

Organoides en Odontología. Avances en este Nuevo Enfoque de Investigación: Revisión Sistemática Exploratoria

Organoids in Dentistry. Advances in this New Research Approach: A Scoping Review

Bernarda A. Reyes¹; Daniela A. Reyes¹ & Marcelo R. Sánchez²

REYES, B. A.; REYES, D. A. & SÁNCHEZ, M. R. Organoides en odontología: avances en este nuevo enfoque de investigación: Revisión sistemática exploratoria. *Int. J. Odontostomat.*, 18(2):156-164, 2024.

RESUMEN: Los Organoides (O) son un tipo de cultivo celular 3D, que reproducen las características morfológicas y funcionales de diversos órganos o tejidos en un entorno in vivo. Se logran a través de la proliferación y diferenciación de Células Madres (CM) en distintas líneas celulares con capacidad de autoorganizarse. Son capaces de reproducir forma, función, expresión génica o repuesta a estímulos de la misma forma que el órgano original. Esto le ha permitido servir de base para múltiples investigaciones en el ámbito médico y odontológico. En los últimos años, se ha podido recrear con éxito, prácticamente, todos los órganos de nuestro cuerpo, como pulmones, hígado, tracto reproductivo, cerebro y muchos otros (Bartfeld, 2021). De la misma forma, son varias las líneas de investigación odontológicas desarrolladas. En específico, la creación de O de órganos orales como dientes y glándulas salivales, son las más reportadas (Oshima et al., 2017). Sin embargo, no son del común conocimiento del odontólogo general. Esta revisión sistemática exploratoria, tiene como objetivo presentar una visión general de la evidencia acumulada, determinado las áreas odontológicas de investigación, así como sus resultados. La investigación odontológica, en base al uso de O, es de alta calidad y de vanguardia, mostrando resultados prometedores, que auguran un gran futuro, tanto para la odontología como para los pacientes.

PALABRAS CLAVE: organoides, cultivos 3D, células madres, sistema estomatognático.

INTRODUCCIÓN

Los cultivos celulares 2D, también llamados en monocapa bidimensionales, han sido un valioso aporte al estudio de la biología (Edmondson *et al.*, 2014). Gran parte de nuestra comprensión de los mecanismos biológicos que subyacen a las funciones celulares como migración, diferenciación, crecimiento, entre otras, se han obtenido gracias a ellos (Baker & Chen, 2012). Sin embargo, estos cultivos no reflejan de forma adecuada las diferentes relaciones celulares, por lo que no reproducen las condiciones de organización, señalización y las relaciones estructurales celulares observadas *in vivo* (Simian & Bissell, 2017).

Los esfuerzos para abordar estas limitaciones llevaron al desarrollo de modelos de cultivo celular en 3D, los cuales representan con mayor precisión y

predictibilidad el microambiente real donde residen las células en los tejidos (Edmondson *et al.*, 2014). Con un enfoque multidisciplinario, los científicos han generado las condiciones adecuadas para que las células se organicen correctamente, obteniendo resultados superiores en ámbitos como el metabolismo, diferenciación, expresión de genes, proliferación, viabilidad y respuesta a diferentes estímulos (Calvo García, 2013).

El cultivo de células 3D, permite la reproducción de células, de tejidos primarios o de células madres, dentro de dispositivos microfabricados, que les permite auto organizarse tridimensionalmente (3D) y que imitan la microarquitectura y funcionalidad específica de tejidos y órganos (Amiel-Pérez *et al.*, 2022).

¹ Escuela de Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.

² Escuela de Odontología, Magister del Departamento de Estomatología, Unidad de Patología y Medicina Oral, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Talca, Chile.

El estudio 3D ha avanzado mucho en los últimos años, recreando con éxito, prácticamente, todos los órganos humanos, como pulmones, hígado, tracto reproductivo, cerebro y muchos otros (Bartfeld, 2021). Dentro de las funciones que tiene la creación de modelos 3D está comprender y estudiar el desarrollo de órganos, la morfogénesis de los tejidos y las bases genéticas o moleculares de la enfermedad, así como pueden ser usados para estudiar el efecto de fármacos o en la terapia de reemplazo de tejidos (Xinaris *et al.*, 2015).

Un tipo particular de cultivo de células en 3D, son los llamados Organoides (O). Estos son modelos de órganos en miniatura que reproducen un entorno *in vivo*, que permite a las Células Madres (CM) renovarse constantemente mientras mantienen su capacidad de diferenciarse en los múltiples tipos de células de su tejido de origen y auto organizarse. Esta última característica permite, a su vez, reproducir características tan específicas como la expresión génica y proteica, función metabólica y la arquitectura tisular (Hofer & Lutolf, 2021).

Los O pueden derivarse de CM embrionarias (CME o ESC, en sus siglas en inglés), CM pluripotentes inducidas (CNPI o iPSC, en sus siglas en inglés) o CM neonatales o adultas (CMN o ASC, en sus siglas en inglés), incluso de CM tumorales (Corrò *et al.*, 2020).

Estas particulares características permiten avanzar de forma ilimitada en todos los campos de la investigación biomédica, en tratamientos del cáncer y las pruebas preclínicas de fármacos, incluso medicina regenerativa personalizada, reparación de genes y la terapia de trasplante (Tang *et al.*, 2022).

Actualmente, ya se han obtenido O de SNC (cerebro, cerebelo, hipocampo, retina), renales, hepáticos, cardíacos, gastrointestinales, de pulmón y muchos otros y mejoras en las técnicas que permiten obtener O vascularizados, combinación con células inmunitarias, de multilínea o los ensamblados (cultivos 3D, donde se combinan O de diversas regiones orígenes y se logra una organización muy real). Sus grandes aplicaciones se ven en campos como organogénesis, cáncer, farmacología, trasplantes, enfermedades genéticas, entre otras (Corrò *et al.*, 2020; Tang *et al.*, 2022).

