



PUESTA
al Día



Stincone, Stefania
Grado en Odontología (Universidad Europea de Madrid).

Antoranz Pereda, Ana
Doctora en Odontología (Universidad Complutense de Madrid). Máster en Endodoncia (Universidad Complutense de Madrid). Licenciada en Odontología (Universidad Complutense de Madrid). Profesora adjunta en la asignatura de "Odontología Integrada de Adultos" (Universidad Europea de Madrid).

Pérez Alfayate, Ruth
Doctora en Odontología (Universidad Europea de Madrid). Máster oficial en Endodoncia Avanzada (Universidad Europea de Madrid). Licenciada en Odontología (Universidad de Granada). Profesora adjunta en la asignatura de "Odontología Integrada de Adultos" (Universidad Europea de Madrid).

Indexada en / Indexed in:

- IME
- IBECs
- LATINDEX
- GOOGLE ACADÉMICO

Correspondencia:

Ana Antoranz Pereda
Plaza de Francisco Morano s/n
28005-Madrid
ana.antoranz@universidadeuropea.es
Teléfono: 913858800

Fecha de recepción: 19 de junio de 2018.
Fecha de aceptación para su publicación:
4 de marzo de 2019.

PUESTA AL DÍA en regeneración PULPAR

Stincone, S. J. Antoranz Pereda, A. Pérez Alfayate, R.
Puesta al día en regeneración pulpar. *Cient. Dent.* 2019; 16; 1; 47-54

RESUMEN

Cuando se combinan entre sí, las células madre, las matrices y los factores de crecimiento tienen la capacidad de regenerar un tejido, tal como el complejo dentino-pulpar. La ingeniería tisular está adquiriendo cada vez más importancia en el campo de la endodoncia como una alternativa a la obturación clásica con gutta-percha. El objetivo de esta revisión es comparar los diferentes materiales que actuarían como matrices disponibles en la actualidad, así como conocer el alcance del conocimiento sobre los factores de crecimiento relacionados con la regeneración de la pulpa, señalando las principales limitaciones y elaborando un protocolo para futuros procedimientos regenerativos. Las matrices de colágeno han demostrado ser una opción óptima, ya que son biodegradables, pueden ser autólogos y existe una alta disposición. El factor de crecimiento insulínico tipo 1 y el factor de crecimiento derivado de plaquetas han demostrado estar implicados en la proliferación celular. El factor de crecimiento endotelial vascular es uno de los más importantes para la proliferación de la red vascular. El aislamiento celular y los altos costos son los principales obstáculos. La combinación de un andamio de colágeno, factor de crecimiento insulínico tipo 1, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento endotelial vascular y células madre de tejido pulpar de dientes deciduos (SHEDs) podría dar buenos resultados en la regeneración de la pulpa dental.

PALABRAS CLAVE

Células madre; Tejido pulpar; Matriz; Factor de crecimiento; Regeneración.

AN UPDATE ON PULP REGENERATION IN ENDODONTICS

ABSTRACT

When combined together, stem cells, scaffolds and growth factors have the ability of regenerating a whole tissue, for example the dental-pulp complex. Tissue engineering is getting more and more importance in the endodontic field as an alternative to the standard filling of root canals with gutta-percha material. The aim of this review is to compare the different scaffold materials available today, find out the extent of knowledge about the growth factors related to pulp regeneration, pointing out the main limitations and devise a protocol for future regenerative procedures. Collagen scaffolds material have shown to be an optimal choice as they are biodegradable, can be autologous and are highly available. Insulin-like growth factor 1 and platelet derived growth factor have shown to be involved in cells proliferation. Vascular endothelial growth factor is one of the most important for vascular network proliferation. Cells isolation and high costs are the main obstacles. As a conclusion, the combination of a collagen scaffold, insulin-like growth factor 1, platelet derived growth factor, vascular endothelial growth factor and dental pulp stem cells from deciduous teeth (SHEDs) might give good outcomes in dental pulp regeneration.

KEY WORDS

Stem cells; Pulp tissue; Scaffold; Growth factor; Regeneration.

INTRODUCCIÓN

Recientemente, un número creciente de estudios han estado investigando el papel de las células madre en endodoncia¹⁻³. Los procedimientos regenerativos combinados con la ingeniería tisular han demostrado tener ventajas respecto al uso de la gutapercha convencional. Un complejo vital dentino-pulpar es esencial para mantener el diente funcional y con buena estética.

A continuación, se describirán los 3 principales campos que abarca la ingeniería tisular: células madre, matrices y factores morfogenéticos /crecimiento¹ (Figura).

