

**ARTÍCULO DE REVISIÓN**

ISSN: 1315 2823

Fisiología y usos terapéuticos de los fibroblastos gingivales**Physiology and therapeutic uses of gingival fibroblasts**Simancas-Escorcía Víctor¹, Díaz-Caballero Antonio²

¹Odontólogo. MSc en Biología Celular, Fisiología y Patología. Candidato a Doctor en Fisiología y Patología, Universidad Paris-Diderot, Francia. Investigador grupo GITOUC,

Facultad de Odontología, Universidad de Cartagena. Colombia

²Doctor en Ciencia Biomédicas. Profesor. Director Grupo GITOUC,

Facultad de Odontología Universidad de Cartagena. Colombia.

victor.simancas@etu.univ-paris-diderot.fr - adiazc1@unicartagena.edu.co

Recibido: 05/08/2018

Aceptado: 08/10/2018

Resumen

Los Fibroblastos gingivales (FGs) son las células mayoritarias del tejido conjuntivo gingival, derivan de la cresta neural y constituyen un tipo celular indispensable en la regeneración y proceso de cicatrización de la encía. El presente estudio es una revisión narrativa cuyo propósito es la exposición de los aspectos fisiológicos, las funciones y potencial terapéutico de los FGs. Se realizó una búsqueda bibliográfica desde el año 2000 hasta la cuarta semana de septiembre de 2018 en las bases de datos Medline y Scopus seleccionando 51 artículos que posteriormente fueron analizados y discutidos. Los resultados expusieron una participación activa por parte de los FGs en la formación, renovación y homeostasis de la matriz extracelular de la encía mediante la síntesis de colágeno, fibras, glicoproteínas, glucosaminoglicanos entre otras proteínas que le confieren un fenotipo único y capaz de reparar el tejido gingival en ausencia de cicatriz. La evidencia científica actual presenta a los FGs como una fuente de células madre gingivales multipotentes capaces de diferenciarse hacia tres grandes líneas de células mesenquimatosas: osteoblastos, condrocitos y adipocitos. Futuros trabajos deberán continuar en la exploración de los aspectos fisiológicos de los FGs y su uso terapéutico en procesos patológicos de tejidos orales y extraorales.

Palabras clave: Encía; fibroblastos; terapéutica; matriz extracelular; medicina regenerativa.

Summary

The gingival fibroblasts (GFs) are the major cells of the gingival connective tissue, derive from the neural crest and constitute an indispensable cell type in the regeneration and healing process of the gingiva. The present study is a narrative review whose purpose is the exposition the physiological aspects, functions and therapeutic potential of GFs. A literature search was conducted from 2000 to the fourth week of September 2018 in the Medline and Scopus databases, selecting 51 articles that were subsequently analyzed and discussed. The results showed an active participation by the FGs in the formation, renewal

and homeostasis of the extracellular matrix of the gland through the synthesis of collagen, fibers, glycoproteins, glycosaminoglycans and other proteins that give it a unique phenotype and capable of repairing the gingival tissue in the absence of a scar. Current scientific evidence presents GFs as a source of multipotent gingival stem cells capable of differentiating into three major mesenchymal cell lines: osteoblasts, chondrocytes and adipocytes. Future works should continue in the exploration of the physiological aspects of the FGs and their therapeutic use in pathological processes of oral and extraoral tissues.

Keywords: Gingiva; fibroblasts; therapeutics; extracellular matrix; regenerative medicine.

Introducción

El auge de la medicina regenerativa ha significado una esperanza en el tratamiento de patologías graves y en la regeneración de tejidos gracias a la utilización de células madre. Una célula madre es una célula capaz de dividirse y dar lugar a una primera célula hija con capacidad de autorrenovarse, diferenciarse en varias líneas celulares y proteger los telómeros de sus cromosomas, sin embargo las células madre no disponen siempre de la misma capacidad organizativa y de diferenciación.¹ Las células madre presentan diferentes funciones en el organismo pero principalmente contribuyen a la renovación natural de tejidos y su reparación en caso de lesiones.

Actualmente, existen tres principales tipos de células madre: células madre embrionarias (CME), células madre pluripotentes inducidas (iPSCs, *en inglés*) y las células madre adultas (CMA). Las CME son totipotentes o pluripotentes con capacidad de diferenciarse en células de las tres capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo).² Las

iPSCs presentan características similares a las CME en su morfología, potencial de diferenciación y autorrenovación. Sin embargo, tienen la ventaja de ser células fáciles de manipular genéticamente y poder diferenciarse en células de las tres capas germinales.³ Por su parte, las CMA se encuentran presentes al interior de un tejido o en un tejido diferente que suele ser una reserva de células madre. Son células multipotentes y pueden diferenciarse en diferentes tipos de células al interior de un mismo germen embrionario, ya sea en células derivadas del ectodermo, mesodermo o endodermo. Estas células permitirán el mantenimiento de la integridad de los tejidos adultos mediante la preservación de la homeostasis celular.⁴

Gran parte de las CMA derivan del mesodermo pero ciertos tejidos mesenquimales pueden tener un origen neuroectodérmico, como es el caso de ciertos tejidos faciales.⁵ Sin embargo, la categoría más común de las CMA son las células madre mesenquimales también conocidas como células madre estromales (MSC, *en inglés*). Las MSC adultas derivan del tejido de soporte conocido como mesénquima o estroma, que proviene mayoritariamente del mesodermo. Estas células madre han sido identificadas en diversos tejidos conjuntivos adultos como el tejido adiposo, cordón umbilical, la piel, el hígado y en el tejido conjuntivo de la cavidad oral como en la pulpa, ligamento periodontal, folículo dental y la encía.^{6,7}

Recientemente, la capacidad de renovación celular y el potencial de regeneración en ausencia de fibrosis o cicatriz presentes en la encía han convertido a esta fibromucosa en el objeto de trabajos investigativos. Estos trabajos abordan las propiedades fisiológicas de las células de la encía y también investigan la presencia de células madre gingivales (CMG). Las CMG son capaces de diferenciarse en células pertenecientes a la línea celular osteoblástica, adipoblástica y condroblástica.⁸

Sin embargo, la localización en el tejido conjuntivo de las MSC permite establecer una relación con las células de soporte del tejido conjuntivo gingival y en efecto, es imposible indagar sobre estas células madre sin antes conocer las células más abundantes del tejido conjuntivo: los fibroblastos.

Los fibroblastos (incluyendo los fibroblastos gingivales), son células mononucleares, no polarizadas y concebidas como las células más numerosas presente en los tejidos conjuntivos del organismo. Tienen una participación activa en la regulación de fenómenos como la embriogénesis, organogénesis y el desarrollo, además de ser conocidas por su participación en la homeostasis y remodelación de los tejidos del organismo.⁹ El tejido conjuntivo gingival, un tejido vascularizado e inervado que forma parte de la encía, está compuesto de una gran cantidad de células, especialmente colágeno, células inmunitarias pero sobre todo de fibroblastos gingivales (FGs). Los FGs son las células más numerosas del tejido conjuntivo gingival y representan entre 60% a 65%, es decir, alrededor de $200 \cdot 10^6$ células por cm^3 de dicho tejido.¹⁰ Estas células constituyen un elemento indispensable en las diversas propiedades de la encía, de allí que es necesario un mayor entendimiento y comprensión de sus aspectos fisiológicos.

La presente revisión tuvo como objetivo exponer las características, funciones y potencial terapéutico de los FGs de acuerdo a la evidencia científica actual.