Esta biotecnología también ha permeado en el ámbito odontológico. De manera particular, las investigaciones de órganos orales como dientes y

las glándulas salivales, son las más reportadas. Es sabido de las grandes complicaciones que trae para el funcionamiento del sistema estomatognático la pérdida de función de estos dos órganos, por eso el fin de estas investigaciones es el reemplazo de estas estructuras en un futuro (Oshima *et al.*, 2017). En la actualidad son varias las líneas de investigación desarrolladas, sin embargo, no son del común conocimiento del odontólogo general.

Esta revisión tiene como objetivo presentar una visión general de la evidencia acumulada, determinado las áreas odontológicas de investigación, así como sus resultados.

MATERIAL Y MÉTODO

Diseño de Estudio: Realizamos un estudio descriptivo de la literatura, tipo Revisión Sistemática Exploratoria (Scoping Review), en base al protocolo PRISMA Scr (Tricco *et al.*, 2018).

Base de datos: Se usaron las bases de datos Pubmed, Web of Science y Scopus.

Búsqueda electrónica: Efectuamos una búsqueda avanzada de la literatura que incluyó artículos publicados desde enero de 2016 hasta febrero del 2023. Nuestra estrategia de búsqueda para la investigación en Pubmed fue: ((Organoids) AND (Dentistry) AND (Mouth)); para Scopus fue ("organoids") AND ("dentistry"); y para Web of Science fue (ALL= (organoids)) AND ALL= (mouth).

Criterios de inclusión: Artículos científicos con fecha de publicación entre 2017-2023, estudios experimentales realizados en cultivos celulares humanos o animales, sin restricción de idiomas.

Criterios de Exclusión: Revisiones tipo review, estudios realizados antes del año 2016 y artículos publicados en revistas Q3 y Q4.

Selección y clasificación de los artículos: La selección de artículos científicos la realizamos en base al diagrama de flujo PRISMA Scr (Tricco *et al.*, 2018) con el fin de sistematizarla y evitar sesgo de selección. La revisión la realizaron dos investigadores que seleccionaron los artículos científicos (DR y BR), previa calibración con el tercer investigador (MS). Esta selección se hizo según título, resumen y texto completo. Frente a diferencias, se llegó a acuerdo entre los tres investigadores.

RESULTADOS

Resultados de la búsqueda: Se obtuvo un total de 869 artículos de los cuales 92 cumplieron con los criterios de búsqueda. Una vez eliminados los duplicados, quedaron 69 artículos. Posteriormente se evaluó el contenido según título, abstract y texto completo y se seleccionó 42 artículos para ser analizados. Se excluyeron aquellos textos que contaban con patologías con un documento único para analizar y aquellos que no correspondían al grupo de patologías seleccionadas para su análisis (Fig. 1).

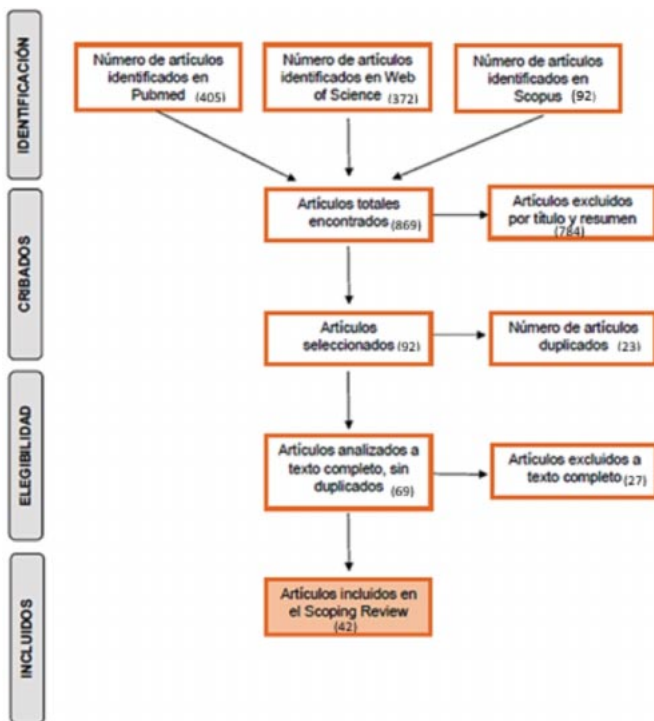


Fig. 1. Diagrama de Flujo PRISMA Scr. Para la selección de artículos de forma sistematizada y libre de sesgos.

Análisis bibliométrico: Las revistas donde fueron publicados los artículos seleccionados fueron de alta calidad, siendo revistas Q1 el 72,5 % y Q2 el 27,5 %. Entre los años 2017-2020 se publicaron 17 artículos, mientras que entre 2021-2023 fueron 25, notándose un claro aumento. El 47 % de los artículos fueron publicados entre EE.UU, Japón y China, con 9, 6 y 5 artículos respectivamente.

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE LOS ARTÍCULOS SELECCIONADOS:

Se realizó el análisis de las líneas de investigación que contaban con mayor evidencia. Entre ellas fue-

ron seleccionadas las investigaciones en O de glándulas salivales con 17 artículos; O de estructuras dentarias, con 9; O de papilas gustativas, con 6 y O de ligamento periodontal con 3 artículos. Los resultados de cada una de las investigaciones se resumen a continuación:

• **Organoides de Glándulas Salivales:** La mayoría de las células madres (CM) utilizadas para generar los organoides de glándulas salivales, provinieron de las mismas glándulas salivales (9 estudios: Ferreira *et al.*, 2019; Hosseini, *et al.*, 2019; Sui *et al.*, 2020; Tanaka & Mishima, 2020; Yoshimoto *et al.*, 2020; Serrano *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021; Chansaenroj *et al.*, 2022; Rodboon *et al.*, 2022), ya sea en estado adulto o embrionario; en segundo lugar se encontraron las células embrionarias, no especificando el origen de estas (Hosseini *et al.*, 2018; Tanaka *et al.*, 2018; Yoon *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022), luego las células de Pulpa dental (Adine *et al.*, 2018; Chansaenroj *et al.*, 2022), del Folículo dental (Xu *et al.*, 2017) e incluso de médula ósea (Tran *et al.*, 2022) y glándulas lagrimales (Rodboon *et al.*, 2022).