1. Las células madre

Las células madre tienen el potencial de dividirse de manera innumerable para reponer aquellas células perdidas. Este proceso de división permite la diferenciación y da lugar a células con alta especificidad. Es, por ello, que esta terapia es cada vez más popular y, a día de hoy, se considera que sus aplicaciones son ilimitadas.

Una célula madre se caracteriza, principalmente, por ser indiferenciada y por poder convertirse en específica de un órgano o con una función concreta, bajo condiciones determinadas².

2. Las matrices

La función de las matrices es hacer que las células madre sean posicionadas y organizadas de una manera correcta. Para conseguir dicho objetivo es fundamental que éstas cumplan los siguientes requisitos, como: biocompatibilidad, alta resistencia, degradación gradual, gran porosidad, capacidad de promover la distribución y proliferación celular y han de poder transportar nutrientes, desechos y oxígeno³.

Los materiales de las matrices pueden dividirse en naturales y sintéticos. Al primer grupo pertenecen el colágeno, derivados de la dentina, la sialoproteína ósea, el hidrogel de alginato y el plasma rico en plaquetas. Entre los sintéticos se encuentran el ácido poliláctico, ácido poliglicólico, arginina, polietilenglicol, agarosa, bio-cerámica, titanio, quitosano, fosfato tricálcico, caprolactona, hidroxiapatita y poliepsilon^{1,3}.

3. Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son los encargados de controlar la actividad de las células madre: proliferación, diferenciación y estimulación para hacerlas producir matriz mineralizada.

Hasta la fecha, los factores de crecimiento que se han utilizado con éxito para la creación de la estructura tridimensional son: los factores de crecimiento

transformantes (TFGs), las proteínas morfogenéticas ósea (BMPs), los factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFs) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGFs)¹.

El objetivo de este trabajo ha sido realizar una revisión bibliográfica con estudios “*in vitro*” e “*in vivo*” sobre el conocimiento sobre la ingeniería de tejidos para la regeneración pulpar como alternativa a la obturación estándar con gutapercha.

CÉLULAS MADRE

Hasta los últimos avances, se creía que sólo había dos clases de células madre: embrionarias y adultas (postnatal). Actualmente se sabe que existe otro tipo conocido como células madre pluripotentes inducidas (iPSCs). Éstas últimas se crean a partir de células adultas somáticas, a través de la introducción de cuatro genes específicos que codifican los factores de transcripción para la conversión².

Si focalizamos el tema de las células madre a nivel dental se partiría de la idea de que éstas se derivan del blastocito anterior a la implantación. Este tipo de células son pluripotentes, por lo que pueden diferenciarse en cada tipo celular procedentes de las tres capas germinales (papila dental, el saco y el órgano).

A pesar de sus ventajas, hay algunas cuestiones que han limitado el número de estudios disponibles: el origen de este tipo de células no se considera éticamente correcto¹, la alta tasa de transformación teratogénica después de la implantación y el posible rechazo donante-huésped².

Las células madre adultas son multipotentes y se pueden obtener del cordón umbilical, médula ósea, sangre (del

Leyenda de las abreviaturas que aparecen en el texto

BMPs	Proteínas morfogenéticas ósea
DFPCs	Células madre progenitoras del folículo dental
DPSCs	Células madre de tejido pulpar
FGF	Factores de crecimiento de fibroblastos
IGFs	Factor de crecimiento similar a la insulina
iPSCs	Células madre pluripotentes inducidas
MEC	Matriz extracelular organizada
PDGFs	Factores de crecimiento derivados de plaquetas
PDLSCs	Células madre de ligamento periodontal
PRP	Plasma rico en plaquetas
SCAPs	Células madre de papila
SHEDs	Células madre de dientes deciduos
TFGs	Factores de crecimiento transformantes
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular

cordón umbilical y periférica), grasa corporal y tejido pulpar¹. Las células madre mesenquimales, que se derivan de la médula ósea, han mostrado poseer el potencial de convertirse en estructura dental².

Dentro del diente es en el tejido pulpar donde se han aislado varios tipos de células madre, que se describirán a continuación: de tejido pulpar (DPSCs), de diente deciduo (SHEDs), de papila (SCAPs), de ligamento periodontal (PDLSCs) y las progenitoras del folículo dental (DFPCs).

Las DPSCs, también se conocen como células odontoblasticas, debido a su capacidad para secretar matriz dentinaria. De hecho, hay estudios "*in vivo*" muestran que las DPSCs pueden formar estructuras parecidas a la pulpa con una forma irregular cuando se recombinan con una matriz biodegradable^{2,3}.

Las SHEDs provienen de la pulpa de los dientes deciduos y muestran una alta plasticidad. "*In vivo*", las SHEDs se han descrito como "más inmaduras" porque son capaces de diferenciarse más que las DPSCs y de formar dentina³.