Materiales y métodos

Se realizó una revisión bibliográfica de tipo narrativa mediante la búsqueda electrónica de literatura en las bases de datos: Medline (Pubmed) y Scopus (Science Direct) desde el año 2000 hasta la cuarta semana de septiembre

de 2018; se utilizaron los términos gingival fibroblasts, physiological AND/OR gingival fibroblasts, therapeutic AND/OR gingival fibroblasts. Para refinar la búsqueda, se tuvo en cuenta ciertas limitantes como: artículos en inglés, textos completos y textos en PDF. Se excluyeron cartas al director, tesis, periódicos, conferencias, noticias, comentarios y editoriales. Todos los artículos utilizados en esta revisión fueron colectados y almacenados utilizando el software Zotero (Centre for History and New Media at George Mason University, Fairfax, Virginia, EE.UU.). Este software nos permitió igualmente eliminar aquellas referencias bibliográficas duplicadas. Los textos completos de los artículos fueron evaluados de manera independiente por dos revisores de acuerdo a los criterios mencionados anteriormente.

Resultados y discusión

Los resultados de la búsqueda inicial permitieron identificar 1356 artículos publicados. Luego de realizar el tamizaje con la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, 1305 artículos fueron rechazados y finalmente 51 artículos fueron incluidos, siendo posteriormente analizados y discutidos. En la Tabla 1 se puede constatar la distribución de artículos utilizados en la presente revisión.

Tabla 1. Resumen de la búsqueda computarizada de literatura.

Palabras Clave	MEDLINE (PUBMED)	Science Direct (ELSEIVER)
Gingival fibroblasts	705	284
physiological AND/OR gingival fibroblasts	96	90
therapeutic AND/OR gingival fibroblasts	90	91

Artículos excluidos basados en lectura de títulos, resúmenes, criterios de inclusión/exclusión y repetidos: 1305
Número final de artículos seleccionados: 51

Fuente: Simancas-Escorcía, Díaz-Caballero

Los FGs, anatómicamente se caracterizan por presentar un núcleo voluminoso y un citoplasma con gran cantidad de mitocondrias, vacuolas y prominente retículo endoplasmático junto un aparato de Golgi desarrollado de acuerdo a su elevado nivel de actividad metabólica.¹¹ *In vitro*, los FGs presentan una forma fusiforme u ovalada con numerosas prolongaciones a su alrededor que hacen posible el contacto con otros fibroblastos y además permiten una mejor adhesión al soporte de cultivo. Su citoesqueleto

se compone de microfilamentos de actina, esenciales para las funciones de movilidad y contracción celular principalmente en la fase de división celular, y de vimentina, una proteína fibrosa que hace parte de los filamentos intermedios del citoesqueleto. *In vivo*, los FGs en pocas ocasiones se les distingue en contacto entre ellos, al contrario, la observación microscópica indica que se encuentran de manera distantes y acompañados de una matriz colágena y de glicoproteína.¹¹ Figura 1

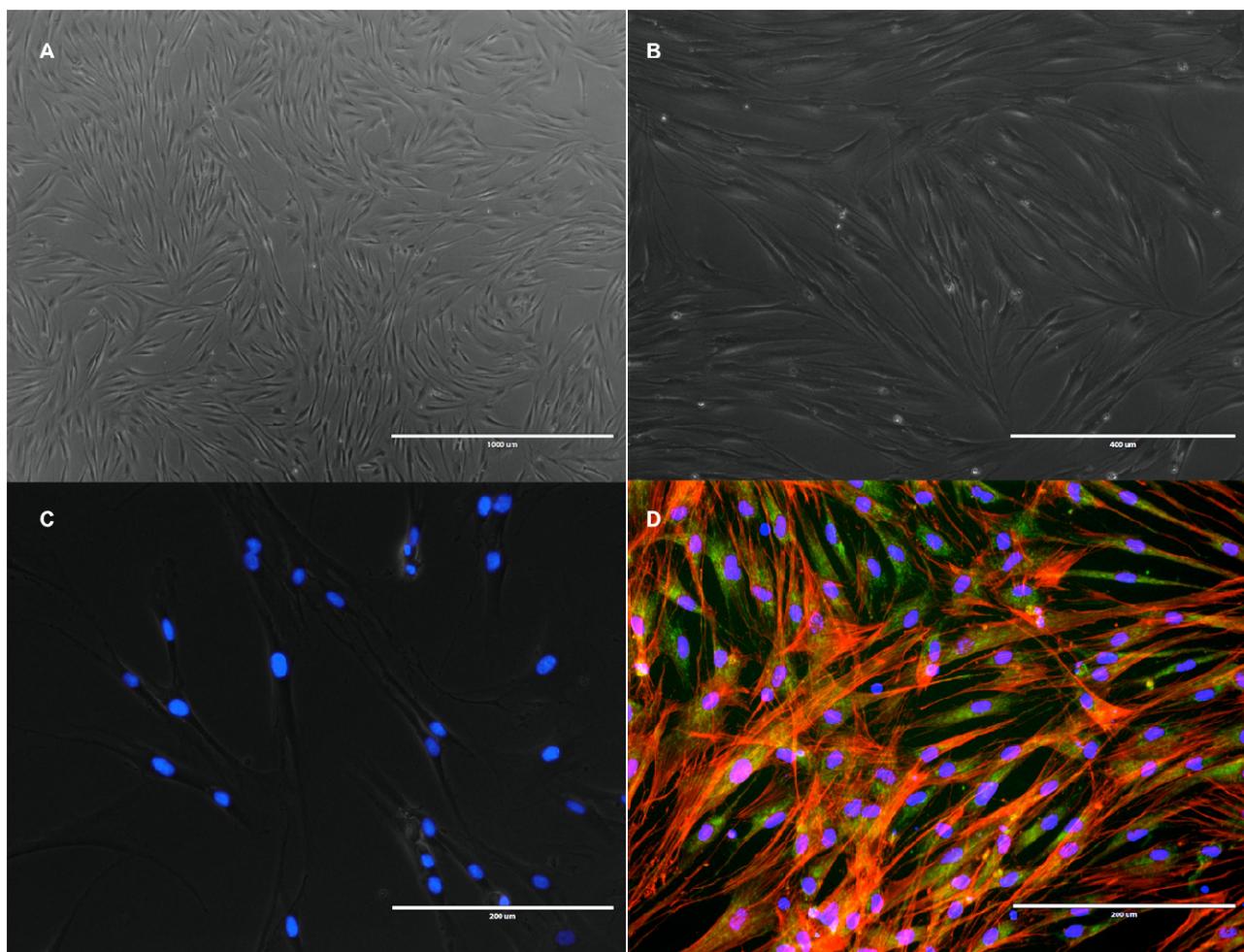


Figura 1. Fenotipo de fibroblastos gingivales. (A, B) Fibroblastos gingivales durante 7 días de cultivo captados por un microscopio de contraste de fases. (C) Núcleos voluminosos de los fibroblastos gingivales marcados en azul (Hoechst) a 7 días de cultivo. (D) Marcaje del citoesqueleto y organela celular de fibroblastos gingivales en cultivo. Expresión de la actina (rojo), mitocondrias (verde) y núcleo (azul). Fuente: Simancas-Escorcía, Díaz-Caballero

Los FGs se suelen caracterizar por presentar una heterogeneidad, particularmente cuando son comparados con fibroblastos provenientes de otros tejidos. La principal diferencia es el origen embriológico, los fibroblastos de otros tejidos son de origen mesenquimatoso, mientras que los FGs derivan de las células de la cresta neural (CN).¹² A nivel bucal, las células de la CN son el origen del tejido conjuntivo (incluyendo los FGs) y del esqueleto cráneo-facial.¹³ Si bien todos los fibroblastos participan activamente en la renovación de la matriz extracelular (MEC), la potencialidad de estas células depende de la sensibilidad a señales micro-ambientales y extracelulares que le permitirán diferenciarse y crear los componentes de la MEC en proporciones específica de cada tejido.¹⁴ Se ha podido constatar diferencias cuantitativas y cualitativas en los componentes de MEC producida por los FGs y otros fibroblastos, como por ejemplo con los fibroblastos dérmicos (FD).

