	1,6	2,1	1,7	1,3	66,9	2,6	114,7	10,9
G.Canino	6,4	6,2	5,7	1,8	1,7	1,8	1,9	1,8	2,1	110,7	4,6	198,9	16,1
G.Molar	5,8	8,4	8,3	1,4	1,1	3,9	1,7	1,3	3,2	231,8	11,5	463,7	41,8

Figura N°36: Tabla de contingencia con valores medios para cada grupo muestral.

Recoge las medias de las medidas dentales, medidas pulpares tomadas sobre la radiografía periapical y CBCT, así como, volúmenes y áreas.

2. ANALISIS ESTADÍSTICO INTERGRUPOS. PRUEBA DE NORMALIDAD. APLICACIÓN DE TEST NO PARAMÉTRICOS. ESTUDIO DE VALIDEZ DE LA HIPOTESIS NULA (H₀)

Una vez analizada la estadística descriptiva básica se procede al estudio de la normalidad. Se decide aplicar el test de Shapiro-Wilk para tamaños muestrales reducidos, sobre todo teniendo en consideración el tamaño muestral del grupo incisivo donde N=9.

Observamos que no todos los parámetros cumplen criterios de normalidad para todos los grupos muestrales establecidos, véase el ejemplo del volumen pulpar o área pulpar del

grupo canino. Por este motivo, se decide proceder con el test no paramétrico de Kruskal Wallis a fin de validar la hipótesis nula (H_0) anteriormente planteada.

Con la aplicación del test de Kruskal Wallis obtenemos un nivel de significación menor de 0,05 por lo que rechazamos la hipótesis nula. Podemos afirmar que existen diferencias estadísticamente significativas en la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de molares, caninos e incisivos temporales sanos naturalmente exfoliados o extraídos en un momento próximo a la exfoliación por alteración eruptiva del sucesor permanente.

Las comparaciones múltiples que nos ofrece el test demuestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos incisivo-molar y canino-molar. Sin embargo, el valor de significación entre el grupo canino-incisivo es de 0,2 por lo que las diferencias encontradas en cuanto a volumen pulpar entre estos dos últimos grupos no se consideran estadísticamente significativas (Fig.Nº37).

Pairwise Comparisons VOLUMEN P					
<u>Sample 1-Sample 2</u>	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig. ^a
Incisivos-Caninos	-7,528	5,950	-1,265	0,206	0,617
Incisivos-Molares	-24,302	5,730	-4,241	0,000	0,000
Caninos-Molares	-16,774	4,587	-3,657	0,000	0,001

Figura N°37: Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is 0,05.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.

El grupo molar presenta una diferencia de 8,84 mm³ con respecto al grupo incisivo y 6,85 mm³ con respecto al grupo canino. Entre los grupos canino e incisivo existe una diferencia de 1,99 mm³. Atendiendo a los resultados obtenidos el grupo dental con mayor capacidad volumétrica a nivel pulpar es el grupo molar, por tanto, podría ser susceptible de contener una mayor cantidad de tejido pulpar remanente en el momento de la exfoliación, convirtiéndose en la opción de elección para el posterior aislamiento y cultivo celular (Fig.Nº38).

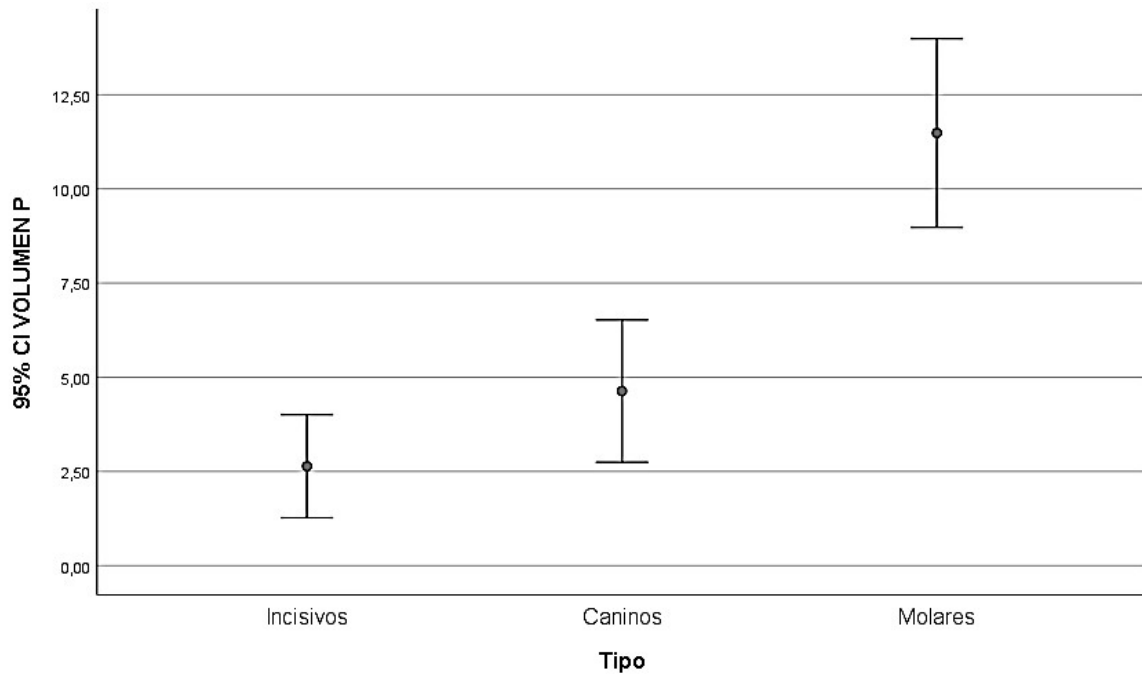


Figura N°38: Gráfico de Medias de volumen pulpar para los tres grupos muestrales con un intervalo de confianza del 95%.

3. ANALISIS ESTADÍSTICO INTRAGRUPPO. APLICACIÓN DE TEST NO PARAMÉTRICOS.

3.1. ESTUDIO DE LAS DISCREPANCIAS ENTRE RADIOGRAFÍA PERIAPICAL VS CBCT. APLICACIÓN DEL TEST DE WILCOXON

A nivel intragrupo se examinaron las discrepancias entre las medidas recogidas en la radiografía periapical y el CBCT. Además, cada una de ellas se comparó con las medidas reales tomadas de cada diente. Para ello se aplicó el test de Wilcoxon en cada uno de los grupos muestrales. (ANEXO 4) (ANEXO 5) (ANEXO 6)

Para los tres grupos muestrales se observan diferencias estadísticamente significativas entre las medidas dentales tomadas de las radiografías periapicales y las medidas dentales reales (Fig.N°39). Para los grupos canino e incisivo no se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre las medidas dentales recogidas sobre el CBCT con respecto a las medidas dentales reales. Sin embargo, si se aprecian discrepancias significativas en el grupo molar donde las diferencias, aunque existentes, adquieren un valor ligeramente menor que las que se dan entre las medidas dentales reales y las tomadas de la radiografía periapical.

A diferencia de la radiografía periapical el CBCT nos permite medir el plano VL y compararlo con la medida dental real. De nuevo, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en el grupo incisivo y canino, pero si en el molar. Dichas discrepancias en el grupo molar podrían estar relacionadas con la irregularidad de la superficie molar en comparación con caninos e incisivos, cuya morfología externa es más continua y regular, así como, con la selección de plano tomográfico para medir dicha distancia o un fallo del operador (Fig.Nº40).

	Medida dental \bar{X}			Medida dental \bar{X} Rx periapical	
	OG	MD	VL	OG	MD
G.Incisivo	5,7	4,9	4,5	4,4	4,7
G.Canino	6,4	6,2	5,7	4,3	5,3
G.Molar	5,8	8,4	8,3	3,9	8,1

Figura Nº39: Tabla comparativa de \bar{X} de las medidas dentales reales y las tomadas de la radiografía periapical.

	Medida dental \bar{X}			Medida dental \bar{X} CBCT		
	OG	MD	VL	OG	MD	VL
G.Incisivo	5,7	4,9	4,5	5,6	5,1	4,7
G.Canino	6,4	6,2	5,7	5,7	6,2	5,8
G.Molar	5,8	8,4	8,3	4,8	8,6	8,6

Figura Nº40: Tabla comparativa de \bar{X} de las medidas dentales reales y las tomadas del CBCT.

En lo que a las medidas pulpares se refiere no se encuentran diferencias estadísticamente significativas para grupos canino e incisivo entre radiografía periapical y CBCT. Sin embargo, dichas diferencias si que son significativas en el grupo molar donde se aprecia un máximo de hasta 0,7 mm de diferencia de medias a nivel del cervix pulpar (Fig.Nº33-FigNº34). (ANEXO 6)

3.2. ANÁLISIS DE LA ASOCIACIÓN DE VARIABLES CUANTITATIVAS CON EL SEXO. APLICACIÓN DEL TEST DE U-MANN-WHITNEY.

Para estudiar la asociación de cada una de las variables cuantitativas con el sexo de los individuos donantes, se realizó el test de U- Mann-Whitney para cada uno de los grupos muestrales. Según los resultados obtenidos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables recogidas, pudiendo afirmar que tanto las medidas dentales como pulpares, así como, volúmenes y áreas

dentales y pulpares son independientes del sexo del individuo para todos los grupos muestrales. (ANEXO 7) (ANEXO 8) (ANEXO 9)

3.3. ANÁLISIS DE LA ASOCIACIÓN DE VARIABLES CUANTITATIVAS CON LA CATEGORÍA EXFOLIADO-EXTRAÍDO. APLICACIÓN DEL TEST DE U-MANN-WHITNEY.

Además, el test de U-Mann-Whitney también se empleó para estudiar la asociación entre cada una de las variables cuantitativas con la categoría exfoliado o extraído, en relación con la naturaleza de la muestra. Se aplicó dicho test a cada uno de los grupos muestrales, a excepción del grupo incisivo donde la cantidad de muestra de origen exfoliado era $N=0$, por lo que dicha asociación no se pudo valorar. Sin embargo, se encontraron resultados interesantes para los otros dos grupos muestrales.

En el grupo canino se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la medición del cervix pulpar. Siendo la media de las muestras de origen exfoliado 1,1 mm inferior a la media de las muestras de origen extraído.

En lo que al volumen dental respecta, se pudo observar una diferencia de medias de $23,25 \text{ mm}^3$, siendo mayor la media de las muestras de origen extraído con respecto a las de origen exfoliado. Ocurrió lo mismo con el área dental siendo la media de las muestras de origen exfoliado 25 mm^2 inferior a la media de las muestras de origen extraído. Sin embargo, estas discrepancias no se consideraron estadísticamente significativas.

A nivel pulpar también se observaron discrepancias de medias para el grupo canino, siendo la media del volumen pulpar de las muestras de origen extraído $1,7 \text{ mm}^3$ superior que la media de las muestras de origen exfoliado. Se observó lo mismo a nivel del área pulpar, siendo la diferencia de medias de 3 mm^2 superior para las muestras de origen extraído. De nuevo estas discrepancias no se consideraron estadísticamente significativas (Fig.Nº41). (ANEXO 10)

		\bar{X} Volumen dental	\bar{X} Área dental	\bar{X} Volumen pulpar	\bar{X} Área pulpar
G. Canino N=18	Extraído N=12	118,4	207,3	5,2	17,1
	Exfoliado N=6	95,15	182,3	3,4	14,1

Figura N°41: Tabla comparativa de medias de volumen dental, área dental, volumen pulpar y área pulpar para las muestras de origen extraído vs origen exfoliado para el grupo canino.