En todas las investigaciones se obtienen organoides de glándulas salivales exitosas. En 6 de ellos, sólo describen este logro y muestran interesantes similitudes tanto morfológicas como funcionales de los organoides resultantes, independiente de la célula madre que se haya utilizado (Xu *et al.*, 2017; Hosseini, *et al.*, 2019; Tanaka & Mishima, 2020; Chansaenroj *et al.*, 2022; Tran *et al.*, 2022; Rodboon *et al.*, 2022), 6 estudios, además, nos describen la similitud de las respuestas de los organoides con respecto a las glándulas normales al aplicar diversos estímulos: factores de crecimiento, activadores muscarínicos, radiación, promotores de respuesta inflamatoria, fármacos e incluso la infección y replicación del virus sarccov 2 (Hosseini, *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2019; Yoshimoto *et al.*, 2020; Serrano *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021; Tanaka *et al.*, 2022). Incluso 1 estudio logra recrear la Placoda glandular (embrionaria), permitiendo estudios futuros del desarrollo glandular (Zhang *et al.*, 2022).

Particularmente interesantes son los estudios que logran trasplantes exitosos de organoides a organismos vivos (ratón) logrando diferenciación exitosa y regeneración glandular (Adine *et al.*, 2018; Tanaka *et al.*, 2018; Sui *et al.*, 2020) (Tabla I).

Tabla I. Resultados de las investigaciones de Organoides de Glándulas Salivales.

Autor / Título	Origen Célula Madre (CM)	Resultado de la investigación
Xu <i>et al.</i> , 2017	Folículo dental	O. de células acinares y ductales de glándulas salivales capaces de secretar alfa amilasa.
Adine <i>et al.</i> , 2018	Pulpa Humana	O. con secreción de alfa amilasa y se trasplantaron en glándulas de ratón dañadas por radioterapia, observándose una regeneración de las células epiteliales y neuronales de la glándula irradiada,
Hosseini <i>et al.</i> , 2018	Embrionaria	O. de glándula submandibular de ratones, responden de manera similar a glándula normal ante el uso de factores de crecimiento, por ejemplo; el número de canales de acuaporina 5 presentes en la célula epitelial de organoide, varía según la presencia del factor de crecimiento fibroblástico.
Tanaka <i>et al.</i> , 2018	Embrionaria	O. de ratones se trasplantaron en ratones en los cuales fue extraída la glándula salival. Se concluyó que el O., además, de mostrar características de una glándula salival madura, con morfología y un perfil de expresión génica similares también produjo saliva.
Ferreira <i>et al.</i> , 2019	Glándulas salivales	O. responden a estímulos muscarínicos, aumentando su actividad a través de la medición de marcadores neuronales colinérgicos y secreción de alfa amilasa.
Hosseini <i>et al.</i> , 2019	Glándula salival embrionaria	Se describen métodos para generar O de glándulas salivales.
Sui <i>et al.</i> , 2020	Glándulas salivales	Se logra trasplantar O. humano en un ratón, logrando la continuación de la diferenciación celular hasta obtener una glándula salival madura en el ratón.
Tanaka & Mishima, 2020	Glándula salival	Se obtuvo O. con morfología y un perfil de expresión génica similar a las GS de ratones normales.
Yoshimoto <i>et al.</i> , 2020	Glándula salival humana	Se generaron O. humanos para modelos de respuesta inflamatoria, los cuales fueron expuestos a citoquinas proinflamatorias, obteniendo resultados similares a las glándulas salivales humanas normales en biomarcadores inflamatorios.
Serrano <i>et al.</i> , 2021	Glándula salival	Se logran O diferenciados de glándulas Parótida y Submandibular. Además, ambos tipos fueron expuestos a radiación y se midió el comportamiento de diferentes biomarcadores. Se concluye que la respuesta fue similar a las células de glándulas salivales normales.
Wang <i>et al.</i> , 2021	Glándula salival	O. humanos reaccionan de manera similar a las células de glándulas salivales normales, frente a medicamentos beta bloqueadores, determinado una hiposalivación.
Chansaenroj <i>et al.</i> , 2022	Glándula salival y Pulpa dental.	Se generaron O. funcionales.
Rodboon <i>et al.</i> , 2022	Glándulas salivales y Glándulas lagrimales.	Se generaron O reproducibles y funcionales, incluso imitando características patológicas y de envejecimiento.
Tanaka <i>et al.</i> , 2022	Embrionarias	Se logran O. de células humanas con respuesta similar a infección por virus SARS COV 2 permitiendo la replicación y actuando como reservorio, al igual que las glándulas salivales normales.
Tran <i>et al.</i> , 2022	Cél. adultas de Médula ósea	Se generaron O. similares de glándulas salivales.
Yoon <i>et al.</i> , 2022	Cél. adultas de ratón y humanas	Se crearon O. que mantuvieron las características fenotípicas y funcionales de las glándulas salivales.
Zhang <i>et al.</i> , 2022	Embrionarias (tejido ectodérmico craneal)	Se generó O. de placodas glandulares (fase embriológica glandular). Permite estudiar el desarrollo de las glándulas salivales in vitro y desarrollar nuevas terapias clínicas para lograr la reparación de la hipofunción glandular.

• **Organoides de Órganos dentarios:** La mayoría de las CM utilizadas para generar los organoides dentales, provinieron de Pulpa dental (6 de los 10 estudios: Rosowski, *et al.*, 2019; Jeong *et al.*, 2020; Bektas *et al.*, 2022; Rothermund *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2022; Hermans *et al.*, 2023). Otras fuentes son el folículo dental (Hemeryck *et al.*, 2022) y la papila apical (Li *et al.*, 2022). Otros orígenes más extraños fueron, el obtener CM de epitelio porcino y su co-

cultivo con queratinocitos orales humano, generando, igualmente, un organoide de brote dental con características altamente similares (Bektas *et al.*, 2022).