Desde un punto de vista funcional, las diferencias entre los FGs y los FD pueden resultar lógicas dado que las interacciones de estas células con sus respectivas células epiteliales son diferentes. La evidencia científica actual ha demostrado que la cicatrización de la encía es un proceso rápido y en ausencia de cicatriz comparado con el mismo proceso de la piel, aspecto que ha sido atribuido al fenotipo y potencial regenerativo de los FGs.^{15,16} Así, la MEC producida por los FGs y FD presentan notables diferencias, una de ellas es la producción de colágeno, los FGs producen gran cantidad de colágeno tipo I contrariamente a la producción de colágeno tipo III y V generada por los FD. Adicionalmente, los FGs producen una cantidad reducida de glucosaminoglicanos sulfatados, ácido hialurónico, heparina y queratina sulfatada en comparación con los FD. Pero la diferencia entre la actividad de síntesis entre los FGs y los FD también se encuentra en la elaboración de la elastina, componente de la MEC menos abundante en el tejido gingival comparado con el tejido dérmico. Esta diferencia

se establece dado que los FGs llevan a cabo la síntesis de componentes microfibrilares asociados a las redes elásticas (como las fibrillas 1,2,5) en más cantidad que los FD.¹⁷

Recientemente, Tarzeman *et al*¹⁸ han demostrado una mayor expresión en la encía humana *in vivo* comparada con la piel de la Conexina 43 (Cx43), proteína responsable e involucrada en la formación de uniones gap y el paso de iones y moléculas entre células adyacentes. Estos autores destacan que la diferencia en la curación de las heridas entre la piel y la encía puede estar relacionada con un ensamblaje y función diferente de la Cx43 en los FGs y los FD. En consecuencia, la diferencia existente entre la presencia y función realizada por la Cx43 entre los FGs y los FD puede ser un aspecto importante en la comprensión de las diferencias curativas de las heridas entre estos tejidos.

Las diferencias fenotípicas y funcionales entre los FGs y los FD fueron también reportadas mediante el análisis genómico, estableciendo una expresión significativamente diferencial de 278 genes entre los dos tipos de células, principalmente en genes asociados a la MEC, la actividad oxidoreductasa y en los genes relacionados con la actividad de las citoquinas y factores de crecimiento.¹⁹ Aunque ambas poblaciones de fibroblastos son muy idénticas, una expresión diferencial de 5% de los genes entre los FGs y los FD puede explicar la diversidad en los roles fisiológicos llevados a cabo por estos fibroblastos. Pero también esta diferencia obedece a la especificidad del sitio anatómico, el origen embrionario, la proliferación, así como la función inmunomoduladora que desarrolla cada fibroblasto.²⁰

Por otro lado, se ha establecido diferencias significativas entre los fibroblastos que conservan un mismo origen embrionario pero su localización anatómica es diferente. Es el caso de los fibroblastos del ligamento periodontal

(FLP) y los FGs, aun conservando un mismo origen embrionario (derivados de las células de la CN) presentan una heterogeneidad proliferativa, funcional y génica.²¹ Los FLP constituyen el tipo celular más común del ligamento periodontal, responsables de promover la síntesis de colágeno y participar en los procesos de regeneración tisular, remodelación y reparación del hueso alveolar.²² Después de su localización anatómica, otra distinción entre los FGs y los FLP es el gran número de fibras secretadas por los FLP cuyo principal componente es el colágeno tipo 1 (Col-I), encargado de desempeñar un papel clave en el soporte mecánico del periodonto al mantener la integridad del ligamento periodontal y asegurar sus funciones. Los FLP son células efectoras de los estímulos mecánicos e incluso en un rango fisiológico son capaces de mejorar su diferenciación y proliferación, garantizando el equilibrio entre la regeneración y remodelación de periodonto. De hecho, el impacto mecánico es capaz de afectar la expresión de genes como Col-I, III, metaloproteasa de la matriz (MMP) 1,8,9 en los FLP.^{23,24}

Así, los FLP a diferencia de los FGs presentan un nivel significativamente mayor de expresión de la fosfatasa alcalina, enzima involucrada funcionalmente en la calcificación tisular.²⁵

Recientemente, notables esfuerzos han permitido la identificación y mejor caracterización de los FGs y los FLP por métodos microscópicos y técnicas que estudian la distribución y densidad de los genes o su ARNm. Han y Amar²⁶ encontraron que unos 163 genes son expresados de manera diferencial entre los FGs y los FLP. Los análisis mostraron que los FLP presentan una cantidad superior de genes que codifican proteínas transmembranales y proteínas relacionadas con el citoesqueleto, contrariamente a los FGs donde hubo una notable identificación de genes que codifican para proteínas que regulan el ciclo celular y proteínas metabólicas. Esta diferencia de expresión génica explicaría las diferencias funcionales intrínsecas de los FGs y los FLP a pesar de compartir un mismo origen embriológico. La tabla 2 presenta un resumen comparativo fenotípico entre los FGS, FD y los FLP.

Tabla 2. Comparación fenotípica entre fibroblastos gingivales, fibroblastos dérmicos y fibroblastos del ligamento periodontal.

Propiedades/ Característica	Fibroblastos gingivales	Fibroblastos dérmicos	Fibroblastos del ligamento periodontal
Localización anatómica	Encía	Dermis	Ligamento Periodontal
Origen embriológico	Cresta neural	Mesodermo	Cresta neural
Síntesis e interacción con la MEC	Si	Si	Si
Regeneración y remodelación tisular	Si	Si	Si
Producción de matriz de colágeno	Moderada	Escasa	Abundante
Recambio en la red de fibrina	Rápida	Lenta	Rápida
Reparación de tejido	Rápida	Lenta	Rápida
Generación de cicatriz	No	Si	No

Fuente: Simancas-Escorcía, Díaz-Caballero

Fenotipo y capacidad de diferenciación de los fibroblastos gingivales

Los FGs realizan funciones relacionadas con la especificidad de la cavidad bucal, participan activamente en la respuesta y la tolerancia inmunitaria, además de contribuir en la obtención de una velocidad de reparación y curación de las heridas más rápido que otros tejidos e incluso sin generar la formación de tejido cicatrizal.²⁷ Dada la apreciable capacidad regenerativa de la mucosa oral, ha habido un interés en conocer y caracterizar las células del tejido conjuntivo gingival. Marynka-Kalmani *et al*²⁸ describieron el fenotipo y la potencialidad de las células del tejido conjuntivo gingival, constatando que entre 40-60% de estas células tuvieron una expresión positiva de Oct4, Sox2, Nanog y entre 60-80% expresaron de manera constitutiva marcadores de la cresta neural como Nestin, Tubulina β III y GFAP (proteína fibrilar ácida de la glía). Estos resultados sugieren que en el tejido conjuntivo gingival se encuentra una población de células con un enorme potencial regenerativo.