Para el grupo molar se encontraron diferencias estadísticamente significativas en todas las medidas realizadas sobre la cámara pulpar, tanto en las tomadas de la radiografía periapical como en las tomadas del CBCT. Las longitudes medias de los cuernos mesial y distal eran significativamente menores en las muestras de origen exfoliado con respecto al grupo extraído. Sin embargo, la media longitudinal del cervix era significativamente mayor en las muestras de origen exfoliado con respecto a las de origen extraído, lo que podría estar relacionado con el patrón de reabsorción radicular. (FigN°42).

		Medidas pulpares \bar{X}					
		Rx periapical			CBCT		
		C.Distal	C.Mesial	Cervix	C.Distal	C.Mesial	Cervix
G. Molar N= 23	Extraído N=8	1,9	2,1	3,1	1,9	2,3	2,4
	Exfoliado N=15	0,7	1,0	4,3	1,0	1,4	3,6

Figura N°42: Tabla comparativa de medias de medidas pulpares para muestras de origen exfoliado vs muestras de origen extraído del grupo molar.

Además, también se observan diferencias estadísticamente significativas en la medida dental OG. Siendo la media 0,5 mm menor en las muestras de origen exfoliado con respecto a las de origen extraído.

La media del volumen dental de las muestras de origen exfoliado pertenecientes al grupo molar presentó una diferencia de 136,1 mm³ con respecto a la media de volumen de las muestras de origen extraído. Lo mismo ocurrió con el área dental cuya media en las muestras de origen exfoliado fue 140,5 mm² menor con respecto a las muestras de origen extraído del grupo molar. Dichas diferencias se consideraron estadísticamente significativas.

Sin embargo, aunque existe una discrepancia de 1,1 mm³ inferior en la media de volumen pulpar para las muestras de origen exfoliado con respecto a las de origen extraído, dicha discrepancia no se consideró estadísticamente significativa. Ocurrió lo mismo con el área pulpar, siendo la media de las muestras de origen exfoliado

1,2 mm² inferior con respecto a la media de las muestras de origen extraído (Fig N°43). (ANEXO 11)

		\bar{X} Volumen dental	\bar{X} Área dental	\bar{X} Volumen pulpar	\bar{X} Área pulpar
G.Molar N=23	Extraído N=8	320,6	555,3	12,2	42,6
	Exfoliado N=15	184,5	414,8	11,1	41,4

Figura N°43: Tabla comparativa de medias de volumen dental, área dental, volumen pulpar y área pulpar para las muestras de origen extraído vs origen exfoliado para el grupo molar.

3.4. ANÁLISIS DE LA ASOCIACIÓN DE VARIABLES CUANTITATIVAS CON LA EDAD. APLICACIÓN DEL COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN.

Por último, se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman en cada uno de los grupos muestrales a fin de estudiar la asociación que presentan cada una de las variables con la edad.

Para el grupo incisivo se observó una correlación estadísticamente significativa y directamente proporcional entre la edad y la longitud MD del diente. Dicha correlación es estadísticamente significativa tanto para la medida dental real recogida con el calibre, como para la medida tomada de la radiografía periapical y el CBCT. Por tanto, atendiendo a los resultados obtenidos, podemos afirmar que la longitud mesiodistal dental aumentará para el grupo incisivo conforme aumente la edad del individuo donante. Del mismo modo, al ser una correlación directamente proporcional la longitud mesiodistal del diente tenderá a disminuir conforme disminuya la edad del individuo.

Además, también se encontró una correlación estadísticamente significativa entre el volumen dental y la edad del individuo donante. Para el grupo incisivo el volumen medio dental aumentará de manera directamente proporcional una media de 0,7 mm³ con respecto a la edad. Del mismo modo, si la edad del individuo disminuye el volumen dental tenderá a disminuir.

Así mismo ocurre con el volumen y el área pulpar, ya que ambos, presentan una correlación estadísticamente significativa y directamente proporcional con la edad dental. A mayor edad, mayor volumen pulpar para el grupo muestral incisivo. A menor edad, menor volumen y área pulpar (Fig.Nº44).

INCISIVOS Correlations^a

		<u>EDAD</u>
Spearman's rho MD	Correlation Coefficient	0,724*
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,027</u>
	N	9
	<hr/>	
PERIAPICAL MD	Correlation Coefficient	0,676*
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,046</u>
	N	9
	<hr/>	
CBCT MD	Correlation Coefficient	0,862**
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,003</u>
	N	9
	<hr/>	
VOLUMEN D	Correlation Coefficient	0,676*
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,046</u>
	N	9
	<hr/>	
VOLUMEN P	Correlation Coefficient	0,694*
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,038</u>
	N	9
	<hr/>	
AREA P	Correlation Coefficient	0,694*
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,038</u>
	N	9
	<hr/>	

Figura Nº44: Valores significativos del coeficiente de correlación de Spearman aplicado al grupo incisivo para estudiar la asociación de las variables cuantitativas con la edad.

Para el grupo canino ninguna variable mostró una asociación estadísticamente significativa con respecto a la edad. Aunque se observa un coeficiente de correlación

directamente proporcional entre el volumen pulpar y la edad del individuo, la fuerza de asociación no llega a tener un valor que deba considerarse estadísticamente significativo.

Por su parte el grupo molar presentó una asociación estadísticamente significativa entre la edad y la longitud VL. Tanto la media de la medida VL recogida sobre el propio diente como la recogida sobre el CBCT, mostraron un coeficiente de correlación directamente proporcional con la edad. Ocurre lo mismo con el volumen pulpar que presenta una asociación estadísticamente significativa con un coeficiente de correlación directamente proporcional con la edad. Esto quiere decir que tanto la longitud VL del diente como el volumen pulpar tenderán a aumentar conforme aumente la edad del individuo, del mismo modo, ambas medidas tenderán a disminuir conforme disminuya la edad (Fig.Nº45).

MOLAR Correlations^a

		EDAD
Spearman's rho VL	Correlation	0,429*
	Coefficient	
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,041</u>
	N	23
CBCT VL	Correlation	0,491*
	Coefficient	
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,017</u>
	N	23
VOLUMEN P	Correlation	0,475*
	Coefficient	
	<u>Sig. (2-tailed)</u>	<u>0,022</u>
	N	23

Figura N°45: Valores significativos del coeficiente de correlación de Spearman aplicado al grupo molar para estudiar la asociación de las variables cuantitativas con la edad.

VI-DISCUSIÓN

El estudio odontométrico de la dentición temporal resulta escaso frente a la dentición permanente. En la actualidad, continúa siendo controvertido e inespecífico, sobre todo a nivel pulpar (106,115-119). El auge de las pruebas de imagen tridimensional, como el CBCT y el μ -CT, ha impulsado el desarrollo de proyectos de investigación destinados al estudio volumétrico de la cámara pulpar de la dentición temporal para grupos poblacionales y tipos dentales específicos (106,110,111).

El presente estudio analiza la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de incisivos, caninos y molares temporales a fin de esclarecer qué tipo dental es susceptible de presentar mayor cantidad de tejido pulpar en el momento de la exfoliación y, por tanto, ser más idóneo para llevar a cabo el proceso de aislamiento y cultivo de células madre.

Proyectos de investigación similares como el realizado por Jin-Lan Ma y cols. para estudiar la capacidad volumétrica de la cámara pulpar de incisivos temporales muestran resultados similares. En su estudio, la media volumétrica pulpar para el grupo de incisivos estudiado es de $2,05 \pm 0,70 \text{ mm}^3$, mientras que en este estudio la media de volumen pulpar para el grupo incisivo es de $2,63 \pm 1,78 \text{ mm}^3$ (110).

En cuanto al volumen dental los resultados presentan mayores discrepancias. En su estudio la media volumétrica dental para los incisivos analizados adquiere un valor de $33,9 \pm 6,8 \text{ mm}^3$ (110), mientras que en este estudio, la media volumétrica dental obtenida para el grupo incisivo, es prácticamente el doble con un valor de $66,8 \pm 16,0 \text{ mm}^3$.

Según sus resultados existe una asociación positiva entre el volumen total coronal con respecto al sexo femenino (110). Sin embargo, nuestros resultados no muestran asociaciones estadísticamente significativas para ninguna de las variables cuantitativas estudiadas en relación con el sexo. (ANEXO 7)

El análisis tridimensional de Amano y cols. en relación con la topografía pulpar de molares temporales muestra un ratio volumétrico para la cámara pulpar de $9,6 \pm 0,5\%$ (106). Nuestros resultados, sin embargo, presentan un ratio del $4,9 \pm 5,8\%$, para la capacidad volumétrica pulpar del grupo molar. Según sus resultados existe una disminución del ratio con respecto al aumento de edad (106). Sin embargo, nosotros encontramos una correlación

estadísticamente significativa y directamente proporcional entre la edad y el volumen de la cámara pulpar para el grupo molar (Fig.Nº19).

Para la recogida de medidas pulpares basamos la metodología en el estudio radiovisiografico realizado por Arpana y cols. en el que se establecen tres longitudes medias claves para el estudio dimensional de la cámara pulpar: altura del cuerno pulpar mesial, altura del cuerno pulpar distal y ancho de la pulpa en el cervix (106).

Atendiendo a sus resultados los molares estudiados muestran una media de $2,49\pm 0,32$ mm para la altura del cuerno pulpar mesial, $2,01\pm 0,30$ mm para la altura del cuerno pulpar distal y $3,02\pm 0,51$ mm para la anchura del cervix (106). Los resultados de este estudio muestran valores similares, para todas las medidas pulpares recogidas de las radiografías periapicales del grupo molar, siendo la media de $1,4\pm 0,79$ mm para la altura del cuerno pulpar mesial, $1,1\pm 0,73$ mm para la altura del cuerno pulpar distal y de $3,9\pm 1,18$ mm para la anchura del cervix.

Además, en este estudio, a parte de las medidas tomadas sobre la radiografía periapical también analizamos las mismas medidas recogidas sobre el CBCT, obteniendo una media de $1,7\pm 0,76$ mm, $1,3\pm 0,66$ mm y $3,2\pm 1,17$ mm para la altura del cuerno pulpar mesial, la altura del cuerno pulpar distal y la anchura del cervix, respectivamente (FigNº10). Los resultados obtenidos presentan discrepancias estadísticamente significativas ($p<0,05$) con respecto a la radiografía periapical para todas ellas, siendo el valor de significación mayor a nivel del cervix pulpar (FigNº16).

En cuanto a la medida MD del diente tomada sobre la radiografía periapical, se encuentran resultados similares para ambos estudios en el grupo molar. Arpana y cols. muestran una media de $9,7\pm 0,78$ mm, mientras que el presente estudio reflejó una media de $8,1\pm 1,06$ mm (106) (FigNº13).