En los 11 papers se obtiene organoides, ya sea, de tejido pulpar y dentinario o de dientes completos, con gran éxito. 3 de ellos nos señalan las similitudes en las respuestas ante materiales

restauradores, fármacos (biodentine) y ataque de LPS bacteriano sobre las células pulpares (Jeong *et al.*, 2020; Rothermund *et al.*, 2022). En 3 estudios se logra la obtención de tejido mineralizado (Bazina *et al.*, 2021; Hemeryck *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2022), en uno de ellos incluso se logra compactar el organoide (de forma externa), lográndose un tejido con características físico-químicas altamente similares al esmalte y con presencia de amelogenina, incluso de un tamaño aproximado a un diente pequeño, con 50mm3 (Bektas *et al.*, 2022). Además, se logra la unión de las CM propias del tejido dentario con células externas, como macrófagos y células endoteliales (Li *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2022).

Los estudios más llamativos son aquellos que

logran la producción de material altamente similar a esmalte y aquel que demuestra que los organoides, incluso guardan memoria genética según de donde proviene la CM original en incisivo o molares (Rosowski *et al.*, 2019) (Tabla II).

• **Organoides de Papilas Gustativas:** Las CM utilizadas en este grupo, son todas obtenidas de papilas gustativas embrionarias o adultas (Takai *et al.*, 2019; Ren *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2021; Adpaikar *et al.*, 2022; Matsuyama *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2023).

Se obtuvieron organoides de células gustativas altamente similares en morfología y función. Tanto a nivel genético como arquitectónico. Tanto así, que permitieron reconocer vías de señalización desco-

Tabla II. Resultados de las investigaciones de Organoides de Órganos dentarios.

Autor / Título (CM)	Origen Célula Madre	Resultado de la investigación
Rosowski <i>et al.</i> , 2019	Pulpa dentaria	Se obtuvo un O. del tamaño de un germen dentario. Este O sirve de modelo de estudio de mecanismos básicos del desarrollo dental humano.
Bazina <i>et al.</i> , 2021 de mucosa	Queratinocito oral de ratón	Generaron matriz rica en Amelogenina, la cual se mineralizó con Ca y P por 10 días. Los O. mineralizados se compactaron de forma artificial, logrando material con propiedades físico-químicas muy similar a Esmalte. Fuente ilimitada de Esmalte del propio paciente.
Bektas <i>et al.</i> , 2022 epitelio	Pulpa dental y porcino	Lograron co-cultivo Porcino-Humano (epitelio y mesénquima). Resultó un O de gran tamaño (50 mm ³) con estructura autoensamblada (morfología se autogeneró), con forma y función similar.
Hemeryck <i>et al.</i> , 2022	Folículo dental 3° molar humano	Se provocó la diferenciación en Ameloblastos desde las CM de los restos de Malassez. Posteriormente, el Fact. Crec. Epidérmico logró transición Epitelio.-Mesénquima. Además, se observó formaciones de calcio, tipo Hidroxiapatita.
Li, 2022	Papila apical	Se co-cultivó CM de papila con macrófagos. logrando un Autoensamblado. Se recreó dinámica apical en inflamación y curación, mostrando polaridad funcional de los macrófagos.
Rothermund <i>et al.</i> , 2022	Pulpa dental	Se logró O. de Dentina-Pulpa con tejido blando central encerrado por cápsula mineralizada externa. Se presenta como modelo de estudio de pulpitis para estudiar acción de bacterias. Demostraron que los LPS bacterianos son capaces de inhibir la respuesta de las CM pulpares.
Xu <i>et al.</i> , 2022	Pulpa dental	Se co-cultivó CM pulpares con células endoteliales y simuló la matriz extracelular derivada de la pulpa dental humana. Al realizar la implantación del O. en un ratón, este exhibió más matriz extracelular, vascularización y mineralización que los monocultivos.
Hermans <i>et al.</i> , 2023 Específica de Incisivos y Molares	Pulpa dental	Se logró O. diferenciados, morfológica y genéticamente, de incisivo y molares. Marcador PD7 se vio aumentado en incisivo y disminuido en Molar, similar a lo que ocurre en la realidad.
Jeong <i>et al.</i> , 2020	Pulpa Dental	O. similar a la dentina-pulpa con características, tanto de CM, como de odontoblastos. Muestra respuesta similar al aplicar Biodentine: Permite estudio de fármacos y futura regeneración dental.

nocidas hasta ahora (Takai *et al.*, 2019) y otras iguales tanto en modelos *in vivo* como en el organoides (Ren *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2021). Se logró obtener clara diferenciación en papilas fungiformes, foliadas o circunvaladas (Ren *et al.*, 2020).

El experimento más interesante, es el que crea el prototipo de la lengua bioeléctrica, donde se une las respuestas biológicas del organoides a sensores eléctrico de un chips para reproducir respuestas antes estímulos de sabores en un computador (Wu *et al.*, 2023) (Tabla III).

Tabla III. Resultados de las investigaciones de Organoides de Papilas Gustativas.