Los FGs son positivos a varios marcadores de diferenciación, entre ellos CD29, CD73, CD90, CD105, CD166, CD106 y Stro1, mientras que los marcadores CD34, CD200 y HLA-DR son negativos en estas células.^{28,29} Fournier *et al*³⁰ a partir de cultivo de FGs constataron que estas células eran capaces de diferenciarse hacia tres grandes líneas mesenquimatosas: adipocito, osteoblasto y condroblasto. Las propiedades de autorrenovación, y diferenciación multipotencial de los fibroblastos gingivales también fueron reportadas por Zhang Q *et al*³¹ quienes constataron la capacidad de estas células en funciones inmunomoduladoras, puntualmente en la supresión de la proliferación de linfocitos y la expresión inducida de factores inmunosupresores como Interleucina-10 (IL-10), Indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) y Ciclooxygenasa-2 (COX-2) como respuesta a la citoquina inflamatoria, IFN-gamma.

Los FGs son también conocidos por llevar a cabo la síntesis de los componentes de la MEC gingival: colágeno, fibras, glicoproteínas, glucosaminoglicanos (GAG), entre otras proteínas. La producción de estos elementos permite que los FGs participen activamente en la síntesis y remodelaje de la MEC, la homeostasis celular, cicatrización tisular y la regulación de la respuesta inflamatoria del tejido conjuntivo gingival.

Funciones de los fibroblastos gingivales

Síntesis y remodelaje de la MEC gingival

Los FGs contribuyen activamente en la remodelación de la MEC, entramado de moléculas que permite la creación de un microambiente capaz de guiar y modular las funciones celulares por medio de interacciones ligando-receptor y la liberación de factores de crecimiento. Alrededor del 55 a 60% de la MEC gingival se encuentra compuesta por colágeno, en efecto la particularidad de esta matriz está dada por la diversidad en las fibras de colágeno que hace posible la unión a diferentes tejidos, entre ellos, la mucosa alveolar, hueso alveolar y dientes.³²

Los colágenos tipo I, III, y V son parte del tejido conjuntivo gingival. El colágeno tipo I se encuentra organizado en redes largas y densas asociadas al colágeno tipo III. Por su parte, el colágeno tipo III se dispone en forma de red reticular cerca de la membrana basal y del epitelio de unión, mientras que el colágeno tipo V rodea las fibras de colágeno de tipo I y III, gracias a la estructura filamentosa que posee.^{32,33} De otro lado, el componente elástico de la MEC gingival se distingue por presentar fibras de oxitalan, elaunina y fibras elásticas que son halladas de manera aisladas o incluso en relación con los vasos sanguíneos de la encía.³⁴ La mayoría de componentes microfibrilares requeridos para el ensamblaje de la red elástica, entre ellas, la fibrilina-1, fibrilina-2 y

tropoelastina, son producidas por los FGs. De hecho, los FGs se destacan por ser sensibles a los estímulos mecánicos de la MEC a través de los receptores de las integrinas, actividad que permite la regulación de la expresión genética y orientan la diferenciación de los FGs.³⁵

Al mismo tiempo, los FGs producen diversas moléculas de la MEC como proteoglicanos, GAG, fibronectina, vitronectina y otras proteínas.³⁶ Los GAG son estructuras glucídicas compuestas por unidades de disacáridos sulfatados que tienen un rol activo en el crecimiento, diferenciación y organización de la MEC, capaces de unirse y regular diversos factores de crecimiento y quemoquinas.³⁷ El dermatán sulfato, representa la mayor cantidad de GAG totales del tejido gingival, seguido de condroitín sulfato y varios GAG de presencia minoritaria pero importante como el heparán sulfato y el hialuronato.³⁸

Así mismo, en el tejido conjuntivo gingival se ha identificado varias glicoproteínas que participan en la adherencia celular, el crecimiento e incluso la hidratación tisular fijando las moléculas de agua. Entre estas glicoproteínas se destacan la decorina, el versican, perlecan, biglican y el sindecan que hace parte de la membrana contrariamente a otras glicoproteínas que son secretadas.³⁸ De igual manera, en el tejido conjuntivo gingival la presencia de diferentes glicoproteínas de estructura, son las encargadas de asegurar la unión entre las diferentes moléculas de la MEC y las células que la integran. La fibronectina, la laminina y la tenascina-C son ejemplo de estas moléculas.³⁹

Homeóstasis del tejido gingival

Los FGs son células capaces de secretar y responder a citoquinas, factores de crecimiento y quemoquinas. Estas funciones le garantizan mantener la homeóstasis del tejido gingival. En su estado fisiológico, los FGs son células quiescentes sometidas a pocas señales, sin

embargo, a pesar de la ausencia de proliferación en esta etapa, ellas continúan siendo metabólicamente activas, sintetizando y degradando los diversos componentes de la MEC. En caso de lesiones tisulares, los FGs inician el proceso de mitosis mientras que su actividad metabólica se mantiene gracias a la expresión continua y estable de los elementos de la MEC. Esta homeóstasis del tejido gingival, es posible por las interacciones entre los FGs y, los FGs con los elementos de la MEC mediante la secreción de citoquinas autocrinas/paracrinas, estimulación mecánica y la unión con diferentes receptores hormonales circulantes.⁶

Cicatrización gingival

Los FGs realizan funciones esenciales en la cicatrización gingival posterior a una lesión. Estas células proliferan y migran hacia el sitio lesionado con el propósito de sintetizar los componentes de la MEC, favoreciendo la aparición de otros tipos celulares que con su colonización contribuirán a la cicatrización gracias a la formación de una barrera protectora de tejido conjuntivo capaz de acelerar este proceso. El proceso cicatrizal de las heridas gingivales se caracteriza por ser rápido, además de contar con la participación de prostaglandinas de superficie e integrinas, quienes permiten a los FGs llevar a cabo su función por medio de la interacción célula-matriz y la interacción FGs-células inflamatorias.^{20,40}

La interacción célula-matriz hace posible la activación de señales intracelulares que modifican la actividad de los FGs a lo largo de una lesión tisular, principalmente el cambio de la unión específica de elementos de la MEC a las integrinas $\alpha 1\beta$ son capaces de unirse al colágeno, a las integrinas $\alpha 4\beta 1$ y $\alpha 5\beta 1$ que se relacionan preferiblemente con la fibronectina.²⁰ Durante el proceso de cicatrización, la degradación de la MEC facilita la liberación de elementos que activaran la modificación de conformación del citoesqueleto y permitirán la migración de los

FGs hacia el sitio de lesión. Un tejido de granulación es formado mientras la fibronectina es degradada y reemplazada por el colágeno tipo III. Luego de la degradación del colágeno existente y la síntesis de nuevas fibras realizada por los FGs, se observará un remplazo progresivo del colágeno tipo III por el colágeno tipo I.