En cuanto al área pulpar y coronal, Arpana y cols. la establecen a través de la función “area measurements” del software AutoCAD 2000, en este estudio se empleó el software de reconstrucción y análisis tridimensional Slicer 3D 4.10.2. Se aprecian discrepancias en los resultados obtenidos para ambos estudios. Arpana y cols. establecen una media de $12,2\pm 7,52$ mm² para el área pulpar, mientras que en este estudio se obtuvo una media de $41,8\pm 14,8$ mm²

para el grupo molar. Lo mismo ocurre con el área dental total mostrando sus resultados un valor medio máximo de $52,12 \pm 15,34 \text{ mm}^2$, siendo la media de este estudio de $463,71 \pm 121,23 \text{ mm}^2$ con respecto al grupo molar (106) (FigN°17). (ANEXO 3) Estudios similares como el de Dabawala y cols. en el que se analiza la relación del contorno coronal con el límite de la cámara pulpar, a través de, la realización de mediciones en radiografías de aleta de mordida, muestran resultados ligeramente discrepantes con respecto a los obtenidos en este estudio. Recogen un valor medio para los cuernos pulpares de $3.13 \pm 0.84 \text{ mm}$ para segundos molares mandibulares, $2.95 \pm 0.77 \text{ mm}$ para primeros molares mandibulares y $2.77 \pm 0.43 \text{ mm}$ para segundos molares maxilares (107). Sin embargo, en este estudio para el grupo molar el valor medio máximo obtenido en relación con la altura pulpar ha sido de $1,4 \pm 0,79 \text{ mm}$ para la altura del cuerno pulpar mesial, medida sobre la radiografía periapical (FigN°8).

Otros estudios planteados para evaluar las dimensiones pulpares en molares temporales muestran discrepancias con lo resultados obtenidos. Baccouche y cols. afirman que el mayor diámetro medio pulpar es de $2,7 \pm 0,55 \text{ mm}$ medido en sentido MD (109), mientras que en este estudio el valor medio mayor para el diámetro pulpar en el grupo molar es de $3,9 \pm 1,18 \text{ mm}$. Los resultados de Baccouche y cols. presentan una media de longitud MD de $5,5 \pm 0,28 \text{ mm}$ (109), mientras que los resultados de este estudio muestran una media de $8,4 \pm 1,2 \text{ mm}$ para el grupo molar (Fig.N°10). Cabe destacar que la metodología planteada por Baccouche y cols. difiere de la planteada en este estudio, así mismo, su estudio se encuentra enfocado a un grupo poblacional específico lo que podría explicar la variabilidad en cuanto a los resultados obtenidos para ambos estudios (109).

En el estudio odontométrico publicado por la Dra. Barberia y cols. en la *European Journal of Paediatric Dentistry (EJPD)*, en relación con la evaluación del tamaño coronal en molares temporales, los resultados muestran una media longitudinal MD de $9,25 \pm 0,53 \text{ mm}$ para los segundos molares temporales superiores para el sexo masculino y de $9,12 \pm 0,48 \text{ mm}$ para el sexo femenino. Para los segundos molares temporales inferiores la media longitudinal MD adquiere un valor de $9,96 \pm 0,54 \text{ mm}$ para el sexo masculino y de $9,70 \pm 0,46 \text{ mm}$ para el sexo femenino. Para los primeros molares temporales superiores la media MD presenta un valor de $7,40 \pm 0,55 \text{ mm}$ para el sexo masculino y de $7,14 \pm 0,59 \text{ mm}$ para el sexo femenino. En cuanto a la media longitudinal MD para los primeros molares temporales inferiores se refleja un valor de $7,94 \pm 0,52 \text{ mm}$ para el sexo masculino y $7,71 \pm 0,47 \text{ mm}$ para el sexo femenino.

Se encontraron tamaños mesiodistales significativamente más grandes ($p < 0.05$ bilateral) en los niños, para los segundos molares temporales inferiores y para los primeros molares temporales superiores e inferiores (105).

Los resultados de este estudio muestran una media del valor longitudinal MD de $8,40 \pm 0,25$ mm para el grupo molar. No se encuentran diferencias estadísticamente significativas en relación con el sexo del individuo (FigNº10). (ANEXO 9)

Para la medida longitudinal VL, el estudio de la Dra. Barberia muestra una media de $9,47 \pm 0,80$ mm para segundos molares temporales superiores para el sexo masculino y de $9,33 \pm 0,74$ mm para el sexo femenino. Para los segundos molares temporales inferiores la media es de $8,89 \pm 0,60$ mm para el sexo masculino y de $8,72 \pm 0,58$ mm para el sexo femenino. Los primeros molares temporales superiores muestran una media de $7,96 \pm 0,82$ mm para el sexo masculino y de $7,87 \pm 0,77$ mm para el sexo femenino. Para los primeros molares temporales inferiores la media VL registrada es de $6,90 \pm 0,77$ mm para el sexo masculino y de $6,86 \pm 0,59$ para el sexo femenino. No se muestran diferencias significativas entre sexos en cuanto al tamaño vestibulolingual (105).

Los resultados de este estudio muestran una media del valor longitudinal MD de $8,36 \pm 1,03$ mm para el grupo molar. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el sexo y la longitud MD coronal para el grupo molar (Fig.Nº10). (ANEXO 9)

No se han encontrado proyectos similares que estudien la validez del CBCT con respecto a la radiografía periapical en relación al estudio de la cámara pulpar en dentición temporal. Aunque, la mayoría de los artículos odontométricos encontrados avalan la validez del CBCT como prueba complementaria para el estudio de la morfología radicular en casos de diagnóstico complejo y pronóstico incierto (119-121,126,127,129).

En cuanto al tipo dental idóneo para el aislamiento de células madre del tejido pulpar de dientes temporales no se ha encontrado descrita en la literatura ninguna especificación en cuanto al volumen pulpar. El primer artículo publicado por Miura y cols. para el aislamiento de SHED se realizó sobre una muestra de incisivos exfoliados de niños de una edad comprendida entre 7-8 años (8). De los 48 artículos revisados en relación con el

aprovechamiento biológico de las SHED, tan solo 5 artículos especifican en su metodología el tipo dental utilizado para llevar a cabo el consecuente aislamiento celular(8,62,68,71,134).

Al igual que en el artículo de Miura y cols. (8), autores como Fu-Xiaoru (62) o Nan-Zhang (134), emplearon para la realización de sus estudios células madre aisladas del tejido pulpar de incisivos temporales exfoliados en ausencia de patología. Por su parte, Alkaisi Amara y cols. emplearon células madre aisladas del tejido pulpar de incisivos y caninos exfoliados en ausencia de patología (68). Sin embargo, autores como Hiraki y cols. (71) decidieron emplear células madre aisladas del tejido pulpar de caninos temporales retenidos.

Aunque la mayoría de los autores no especifica el origen muestral en cuanto a tipología dental empleada se refiere, algunos de ellos como es el caso de Sakai y cols. (51), refieren el artículo de Miura y cols. (8) en el apartado de aislamiento celular, dando a entender que el tipo dental electo en este estudio sería el incisivo.

Atendiendo al artículo de Miura y cols. (8), siendo precedente en el aislamiento de células madre del tejido pulpar de dientes temporales exfoliados, el tipo idóneo para llevar a cabo dicho aislamiento celular es el incisivo. Sin embargo, se requieren artículos que demuestren la validez de dicho tipo celular con respecto al canino o molar y justifiquen su idoneidad en relación con parámetros como el volumen tisular remanente o el proceso de reabsorción radicular y su influencia sobre la cantidad y calidad de dicho tejido pulpar.

VI-CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN

Como conclusión principal del proyecto, podemos afirmar que, bajo las condiciones metodológicas del mismo, en relación con los resultados obtenidos, los molares temporales exfoliados o extraídos en un momento próximo a la exfoliación natural, presentan

superioridad volumétrica significativa en cuanto al tamaño de la cámara pulpar con respecto a los incisivos y caninos temporales.

Dicha superioridad volumétrica les hace susceptibles de contener una mayor cantidad de tejido pulpar remanente para desempeñar el consecuente aislamiento y cultivo celular lo que los convierte en el tipo dental idóneo en cuanto al aprovechamiento biológico de células madre extraídas del tejido pulpar de dientes temporales se refiere.

Atendiendo a los resultados obtenidos se puede afirmar que:

1. Con relación a la capacidad de la cámara pulpar, los molares temporales presentan superioridad volumétrica frente a incisivos y caninos por lo que constituyen el tipo dental óptimo para el aislamiento de células madre.
2. Las tablas de contingencia elaboradas correlacionan el área y el volumen pulpar para cada grupo dental, lo que ayudará en la selección del proceso de recolección muestral. Los molares constituyen el grupo idóneo para llevar a cabo dicho proceso.
3. El porcentaje de volumen pulpar con respecto al volumen dental total es similar para todos los grupos muestrales. Los molares presentan un porcentaje mayor frente a incisivos y caninos con un 4,72% de media con respecto al volumen total.
4. El CBCT es un método diagnóstico complementario de gran exactitud que permite el estudio del complejo dentinopulpar previo a la exodoncia. Con ello, posibilita determinar si el diente es viable para el aislamiento de células madre.

Se requieren proyectos de investigación que aumenten la validez de los resultados obtenidos.

IX-ANEXOS

ANEXO.1.

INCISIVO	EDAD	SEXO	EXF/EXT	OG	VL	MD	Cuerno dista	Cuerno mesia	Cervix	OG	MD	Cuerno dista	Cuerno mesia	Cervix	OG	VL	MD	VOLUMEN D	AREA D	VOLUMEN P	AREA P
Muestra 1	6,5	0	0	5,7	4,4	5,6	1,2	1,3	2,2	5,7	5,5	1,3	1,4	1,6	5,9	4,2	5,6	72,05	109,67	3,29	13,61
Muestra 2	7,5	0	0	6,4	4	5,1	1,4	2,3	1,9	3,7	4,8	2,3	3,2	1,8	4,8	5,1	5,5	70,24	117,29	6,46	21,71
Muestra 3	6	0	0	5,9	3,9	4,2	1,7	1,8	0,9	5,3	3,7	2,2	2,7	0,7	5,9	4,1	4,2	48,54	102,76	1,15	6,29
Muestra 4	6	0	0	5,5	5,6	4,9	0,8	0,8	1,7	3,3	5,1	1,4	1,7	1,6	5,1	5,6	5,2	69,73	126,87	1,34	6,89
Muestra 5	4,5	1	0	4,8	3,4	3,6	1,7	1,8	1,2	3,9	3,6	1,7	2,1	0,8	5,7	3,5	3,4	35,65	65,86	0,83	5,41
Muestra 6	6	1	0	6,1	4,1	5,1	2,2	2,1	0,9	5,5	4,9	1,8	2	1	6,1	4,6	5,2	71,47	145,74	1,53	7,59
Muestra 7	7	1	0	5,4	5,1	6	0,4	1,1	2,3	5,4	5,9	0,7	1,1	1,3	6,4	5,1	6	92,27	125,83	2,1	9,16
Muestra 8	6	0	0	6,1	5,3	5,2	0,6	1,5	1,9	3	4,7	1,9	1,6	1,5	4,7	5,1	5,3	71,95	132,09	3,78	14,15
Muestra 9	6	1	0	5,1	4,9	4,6	1,9	3,1	1,5	4,2	3,9	1,9	3	1,5	5,7	5	5,1	70,05	106,04	3,27	13,35

Tabla Excel recogida de datos grupo Incisivo. N=9 Edad.