Autor / Título	Origen Célula Madre (CM)	Resultado de la investigación
Takai <i>et al.</i> , 2019	Papilas gustativas	Se logró O. de papilas gustativas, que permitió reconocer vías de señalización nuevas, en respuesta a Insulina, a través de expresión de ARNm y marcadores de autofagia activada.
Ren <i>et al.</i> , 2020	Papilas gustativas	Creación de O. diferenciados para papilas fungiformes, foliadas o circunvaladas y también según la edad de la CM utilizada (neonatos o adultos). Se usó marcador positivo para células gustativas (Lgr5) y se demostró gran diferencias de vías metabólicas, según el tipo de papilas.
Lin <i>et al.</i> , 2021	Papilas gustativas	O p ermitió reconocer respuesta a nuevo estudio de regeneración y diferenciación de papilas antes estímulo neuronal. El O respondió de igual manera que <i>in vivo</i> (ratones).
Adpaikar <i>et al.</i> , 2022	Papilas gustativas	O c ultivados en suspensión: modifica la orientación apicobasal de las células receptoras, mejorando regeneración, diferenciación y sobretodo mejora el estudio de las respuestas a sabores. Se demuestra que los marcadores genéticos son idénticos. Además, hubo integración de los O trasplantados en el epitelio lingual de un ratón receptor, manteniendo morfología (papila fungiforme), función e inervación.
Matsuyama <i>et al.</i> , 2023	Papilas gustativas	O p ara modelo de estudio muy específico de diferenciación celular de todos los tipos celulares que conforman la papila gustativa (tipo I, II, III y IV). Además, se vio respuesta similar en el O y en las papilas de ratón.
Wu <i>et al.</i> , 2023	Papilas gustativas	Se logró un O Bioelectrónico. Se asoció las células progenitoras del gusto a una matriz de microelectrodos (MEA). Esto funcionó como axones gustativos para recibir información gustativa mediante el registro en tiempo real de los potenciales extracelulares de los organoides del gusto y se registró en un chip. Se imita el sentido biológico del gusto <i>ex vivo</i> , reconociendo estímulos ácidos, dulces, amargos y salados con gran especificidad. En comparación con trabajos anteriores, esta lengua bioelectrónica tiene la ventaja de reflejar información de sabor real, estabilidad y repetibilidad.

• **Organoides de Ligamento Periodontal:** Los O de ligamento peridontal se logran de diversas fuentes. CMs del Folículo dental, embrionarias y del propio ligamento periodontal (Basu *et al.*, 2019; Chu *et al.*, 2021; Song *et al.*, 2022). Se logran O exitosos, con similitud de la arquitectura y de marcadores celulares y genéticos, mostrando, además, respuestas similares al aplicar estímulos, como un factor de crecimiento (Basu *et al.*, 2019; Chu *et al.*, 2021). Se logra realizar una implantación exitosa de un O en un ratón, lo cual permitiría usarse como medio

de regeneración tisular (Song *et al.*, 2022) (Tabla IV).

• **Otro tipo de Organoides:** Además de los mencionados, se encuentran trabajos parciales en la generación de epitelio lingual, con epitelio plano pluriestratificado (Hisha & Ueno, 2019; Shechtman *et al.*, 2021); de mucosa oral murina (Driehuis *et al.*, 2019; Seubert *et al.*, 2021); de paladar duro, para estudio de fusión palatina (Wolf *et al.*, 2018); de amígdalas (Wagar *et al.*, 2021; Kenter & Richner, 2021).

Tabla IV. Resultados de las investigaciones de Organoides de Ligamento Periodontal.

Autor / Título	Origen Célula Madre (CM)	Resultado de la investigación
Basu <i>et al.</i> , 2019	Ligamento periodontal	Se logra O sin andamios, similares al ligamento periodontal y cemento organizado. Se observó diferenciación celular y el ensamblaje de tejidos en implantación in vivo. Podría usarse como tejido de injerto.
Chu <i>et al.</i> , 2021	Folículo dental	Se logra formar O similares al ligamento periodontal normal, en forma y expresión génica.
Song <i>et al.</i> , 2022	Encía embrionaria	Se logró O exitoso y se probó que la respuesta al factor de crecimiento transformante- α 1 aumentó la diferenciación, lo que fue confirmado por la actividad de la fosfatasa alcalina y la expresión del ARNm, manteniendo la viabilidad celular.

DISCUSIÓN

Los Organoides han irrumpido, como una nueva técnica de investigación, en todas las áreas de la Medicina y de la misma forma en la Odontología. De acuerdo con nuestros resultados, se observó un gran interés en el uso de esta tecnología. Así lo demuestran las diversas áreas de investigación registradas, desarrollando O de glándulas salivales, dientes, papilas gustativas, de ligamento periodontal, de mucosa oral, paladar, incluso en sus estados embrionarios de formación.

Una gran variedad de CMs fueron utilizadas para generar los distintos tipos de O, particularmente, en los O de glándulas salivales y de dientes, lo que demuestra el amplio dominio en esta tecnología. Una excepción, son los O de papilas gustativas, en donde la única fuente de CMs son las mismas papilas gustativas. Las fuentes más utilizadas son la Pulpa dentaria, Folículo dental y células embrionarias. Caso particular, es el desarrollo de las neoplasia malignas, que se logran a partir de las CMs tumorales de pacientes.

Se observó una gran variedad de técnicas para el logro de los O, observando una serie de medios de cultivo con andamiaje, sin andamiaje, en suspensión, etc. Además, de usar las diversas CMs y permitir que estas organizaran el O, se trabajaron diversos co-cultivos con variados tipos celulares, uniendo a las CMs originales con macrófagos o células endoteliales, logrando gran efectividad en su organización. Incluso de orígenes diferentes como cultivo de células humanas con células de ratón o células humanas con células de porcino. Esto demuestra que la investigación odontológica es de alta calidad y de vanguardia.

Hay un gran éxito en los resultados obtenidos: primero, por los diversos tipos de O logrados (ya mencionados); segundo, las múltiples demostraciones de la gran similitud que presentan estos O con los órga-

nos originales, ya sea de forma, función, marcadores genéticos, vías de segundos mensajeros, incluso en respuesta a diversos estímulos como factores de crecimiento, radiación, microorganismos, materiales restauradores o fármacos; y tercero, permiten recrear ambientes fisiopatológicos como inflamación, infección o neoplasias.

Se presentan, además, como modelos de estudios para conocer vías intracelulares desconocidas hasta ahora o para probar diversos tipos de fármacos, ya que su respuesta tan similar al órgano original, permite una predictibilidad de los resultados en humanos muy alta. Incluso para terapias personalizadas, en el caso de los O de neoplasias malignas de pacientes resistentes a los tratamientos convencionales.