El segundo mecanismo del proceso de cicatrización llevado a cabo por los FGs implica un contacto entre FGs y las células inflamatorias, tales como los linfocitos T (LT), que inducen la expresión de la interleucina-1-alfa (IL-1 α) y la IL-6 por parte de los FGs y permite la activación de ciertos factores inflamatorios como CD13.⁴⁰ Los FGs pueden también estimular la apoptosis de los LT activados, inhibir la proliferación de los LT efectores e inducir la expansión de los LT reguladores.⁴¹ Los FGs consiguen igualmente interactuar con los macrófagos, en efecto, las endotoxinas de las bacterias como los lipopolisacárido (LPS), pueden inducir la secreción de IL-6 por parte de los FGs, favoreciendo la síntesis de la metaloproteinasas de matriz extracelular-1 (MMP-1) por los macrófagos.⁴² Los FGs intervienen también en el bloqueo de la activación monocitos-macrófagos, mastocitos y células dendríticas.⁴³ Así mismo, los FGs pueden orientar el fenotipo de macrófagos M1 pro-inflamatorios hacia un fenotipo M2 anti-inflamatorios reparadores.⁴⁴ Estas funciones inmunomoduladoras realizadas por los FGs son gracias en parte a la liberación de factores solubles como la IL-10, la PGE2 o la inducción de la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO). Igualmente, la producción de interferón gamma (IFN- γ) por parte de los LT, pueden inducir la expresión de las moléculas CMH de *clase II* y de la IDO por parte de los FGs.⁴¹

Los FGs influenciados por citoquinas como TGF- β 1, proliferan durante la cicatrización y se diferencian en miofibroblastos expresando la alfa-actina del musculo liso (α -SMA), evento que garantiza la contracción de la herida. En el

proceso de cicatrización de la mucosa oral, los niveles de TGF- β 3 quien tiene una actividad anti-fibrótica, son elevados contrariamente a TGF- β 1 cuya actividad es pro-fibrótica.⁴⁵ Al mismo tiempo, es destacable el balance existente entre las MMP y los inhibidores tisulares endógenos de metaloproteinasas (TIMPs), en efecto, los FGs sintetizan TIMP-1 y TIMP-2 que inhiben la actividad de MMP-1, MMP-8 y MMP-9 sintetizados por las células inflamatorias.⁴⁶ Mah *et al*³⁹ mostraron que los FGs son capaces de expresar también MMP-1, MMP-3 y MMP-10, moduladores de la inflamación como las demás MMP con capacidad de inhibir las quemoquinas, citosinas, factores de crecimiento y sus inhibidores. Igualmente, se pudo constatar en este estudio la expresión de tenascina-C, una glucoproteína de la matriz extracelular de estructura modular involucrada en el inicio de una respuesta inmune y posteriormente en la reconstrucción tisular.

Usos terapéuticos de los fibroblastos gingivales

Actualmente, las aplicaciones terapéuticas que requieren la regeneración del tejido conjuntivo y de la mucosa epitelial se focalizan en la utilización de los FGs frente a los FD que hasta hace algunas décadas eran utilizados en diversas patologías, como en implantes cutáneos. De manera general, los problemas encontrados en la utilización de los FD se relacionan con su baja integración a los tejidos, la falta de regeneración de la arquitectura y función de la piel, así como su contribución en la formación de cicatrices. Por esta razón y debido a sus propiedades, los FGs pueden mejorar la reparación de la dermis y reducir la formación de cicatrices, aspectos que constituyen un problema mayor en la terapia regenerativa cutánea.⁴⁷

La utilización de los FGs como opción terapéutica ha sido también utilizada a nivel de la cavidad oral. Un tratamiento con terapia celular utilizando FGs cultivados y luego

reinyectados en la encía demostró luego de tres meses de su implantación, un aumento del tejido gingival, constatado además por análisis histológicos que evidenciaron un tejido queratinizado en todos los sitios previamente tratados con los FGs.⁴⁸ los FGs también han sido utilizado como tratamiento autólogo a nivel de las cuerdas bucales en cinco pacientes. La implantación de estas células permitió una mejor calidad tisular y vocal luego de 12 meses sin ningún efecto indeseable.⁴⁹

Recientemente, un estudio ha comparado la eficacia de reparación entre los FGs y las células madres mesenquimatosas en quemaduras de ratones por irradiación. Se constató el

desarrollo precoz de una epidermis gruesa y completamente regenerada con la aparición de folículos pilosos en ratones que fueron tratado solo con los FGs, incluso mucho tiempo antes de los ratones que recibieron el tratamiento con las células madres mesenquimatosas. Un análisis histológico permitió constatar que los ratones con los FGs presentaban una mejor arquitectura de colágeno y una secreción importante de factores de crecimiento en comparación con el grupo de ratones que fueron tratados con las células madre.⁵⁰ La tabla 3 resume diversos trabajos investigativos publicados desde el 2010 donde los FGs son utilizados como opción terapéutica.

Tabla 3. Reportes de investigaciones sobre usos terapéutico de los fibroblastos gingivales. Fuente: Simancas-Escorcía, Díaz-Caballero

Referencia	Tipo de estudio/Muestra	Tipo celular	Biomaterial	Objetivo de estudio	Resultados	Aplicaciones
Wu <i>et al</i> ⁵²	Estudio <i>in vivo</i> . 6 perros Beagle machos. Edad: 6 meses. Peso: 9 kg	Fibroblastos gingivales autólogos de Beagle	Membrana reabsorbible de colágeno Bio-Gide (Geistlich Pharma AG (Wolhusen, Suiza))	Evaluación de los efectos de los fibroblastos gingivales utilizados en la reparación de defectos periodontales y la regeneración periodontal	Reparación completa en 10 días de defectos en el hueso alveolar, cemento y ligamento periodontal	Reparación de defectos periodontales
Almela <i>et al</i> ⁵³	Estudio <i>in vitro</i>	Fibroblastos gingivales humanos / Queratinocitos orales humanos / Osteoblastos alveolares humanos	Discos cerámicos de hidroxiapatita/fosfato tricálcico (Ceramisys, Ltd., Reino Unido)	Desarrollo de un modelo celular de mucosa gingival y hueso alveolar humano	Modelo celular con características similares a la mucosa oral y hueso alveolar humano	Se plantea como una alternativa avanzada a los modelos animales
Heller <i>et al</i> ⁵⁴	Estudio <i>in vitro</i> / <i>in vivo</i> . Ratones machos CD-1 (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Alemania). Edad: 6 semanas. Peso: 20-25 g).	Fibroblastos gingivales humanos / Células epiteliales humanas	Membrana de colágeno natural (Geistlich Bio-Gide®, Wolhusen, Suiza) y Membrana de colágeno de porcino (Geistlich Bio-Gide® Pro, Wolhusen, Suiza),	Generación y el cultivo de tejido bucal pre-vascularizado basados en un tricultivo de células epiteliales gingivales humanas, fibroblastos y células endoteliales. Evaluación de la integración de un tricultivo celular humano <i>in vivo</i> .	Creación de una mucosa bucal pre-vascularizada artificial.	Posible uso de mucosa bucal pre-vascularizada en trasplantes autólogos

Fuente: Simancas-Escorcía, Díaz-Caballero

Tabla 3. Reportes de investigaciones sobre usos terapéutico de los fibroblastos gingivales. Fuente: Simancas-Escorcía, Díaz-Caballero