Sexo. Origen exfoliado (exf) o extraído (ext).

Medidas dentales: OG/VL/MD.

Medidas Rx periapical: cuerno distal, cuerno mesial, cervix, OG/MD.

Medidas CBCT: cuerno distal, cuerno mesial, cervix, OG/VL/MD.

Medidas Software: Volumen dental, Área dental, Volumen pulpar, Área pulpar.

CANINO	EDAD	SEXO	EXF/EXT	OG	VL	MD	Cuerno dista	Cuerno mesia	Cervix	OG	MD	Cuerno dista	Cuerno mesia	Cervix	OG	VL	MD	VOLUMEN D	AREA D	VOLUMEN P	AREA P
Muestra 1	13	0	1	6,9	5,8	5,8	2,2	2,4	1,5	5,6	5,1	2,5	2,7	1,5	6,5	5,3	5,4	126,7	234,3	2,9	11,3
Muestra 2	10,5	1	1	7	5,5	5,9	0,9	1,8	2,3	3,5	5,2	1,6	1,5	2,3	5,8	5,7	6,1	89	193,4	3,4	12,7
Muestra 3	10,5	1	1	6,8	6,3	6,7	0,8	0,7	1,8	2,3	4,6	2,4	1,5	4,6	5,1	5,9	7,1	87,8	189,5	18,3	41,9
Muestra 4	10,5	1	1	5,6	6,3	6,8	0,3	0,6	2,4	2,7	5,1	1	1,5	4,1	5,1	6,3	7	110	148,8	5,8	19,6
Muestra 5	10,5	1	1	6,3	5,6	5,9	1,4	1,4	2,5	3	5,2	1,5	1,6	2,1	5,3	5,5	5,7	91,2	136	7,2	22,9
Muestra 6	9,5	1	0	7,5	4,8	5,6	1,8	2,4	1,3	5,2	5,1	2,5	2,2	1,4	7,6	5,1	5,4	110,4	179,3	3,2	13,5
Muestra 7	6	1	0	5,1	5,1	4,5	2,5	3	1,2	3	3,3	2,3	2,6	0,7	4,7	5,3	5	67,5	99,9	2,8	10,8
Muestra 8	10,5	1	0	6,6	5,5	5,6	1,3	2,2	2	6	5,1	0,9	1,9	1,7	6,4	5,4	5,2	88,6	183,9	1,7	9
Muestra 9	15	0	1	5,7	6,3	7	2,3	2,3	1,6	5,8	6,2	1,8	1,6	1,2	5,4	6,1	7,2	145,2	208,5	3,2	11,9
Muestra 10	15	0	1	5,9	6,1	6,9	2,3	2,7	0,9	5,8	6,2	2	1,7	1,8	5,8	6,1	7	152,8	281,7	2,9	11,1
Muestra 11	12	0	1	6,1	5,2	5,6	0,8	0,5	1,8	3,8	5,1	0,8	0,9	3,5	4,1	5,4	5,8	69,5	170,4	3,2	14,7
Muestra 12	11	1	1	6,5	6,1	7,1	3,4	2,7	2,3	5,5	6,5	1,7	2,7	2,1	6,4	5,7	7,3	150,2	213,6	5,1	16,3
Muestra 13	10	0	1	6,2	5,8	6,8	1,5	0,5	1,6	5	6	1,5	0,9	2,9	5,4	6	6,7	106,5	254,5	1,9	10,1
Muestra 14	10	1	1	7,3	5,9	6,5	1,4	2,3	1,7	5,4	5,7	2,1	2,9	1,6	6,1	5,8	6,6	132,7	214,9	3,5	13,5
Muestra 15	10	0	0	5,8	6,1	7	1,9	1,7	1,4	3,8	6,7	1,8	1,2	1,7	4,8	6,7	6,2	105,1	203,2	7,6	31,3
Muestra 16	10	1	1	7,5	5,9	6,1	2	1,8	2	4,2	4,4	1,7	2,8	1,4	6,3	6,2	5,7	159,6	241,6	5,3	19,6
Muestra 17	10	1	0	6,5	5,8	5,9	1,7	1,9	1,6	4,5	5,4	2,1	1,7	1,2	5,4	5,8	6,2	107,5	212,7	3,3	11,3
Muestra 18	9	0	0	6	5,5	6,2	1,5	1,4	1,9	3,1	4,9	1,6	1,9	1,2	6,3	5,8	5,9	91,8	214,9	2,1	8,9

Tabla Excel recogida de datos grupo Canino. N=18 Edad.

Sexo. Origen exfoliado (exf) o extraído (ext).

Medidas dentales: OG/VL/MD.

Medidas Rx periapical: cuerno distal, cuerno mesial, cervix, OG/MD.

Medidas CBCT: cuerno distal, cuerno mesial, cervix, OG/VL/MD.

Medidas Software: Volumen dental, Área dental, Volumen pulpar, Área pulpar.

MOLAR	EDAD	SEXO	EXF/EXT	MEDIDAS DIENTE			MEDIDAS RX PERIAPICAL			MEDIDAS CBCT			MEDIDAS SOFTWARE								
				OG	VL	MD	Cuerno distal	uerno mesia	Cervix	OG	MD	Cuerno distal	uerno mesia	Cervix	OG	VL	MD	VOLUMEN D	AREA D	VOLUMEN P	AREA P
Muestra 1	10	1	1	6,8	8,6	9,4	2,6	3,3	3,1	4,8	8,9	2,5	3,2	2,8	5,9	8,7	9,6	355,6	609,3	10	42,6
Muestra 2	11	1	0	5,1	7,7	6,2	0,5	0,7	2,2	2,8	6,7	1,6	2,4	4,3	3,5	8	7	122,4	286,9	12,2	34,8
Muestra 3	11,5	0	0	5,6	9,2	8,3	0,6	0,4	3,4	2,7	7,6	2,5	1,1	2,4	4,9	9,1	8,6	288,9	457,5	7,9	30,6
Muestra 4	12	0	0	6,3	8,7	9,5	0,7	1,3	3,6	4	8,8	0,9	1,6	3,4	4,6	8,8	9,6	230,8	467,6	15,6	62,9
Muestra 5	12	0	1	5,3	8,2	6,4	1,6	1,3	2,4	4	6,4	1,7	1,2	1,5	4,2	8,5	6,8	224,4	352,1	5,4	23,1
Muestra 6	9	0	0	5,8	8,2	9,4	0,5	1,3	4,7	3,7	8,8	0,7	1,5	3,9	4,4	8,2	9,6	208,8	451,6	9,8	50,4
Muestra 7	10	0	0	5,3	9,1	8,1	1	0,7	3,4	3,6	7,6	1	0,4	2,1	5,4	9,7	8	182	482,5	19,2	56,7
Muestra 8	11,5	0	1	5,7	9	8,4	2,8	2,2	2	5,1	7,6	2	1,4	1,4	4,6	9,1	8,2	293,3	518,9	11,3	34,3
Muestra 9	9	0	0	4,9	9,3	8,4	0,8	1	2,9	3,3	8,1	1,1	1,2	2,7	4,7	9,2	8,5	215,6	490,18	9,7	39,9
Muestra 10	9	0	0	5,7	6,5	7,4	0,7	1,1	4	3,2	7,2	0,5	1,6	3,5	4,5	6,7	7,9	86,14	308,3	10,9	41,7
Muestra 11	13	1	0	5,3	9,8	9,3	0,9	1,2	5,1	3,8	9	0,7	1,2	4,8	5,2	10,4	9,4	251,9	557,7	12,6	44,8
Muestra 12	12	0	1	5,9	8,7	10,2	0,9	1,5	4	4,4	9,9	1,3	1,9	3,2	4,8	9	9,9	283	545,1	12,6	54,4
Muestra 13	10	1	0	6,2	6,4	7,4	0,4	1	5	2,8	7	1,2	1,1	4,3	4	7,5	8	123,4	294	2,5	16,9
Muestra 14	10,5	0	0	6,2	6,5	7,9	0,4	0,6	4,3	3	7,4	0,5	1,3	2,4	5,9	6,5	7,9	137,7	324,1	4	18,7
Muestra 15	12	0	0	5,7	8,8	8,5	1,2	0,8	4,9	4,1	8,3	0,8	1,1	2,7	5,1	9,3	7,8	197,2	481,1	25,5	66,2
Muestra 16	11	1	0	5,6	8,3	7	0,8	0,9	4,9	3,4	7,5	0,9	1,2	4,1	3,6	8,3	8,2	154,8	343,9	14,24	51,8
Muestra 17	11	0	0	5,4	8,3	9,4	0,9	1,8	5,3	4,2	9,1	1,4	1,6	4	4,8	8,5	9,4	212,2	456	10,2	50,6
Muestra 18	10	1	1	6,6	8,5	9,5	1,6	3,3	3,7	5,1	9	2	3,6	2,8	5,4	8,1	9,9	385	624,2	10,2	44
Muestra 19	12	0	0	5,6	9,1	10,5	0,6	1,8	6,7	4,3	10,2	0,7	2,3	6	4,6	9	10,8	244,8	562,5	1,1	42,9
Muestra 20	9	0	0	5,3	6,4	6,6	0,4	0,5	3,8	2,8	6,3	0,4	1,2	3,7	4,6	6,6	7,6	100,9	258,8	1,4	11,6
Muestra 21	11	1	1	6,1	8	9,6	1	1,7	4,5	4,3	9,1	1,1	2	3,8	5,3	8,5	9,8	255,1	502,1	23,8	64,3
Muestra 22	10	1	1	6,8	9,2	7,9	2,3	1,4	2	4,8	7,9	2,3	2,8	1,2	5	9,3	7,9	329,8	588,8	11,1	39,4
Muestra 23	12	0	1	5,8	9,8	8	2,3	2,3	3,5	5,4	8,5	2	2,3	2,2	5,8	10,1	8,2	438,5	702,2	13	39

Tabla Excel recogida de datos grupo Canino. N=18 Edad.

Sexo. Origen exfoliado (exf) o extraído (ext).

Medidas dentales: OG/VL/MD.

Medidas Rx periapical: cuerno distal, cuerno mesial, cervix, OG/MD.

Medidas CBCT: cuerno distal, cuerno mesial, cervix, OG/VL/MD.

Medidas Software: Volumen dental, Área dental, Volumen pulpar, Área pulpar.