El futuro en esta área se muestra muy prometedor, permitiendo pensar, a corto o mediano plazo, en reemplazo de órganos dañados. Particularmente auspiciosos son los resultados en el trasplantes de O de glándulas salivales, que fueron llevados a cabo con total éxito, particularmente, en modelos animales murinos, donde el O trasplantado continuó su diferenciación en el animal receptor y terminó siendo funcional, con la creación de conexiones neuronales, la secreción de saliva y de enzimas específicas. Otra línea con grandes éxitos, es la producción de órganos dentarios, logrando incluso ser implantados con éxito en un animal receptor y continuar su desarrollo. Estos O presentan gran parecido en forma, incluso, de cada tipo específico de dientes (caninos o molares) y en la producción de esmalte de gran similitud fisicoquímica al esmalte natural. En cuanto al tamaño, esto va un poco más lento, debido a que los O, en general, son muy pequeños, pero ya hay una investigación que logró dientes de 50mm³ y que puede seguir creciendo. En el caso particular de los O de papilas gustativas, se logró y con éxito la interacción de estos con microelectrodos (chips), generando una lengua

bioeléctrica. También se logró la implantación de O de ligamento periodontal con éxito, posibilitando el injerto periodontal en un futuro.

En conclusión, la evidencia es contundente: la investigación odontológica, en base al uso de O, es de alta calidad y de vanguardia, mostrando resultados prometedores, que auguran un gran futuro, tanto para la odontología como para los pacientes.

REYES, B.A.; REYES, D.A. & SÁNCHEZ, M.R. Organoids in dentistry: advances in this new research approach: Exploratory systematic review. *Int. J. Odontostomat.*, 18(2):156-164, 2024.

ABSTRACT: Organoids (O) are a type of 3D cell culture, which reproduce the morphological and functional characteristics of various organs or tissues in an *in vivo* environment. They are achieved through the proliferation and differentiation of Stem Cells (SC) into different cell lines with the ability to self-organize. They are capable of reproducing form, function, gene expression, or responses to stimuli in the same way as the original organ. This has allowed it to serve as the basis for multiple investigations in the medical and dental field. In recent years, it has been possible to successfully recreate practically all human organs, such as the lungs, liver, reproductive tract, brain and many others (Bartfeld, 2021). In the same way, there are several lines of dental research developed, specifically, the creation of O from oral organs such as teeth and salivary glands, are the most reported (Oshima *et al.*, 2017). However, they are not common knowledge of the general dentist. This exploratory systematic review aims to present an overview of the accumulated evidence, determining the dental research areas, as well as their results. Dental research, based on the use of O, is of high quality and cutting-edge, showing promising results and a favorable future, both for dentistry and for patients.

KEY WORDS: organoids, 3D cultures, stem cells, stomatognathic system.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adine, C.; Ng, K. K.; Rungarunlert, S.; Souza, G. & Ferreira, J. N. Engineering innervated secretory epithelial organoids by magnetic three-dimensional bioprinting for stimulating epithelial growth in salivary glands. *Biomaterials*, 180:52-66, 2018.
- Adpaikar, A. A.; Zhang, S.; Kim, H. Y.; Kim, K. W.; Moon, S. J.; Lee, J. M. & Jung, H. S. Fine-tuning of epithelial taste bud organoid to promote functional recapitulation of taste reactivity. *Cell. Mol. Life Sci.*, 79(4):211, 2022.
- Amiel-Pérez, J.; Amiel-Sáenz, J. & Amiel-Torrelío, M. Organoides: fundamentos, presente y futuro. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública*, 39(2):227-35, 2022.
- Baker, B. M. & Chen, C. S. Deconstructing the third dimension: how 3D culture microenvironments alter cellular cues. *J. Cell Sci.*, 125(Pt. 13):3015-24, 2012.
- Bartfeld, S. Realizing the potential of organoids-an interview with Hans Clevers. *J. Mol. Med.*, 99(4):443-7, 2021.
- Basu, A.; Rothermund, K.; Ahmed, M.; Syed-Picard, F. Self-Assembly of an Organized Cementum-Periodontal Ligament-Like Complex Using Scaffold-Free Tissue Engineering. *Front. Physiol.*, 10:422, 2019.
- Bazina, F.; Brouxhon, S. M.; Graham, U. M. & Kyrkanides, S. Serotonin contributes to the *in vitro* production of a biomimetic enamel-like material from reprogrammed oral epithelial keratinocytes. *Orthod. Craniofac. Res.* 24(4):494-501, 2021.
- Bektas, C. K.; Zhang, W.; Mao, Y.; Wu, X.; Kohn, J. & Yelick, P. C. Self-assembled hydrogel microparticle-based tooth-germ organoids. *Bioengineering (Basel)*, 9(5):215, 2022.
- Calvo García, S. Cultivo de células en 3D. La nueva dimensión de los cultivos celulares. *Cuad. Tomás*, (5):215-32, 2013.
- Chansaenroj, A.; Adine, C.; Charoenlappanit, S.; Roytrakul, S.; Sariya, L.; Osathanon, T.; Rungarunlert, S.; Urkasemsin, G.; Chaisuparat, R.; Yodmuang, S.; *et al.* Magnetic bioassembly platforms towards the generation of extracellular vesicles from human salivary gland functional organoids for epithelial repair. *Bioact. Mater.*, 18:151-63, 2022.
- Chu, J.; Pielers, O.; Pfeifer, C.; C Morsczeck, V. & Docheva, D. Dental follicle cell differentiation towards periodontal ligament-like tissue in a self-assembly three-dimensional organoid model. *Eur. Cell Mater.*, 42:20-33, 2021.
- Corrò, C.; Novellademunt, L. & Li, V. S. W. A brief history of organoids. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 319(1):C151-C165, 2020.
- Driehuis, E.; Kolders, K.; Spelier, S.; Löhmussaar, K.; Willems, S.; Devriese, L.; de Bree, R.; Ruiters, E.; Korving, J.; Begthel, H.; *et al.* Oral mucosal organoids as a potential platform for personalized cancer therapy. *Cancer Discov.*, 9(7):852-71, 2019.
- Edmondson, R.; Broglie, J.; Adcock, A. F. & Yang, L. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay Drug Dev. Technol.*, 12(4):207-18, 2014.
- Ferreira, J.; Hasan, R.; Urkasemsin, G.; Ng, K.; Adine, C.; Muthumariappan, S. & Souza, G. A magnetic three-dimensional levitated primary cell culture system for the development of secretory salivary gland-like organoids. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 13(3):495-508, 2019.
- Hemeryck, L.; Hermans, F.; Chappell, J.; Kobayashi, H.; Lambrechts, D.; Lambrechts, I.; Bronckaers, A. & Vankelecom, H. Organoids from human tooth showing epithelial stemness phenotype and differentiation potential. *Cell. Mol. Life Sci.*, 79(3):153, 2022.
- Hermans, F.; Hemeryck, L.; Buedts, C.; Pereiro, M.; Hasevoets, S.; Kobayashi, H.; Lambrechts, D.; Lambrechts, I.; Bronckaers, A. & Vankelecom, H. Organoids from mouse molar and incisor as new tools to study tooth-specific biology and development. *Stem Cell Rep.*, 18(5):1166-81, 2023.
- Hisha, H. & Ueno, H. Organoid culture of lingual epithelial cells in a three-dimensional matrix. *Methods Mol. Biol.*, 1576:93-9, 2019.
- Hofer, M. & Lutolf, M. P. Engineering organoids. *Nature Rev. Mater.*, 6(5):402-20, 2021.
- Hosseini, Z. F.; Nelson, D. A.; Moskwa, N.; Sfakis, L. M.; Castracane, J. & Larsen, M. FGF2-dependent mesenchyme and laminin-111 are niche factors in salivary gland organoids. *J. Cell Sci.*, 131(4):jcs208728, 2018.
- Hosseini, Z. F.; Nelson, D.; Moskwa, N. & Larsen, M. Generating embryonic salivary gland organoids. *Curr. Protoc. Cell Biol.*, 83(1):e76, 2019.
- Jeong, S. Y.; Lee, S.; Choi, W. H.; Jee, J. H.; Kim, H. R. & Yoo, J. Fabrication of dentin-pulp-like organoids using dental-pulp stem cells. *Cells*, 9(3):642, 2020.
- Kenter, A. L. & Richner, J. M. Tonsil organoids: peering down the throat of human immunity. *Trends Immunol.*, 42(5):367-8, 2021.