Las SCAPs son una fuente muy inmadura de células madre, con una mayor capacidad de regeneración dentinaria y duplicación de la población (*in vivo*)³.

Las PDLSCs han mostrado, "*in vitro*", capacidad de transformarse en células similares a cementoblastos, adipocitos y células formadoras de colágeno, e *in vivo*, en cemento y estructura similar al ligamento periodontal³.

Las DFPCs pueden formar cementoblastos "*in vitro*", y cemento "*in vivo*". También estas células pueden formar un nuevo ligamento periodontal³.

MATRICES Y ANDAMIOS

La adhesión a los materiales del andamio es importante para la migración de las células. Además, la producción tanto de nuevos vasos sanguíneos y conexiones nerviosas tiene lugar gracias al material estructural.

La biocompatibilidad es otro requisito para los materiales de los andamios, ya que cuanto más biocompatibles sean, menor es el riesgo de inflamación y de rechazo. Los andamios no están destinados a permanecer en el sitio de manera indefinida y es por ello que la biodegradación es crucial^{4,5}.

Actualmente, existen en el mercado andamios de material natural y sintético.

Materiales naturales

Los materiales naturales tienden a utilizarse debido a su excelente biocompatibilidad. A continuación, se describirán los materiales más empleados actualmente como son: el colágeno, el plasma rico en plaquetas (PRP), sialoproteínas, derivados de la dentina y los hidrogeles de alginato.

El colágeno es un material natural que se caracteriza por: purificarse fácilmente, su degradación puede regularse, tiene propiedades de adhesión y es una de las proteínas estructurales más frecuentes en nuestro cuerpo. Al revisar en la literatura el uso del colágeno como andamio, Nasir y cols.,⁶ concluyeron que éste tiene una resistencia a la tracción óptima y es capaz de crear una red para factores de crecimiento. Un estudio realizado por Prescott y cols.,⁴ en ratones, demostró que al usar la combinación de DMP1, andamio de colágeno y DPSCs, se obtenía la formación de tejido organizado, nueva matriz de colágeno, creación de fibroblastos y desarrollo completo de la red de vasos sanguíneos. Nevins y Cymerman⁷ realizaron un proceso de revascularización con la aplicación de un andamio de colágeno e hidroxiapatita en tres dientes inmaduros con absceso periapical agudo, periodontitis apical asintomática y periodontitis apical sintomática. Las radiografías postoperatorias mostraron que la radiolucidez periapical desapareció y se observó radiopacidad en las zonas coronales del espacio del conducto. Además, se produjo la elongación de la raíz.

El plasma rico en plaquetas (PRP) es otro tipo de andamio natural que se extrae de la centrifugación de una muestra de sangre del paciente. Es por ello que el PRP se define como autólogo, biocompatible y seguro. Destacan en la literatura los dos trabajos de Jadhav y cols., que en 2012 realizaron un estudio en 20 pacientes con dientes anteriores inmaduros no vitales y los dividieron en dos grupos: un grupo había sido sometido a un proceso de revascularización con PRP y el otro no. A estos pacientes se les hizo un seguimiento, haciendo radiografías a los 6 y 12 meses. El grupo que había sido sometido a tratamiento adicional con PRP mostró mejor cicatrización periapical, cierre apical y mayor engrosamiento de la pared dentinaria. Concluyeron que la suplementación con PRP podría ayudar a mejorar el proceso de revascularización⁸. En 2013 los mismos autores realizaron otra investigación con las mismas características, pero sólo en tres pacientes con dientes anteriores inmaduros no vitales con periodontitis apical. Concluyeron que hubo una mejoría, pero que no hubo diferencias significativas entre los grupos⁹. Estos dos estudios, aun siendo de los mismos autores, se contradicen, ya que el estudio realizado en 2012⁸ concluyó que la adición del PRP al proceso de revascularización era potencialmente eficaz.

Cuando se utilizan sialoproteínas óseas como andamio, se crea un denso estrato de dentina reparadora. Esta afirmación se demostró en los estudios de Decup¹⁰ y Six¹¹. Ambos emplearon los primeros molares superiores de ratas a los cuales se les realizó la apertura cameral y, en el primer caso, se implantó un portador con sialoproteínas óseas y, en el segundo, además de éstas se añadió proteína morfogenética ósea-7. Las conclusiones de ambas investigaciones fueron que las sialoproteínas óseas estimulaban la

migración y diferenciación de las células que ayudaron en la formación de una matriz extracelular organizada (MEC). Se ha comprobado que los andamios derivados de dentina son capaces de regenerar tejido de tipo dentina cuando se combinan con DPSCs "in vivo"¹². Liu y cols.,¹³ investigaron la combinación de matriz de dentina desmineralizada con DPSCs para lograr la formación de tejido mineralizado. La matriz de dentina tratada y DFPCs que se combinan para la regeneración de la dentina fueron estudiadas por Guo y cols.,¹⁴ en 2009. Ambos concluyeron que la unión de células madre y andamios dentinarios se puede utilizar para la regeneración de la dentina. Sin embargo, esto no es suficiente porque no se menciona la formación del tejido pulpar.