ANEXO.2.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL TRATAMIENTO ODONTOPEDIATRICO

Nombre del paciente: _____

Edad del paciente: _____

Lugar y fecha de nacimiento: _____

Yo,

_____ de _____
 _____ edad, con
 DNI _____,
 domiciliado en _____
 como representante legal de

_____ con DNI: _____ he sido informado/a por el Dr. / Dra. _____ con N.º de colegiado _____ de los procedimientos propios clínicos en odontopediatría que constan en el plan de tratamiento otorgando mi consentimiento para realizar las prácticas necesarias al caso clínico. Estoy de acuerdo con que el niño sea sometido a anestesia local en caso de que fuera necesario, sabiendo los riesgos que ello implica, delegando al odontólogo la elección del tipo de anestesia. Se me ha explicado el diagnóstico, la naturaleza de la enfermedad que padece mi representado y su evolución natural, objetivos del tratamiento propuesto, así como, las alternativas del tratamiento que pueden ser practicadas, descripción de las consecuencias derivadas del tratamiento o intervención, beneficios y complicaciones comunes que se pueden desencadenar durante o después del mismo.

Diagnóstico: _____

Tratamiento al que va a ser sometido el menor de edad: _____

Beneficios esperados del tratamiento: _____

Consecuencias de la no realización del tratamiento: _____

Comprendo y entiendo que, si no se realiza el tratamiento odontológico, podría sufrir cualquiera de los siguientes problemas: enfermedad ósea, inflamación de las encías, infección, sensibilidad, movilidad de los dientes seguida por la necesidad de realizar la extracción.

Comprendo que la Odontopediatría, es el área de la odontología que se encarga de restablecer la salud bucal integral de niños y adolescentes. Comprendo que la odontología no es una ciencia exacta y por lo que los resultados están sujetos a múltiples factores. He tenido información clara y suficiente, la oportunidad de preguntar y he obtenido respuestas

satisfactorias, me siento libre para decidir de acuerdo a mis valores e intereses y me declaro competente para tomar la decisión que corresponda.

Por lo antes expuesto doy el consentimiento al Dr/Dra: _____ con N.º de colegiado: _____ a realizar el tratamiento odontopediátrico anteriormente expuesto al menor de edad con _____ con DNI: _____.

Firma del representante legal o tutor

Firma del Odontólogo/a responsable

Madrid a _____ de _____ del año _____.

Consentimiento informado para la extracción de dientes temporales por motivos meramente terapéuticos. La donación posterior de la pieza fue voluntaria, anónima e independiente al tratamiento odontopediátrico requerido.

ANEXO.3.

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
VOLUMEN D	Incisivos	9	66,8833	16,04402	5,34801	54,5508	79,2159	35,65	92,27
	Caninos	18	110,6722	28,17882	6,64181	96,6592	124,6852	67,50	159,60
	Molares	23	231,8365	91,31476	19,04044	192,3491	271,3240	86,14	438,50
	Total	50	158,5258	94,69819	13,39235	131,6129	185,4387	35,65	438,50
AREA D	Incisivos	9	114,6833	22,83854	7,61285	97,1281	132,2386	65,86	145,74
	Caninos	18	198,9500	43,29123	10,20384	177,4218	220,4782	99,90	281,70
	Molares	23	463,7122	121,23191	25,27860	411,2876	516,1368	258,80	702,20

	Total	50	305,5726	173,03633	24,47103	256,3962	354,7490	65,86	702,20
VOLUMEN P	Incisivos	9	2,6389	1,78260	0,59420	1,2687	4,0091	0,83	6,46
	Caninos	18	4,6333	3,81020	0,89807	2,7386	6,5281	1,70	18,30
	Molares	23	11,4843	5,79205	1,20773	8,9797	13,9890	1,40	25,50
	Total	50	7,4258	5,95171	0,84170	5,7343	9,1173	0,83	25,50
AREA P	Incisivos	9	10,9067	5,27045	1,75682	6,8554	14,9579	5,41	21,71
	Caninos	18	16,1333	8,57335	2,02076	11,8699	20,3968	8,90	41,90
	Molares	23	41,7957	14,86688	3,09996	35,3667	48,2246	11,60	66,20
	Total	50	26,9972	17,97148	2,54155	21,8898	32,1046	5,41	66,20

Tabla de estadística descriptiva para volúmenes y áreas tanto dentales como pulpares, para los tres grupos muestrales estudiados. Media, Desviación estándar, Intervalo de confianza al 95%, Máximo y Mínimo.

ANEXO.4.

Test Statistics^{a,b}

	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
PERIAPICAL OG - OG	-2,375 ^c	0,018
CBCT OG - OG	-0,169 ^c	0,866
CBCT VL - VL	-1,023 ^d	0,306

PERIAPICAL MD - MD	-2,038 ^c	0,042
CBCT MD - MD	-1,577 ^d	0,115
CBCT Cuerno distal - PERIAPICAL Cuerno distal	-1,859 ^d	0,063
CBCT Cuerno mesial - PERIAPICAL Cuerno mesial	-1,852 ^d	0,064
CBCT Cervix - PERIAPICAL Cervix	-2,254 ^c	0,024
CBCT OG - PERIAPICAL OG	-2,670 ^d	0,008
CBCT MD - PERIAPICAL MD	-2,199 ^d	0,028

a. Tipo = Incisivos

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

c. Based on positive ranks.

d. Based on negative ranks.

Test de Wilcoxon para grupo incisivo.

Análisis discrepancias: medidas radiografía periapical-medidas dentales, medidas CBCT-medidas dentales, medidas radiografía periapical – medidas CBCT.

ANEXO.5.

Test Statistics^{a,b}

	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
PERIAPICAL OG - OG	-3,660 ^c	0,000
CBCT OG - OG	-3,401 ^c	0,001
CBCT VL - VL	-0,514 ^d	0,607
PERIAPICAL MD - MD	-3,735 ^c	0,000
CBCT MD - MD	-0,154 ^c	0,878
CBCT Cuerno distal - PERIAPICAL Cuerno distal	-0,804 ^d	0,421
CBCT Cuerno mesial - PERIAPICAL Cuerno mesial	-0,688 ^d	0,492
CBCT Cervix - PERIAPICAL Cervix	-0,414 ^d	0,679
CBCT OG - PERIAPICAL OG	-3,484 ^d	0,000
CBCT MD - PERIAPICAL MD	-3,531 ^d	0,000

a. Tipo = Caninos

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

c. Based on positive ranks.

d. Based on negative ranks.

Test de Wilcoxon para grupo canino.

Análisis discrepancias: medidas radiografía periapical-medidas dentales, medidas CBCT-medidas dentales, medidas radiografía periapical – medidas CBCT.

ANEXO.6.

Test Statistics^{a,b}

	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
PERIAPICAL OG - OG	-4,199 ^c	0,000
CBCT OG - OG	-4,060 ^c	0,000
CBCT VL - VL	-2,930 ^d	0,003
PERIAPICAL MD - MD	-2,631 ^c	0,009
CBCT MD - MD	-2,528 ^d	0,011
CBCT Cuerno distal - PERIAPICAL Cuerno distal	-1,556 ^d	0,120
CBCT Cuerno mesial - PERIAPICAL Cuerno mesial	-2,721 ^d	0,007
CBCT Cervix - PERIAPICAL Cervix	-3,532 ^c	0,000
CBCT OG - PERIAPICAL OG	-3,956 ^d	0,000
CBCT MD - PERIAPICAL MD	-3,657 ^d	0,000

a. Tipo = Molares

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

c. Based on positive ranks.

d. Based on negative ranks.

Test de Wilcoxon para grupo molar.

Análisis discrepancias: medidas radiografía periapical-medidas dentales, medidas CBCT-medidas dentales, medidas radiografía periapical – medidas CBCT.

ANEXO.7.

Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,111 ^a	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of VL is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,730 ^a	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,730 ^a	Retain the null hypothesis.
4	The distribution of PERIAPICAL Cuerno distal is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,286 ^a	Retain the null hypothesis.
5	The distribution of PERIAPICAL Cuerno mesial is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,413 ^a	Retain the null hypothesis.
6	The distribution of PERIAPICAL Cervix is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,556 ^a	Retain the null hypothesis.

7	The distribution of PERIAPICAL OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,413 ^a	Retain the null hypothesis.
8	The distribution of PERIAPICAL MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,905 ^a	Retain the null hypothesis.
9	The distribution of CBCT Cuerno distal is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,413 ^a	Retain the null hypothesis.
10	The distribution of CBCT Cuerno mesial is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	1,000 ^a	Retain the null hypothesis.
11	The distribution of CBCT Cervix is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,190 ^a	Retain the null hypothesis.
12	The distribution of CBCT OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,190 ^a	Retain the null hypothesis.
13	The distribution of CBCT VL is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,556 ^a	Retain the null hypothesis.
14	The distribution of CBCT MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,556 ^a	Retain the null hypothesis.
15	The distribution of VOLUMEN D is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	1,000 ^a	Retain the null hypothesis.
16	The distribution of AREA D is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,905 ^a	Retain the null hypothesis.
17	The distribution of VOLUMEN P is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,413 ^a	Retain the null hypothesis.
18	The distribution of AREA P is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,413 ^a	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is 0,050.

a. Exact significance is displayed for this test.

Tabla resumen test U-Mann-Whitney para grupo Incisivo.

Análisis de la asociación entre las variables cuantitativas y el sexo.

ANEXO.8.

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,085 ^a	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of VL is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,724 ^a	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,246 ^a	Retain the null hypothesis.
4	The distribution of PERIAPICAL Cuerno distal is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,375 ^a	Retain the null hypothesis.

5	The distribution of PERIAPICAL Cuerno mesial is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,536 ^a	Retain the null hypothesis.
6	The distribution of PERIAPICAL Cervix is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,069 ^a	Retain the null hypothesis.
7	The distribution of PERIAPICAL OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,285 ^a	Retain the null hypothesis.
8	The distribution of PERIAPICAL MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,211 ^a	Retain the null hypothesis.
9	The distribution of CBCT Cuerno distal is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,724 ^a	Retain the null hypothesis.
10	The distribution of CBCT Cuerno mesial is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,151 ^a	Retain the null hypothesis.
11	The distribution of CBCT Cervix is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,860 ^a	Retain the null hypothesis.
12	The distribution of CBCT OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,659 ^a	Retain the null hypothesis.
13	The distribution of CBCT VL is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,375 ^a	Retain the null hypothesis.
14	The distribution of CBCT MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,536 ^a	Retain the null hypothesis.
15	The distribution of VOLUMEN D is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,724 ^a	Retain the null hypothesis.

16	The distribution of AREA D is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,069 ^a	Retain the null hypothesis.
17	The distribution of VOLUMEN P is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,126 ^a	Retain the null hypothesis.
18	The distribution of AREA P is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,211 ^a	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is 0,050.

a. Exact significance is displayed for this test.

Tabla resumen test U-Mann-Whitney para grupo Canino.

Análisis de la asociación entre las variables cuantitativas y el sexo.

ANEXO.9.

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,190 ^a	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of VL is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,591 ^a	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,728 ^a	Retain the null hypothesis.
4	The distribution of PERIAPICAL Cuerno distal is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,506 ^a	Retain the null hypothesis.