- Li, F. C.; Hussein, H.; Magalhaes, M.; Selvaganapathy, P. R. & Kishen, A. Deciphering stem cell from apical papilla-macrophage choreography using a novel 3-dimensional organoid system. *J. Endod.*, 48(8):1063-1072.e7, 2022.
- Lin, X.; Lu, Ch.; Ohmoto, M.; Choma, K.; Margolskee, R.; Matsumoto, I. & Jiang, P. R-spondin substitutes for neuronal input for taste cell regeneration in adult mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 118(2):e2001833118, 2021.
- Matsuyama, K.; Takai, K.; Shigemura, N.; Nakatomi, M.; Kawamoto, T.; Kataoka, S.; Toyono, T. & Seta, Y. Ascl1-expressing cell differentiation in initially developed taste buds and taste organoids. *Cell Tissue Res.*, 392(3):631-41, 2023.
- Oshima, M.; Ogawa, M. & Tsuji, T. Regeneration of complex oral organs using 3D cell organization technology. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 49:84-90, 2017.
- Ren, W.; Liu, Q.; Zhang, X. & Yu, Y. Age-related taste cell generation in circumvallate papillae organoids via regulation of multiple signaling pathways. *Exp. Cell Res.*, 394(2):112150, 2020.
- Rodboon, T.; Souza, G.; Mutirangura, A.; Ferreira, J. Magnetic bioassembly platforms for establishing craniofacial exocrine gland organoids as aging in vitro models. *PLoS One*, 17(8):e0272644, 2022.
- Rosowski, J.; Bräunig, J.; Amler, A.; Strietzel, F.; Lauster, R. & Rosowski, M. Emulating the early phases of human tooth development in vitro. *Sci. Rep.*, 9(1):7057, 2019.
- Rothermund, K.; Calabrese, T. C. & Syed-Picard, F. N. Differential effects of Escherichia coli- versus Porphyromonas gingivalis-derived lipopolysaccharides on dental pulp stem cell differentiation in scaffold-free engineered tissues. *J. Endod.*, 48(11):1378-1386.e2, 2022.
- Serrano, P.; Cinat, D.; van Luijk, P.; Baanstra, M.; de Haan, G.; Pringle, S. & Coppes, R. Mouse parotid salivary gland organoids for the in vitro study of stem cell radiation response. *Oral Dis.*, 27(1):52-63, 2021.
- Seubert, A. C.; Krafft, M. & Kretschmar, K. Generation and characterization of murine oral mucosal organoid cultures. *J. Vis. Exp.*, (173):10.3791/62529, 2021.
- Shechtman, L. A.; Piarowski, C. M.; Scott, J. K.; Golden, E. J.; Gaillard, D. & Barlow, L. A. Generation and culture of lingual organoids derived from adult mouse taste stem cells. *J. Vis. Exp.*, 5(170):10.3791/62300, 2021.
- Simian, M. & Bissell, M. J. Organoids: A historical perspective of thinking in three dimensions. *J. Cell Biol.*, 216(1):31-40, 2017.
- Song, Y. M.; Na, K. H.; Lee, H. J. & Park, J. B. The effects of transforming growth factor- β 1 on the differentiation of cell organoids composed of gingiva-derived stem cells. *Biomed Res Int.*, 2022:9818299, 2022.
- Sui, Y.; Zhang, S.; Li, Y.; Zhang, X.; Hu, W.; Feng, Y.; Xiong, J.; Zhang, Y. & Wei, S. Generation of functional salivary gland tissue from human submandibular gland stem/progenitor cells. *Stem Cell Res. Ther.*, 11(1):127, 2020.
- Takai, S.; Watanabe, Y.; Sanematsu, K.; Yoshida, R.; Margolskee, R.; Jiang, P.; Atsuta, I.; Koyano, K.; Ninomiya, Y. & Shigemura, N. Effects of insulin signaling on mouse taste cell proliferation. *PLoS One*, 14(11):e0225190, 2019.
- Tanaka, J. & Mishima, K. In vitro three-dimensional culture systems of salivary glands. *Pathol. Int.*, 70(8):493-501, 2020.
- Tanaka, J.; Ogawa, M.; Hojo, H.; Kawashima, Y.; Mabuchi, Y.; Hata, K.; Nakamura, S.; Yasuhara, R.; Takamatsu, K.; Irié, T.; et al. Generation of orthotopically functional salivary gland from embryonic stem cells. *Nat. Commun.*, 11; 9(1):4216, 2018.