Por último, los hidrogeles de alginato al poseer una composición similar a la MEC, han sido considerados para su uso en ingeniería tisular. Cavalcanti y cols.,¹⁵ realizaron un estudio sobre hidrogeles de alginato y su compatibilidad con DPSCs y concluyeron que las DPSCs cultivados en

hidrogeles de alginato expresaban marcadores de diferenciación odontoblástica. Sin embargo, y a pesar de que su forma gelatinosa los hace inyectables, hay algunas cuestiones relacionadas con el control del proceso de gelificación que, actualmente, hacen que se encuentren en controversia^{1,15-17}.

Materiales sintéticos

Las ventajas de los materiales sintéticos son mayor disponibilidad y una degradación regulada por la estructura del material. Su principal desventaja es su menor biocompatibilidad.

Con respecto de la biocompatibilidad, *Middleton y Tipton*¹⁸ sugieren que el proceso de degradación de los materiales sintéticos tales como los poliglicólidos, polilactidos y sus copolímeros se produce por hidrólisis aleatoria. Esta situación ocasiona la pérdida de algunas de las propiedades mecánicas de la matriz y, como consecuencia, la emisión de moléculas de dióxido de carbono, produciendo una ligera inflamación y la posible muerte celular¹⁹.

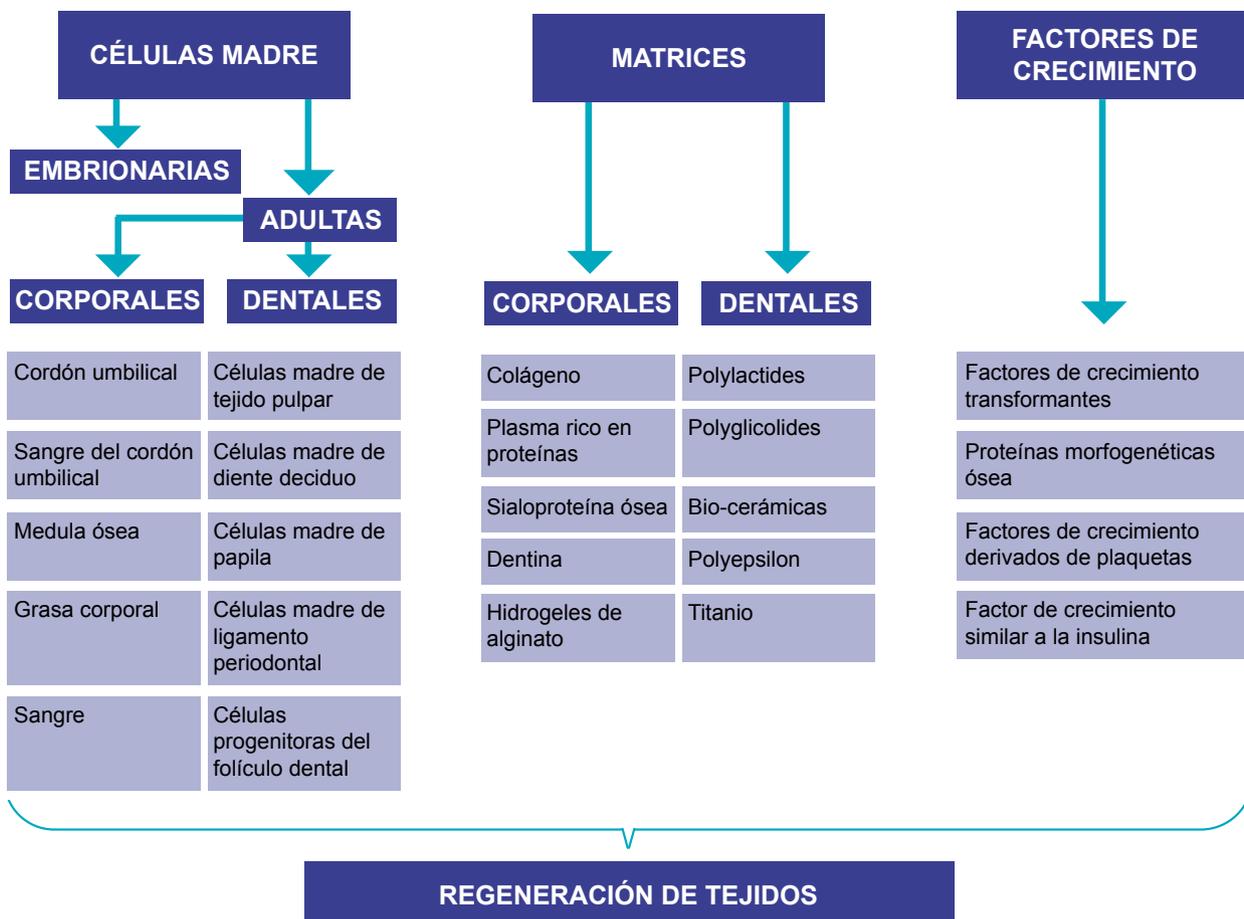


Figura. Componentes fundamentales para la regeneración de tejido: células madre, que pueden ser derivadas del blastocito (embrionarias) o, en el paciente adulto, de varios tipos de tejidos; matrices (naturales o sintéticas), que permiten la colocación correcta de las células madre; y por último los factores de crecimiento que ayudan en la diferenciación y proliferación celular.

FACTORES DE CRECIMIENTO

Factores químicos

Los factores de crecimiento (morfo genéticos) son importantes debido a su capacidad para inducir la proliferación y diferenciación de células. Existen diferentes tipos de morfógenos que se ha demostrado que participan en la regeneración del complejo de pulpa-dentina, como: BMPs, factor de crecimiento similar a la insulina (IGFs), factores de crecimiento transformantes (TFGs) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFs). El principal problema de todos los morfógenos es su corta vida media: por eso los andamios son importantes para el éxito en la ingeniería de tejidos¹.