5	The distribution of PERIAPICAL Cuerno mesial is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,466 ^a	Retain the null hypothesis.
6	The distribution of PERIAPICAL Cervix is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	1,000 ^a	Retain the null hypothesis.
7	The distribution of PERIAPICAL OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,728 ^a	Retain the null hypothesis.
8	The distribution of PERIAPICAL MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,825 ^a	Retain the null hypothesis.
9	The distribution of CBCT Cuerno distal is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,190 ^a	Retain the null hypothesis.
10	The distribution of CBCT Cuerno mesial is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,131 ^a	Retain the null hypothesis.
11	The distribution of CBCT Cervix is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,131 ^a	Retain the null hypothesis.
12	The distribution of CBCT OG is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,925 ^a	Retain the null hypothesis.
13	The distribution of CBCT VL is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,591 ^a	Retain the null hypothesis.
14	The distribution of CBCT MD is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,681 ^a	Retain the null hypothesis.
15	The distribution of VOLUMEN D is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,506 ^a	Retain the null hypothesis.
16	The distribution of AREA D is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,506 ^a	Retain the null hypothesis.

17	The distribution of VOLUMEN P is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,591 ^a	Retain the null hypothesis.
18	The distribution of AREA P is the same across categories of SEXO.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,875 ^a	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is 0,050. a.

Exact significance is displayed for this test.

Tabla resumen test U-Mann-Whitney para grupo Molar.

Análisis de la asociación entre las variables cuantitativas y el sexo.

ANEXO.10.

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of OG is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,616 ^a	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of VL is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,053 ^a	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of MD is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,125 ^a	Retain the null hypothesis.
4	The distribution of PERIAPICAL Cuerno distal is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,553 ^a	Retain the null hypothesis.
5	The distribution of PERIAPICAL Cuerno mesial is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,437 ^a	Retain the null hypothesis.
6	The distribution of PERIAPICAL Cervix is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,151 ^a	Retain the null hypothesis.

7	The distribution of PERIAPICAL OG is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	1,000 ^a	Retain the null hypothesis.
8	The distribution of PERIAPICAL MD is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,494 ^a	Retain the null hypothesis.
9	The distribution of CBCT Cuerno distal is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,494 ^a	Retain the null hypothesis.
10	The distribution of CBCT Cuerno mesial is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,616 ^a	Retain the null hypothesis.
11	The distribution of CBCT Cervix is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,013 ^a	Reject the null hypothesis.
12	The distribution of CBCT OG is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,820 ^a	Retain the null hypothesis.
13	The distribution of CBCT VL is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,335 ^a	Retain the null hypothesis.
14	The distribution of CBCT MD is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,041 ^a	Reject the null hypothesis.
15	The distribution of VOLUMEN D is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,180 ^a	Retain the null hypothesis.
16	The distribution of AREA D is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,291 ^a	Retain the null hypothesis.
17	The distribution of VOLUMEN P is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,213 ^a	Retain the null hypothesis.

18	The distribution of AREA P is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,151 ^a	Retain the null hypothesis.
----	--	---	--------------------	-----------------------------

Asymptotic significances are displayed. The significance level is 0,050.

a. Exact significance is displayed for this test.

Tabla resumen test U-Mann Whitney para grupo Canino.

Análisis de la relación entre las variables cuantitativas con la categoría exfoliado o extraído.

ANEXO.11.

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of OG is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,028 ^a	Reject the null hypothesis.
2	The distribution of VL is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,466 ^a	Retain the null hypothesis.
3	The distribution of MD is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,357 ^a	Retain the null hypothesis.
4	The distribution of PERIAPICAL Cuerno distal is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,000 ^a	Reject the null hypothesis.

5	The distribution of PERIAPICAL Cuerno mesial is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,000 ^a	Reject the null hypothesis.
6	The distribution of PERIAPICAL Cervix is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,028 ^a	Reject the null hypothesis.
7	The distribution of PERIAPICAL OG is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,000 ^a	Reject the null hypothesis.
8	The distribution of PERIAPICAL MD is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,265 ^a	Retain the null hypothesis.
9	The distribution of CBCT Cuerno distal is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,001 ^a	Reject the null hypothesis.
10	The distribution of CBCT Cuerno mesial is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,008 ^a	Reject the null hypothesis.
11	The distribution of CBCT Cervix is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,019 ^a	Reject the null hypothesis.
12	The distribution of CBCT OG is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,115 ^a	Retain the null hypothesis.
13	The distribution of CBCT VL is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,357 ^a	Retain the null hypothesis.
14	The distribution of CBCT MD is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,392 ^a	Retain the null hypothesis.

15	The distribution of VOLUMEN D is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,000 ^a	Reject the null hypothesis.
16	The distribution of AREA D is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,002 ^a	Reject the null hypothesis.
17	The distribution of VOLUMEN P is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,591 ^a	Retain the null hypothesis.
18	The distribution of AREA P is the same across categories of EXF/EXT.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	0,925 ^a	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is 0,050.

a. Exact significance is displayed for this test.

Tabla resumen test U-Mann Whitney para grupo Molar.

Análisis de la relación entre las variables cuantitativas con la categoría exfoliado o extraído.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Nelson SJ. Wheeler's Dental Anatomy, Physiology and Occlusion-E-Book: Elsevier Health Sciences; 2014.
- (2) Black GV. Descriptive anatomy of the human teeth. 5th ed. Philadelphia: SS White manufacturing Company; 1897.
- (3) Curson MEJ, Duggal MS. Structure of Teeth. Dental disease. 2nd ed. Boston: MA. Elsevier; 2003.
- (4) Waggoner WF, Nelson T. Restorative dentistry for the primary dentition. Pediatric Dentistry: Elsevier; 2019. p. 304-328. e3.
- (5) MUTHU DMK, SHIVA D. Paediatric Dentistry: Principles and Practice: Elsevier India; 2011.
- (6) Pineda Paz C. Atlas de Anatomía Dental. Perú: SAM; 2004.
- (7) Fuks AB, Kupietzky A, Guelmann M. Pulp therapy for the primary dentition. Pediatric Dentistry: Elsevier; 2019. p. 329-351. e1.
- (8) Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100(10): 5807-12.
- (9) Caley Zambrano AM. Estudio de la reabsorción fisiológica de molares temporales y su correlación con parámetros de maduración dentaria. [Tesis Doctoral]. Madrid. E-prints, Universidad Complutense; 2014.
- (10) Monteiro J, Day P, Duggal M, Morgan C, Rodd H. Pulpal status of human primary teeth with physiological root resorption. Int J Paediatr Dent. 2009; 19(1): 16-25.
- (11) Nanci A. Ten Cate's Oral Histology-E-Book: Development, Structure, and Function. Elsevier Health Sciences; 2017.
- (12) Bolan M, de Carvalho Rocha MJ. Histopathologic study of physiological and pathological resorptions in human primary teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007; 104(5): 680-5.
- (13) Zhu Y, Shang L, Chen X, Kong X, Liu N, Bai Y, et al. Deciduous dental pulp stem cells are involved in osteoclastogenesis during physiologic root resorption. J Cell Physiol. 2013; 228(1): 207-15.
- (14) Shimazaki E, Karakida T, Yamamoto R, Kobayashi S, Fukae M, Yamakoshi Y et al. TGF- β and Physiological Root Resorption of Deciduous Teeth. Int J Mol Sci. 2017; 18(1): 49.
- (15) Bernardi L, Luisi SB, Fernandes R, Dalberto TP, Valentim L, Chies JAB et al. The isolation of stem cells from human deciduous teeth pulp is related to the physiological process of resorption. J Endod. 2011; 37(7): 973-9.
- (16) Sanz Coarasa AC. Análisis de la asimetría en el proceso de reabsorción radicular de los molares temporales inferiores.[Tesis Doctoral]. Madrid. E-prints, Universidad Complutense; 2015.

- (17) Yildirim S, Yapar M, Sermet U, Sener K, Kubar A. The role of dental pulp cells in resorption of deciduous teeth. *Oral Surgery, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(1): 113-20.
- (18) Wang C, Wang Y, Liu N, Cai C, Xu L. Effect of tumor necrosis factor α on ability of SHED to promote osteoclastogenesis during physiological root resorption. *Biomed Pharmacother.* 2019; 114: 108803.
- (19) Wang L, Zhou Z, Chen Y, Yuan S, Du Y, Ju X, et al. The alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor of deciduous dental pulp stem cells regulates osteoclastogenesis during physiological root resorption. *Stem Cells Dev.* 2017; 26(16):1186-98.
- (20) Pimentel-Parra G, Murcia-Ordoñez B. Células madre, una nueva alternativa médica. *Perinatología y Reproducción Humana.* 2017; 31(1): 28-33.
- (21) Ermolaeva M, Neri F, Ori A, Rudolph KL. Cellular and epigenetic drivers of stem cell ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018; 19(9): 594.
- (22) Bissels U, Eckardt D, Bosio A. Characterization and classification of stem cells. *Regenerative Medicine: Springer;* 2013. p. 155-176.
- (23) Hyun I. The bioethics of stem cell research and therapy. *J Clin Invest.* 2010; 120(1): 71-5.
- (24) Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: past, present, and future. *Cell Stem Cell.* 2012; 10(6): 678-84.
- (25) Sanz AR, Carrión FS, Chaparro AP. Mesenchymal stem cells from the oral cavity and their potential value in tissue engineering. *Periodontol 2000.* 2015; 67(1): 251-67.
- (26) Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry-part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res.* 2012;56(3): 151-65.
- (27) Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry-Part II: Clinical applications. *J Prosthodont Res.* 2012; 56(4): 229-48.
- (28) Sánchez-Caro J, Abellán F. Investigación biomédica en España: aspectos bioéticos, jurídicos y científicos. Granada: Comares; 2007.
- (29) Friedenstein AJ, Petrakova KV, Kurolesova AI, Frolova GP. Heterotopic transplants of bone marrow. *Transplantation.* 1968; 6(2): 230-47.
- (30) Krampera M, Galipeau J, Shi Y, Tarte K, Sensebe L. Immunological characterization of multipotent mesenchymal stromal cells—The International Society for Cellular Therapy (ISCT) working proposal. *Cytotherapy.* 2013; 15(9): 1054-61.
- (31) Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. *Eur J Immunol.* 2006; 36(10): 2566-73.
- (32) Tyndall A, Walker UA, Cope A, Dazzi F, De Bari C, Fibbe W et al. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells: a review based on an interdisciplinary meeting held at the Kennedy Institute of Rheumatology Division, London, UK, 31 October 2005-2007.
- (33) Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(25): 13625-30.