Referencia	Tipo de estudio/Muestra	Tipo celular	Biomaterial	Objetivo de estudio	Resultados	Aplicaciones
Cheung <i>et al</i> ⁵⁵	Estudio <i>in vitro</i>	Fibroblastos gingivales humanos	Membrana porosa D-PHI de oligómero de divinilo	Investigar el efecto de la perfusión, densidad celular y proporción de cultivo de Fibroblastos gingivales humanos con células endoteliales de vena umbilical humana	Potencial angiogénico mejorado de D-PHI cuando se cultiva con fibroblastos gingivales humanos bajo perfusión	Probable desarrollo y regeneración de la lámina propia gingival y posiblemente otros tejidos blandos.
Lotfi <i>et al</i> ⁵⁶	Estudio <i>in vivo</i> . 5 perros Mestizos. Peso: 10-15 kg	Fibroblastos gingivales	Quitosano	Analizar el efecto de un fibroblasto gingival cultivado en un scaffold natural (Quitosano) sobre el ancho de la encía queratinizada en perros	Aumento de la encía y al tejido queratinizado cuando el Quitosano fue utilizado con los fibroblastos gingivales	Material en andamiaje tisular para compensar la ausencia de encía queratinizada en perros
Kobayashi <i>et al</i> ⁵⁷	Estudio <i>in vitro/in vivo</i> . Ratas Sprague Dawley normales. Edad: 10 semanas	Fibroblastos gingivales / Células epiteliales de la tráquea / Células madres derivadas del tejido adiposo	Esonja de colágeno y malla de polipropileno	Efectos de los fibroblastos gingivales y células madres derivadas del tejido adiposo en la reconstitución del epitelio traqueal <i>in vitro</i> y preparación de una tráquea artificial con fibroblastos gingivales y células madres derivadas del tejido adiposo.	Los fibroblastos gingivales y células madres derivadas del tejido adiposo presentaron un efecto sinérgico en la regeneración del epitelio traqueal.	Se sugiere que los scaffold que contienen fibroblastos gingivales y células madres derivadas del tejido adiposo son útiles para acelerar la regeneración del epitelio traqueal.

Fuente: Simancas-Escorcía, Díaz-Caballero

Fibroblastos gingivales y las células madres gingivales

Tal como se ha descrito, los FGs presentan propiedades interesantes que las posiciona como una opción terapéutica en muchos ensayos clínicos desarrollados hasta el día de hoy. Recientemente, ha sido reportado una población de FGs con unas características de multipotencialidad y de auto-renovación donde se identificó y aislaron células madres gingivales

(CMG).⁵¹ Estas células mostraron una plasticidad importante junto a una actividad inmunomoduladora que puede ser de gran utilidad en la terapia celular. Las CMG pueden ser aisladas en pacientes adultos de una manera sencilla, sin dolor, sin problemas de cicatriz ni problemas funcionales. La presencia de una subpoblación de CMG al interior de una población general de FGs permite comprender la capacidad de cicatrización de la encía y el enorme potencial de los FGs en la terapia celular.

La Sociedad Internacional de Terapia Celular (ISCT, por sus siglas en inglés) ha establecido que las CMG cumplen con las normas que definen las células madres humanas de acuerdo a las características fenotípicas y funcionales. Las CMG presentan propiedades similares a las células madres mesenquimatosas derivadas de la médula ósea y otros tejidos adultos. Dentro de estas características se encuentran su capacidad de proliferación *in vitro*, su capacidad en formar colonias, la diferenciación multipotente en diferentes líneas celulares (osteoblastos, condroblastos y adipocitos) junto a la expresión de marcadores de superficie y genes específicos de las células madres mesenquimatosas. Recientemente, El-Sayet *et al*⁵⁸ mediante la técnica de selección de células activadas magnéticamente (MACS, en inglés) demostraron la existencia de dos poblaciones de CMG: STRO-1/MACS+ y STRO-1/MACS-. Este estudio constató que la población STRO-1/MACS+ contrariamente a STRO-1/MACS- contenía células con propiedades progenitoras y una expresión distintiva de marcadores de osteogénicos, información que permite confirmar la importancia de un buen método de selección celular.

Además de su facilidad en su aislamiento, las CMG presentan un fenotipo estable y suelen proliferar rápidamente sin la presencia de algún factor de crecimiento en comparación con las células madres de la médula ósea.⁵⁹ Una gran cantidad de CMG funcionalmente competentes pueden ser generadas a corto plazo a partir de una biopsia de encía humana y de una manera más sencilla que las células madres de la médula ósea utilizadas en la terapia celular.⁵⁹ En las CMG aisladas a partir de los FGs, también se ha identificado una capacidad única en la regulación de linfocitos T activados. Para cumplir con esta función, las CMG ejercen su efecto anti-inflamatorio mediante la expresión inducida del IFN- γ de laIDO, IL-10, COX-2 y el óxido nítrico sintasa inducible (NOSi), que son conocidos factores inmunosupresores.⁶⁰

Igualmente, las CMG pueden contribuir en la generación de tejidos periodontales cuando son cultivados en un medio condicionado y ante la presencia de la parte apical de un germen dental de rata, tal como ha sido demostrado por Chen *et al*⁶¹. Este estudio permitió constatar que las CMG indujeron un aumento en la proliferación y actividad de la fosfatasa alcalina así como la formación de estructuras parecidas al cemento y ligamento periodontal contiguos a la superficie de la dentina. Por ello, este trabajo permite concluir que probablemente las CMG desempeñen un papel importante en la regeneración de los tejidos periodontales.

Las CMG han demostrado igualmente ser capaces de diferenciarse hacia una vía miogénica. Ansari *et al*⁶² demostraron que después de cuatro semanas de diferenciación sobre matrices de hidrogeles de alginato junto a factores de crecimiento miogénicos, las CMG humanas presentaban un aspecto morfológico de células musculares y evidenciaban niveles elevados en la expresión de ARNm de genes relacionados con la regeneración muscular (MyoD, Myf5, MyoG). Recientemente, Xu *et al*⁶³ investigaron y construyeron a partir de una matriz extracelular de submucosa del intestino delgado porcino y CMG un injerto para la reconstrucción de defectos en la lengua en un modelo de rata. Los resultados indicaron que las CMG junto a la matriz de submucosa del intestino delgado porcino promovió la cicatrización del tejido blando y la regeneración de la capa muscular en comparación con defectos no tratados y aumentó de manera significativa la expresión de factores transcripcionales miogénicos e incluso suprimió la expresión de colágeno tipo I en la zona de la herida.

Adicionalmente, las CMG han sido igualmente reportadas por su potencial de diferenciación neuronal y su capacidad en la reconstrucción ósea.^{36,59} Todos estos trabajos confirman la capacidad de regeneración que tienen las CMG y

permiten establecer igualmente que los fibroblastos gingivales como localización y habitad de estas células tiene un rol fisiológico de relevancia.

Conclusiones

Es una evidencia científica que los FGs son células del tejido conjuntivo que contribuye a síntesis, remodelaje, homeostasis y cicatrización del tejido gingival. Estas funciones llevadas a cabo por los FGs permiten considerar que son células con un perfil genético y fisiológico único e incluso la fuente de las CMG. Por ello, la multipotencia de los FGs, pero también la facilidad en la obtención, su rápido crecimiento *in vitro* y su fuerte poder inmunosupresor hacen considerar a estas células como una nueva fuente terapéutica.

Sin embargo, las investigaciones deberán continuar en la búsqueda de una mayor comprensión de sus aspectos fisiológicos y su naturaleza con el propósito de contribuir a una mayor robustez científica en su utilización como terapia a diversos procesos patológicos orales y extraorales. El conocimiento de los roles fisiológicos de los FGs mencionados en el presente trabajo ha permitido incluso avanzar en el entendimiento de las CMG y las células madres adultas en general, evento que se ve reflejado en el número creciente de publicaciones concernientes a estas células y sus potenciales aplicaciones terapéuticas.