- Tanaka, J.; Senpuku, H.; Ogawa, M.; Yasuhara, R.; Ohnuma, S.; Takamatsu, K.; Watanabe, T.; Mabuchi, Y.; Nakamura, S.; Ishida, S.; et al. Human induced pluripotent stem cell-derived salivary gland organoids model SARS-CoV-2 infection and replication. *Nat. Cell Biol.*, 24(11):1595-605, 2022.
- Tang, X.; Wu, S.; Wang, D.; Chu, C.; Hong, Y.; Tao, M.; Hu, H.; Xu, M.; Guo, X. & Liu, Y. Human organoids in basic research and clinical applications. *Signal Transduct. Target Ther.*, 7(1):168, 2022.
- Tran, O. N.; Wang, H.; Li, S.; Malakhov, A.; Sun, Y.; Azees P.; Gonzalez, A.; Cao, B.; Marinkovic, M.; Singh, B.; et al. Organ-specific extracellular matrix directs trans-differentiation of mesenchymal stem cells and formation of salivary gland-like organoids in vivo. *Stem Cell Res. Ther.*, 13(1):306, 2022.
- Tricco, A. C.; Lillie, E.; Zarin, W.; O'Brien, K. K.; Colquhoun, H.; Levac, D.; Moher, D.; Peters, M.; Horsley, T.; Weeks, L.; et al. PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. *Ann. Intern. Med.*, 169(7):467-73, 2018.
- Wagar, L. E.; Salahudeen, A.; Constantz, C. M.; Wendel, B. S.; Lyons, M. M.; Mallajosyula, V.; Jatt, L. P.; Adamska, J. Z.; Blum, L. K.; Gupta, N.; et al. Modeling human adaptive immune responses with tonsil organoids. *Nat. Med.*, 27:125-35, 2021.
- Wang, X.; Serrano, P.; Terpstra, J.; Shaalan, A.; Proctor, G.; Spijkervet, F.; Vissink, A.; Bootsma, H.; Kroese, F.; Coppes, R.; et al. b-Adrenergic signaling induces Notch-mediated salivary gland progenitor cell control. *Stem Cell Rep.*, 16 (11):2813-24, 2021.
- Wolf, C. J.; Belair, D. G.; Becker, C. M.; Das, K. P.; Schmid, J. E. & Abbott, B. D. Development of an organotypic stem cell model for the study of human embryonic palatal fusion. *Birth Defects Res.*, 110(17):1322-34, 2018.
- Wu, J.; Chen, C.; Qin, C.; Li, Y.; Jiang, N.; Yuan, Q.; Duan, Y.; Liu, M.; Wei, X.; Yu, Y.; et al. Mimicking the biological sense of taste in vitro using a taste organoids-on-a-chip system. *Adv. Sci. (Weinh)*, 10(7):e2206101, 2023.
- Xinaris, C.; Brizi, V. & Remuzzi, G. Organoid models and applications in biomedical research. *Nephron*, 130(3):191-9, 2015.
- Xu, Q. L.; Furuhashi, A.; Zhang, Q. Z.; Jiang, C. M.; Chang, T. H. & Le, A. D. Induction of salivary gland-like cells from dental follicle epithelial cell. *J. Dent. Res.*, 96(9):1035-43, 2017.
- Xu, X.; Li, Z.; Ai, X.; Tang, Y.; Yang, D. & Dou, L. Human three-dimensional dental pulp organoid model for toxicity screening of dental materials on dental pulp cells and tissue. *Int. Endod. J.*, 55(1):79-88, 2022.
- Yoon, Y.; Kim, D.; Tak, K.; Hwang, S.; Kim, J.; Sim, N.; Cho, J.; Choi, D.; Ji, Y.; Hur, J.; et al. Salivary gland organoid culture maintains distinct glandular properties of murine and human major salivary glands. *Nat. Commun.*, 13(1):3291, 2022.
- Yoshimoto, S.; Yoshizumi, J.; Anzai, H.; Morishita, K.; Okamura, K.; Hiraki, A. & Hashimoto, S. Inhibition of Alk signaling promotes the induction of human salivary-gland-derived organoids. *Dis. Model Mech.*, 13(9):dmm045054, 2020.
- Zhang, S.; Sui, Y.; Yan, S.; Zhang, Y.; Ding, C.; Su, X.; Xiong, J. & Wei, S. Retinoic acid and FGF10 promote the differentiation of pluripotent stem cells into salivary gland placodes. *Stem Cell Res Ther.*, 13(1):368, 2022.

Dirección para correspondencia:

Marcelo Sánchez A.

Universidad de Talca

Facultad de Odontología

Unidad de Patología Oral

Talca

CHILE

E-mail: marsanchez@utalca.cl