Las BMPs son morfógenos que pueden inhibir o estimular el crecimiento. En particular, BMP2, BMP4, BMP6 y BMP7 se consideran los más importantes²⁰. Sin embargo, existe una gran controversia sobre el papel de las BMPs en la dentinogénesis, tal y como se muestra en la bibliografía. Así, Demarco y cols.,²¹ declararon que la expresión de la BMP2 recombinante humana es alta en las últimas etapas de diferenciación de los odontoblastos y las ayudas BMP7 recombinantes humanas en la producción de dentina reparadora. Six y Decup¹¹ realizaron estudios en ratas concluyendo que la BMPs con sialoproteínas óseas indujo formación de osteodentina y Chen y cols.,²² afirmaron que la BMP-2 en conjunción con la sialo-fosfoproteína de la dentina induce la diferenciación odontoblástica. Por otro lado, Rutherford y cols.,²³ realizan un estudio sobre los hurones alegando que la BMP-7 por sí sola no es suficiente para inducir al dentino-génesis.

El IGF es una hormona peptídica producida por diferentes tipos de células. La escuela de estomatología de la Universidad Médica de Nanjing realizó un estudio sobre el papel del IGF-1 en la diferenciación y proliferación de DPSCs²⁴ y una investigación similar ha sido llevada a cabo por Feng y cols.,²⁵ con el mismo objetivo. Ambos coincidieron en que el IGF-1 está implicado en la diferenciación odontogénica y proliferación de las DPSCs. Además, en 2014 esto ha sido confirmado por otro estudio que investigó la interconexión entre la proteína quinasa activada con mitógeno IGF-1 y p-38 (MAPK)²⁶.

Los TFGs desempeñan un papel en la diferenciación y proliferación de odontoblastos del complejo dentino-pulpar. He y cols.,²⁷ sugirieron estudiar la combinación de TFGs con el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) "in vitro" y concluyeron que esta combinación puede iniciar una diferenciación tipo odontoblástica. En 1998, Tziafas y Papadimitriou²⁸ realizaron un estudio sobre los molares y caninos de los perros: se expusieron las pulpas dentales y se colocó una matriz derivada de dentina preincubada con solución de TFGs. La conclusión fue que el dentino-génesis podría ocurrir, en cierto grado, gracias a las moléculas de TFGs. Melin y cols.,²⁹ realizaron una investigación sobre cultivos de rodajas de dientes humanos para mostrar

los efectos potenciales de TFG-1 en las células de la pulpa. Se apreció el colágeno tipo I y la proliferación celular.

Los PDGFs tienen capacidad para inducir la formación de matriz dentinaria y estructuras parecidas a la pulpa dental³⁰. Yokose y cols.,³¹ tomaron dos cepas diferentes de PDGFs (AA y BB) y concluyeron que cada una tenía una acción diferente en el proceso odontogénico, pero esto no era suficiente para probar completamente la actividad de PDGFs al ser el estudio "in vitro". Denholm y cols.,³² examinaron una combinación de cepa PDGF-BB e IGF-1 y determinaron que esta interacción aumentaba el número de células disponibles.