A pesar de los avances, se hace necesario una mayor dilucidación de los FGs como fuentes de CMG, sus métodos de recolección y eficacia en la terapéutica celular. Pero también, sería muy interesante desarrollar protocolos que permitan utilizar a los FGs como células capaces de contribuir en el diagnóstico molecular de patologías y ser la fuente en el desarrollo tratamientos farmacológicos de muchas patologías causadas incluso por mutaciones genéticas.

Agradecimientos

Al programa Bolívar Gana con Ciencia de la Gobernación de Bolívar, Colombia y la Fundación Ceiba por el acompañamiento y financiamiento en este trabajo.

Declaración sobre conflictos de intereses

Los autores manifiestan no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal Stem Cells: Revisiting History, Concepts, and Assays. *Cell Stem Cell*. 2008 Apr 10;2(4):313–9.
2. Spiegel AM. The Stem Cell Wars: A Dispatch from the Front. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2013; 124:94–110.
3. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 2006 Aug 25;126(4):663–76.
4. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science*. 1999 Apr 2;284(5411):143–7.
5. Ibarretxe G, Crende O, Aurrekoetxea M, García-Murga V, Etxaniz J, Unda F. Neural crest stem cells from dental tissues: a new hope for dental and neural regeneration. *Stem Cells Int*. 2012; 2012:103503.
6. Fournier BPJ, Larjava H, Häkkinen L. Gingiva as a Source of Stem Cells with Therapeutic Potential. *Stem Cells Dev*. 2013 Aug 14;22(24):3157–77.
7. 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 U S A*. 2000 Dec 5;97(25):13625–30.
8. Zhang QZ, Nguyen AL, Yu WH, Le AD. Human oral mucosa and gingiva: a unique reservoir for mesenchymal stem cells. *J Dent Res*. 2012 nov;91(11):1011–8.
 9. Haniffa MA, Collin MP, Buckley CD, Dazzi F. Mesenchymal stem cells: the fibroblasts' new clothes? *Haematologica*. 2009 feb;94(2):258–63.
 10. Schroeder HE, Münzel-Pedrazzoli S, Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Arch Oral Biol*. 1973 Jul;18(7):899–923.
 11. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontol 2000*. 2000 oct; 24:28–55.
 12. Chai Y, Jiang X, Ito Y, Bringas P, Han J, Rowitch DH, et al. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Dev Camb Engl*. 2000 Apr;127(8):1671–9.
 13. Noden DM. The role of the neural crest in patterning of avian cranial skeletal, connective, and muscle tissues. *Dev Biol*. 1983 Mar;96(1):144–65.
 14. Lwigale PY, Conrad GW, Bronner-Fraser M. Graded potential of neural crest to form cornea, sensory neurons and cartilage along the rostrocaudal axis. *Dev Camb Engl*. 2004 May;131(9):1979–91.
 15. Glim JE, Everts V, Niessen FB, Ulrich MM, Beelen RHJ. Extracellular matrix components of oral mucosa differ from skin and resemble that of foetal skin. *Arch Oral Biol*. 2014 Oct 1;59(10):1048–55.
 16. Larjava H, Wiebe C, Gallant-Behm C, Hart DA, Heino J, Häkkinen L. Exploring scarless healing of oral soft tissues. *J Can Dent Assoc*. 2011;77: b18.
 17. Tsuruga E, Irie K, Sakakura Y, Yajima T. Expression of fibrillins and tropoelastin by human gingival and periodontal ligament fibroblasts in vitro. *J Periodontal Res*. 2002 feb;37(1):23–8.
 18. Tarzemany R, Jiang G, Jiang JX, Gallant-Behm C, Wiebe C, Hart DA, et al. Connexin 43 regulates the expression of wound healing-related genes in human gingival and skin fibroblasts. *Exp Cell Res*. 2018 jun 15;367(2):150–61.
 19. Ebisawa K, Kato R, Okada M, Sugimura T, Latif MA, Hori Y, et al. Gingival and dermal fibroblasts: Their similarities and differences revealed from gene expression. *J Biosci Bioeng*. 2011 Mar;111(3):255–8.
 20. Van Linthout S, Miteva K, Tschöpe C. Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells. *Cardiovasc Res*. 2014 May 1;102(2):258–69.
 21. Nishimura F, Terranova VP. Comparative Study of the Chemotactic Responses of Periodontal Ligament Cells and Gingival Fibroblasts to Polypeptide Growth Factors. *J Dent Res*. 1996 Apr;75(4):986–92.
 22. Nomura Y, Ishikawa M, Yashiro Y, Sanggarnjanavanich S, Yamaguchi T, Arai C, et al. Human periodontal ligament fibroblasts are the optimal cell source for induced pluripotent stem cells. *Histochem Cell Biol*. 2012 Jun;137(6):719–32.
 23. Howard PS, Kucich U, Taliwal R, Korostoff JM. Mechanical forces alter extracellular matrix synthesis by human periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontal Res*. 1998 nov;33(8):500–8.
 24. El-Awady AR, Lapp CA, Gamal AY, Sharawy MM, Wenger KH, Cutler CW, et al. Human periodontal ligament fibroblast responses to compression in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2013 jul;40(7):661–71.
 25. Nettelhoff L, Grimm S, Jacobs C, Walter C, Pabst AM, Goldschmitt J, et al. Influence of mechanical compression on human periodontal ligament fibroblasts and

- osteoblasts. *Clin Oral Investig*. 2016 Apr 1;20(3):621–9.
26. Han X, Amar S. Identification of genes differentially expressed in cultured human periodontal ligament fibroblasts vs. human gingival fibroblasts by DNA microarray analysis. *J Dent Res*. 2002 Jun;81(6):399–405.
27. Wong JW, Gallant Behm C, Wiebe C, Mak K, Hart DA, Larjava H, et al. Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: Evidence from the red Duroc pig model and humans. *Wound Repair Regen*. 2009 Sep 1;17(5):717–29.
28. Marynka-Kalmani K, Treves S, Yafee M, Rachima H, Gafni Y, Cohen MA, et al. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells Dayt Ohio*. 2010 May;28(5):984–95.
29. Xu X, Chen C, Akiyama K, Chai Y, Le AD, Wang Z, et al. Gingivae contain neural-crest- and mesoderm-derived mesenchymal stem cells. *J Dent Res*. 2013 Sep;92(9):825–32.
30. Fournier BPJ, Ferre FC, Couty L, Lataillade J-J, Gourven M, Naveau A, et al. Multipotent progenitor cells in gingival connective tissue. *Tissue Eng Part A*. 2010 Sep;16(9):2891–9.
31. Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S, et al. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2009 Dec 15;183(12):7787–98.
32. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000*. 1997 Feb; 13:91–120.
33. Chavrier C, Couble ML, Magloire H, Grimaud JA. Connective tissue organization of healthy human gingiva. Ultrastructural localization of collagen types I-III-IV. *J Periodontal Res*. 1984 May;19(3):221–9.
34. Hsieh P-C, Jin Y-T, Chang C-W, Huang C-C, Liao S-C, Yuan K. Elastin in oral connective tissue modulates the keratinization of overlying epithelium. *J Clin Periodontol*. 2010 Aug 1;37(8):705–11.
35. Reilly GC, Engler AJ. Intrinsic extracellular matrix properties regulate stem cell differentiation. *J Biomech*. 2010 Jan 5;43(1):55–62.
36. Fournier BP, Loison-Robert LS, Ferré FC, Owen GR, Larjava H, Häkkinen L. Characterisation of human gingival neural crest-derived stem cells in monolayer and neurosphere cultures. *Eur Cell Mater*. 2016 Jan 5; 31:40–58.
37. Dreyfuss JL, Veiga SS, Coulson-Thomas VJ, Santos IA, Toma L, Coletta RD, et al. Differences in the expression of glycosaminoglycans in human fibroblasts derived from gingival overgrowths is related to TGF-beta up-regulation. *Growth Factors Chur Switz*. 2010 Feb;28(1):24–33.
38. Larjava H, Häkkinen L, Rahemtulla F. A biochemical analysis of human periodontal tissue proteoglycans. *Biochem J*. 1992 May 15;284 (Pt 1):267–74.
39. Mah W, Jiang G, Olver D, Cheung G, Kim B, Larjava H, et al. Human gingival fibroblasts display a non-fibrotic phenotype distinct from skin fibroblasts in three-dimensional cultures. *PloS One*. 2014;9(3): e90715.
40. Saho T, Kishida T, Hirano H, Hashikawa T, Shimabukuro Y, Murakami S. Induction of CD13 on T-lymphocytes by adhesive interaction with gingival fibroblasts. *J Dent Res*. 2003 Nov;82(11):893–8.
41. Mahanonda R, Sa-Ard-Iam N, Montreekachon P, Pimkhaokham A, Yongvanichit K, Fukuda MM, et al. IL-8 and IDO expression by human gingival fibroblasts via TLRs. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2007 Jan 15;178(2):1151–7.