- (34) Seo B, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet*. 2004; 364(9429): 149-55.
- (35) Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod*. 2008; 34(2): 166-71.
- (36) Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PloS One*. 2006; 1(1): e79.
- (37) Morszeck C, Götz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kühn U, Möhl C, et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biology*. 2005; 24(2): 155-65.
- (38) Mitrano TI, Grob MS, Carrion F, Nova Lamperti E, Luz PA, Fierro FS, et al. Culture and characterization of mesenchymal stem cells from human gingival tissue. *J Periodontol*. 2010; 81(6): 917-25.
- (39) Hara K, Yamada Y, Nakamura S, Umemura E, Ito K, Ueda M. Potential characteristics of stem cells from human exfoliated deciduous teeth compared with bone marrow-derived mesenchymal stem cells for mineralized tissue-forming cell biology. *J Endod*. 2011; 37(12): 1647-52.
- (40) Taguchi T, Yanagi Y, Yoshimaru K, Zhang X, Matsuura T, Nakayama K et al. Regenerative medicine using stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): a promising new treatment in pediatric surgery. *Surg Today*. 2019; 49(4): 316-22.
- (41) Kanafi MM, Rajeshwari YB, Gupta S, Dadheech N, Nair PD, Gupta PK et al. Transplantation of islet-like cell clusters derived from human dental pulp stem cells restores normoglycemia in diabetic mice. *Cytotherapy*. 2013; 15(10): 1228-36.
- (42) Sakai K, Yamamoto A, Matsubara K, Nakamura S, Naruse M, Yamagata M et al. Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. *J Clin Invest*. 2012; 122(1): 80-90.
- (43) Shen C, Li L, Feng T, Li J, Yu M, Lu Q et al. Dental pulp stem cells derived conditioned medium promotes angiogenesis in hindlimb ischemia. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2015; 12(1): 59-68.
- (44) Loo ZX, Kunasekaran W, Govindasamy V, Musa S, Abu Kasim NH. Comparative analysis of cardiovascular development related genes in stem cells isolated from deciduous pulp and adipose tissue. *ScientificWorld Journal*. 2014; 186508.
- (45) Yamaza T, Alatas FS, Yuniartha R, Yamaza H, Fujiyoshi JK, Yanagi Y et al. In vivo hepatogenic capacity and therapeutic potential of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in liver fibrosis in mice. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6: 171.
- (46) Chen K, Xiong H, Xu N, Shen Y, Huang Y, Liu C. Chondrogenic potential of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in vitro and in vivo. *Acta Odontol Scand*. 2014; 72(8): 664-72.
- (47) Király M, Kádár K, Horváthy DB, Nardai P, Rácz GZ, Lacza Z, et al. Integration of neuronally predifferentiated human dental pulp stem cells into rat brain in vivo. *Neurochem Int*. 2011; 59(3): 371-81.

- (48) Huang G, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res.* 2009; 88(9): 792-806.
- (49) Tziafas D, Kodonas K. Differentiation potential of dental papilla, dental pulp, and apical papilla progenitor cells. *J Endod.* 2010; 36(5): 781-89.
- (50) Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, Zhang Z, Miyazawa M, Shi S et al. Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. *J Endod.* 2008; 34(8): 962-69.
- (51) Sakai V, Zhang Z, Dong Z, Neiva K, Machado M, Shi S et al. SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *J Dent Res.* 2010; 89(8): 791-6.
- (52) Seo B, Sonoyama W, Yamaza T, Coppe C, Kikuri T, Akiyama K et al. SHED repair critical. size calvarial defects in mice. *Oral Dis.* 2008; 14(5): 428-34.
- (53) Su W, Pan Y. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth differentiate toward neural cells in a medium dynamically cultured with Schwann cells in a series of polydimethylsiloxanes scaffolds. *J Neural Eng.* 2016; 13(4): 046005.
- (54) Martinez Saez D, Sasaki RT, Neves Ad C, da Silva M, Cavenaghi Pereira. Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth: A Growing Literature. *Cells Tissues Organs.* 2016; 202(5-6): 269-80.
- (55) Xie J, Rao N, Zhai Y, Li J, Zhao Y, Ge L et al. Therapeutic effects of stem cells from human exfoliated deciduous teeth on diabetic peripheral neuropathy. *Diabetology & Metab Syndr.* 2019; 11(1): 38.
- (56) Yamaza T, Kentaro A, Chen C, Liu Y, Shi Y, Gronthos S, et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther.* 2010; 1(1): 5.
- (57) Nakamura S, Yamada Y, Katagiri W, Sugito T, Ito K, Ueda M. Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp. *J Endod.* 2009; 35(11): 153642.
- (58) Kunimatsu R, Nakajima K, Awada T, Tsuka Y, Abe T, Ando K, et al. Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018; 501(1): 193-8.
- (59) Rosa V, Zhang Z, Grande RHM, Nör ,J.E. Dental pulp tissue engineering in fulllength human root canals. *J Dent Res.* 2013; 92(11): 970-75.
- (60) Prasad MGS, Ramakrishna J, Babu DN. Allogeneic stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth (SHED) for the management of periapical lesions in permanent teeth: Two case reports of a novel biologic alternative treatment. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2017 Spring;11(2):117-122.
- (61) de Cara, Sueli Patricia Harumi Miyagi, Origassa CST, de Sá Silva F, Moreira MSN, de Almeida DC, Pedroni ACF, et al. Angiogenic properties of dental pulp stem cells conditioned medium on endothelial cells in vitro and in rodent orthotopic dental pulp regeneration. *Heliyon* 2019;5(4):e01560.
- (62) Fu X, Jin L, Ma P, Fan Z, Wang S. Allogeneic stem cells from deciduous teeth in treatment for periodontitis in miniature swine. *J Periodontol* 2014 06;85(6):845-851.

- (63) Gao X, Shen Z, Guan M, Huang Q, Chen L, Qin W, et al. Immunomodulatory role of stem cells from human exfoliated deciduous teeth on periodontal regeneration. *Tissue Engineering Part A* 2018;24(17-18):1341-1353.
- (64) Qiao YQ, Zhu LS, Cui SJ, Zhang T, Yang RL, Zhou YH. Local Administration of Stem Cells from Human Exfoliated Primary Teeth Attenuate Experimental Periodontitis in Mice. *Chin J Dent Res.* 2019; 22(3): 157-63.
- (65) Luo P, Jiang C, Ji P, Wang M, Xu J. Exosomes of stem cells from human exfoliated deciduous teeth as an anti-inflammatory agent in temporomandibular joint chondrocytes via miR-100-5p/mTOR. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 10(1): 216.
- (66) Ogasawara N, Kano F, Hashimoto N, Mori H, Yao L, Linze X, et al. Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating experimental temporomandibular joint osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2020; 28(6): 831-41.
- (67) Behnia A, Haghghat A, Talebi A, Nourbakhsh N, Heidari F. Transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth for bone regeneration in the dog mandibular defect. *World J Stem Cells.* 2014; 6(4): 505-10.
- (68) Alkaisi A, Mutum SS, Ahmad ZAR, Masudi S, Abd Razak NH. Transplantation of human dental pulp stem cells: enhance bone consolidation in mandibular distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013; 71(10): 1758.
- (69) Sebastian A, Kannan T, Norazmi M, Nurul A. Interleukin_{17A} promotes osteogenic differentiation by increasing OPG/RANKL ratio in stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED). *J Tissue Eng Regen Med.* 2018; 12(8): 1856-66.
- (70) Lee J, Kim H, Park J, Lee D, Zhang S, Green DW, et al. Developing palatal bone using human mesenchymal stem cell and stem cells from exfoliated deciduous teeth cell sheets. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019; 13(2): 319-27.
- (71) Hiraki T, Kunimatsu R, Nakajima K, Abe T, Yamada S, Rikitake K, et al. Stem cell-derived conditioned media from human exfoliated deciduous teeth promote bone regeneration. *Oral Dis.* 2020; 26(2): 381-90.
- (72) Prahāsanti C, Subrata LH, Saskianti T, Suardita K, Ernawati DS. Combined Hydroxyapatite Scaffold and Stem Cell from Human Exfoliated Deciduous Teeth Modulating Alveolar Bone Regeneration via Regulating Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B and Osteoprotegerin System. *Iran J Basic Med Sci.* 2019; 44(5): 415.
- (73) Novais A, Lesieur J, Sadoine J, Slimani L, Baroukh B, Saubaméa B et al. Priming dental pulp stem cells from human exfoliated deciduous teeth with fibroblast growth factor₂ enhances mineralization within tissue-engineered constructs implanted in craniofacial bone defects. *Stem Cells Transl Med.* 2019; 8(8): 844-57.
- (74) Mita T, Furukawa-Hibi Y, Takeuchi H, Hattori H, Yamada K, Hibi H et al. Conditioned medium from the stem cells of human dental pulp improves cognitive function in a mouse model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res.* 2015; 293: 189-97.
- (75) Fujii H, Matsubara K, Sakai K, Ito M, Ohno K, Ueda M et al. Dopaminergic differentiation of stem cells from human deciduous teeth and their therapeutic benefits for Parkinsonian rats. *Brain Res.* 2015; 1613: 59-72.

- (76) Chen Y, Lai P, Chien Y, Lee P, Lai Y, Ma H et al. Improvement of Impaired Motor Functions by Human Dental Exfoliated Deciduous Teeth Stem Cell-Derived Factors in a Rat Model of Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(11): 3807.
- (77) Inoue T, Sugiyama M, Hattori H, Wakita H, Wakabayashi T, Ueda M. Stem cells from human exfoliated deciduous tooth-derived conditioned medium enhance recovery of focal cerebral ischemia in rats. *Tissue Eng Part A.* 2013; 19(1-2): 24-9.
- (78) Zhu S, Min D, Zeng J, Ju Y, Liu Y, Chen X. Transplantation of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth Decreases Cognitive Impairment from Chronic Cerebral Ischemia by Reducing Neuronal Apoptosis in Rats. *Stem Cells Int.* 2020; 2020: 6393075.
- (79) Li Y, Yang Y, Ren J, Xu F, Chen F, Li A. Exosomes secreted by stem cells from human exfoliated deciduous teeth contribute to functional recovery after traumatic brain injury by shifting microglia M1/M2 polarization in rats. *Stem Cell Res Ther.* 2017; 8(1): 198.
- (80) Nicola F, Marques MR, Odorcyk F, Petenuzzo L, Aristimunha D, Vizuete A et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth modulate early astrocyte response after spinal cord contusion. *Mol Neurobiol.* 2019; 56(1): 748-60.
- (81) Rossato C, Brandao WN, Castro SB, de Almeida DC, Maranduba CM, Camara NO, et al. Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth reduce tissue-infiltrating inflammatory cells improving clinical signs in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Biologicals.* 2017; 49: 62-8.
- (82) Shimojima C, Takeuchi H, Jin S, Parajuli B, Hattori H, Suzumura A et al. Conditioned Medium from the Stem Cells of Human Exfoliated Deciduous Teeth Ameliorates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Immunol.* 2016;196(10): 4164-71.
- (83) Sugimura-Wakayama Y, Katagiri W, Osugi M, Kawai T, Ogata K, Sakaguchi K et al. Peripheral nerve regeneration by secretomes of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cells Dev.* 2015; 24(22): 2687-99.
- (84) Pereira LV, Bento RF, Cruz DB, Marchi C, Salomone R, Oiticicca J et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) differentiate in vivo and promote facial nerve regeneration. *Cell Transplant.* 2019; 28(1): 55-64.
- (85) Kim G, Shin K, Pae E. Zinc up-regulates insulin secretion from β cell-like cells derived from stem cells from human exfoliated deciduous tooth (SHED). *Int J Mol Sci.* 2016; 17(12): 2092.
- (86) Xu Y, Chen J, Zhou H, Wang J, Song J, Xie J et al. Effects and mechanism of stem cells from human exfoliated deciduous teeth combined with hyperbaric oxygen therapy in type 2 diabetic rats. *Clinics.* 2020; 75: e1656.
- (87) Rao N, Wang X, Zhai Y, Li J, Xie J, Zhao Y et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth ameliorate type II diabetic mellitus in Goto-Kakizaki rats. *Diabetes Metab Syndr.* 2019; 11(1): 1-11.
- (88) Rao N, Wang X, Xie J, Li J, Zhai Y, Li X et al. Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth Ameliorate Diabetic Nephropathy In Vivo and In Vitro by Inhibiting Advanced Glycation End Product-Activated Epithelial-Mesenchymal Transition. *Stem Cells Int.* 2019; 2: 1-15.
- (89) Takahashi Y, Yuniartha R, Yamaza T, Sonoda S, Yamaza H, Kirino K et al. Therapeutic potential of spheroids of stem cells from human exfoliated deciduous