Factores biológicos

La angiogénesis juega un papel crucial en el éxito del trasplante de células madre: sin oxígeno y nutrientes, las células trasplantadas se necrosarán y morirán. Sin embargo, la creación de nuevos vasos sanguíneos puede ser estimulada biológicamente. La matriz de dentina contiene naturalmente factores proangiogénicos que se activan en caso de lesión (como caries) para producir nuevos vasos y tejido pulpar³³.

Uno de los factores proangiogénicos más presentes es el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF): tiene propiedades mitógenas para los vasos sanguíneos y esto facilita la proliferación y migración de las células endoteliales³³. Nakashima y cols.,³⁴ descubrieron que algunas subfracciones de células madre (CD31- / CD146- o CD1051) de DPSCs tienen alto potencial angiogénico y neurogénico. Holderfield y cols.,³⁵ declararon que el VEGF con factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) se expresa en el caso de bajos niveles de oxígeno disponible: esto demuestra que pueden establecerse redes sanguíneas y neurales incluso en condiciones hipoxémicas^{35,36}. El FGF tiene dos prototipos: FGF-1, cuyo trabajo es estimular la diferenciación y proliferación de células que producen vasos sanguíneos; FGF-2, que participa en la proliferación y disposición de las células endoteliales. Li y Sae-Lim³⁷ han demostrado que FGF-1 aplicado a un andamio de colágeno puede inducir la formación de tejido duro parecido a la dentina producida por hidróxido de calcio. Las angiopietinas tienen un papel en la angiogénesis y la linfangiogénesis³⁴.

LIMITACIONES Y DESAFÍOS

Las principales limitaciones de la terapia con células madre son: la disponibilidad, coste del proceso y la contaminación y tumorigénesis durante el cultivo de células.

Con respecto a la disponibilidad, los dientes son una buena fuente de células madre, pero deben ser lo suficientemente sanos para poder encontrarlas. El mejor escenario posible sería dientes deciduos sin caries y, al menos, un tercio de la raíz para la extrapolación de células SHEDs y

terceros molares para DPSCs³⁸.

El coste de extracción, fabricación "ex vivo" y conservación de las células madre es elevado. Mao y cols.,³⁸ declararon que la crioconservación es una de las opciones disponibles con el sistema bancario (cryobanks), pero éste es también un proceso muy costoso que puede hacer que el paciente se mueva hacia otros tipos de solución.

Hay que tener en cuenta el riesgo potencial de contaminación y tumorigénesis que se puede determinar durante el cultivo de células. Como alternativa, hay una terapia llamada "cell homing". Es mencionado por Kim y cols.,³⁹ y se caracteriza por el movimiento de las células madre de la médula ósea al torrente sanguíneo y luego a los depósitos de células madre. En lugar de trasplantar un complejo con células madre cultivadas, andamios y factores de crecimiento, la idea es preparar sólo un material de andamio impregnado con diferentes morfógenos e implantarlo en un diente preparado endodónticamente. Así, las células madre de la médula ósea o del torrente sanguíneo deben ser atraídas por factores de crecimiento presentes en el andamio y emigrar hacia él, implantándose y proliferando.

En referencia a los desafíos de la terapia con células madre encontramos que, los andamios deben tener una estructura tridimensional que permita una distribución uniforme de las células trasplantadas. Se propone que las impresoras 3D pueden ser el futuro para la fabricación de andamios excelentes. Las "bio-tintas" están hechas de células vivas y actúan como sustancias líquidas⁴⁰. A pesar de todo esto, el principal obstáculo es la imprevisibilidad.

Sin embargo, hay autores más pesimistas con respecto a esta nueva terapia. Mao y cols.,³⁸ indican que el trasplante de tejido pulpar todavía tiene demasiados problemas para

dar buenos resultados. Otros autores creen que con investigaciones posteriores será posible regenerar no sólo el tejido pulpar, sino también la encía, el ligamento periodontal o incluso toda la estructura dental⁴¹. El conocimiento de las nuevas técnicas de regeneración es muy pobre: una encuesta realizada a 32 odontólogos que cursaron estudios de posgrado en residencia demostró que el 83,9% no había recibido ningún tipo de educación continua o capacitación en técnicas regenerativas⁴².

CONCLUSIONES

1. Los materiales naturales son superiores debido a su biocompatibilidad y en particular los andamios de colágeno.
2. El factor de crecimiento similar a la insulina 1, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento endotelial vascular han demostrado estar implicados en la proliferación celular y en la creación de nuevos vasos sanguíneos.
3. El mayor obstáculo en la terapia con células madre es la falta de conocimiento.
4. "Cell homing" como alternativa al trasplante de células.
5. Se deben realizar nuevas investigaciones con el uso de: andamios de colágeno; Factor de crecimiento similar a la insulina 1; cepa de factor de crecimiento derivado de plaquetas-BB; factor de crecimiento endotelial vascular y factor de crecimiento de fibroblastos; Células madre de pulpa dental de dientes decíduos (SHEDs) preservadas mediante criopreservación.