42. Sundararaj KP, Samuvel DJ, Li Y, Sanders JJ, Lopes-Virella MF, Huang Y. Interleukin-6 released from fibroblasts is essential for up-regulation of matrix metalloproteinase-1 expression by U937 macrophages in coculture: cross-talking between fibroblasts and U937 macrophages exposed to high glucose. *J Biol Chem.* 2009 May 15;284(20):13714–24.
43. Séguier S, Tartour E, Guérin C, Couty L, Lemitre M, Lallement L, et al. Inhibition of the differentiation of monocyte-derived dendritic cells by human gingival fibroblasts. *PloS One.* 2013;8(8): e70937.
44. Zhang Q-Z, Su W-R, Shi S-H, Wilder-Smith P, Xiang AP, Wong A, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of m2 macrophages and enhance cutaneous wound healing. *Stem Cells Dayt Ohio.* 2010 oct;28(10):1856–68.
45. Schrementi ME, Ferreira AM, Zender C, DiPietro LA. Site-specific production of TGF-beta in oral mucosal and cutaneous wounds. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc.* 2008 Feb;16(1):80–6.
46. Chaussain Miller C, Septier D, Bonnefoix M, Lecolle S, Lebreton-Decoster C, Coulomb B, et al. Human dermal and gingival fibroblasts in a three-dimensional culture: a comparative study on matrix remodeling. *Clin Oral Investig.* 2002 Mar;6(1):39–50.
47. Tziotzios C, Profyris C, Sterling J. Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics. *J Am Acad Dermatol.* 2012 Jan;66(1):13–24.
48. Prato GPP, Rotundo R, Magnani C, Soranzo C, Muzzi L, Cairo F. An Autologous Cell Hyaluronic Acid Graft Technique for Gingival Augmentation: A Case Series. *J Periodontol.* 74(2):262–7.
49. Chhetri DK, Berke GS. Injection of cultured autologous fibroblasts for human vocal fold scars. *The Laryngoscope.* 2011 Apr;121(4):785–92.
50. Linard C, Tissedre F, Busson E, Holler V, Leclerc T, Strup-Perrot C, et al. Therapeutic potential of gingival fibroblasts for cutaneous radiation syndrome: comparison to bone marrow-mesenchymal stem cell grafts. *Stem Cells Dev.* 2015 May 15;24(10):1182–93.
51. Fournier BPJ, Ferre FC, Couty L, Lataillade J-J, Gourven M, Naveau A, et al. Multipotent progenitor cells in gingival connective tissue. *Tissue Eng Part A.* 2010 Sep;16(9):2891–9.
52. Wu M, Wang J, Zhang Y, Liu H, Dong F. Mineralization Induction of Gingival Fibroblasts and Construction of a Sandwich Tissue-Engineered Complex for Repairing Periodontal Defects. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2018 Feb 22; 24:1112–23.
53. Almela T, Al-Sahaf S, Bolt R, Brook IM, Moharamzadeh K. Characterization of Multilayered Tissue-Engineered Human Alveolar Bone and Gingival Mucosa. *Tissue Eng Part C Methods.* 2018 feb;24(2):99–107.
54. Heller M, Frerick-Ochs EV, Bauer H-K, Schiegnitz E, Flesch D, Brieger J, et al. Tissue engineered pre-vascularized buccal mucosa equivalents utilizing a primary triculture of epithelial cells, endothelial cells and fibroblasts. *Biomaterials.* 2016 Jan; 77:207–15.
55. Cheung JWC, Rose EE, Paul Santerre J. Perfused culture of gingival fibroblasts in a degradable/polar/hydrophobic/ionic polyurethane (D-PHI) scaffold leads to enhanced proliferation and metabolic activity. *Acta Biomater.* 2013 jun;9(6):6867–75.
56. Lotfi G, Shokrgozar MA, Mofid R, Abbas FM, Ghanavati F, Bagheban AA, et al. A clinical and histologic evaluation of gingival fibroblasts seeding on a chitosan-based scaffold and its effect on the width of keratinized gingiva in dogs. *J Periodontol.* 2011 Sep;82(9):1367–75.

57. Kobayashi K, Suzuki T, Nomoto Y, Tada Y, Miyake M, Hazama A, et al. A tissue-engineered trachea derived from a framed collagen scaffold, gingival fibroblasts and adipose-derived stem cells. *Biomaterials*. 2010 jun;31(18):4855–63.
58. El-Sayed KMF, Paris S, Graetz C, Kassem N, Mekhemar M, Ungefroren H, et al. Isolation and characterisation of human gingival margin-derived STRO-1/MACS (+) and MACS (-) cell populations. *Int J Oral Sci*. 2015 jun 26;7(2):80–8.
59. Tomar GB, Srivastava RK, Gupta N, Barhanpurkar AP, Pote ST, Jhaveri HM, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells are superior to bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cell therapy in regenerative medicine. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Mar 12;393(3):377–83.
60. Huang F, Chen M, Chen W, Gu J, Yuan J, Xue Y, et al. Human Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells Inhibit Xeno-Graft-versus-Host Disease via CD39-CD73-Adenosine and IDO Signals. *Front Immunol*. 2017; 8:68.
61. Chen Y, Liu H. The differentiation potential of gingival mesenchymal stem cells induced by apical tooth germ cell-conditioned medium. *Mol Med Rep*. 2016 Oct;14(4):3565–72.
62. Ansari S, Chen C, Xu X, Annabi N, Zadeh HH, Wu BM, et al. Muscle Tissue Engineering Using Gingival Mesenchymal Stem Cells Encapsulated in Alginate Hydrogels Containing Multiple Growth Factors. *Ann Biomed Eng*. 2016;44(6):1908–20.
63. Xu Q, Shanti RM, Zhang Q, Cannady SB, O'Malley BW, Le AD. A Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cell-Laden Porcine Small Intestinal Submucosa Extracellular Matrix Construct Promotes Myomucosal Regeneration of the Tongue. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(7–8):301–12.