- teeth for chronic liver fibrosis and hemophilia A. *Pediatr Surg Int.* 2019; 35(12): 1379-88.
- (90) Matsushita Y, Ishigami M, Matsubara K, Kondo M, Wakayama H, Goto H et al. Multifaceted therapeutic benefits of factors derived from stem cells from human exfoliated deciduous teeth for acute liver failure in rats. *J Tissue Eng Regen Med.* 2017; 11(6): 1888-96.
- (91) Hattori Y, Kim H, Tsuboi N, Yamamoto A, Akiyama S, Shi Y et al. Therapeutic potential of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in models of acute kidney injury. *PLoS One.* 2015; 10(10): e0140121.
- (92) Wakayama H, Hashimoto N, Matsushita Y, Matsubara K, Yamamoto N, Hasegawa Y, et al. Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating acute lung injury in mice. *Cytotherapy.* 2015; 17(8): 1119-29.
- (93) Kim JH, Kim GH, Kim JW, Pyeon HJ, Lee JC, Lee G, et al. In Vivo Angiogenic Capacity of Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth with Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Mol Cells.* 2016;39(11): 790-6.
- (94) Pham TTM, Kato H, Yamaza H, Masuda K, Hirofuji Y, Sato H, et al. Altered development of dopaminergic neurons differentiated from stem cells from human exfoliated deciduous teeth of a patient with Down syndrome. *BMC Neurol.* 2018; 18(1): 132.
- (95) Han X, Nonaka K, Kato H, Yamaza H, Sato H, Kifune T, et al. Osteoblastic differentiation improved by bezafibrate-induced mitochondrial biogenesis in deciduous tooth-derived pulp stem cells from a child with Leigh syndrome. *Biochem Biophys Res.* 2019; 17: 32-7.
- (96) Fujiyoshi J, Yamaza H, Sonoda S, Yuniartha R, Ihara K, Nonaka K, et al. Therapeutic potential of hepatocyte-like-cells converted from stem cells from human exfoliated deciduous teeth in fulminant Wilson's disease. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 1-14.
- (97) Hirofuji S, Hirofuji Y, Kato H, Masuda K, Yamaza H, Sato H, et al. Mitochondrial dysfunction in dopaminergic neurons differentiated from exfoliated deciduous tooth-derived pulp stem cells of a child with Rett syndrome. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018; 498(4): 898-904.
- (98) Griesi-Oliveira K, Sunaga DY, Alvizi L, Vadasz E, Passos-Bueno MR. Stem cells as a good tool to investigate dysregulated biological systems in autism spectrum disorders. *Autism Res.* 2013; 6(5): 354-61.
- (99) Nguyen HTN, Kato H, Sato H, Yamaza H, Sakai Y, Ohga S et al. Positive effect of exogenous brain-derived neurotrophic factor on impaired neurite development and mitochondrial function in dopaminergic neurons derived from dental pulp stem cells from children with attention deficit hyperactivity disorder. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019; 513(4): 1048-54.
- (100) Huang T, Wang G, Tseng C, Su W. Epidermal cells differentiated from stem cells from human exfoliated deciduous teeth and seeded onto polyvinyl alcohol/silk fibroin nanofiber dressings accelerate wound repair. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019; 104: 109986.
- (101) Dai Y, Ni S, Ma K, Ma Y, Wang Z, Zhao X. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth correct the immune imbalance of allergic rhinitis via Treg cells in vivo and in vitro. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 10(1): 1-14.

- (102) Tsai CL, Chuang PC, Kuo HK, Chen YH, Su WH, Wu PC. Differentiation of Stem Cells From Human Exfoliated Deciduous Teeth Toward a Phenotype of Corneal Epithelium In Vitro. *Cornea*. 2015; 34(11): 1471-7.
- (103) Li X, Yuan X, Zhai Y, Yu S, Jia R, Yang L, et al. Treatment with stem cells from human exfoliated deciduous teeth and their derived conditioned medium improves retinal visual function and delays the degeneration of photoreceptors. *Stem Cells Dev*. 2019; 28(22): 1514-26.
- (104) Hemphill BE. Measurement of tooth size (odontometrics). A companion to dental anthropology. Wiley Online Library. 2015:287-310.
- (105) Barberia E, Suarez MC, Villalon G, Maroto M, Garcia-Godoy F. Standards for mesiodistal and buccolingual crown size and height of primary molars in a sample of Spanish children. *Eur J Paediatr Dent*. 2009;10(4): 169-75.
- (106) Amano M, Agematsu H, Abe S, Usami A, Matsunaga S, Suto K, et al. Threedimensional analysis of pulp chambers in maxillary second deciduous molars. *J Dent*. 2006; 34(7): 503-8.
- (107) Dabawala S, Chacko V, Suprabha B, Rao A, Natarajan S, Ongole R. Evaluation of pulp chamber dimensions of primary molars from bitewing radiographs. *Pediatr Dent*. 2015; 37(4): 361-5.
- (108) Morse DR. Age-related changes of the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991; 72(6): 721-45.
- (109) Baccouche C, Ghouli-Mazgar S, Baaziz A, Said F, Ben Salem K. Topography of the pulp chamber in the maxillary primary molars of a Tunisian children. *Indian J Dent Res*. 2013;24(2):206-210.
- (110) Ma J, Shi S, Ide Y, Saka H, Matsunaga S, Agematsu H. Volume measurement of crowns in mandibular primary central incisors by micro-computed tomography. *Acta Odontol Scand*. 2013; 71(5): 1032-37.
- (111) Wang Y, Chang H, Kuo C, Chen S, Guo M, Huang G et al. A study on the root canal morphology of primary molars by high-resolution computed tomography. *J Dent Sci*. 2013; 8(3): 321-27.
- (112) Terlemez A, Alan R, Gezgin O. Evaluation of the periodontal disease effect on pulp volume. *J Endod*. 2018; 44(1): 111-4.
- (113) Kramer W, Ireland R. Measurements of the primary teeth. *J Dent Child*. 1959; 26: 252-61.
- (114) Philippas GG. Influence of occlusal wear and age on formation of dentin and size of pulp chamber. *J Dent Res*. 1961;40(6):1186-98.
- (115) Hess W. Formation of root-canals in human teeth. *J Nat Dent Assoc*. 1921; 8(9): 704-34.
- (116) HIBBARD E. Morphology of the root canals of the primary molar teeth. *J Dent Child*. 1957; 24: 250-7.
- (117) Barker B, Parsons K, Williams G, Mills P. Anatomy of root canals. IV deciduous teeth. *Aust Dent J*. 1975; 20(2): 101-6.
- (118) Puddhikarant P. Radiographic anatomy of pulpal chambers of primary molars. *Pediatr Dent*. 1983; 5: 25-9.

- (119) Zoremchhingi, Joseph T, Varma B, Mungara J. A study of root canal morphology of human primary molars using computerised tomography: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2005; 23(1): 7-12.
- (120) Asokan S, Sooriaprakas C, Raghu V, Bairavi R. Volumetric analysis of root canal fillings in primary teeth using spiral computed tomography: an in vitro study. *J Dent Child.* 2012; 79(2): 46-8.
- (121) Fumes A, Sousa-Neto MDd, Leoni G, Versiani M, Da Silva R, Consolaro A. Root canal morphology of primary molars: a micro-computed tomography study. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2014; 15(5): 317-26.
- (122) Bagherian A, Kalhori KA, Sadeghi M, Mirhosseini F, Parisay I. An in vitro study of root and canal morphology of human deciduous molars in an Iranian population. *J Oral Sci.* 2010; 52(3): 397-403.
- (123) Deutsch AS, Musikant BL. Morphological measurements of anatomic landmarks in human maxillary and mandibular molar pulp chambers. *J Endod.* 2004; 30(6): 388-90.
- (124) Arpana V, Prabhakar A, Raju O. Coronal pulp dimensions in noncarious and restored deciduous second molars: A radiovisiographic study. *J Dent Child.* 2010; 77(1): 42-8.
- (125) Kandemir S. The radiographic determinability of the distance between the pulp horns in the permanent first and second molar teeth. *J Oral Sci.* 1998; 40(4): 143-6.
- (126) Omer O, Al Shalabi R, Jennings M, Glennon J, Claffey N. A comparison between clearing and radiographic techniques in the study of the root canal anatomy of maxillary first and second molars. *Int Endod J.* 2004; 37(5): 291-6.
- (127) Ordinola-Zapata R, Bramante C, Versiani M, Moldauer B, Topham G, Gutmann J, et al. Comparative accuracy of the Clearing Technique, CBCT and Micro-CT methods in studying the mesial root canal configuration of mandibular first molars. *Int Endod J.* 2017; 50(1): 90-6.
- (128) Neelakantan P, Subbarao C, Subbarao CV. Comparative evaluation of modified canal staining and clearing technique, cone-beam computed tomography, peripheral quantitative computed tomography, spiral computed tomography, and plain and contrast medium-enhanced digital radiography in studying root canal morphology. *J Endod.* 2010; 36(9): 1547-51.
- (129) Scarfe WC, Levin MD, Gane D, Farman AG. Use of cone beam computed tomography in endodontics. *Int J Dent.* 2009: 634567.
- (130) Häner ST, Kanavakis G, Matthey F, Gkantidis N. Voxel-based superimposition of serial craniofacial CBCTs: Reliability, reproducibility and segmentation effect on hard tissue outcomes. *Orthod Craniofac Res.* 2020; 23(1): 92-101.
- (131) Pimentel PA, Bomfim RT, Andrade LCS, Ferraz EG, Ribeiro Lamberti PL, RubiraBullen IRF, et al. Dimensional error of three-dimensional images generated by different software. *J Med Eng Technol.* 2015; 39(8): 480-4.
- (132) Fedorov A., Beichel R., Kalpathy-Cramer J., Finet J., Fillion-Robin J-C., Pujol S., Bauer C., Jennings D., Fennessy F.M., Sonka M., Buatti J., Aylward S.R., Miller J.V., Pieper S., Kikinis R. 3D Slicer as an Image Computing Platform for the Quantitative Imaging Network. *Magn Reson Imaging.* 2012; 30(9): 1323-41.

- (133) Ferrán Aranaz, M. SPSS para Windows. Programación y Análisis Estadístico. Aravaca (Madrid): Mc Graw Hill; 1996.
- (134) Zhang N, Chen B, Wang W, Chen C, Kang J, Deng SQ, et al. Isolation, characterization and multi-lineage differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Mol Med Rep. 2016; 14(1): 95-102.