BIBLIOGRAFÍA

1. Gandhi A, Gandhi T, Madan N. Dental pulp stem cells in endodontic research: a promising tool for tooth tissue engineering. *RSBO* 2011 8:335-340.
2. Baudry A, Uzunoglu E, Schneider B, Kellerman O, Goldberg M. From pulpal stem cells to tooth repair: an emerging field for dental tissue engineering. *Evid Based Endod* 2016; 1 (1): 1.
3. Chandki R, Kala M, Banthia P, Banthia R. From stem to roots: Tissue engineering in endodontics. *J Clin Exp Dent* 2012; 4 (1): e66-71.
4. Prescott RS, Alsanee R, Fayad MI, Johnson BR, Wenckus CS, Hao J y cols. In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *J Endod* 2008; 34 (4): 421-426.
5. Li Y, Meng H, Liu Y, Lee BP. Fibrin gel as an injectable biodegradable scaffold and cell carrier for tissue engineering. *Sci World J* 2015; 2015: 1-10.
6. Nasir NM, Raha MG, Kadri KN, Rampado M, Azlan CA. The study of morphological structure, phase structure and molecular structure of collagen-PEO 600K blends for tissue engineering application. *Am J Biochem Biotechnol* 2006; 2: 175-179.
7. Nevins AJ, Cymerman JJ. Revitalization of open apex teeth with apical periodontitis using a collagen-hydroxyapatite scaffold. *J Endod* 2015; 41 (6): 966-973.
8. Jadhav G, Shah N, Logani A. Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study. *J Endod* 2012; 38 (12): 1581-1587.
9. Jadhav G, Shah N, Logani A. Comparative outcome of revascularization in bilateral, non-vital, immature maxillary anterior teeth supplemented with or without platelet rich plasma: A case series. *J Conser Dent* 2013; 16 (6): 568-572.
10. Decup F, Six N, Palmier B, Buch D, Lasfargues J, Salih E y cols. Bone sialoprotein-induced reparative dentinogenesis in the pulp of rat's molar. *Clin Oral Investig* 2000; 4 (2): 110-119.
11. Six N, Decup F, Lasfargues JJ, Salih E, Goldberg M. Osteogenic proteins (bone sialoprotein and bone morphogenetic protein-7) and dental pulp mineralization. *J Mater Sci Mater Med* 2002; 13 (2): 225-232.
12. Tran HLB, Doan VN. Human dental pulp stem cells cultured onto dentin derived scaffold can regenerate dentin-like tissue in vivo. *Cell Tissue Bank* 2015; 16 (4): 559-568.
13. Liu G, Xu G, Gao Z, Liu Z, Xu J, Wang J y cols. Demineralized dentin matrix induces odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells. *Cells Tissues Organs* 2016; 201 (1): 65-76.
14. Guo W, He Y, Zhang X, Lu W, Wang C, Yu H y cols. The use of dentin matrix scaffold and dental follicle cells for dentin regeneration. *Biomaterials* 2009; 30 (35): 6708-6723.
15. Cavalcanti BN, Zeitlin BD, Nör JE. A hydrogel scaffold that maintains viability and supports differentiation of dental pulp stem cells. *Dent Mater* 2013; 29 (1): 97-102.
16. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. *Progr Polym Sci* 2012; 37 (1): 106-126.
17. Kuo CK, Ma PX. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials* 2001; 22 (6): 511-521.
18. Middleton J, Tipton A. Synthetic biodegradable polymers as orthopaedic devices. *Biomaterials* 2000; 21: 2335-2346.

19. O'Brien FJ. Biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Mater Today* 2011; 14 (3): 88-95.
20. Wang RN, Green J, Wang Z, Deng Y, Qiao M, Peabody M y cols. Bone morphogenetic protein (BMP) signalling in development and human diseases. *Genes Dis* 2014; 1 (1): 87-105.
21. Demarco F, Conde M, Cavalcanti B, Casagrande L, Sakai V, Nör J. Dental pulp tissue engineering. *Braz Dent J* 2011; 22 (1): 3-13.
22. Chen S, Gluhak-Heinrich J, Martinez M, Li T, Wu Y, Chuang H y cols. Bone morphogenetic protein 2 mediates dentin sialophosphoprotein expression and odontoblast differentiation via NF- κ B signaling. *J Biol Chem* 2008; 283 (28): 19359-19370.
23. Rutherford R, Gu K. Treatment of inflamed ferret dental pulps with recombinant bone morphogenetic protein-7. *Eur J Oral Sci* 2000; 108 (3): 202-206.
24. Lv T, Wu Y, Mu C, Liu G, Yan M, Xu X y cols. Insulin-like growth factor 1 promotes the proliferation and committed differentiation of human dental pulp stem cells through MAPK pathways. *Arch Oral Biol* 2016; 72: 116-123.
25. Feng X, Huang D, Lu X, Feng G, Xing J, Lu J y cols. Insulin-like growth factor 1 can promote proliferation and osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells via mTOR pathway. *Dev Groth Differ* 2014; 56 (9): 615-624.
26. Vandomme J, Touil Y, Ostyn P, Olejnik C, Flamenco P, El Machhour R y cols. Insulin-like growth factor 1 receptor and p38 mitogen-activated protein kinase signals inversely regulate signal transducer and activator of transcription 3 activity to control human dental pulp stem cell quiescence, propagation, and differentiation. *Stem Cells Dev* 2014; 23 (8): 839-851.
27. He H, Yu J, Liu Y, Lu S, Liu H, Shi J y cols. Effects of FGF2 and TGF β 1 on the differentiation of human dental pulp stem cells in vitro. *Cell Biol Int* 2008; 32 (7): 827-834.
28. Tziafas D, Papadimitriou S. Role of exogenous TGF- β in induction of reparative dentinogenesis in vivo. *Eur J Oral Sci* 1998; 106 (Suppl 1): 192-196.
29. Melin M, Joffre-Romeas A, Farges J, Couble M, Magloire H, Bleicher F. Effects of TGF β 1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices. *J Dent Res* 2000; 79 (9): 1689-1696.
30. Sahang GK, Solomon C, Ying Zheng, Takahiro Suzuki, Chen Mo, Songhee Song, Nan Jiang, Shoko Cho, Jian Zhou, Mao JJ. Effects of Growth Factors on Dental Stem/Progenitor cells. *Dent Clin North Am* 2012; 56 (3): 563-575.
31. Yokose S, Kadokura H, Tajima N, Hasegawa A, Sakagami H, Fujieda K, y cols. Platelet-derived growth factor exerts disparate effects on odontoblast differentiation depending on the dimers in rat dental pulp cells. *Cell Tissue Res* 2004; 315 (3): 375-384.
32. Denholm I, Moule A, Bartold P. The behaviour and proliferation of human dental pulp cell strains in vitro, and their response to the application of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-1. *Int Endod J* 1998; 31 (4): 251-258.
33. Saghiri MA, Asaturian A, Sorenson CM, Sheibani N. Role of Angiogenesis in Endodontics: Contributions of Stem Cells and Proangiogenic and Antiangiogenic Factors to Dental Pulp Regeneration. *J Endod* 2015; 41 (6): 797-803.
34. Nakashima M, Iohara K, Sugiyama M. Human dental pulp stem cells with highly angiogenic neurogenic potential for possible use in pulp regeneration. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20 (5): 435-440.
35. Holderfield M, Hughes C. Crosstalk between vascular endothelial growth factor, notch, and transforming growth factor- β in a vascular morphogenesis. *Circ Res* 2008; 102:637-52.
36. Mullane EM, Dong Z, Sedgley CM, y cols. Effects of VEGF and FGF2 on the revascularization of severed human dental pulps. *J Dent Res* 2008; 87:1144-1148.
37. Li Z, Sae-Lim V. Comparison of acidic fibroblast growth factor on collagen carrier with calcium hydroxide as pulp capping agents in monkeys. *Dent Traumatol* 2007; 23:278-286.
38. Mao JJ, Kim SG, Zhou J, Ye L, Cho S, Suzuki T y cols. Regenerative endodontics: barriers and strategies for clinical translation. *Dent Clin North Am* 2012; 56 (3): 639-649.
39. Kim J, Xin X, Moiola EK, Chung J, Lee CH, Chen M y cols. Regeneration of dental-pulp-like tissue by chemotaxis-induced cell homing. *Tissue Eng Part A* 2010; 16 (10): 3023-3031.
40. Gu B, Choi D, Park S, Kim M, Kang C, Kim C. 3- Dimensional bioprinting for tissue engineering applications. *Biomater Res* 2016; 20:12.
41. Bansal R, Jain A, Mittal S. Current overview on challenges in regenerative endodontics. *J Conserv Dent* 2015; 18 (1):1-6.
42. Manguno C, Murray PE, Howard C, Madras J, Mangan S, Namerow KN. A survey of dental residents' expectations for regenerative endodontics. *J Endod* 2012; 38 (2):137-143.