

**BOLA GRASA DE BICHAT COMO UNA FUENTE POTENCIAL DE CÉLULAS TRONCALES  
MESENQUIMALES. REVISIÓN DE LA LITERATURA. EXTRACCIÓN DE DATOS**

**MIGUEL ÁNGEL MARTÍNEZ CARREÑO  
PAULA ANDREA FAJARDO BÁEZ**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE  
PROGRAMA DE ODONTOLOGÍA - FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
BOGOTÁ DC. - NOVIEMBRE - 2018**

## HOJA DE IDENTIFICACIÓN

<b>Universidad</b>	El Bosque
<b>Facultad</b>	Odontología
<b>Programa</b>	Odontología
<b>Título:</b>	Bola grasa de bichat como una fuente potencial de células troncales mesenquimales. Revisión de la literatura. Fase de extracción de datos.
<b>Grupo de Investigación:</b>	Unidad de Investigación Básica Oral - UIBO
<b>Línea de investigación:</b>	Células Stem Cells Craneofaciales & Regeneración Tisular.
<b>Tipo de investigación:</b>	Pregrado / Grupo
<b>Estudiantes</b>	Miguel Ángel Martínez Carreño Paula Andrea Fajardo Báez
<b>Director:</b>	Dr. Juan Carlos Munévar Niño
<b>Codirector:</b>	Dra. Martha Tamayo

## **DIRECTIVOS UNIVERSIDAD EL BOSQUE**

<b>HERNANDO MATIZ CAMACHO</b>	Presidente del Claustro
<b>JUAN CARLOS LÓPEZ TRUJILLO</b>	Presidente Consejo Directivo
<b>MARIA CLARA RANGEL G.</b>	Rector(a)
<b>RITA CECILIA PLATA DE SILVA</b>	Vicerrector(a) Académico
<b>FRANCISCO FALLA</b>	Vicerrector Administrativo
<b>MIGUEL OTERO CADENA</b>	Vicerrectoría de Investigaciones.
<b>LUIS ARTURO RODRÍGUEZ</b>	Secretario General
<b>JUAN CARLOS SANCHEZ PARIS</b>	División Postgrados
<b>MARIA ROSA BUENAHORA</b>	Decana Facultad de Odontología
<b>MARTHA LILIANA GOMEZ RANGEL</b>	Secretaria Académica
<b>DIANA ESCOBAR</b>	Directora Área Bioclínica
<b>MARIA CLARA GONZÁLEZ</b>	Director Área comunitaria
<b>FRANCISCO PEREIRA</b>	Coordinador Área Psicosocial
<b>INGRID ISABEL MORA DIAZ</b>	Coordinador de Investigaciones Facultad de Odontología
<b>IVAN ARMANDO SANTACRUZ CHAVES</b>	Coordinador Postgrados Facultad de Odontología

**“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.**

## GUÍA DE CONTENIDO

**Resumen**

**Abstract**

	<b>Pág.</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>3</b>
<b>3. Objetivos</b>	<b>8</b>
<b>4. Metodología para el desarrollo de la revisión</b>	<b>9</b>
<b>a. Tipo de estudio</b>	<b>9</b>
<b>b. Métodos</b>	<b>9</b>
<b>1. Pregunta(s) orientadoras</b>	<b>9</b>
<b>2. Estructura de la revisión</b>	<b>9</b>
<b>3. Búsqueda de información</b>	<b>9</b>
<b>a. Selección de palabras claves por temática</b>	<b>11</b>
<b>b. Estructuración de estrategia de búsqueda por temática</b>	<b>11</b>
<b>c. Resultados de aplicación de estrategia de búsqueda por temática en bases de datos(Pubmed -Embase)</b>	<b>12</b>
<b>d. Preselección de artículos por temática</b>	<b>12</b>
<b>4. Criterios de selección e inclusión de artículos para elección final de artículos por temática</b>	<b>17</b>
<b>5. Proceso de extracción de información de artículos por temática</b>	<b>17</b>
<b>6. Proceso estructuración de articulo</b>	<b>17</b>
<b>7. Proceso de Edición en español para publicación</b>	<b>18</b>
<b>5. Consideraciones en Propiedad Intelectual</b>	<b>19</b>
<b>6. Resultados</b>	<b>21</b>
<b>a. Resumen de proceso de búsqueda de información</b>	<b>21</b>
<b>b. Resultados de proceso de extracción de información</b>	<b>23</b>
<b>c. Artículo original con su bibliografía</b>	<b>31</b>
<b>7. Referencias bibliográficas</b>	<b>54</b>

## RESUMEN

### **BOLA GRASA DE BICHAT COMO UNA FUENTE POTENCIAL DE CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES. REVISIÓN DE LA LITERATURA FASE EXTRACCIÓN DE DATOS**

**Antecedentes** Las células troncales mesenquimales obtenidas del tejido adiposo son una población celular prometedora en la ingeniería de tejidos, debido a su abundancia en el cuerpo humano. Dicha población celular posee características de autorrenovación, diferenciación multilineaje y alto potencial de proliferación que la hace ideal para su aislamiento, caracterización, expansión. En odontología la Bola Grasa de Bichat (BFP) representa una fuente de células troncales de fácil acceso a partir de la cual se han aislado células troncales de tejido adiposo y su extracción quirúrgica es a través de un procedimiento poco invasivo con complicaciones mínimas para el paciente. **Objetivo:** Esta revisión tiene como objetivo estudiar a partir de la evidencia científica publicada, las características anatómicas, histológicas y fisiológicas de la BFP, así como los protocolos que se han reportado para el aislamiento, caracterización, expansión, proliferación y diferenciación de sus células troncales, además, identificar cuáles son sus aplicaciones clínicas en odontología y medicina regenerativa. **Metodología:** Se realizaron tres búsquedas electrónicas la base de datos PUBMED una por cada temática desarrollada en la revisión, para cada una se establecieron diferentes estrategias de búsqueda con sus respectivas palabras clave además se realizaron búsquedas manuales y de referencias, se seleccionaron todos los artículos de revisión en texto completo. La búsqueda no tuvo restricción de idioma, lugar o fecha de publicación. Se seleccionaron estudios experimentales in-vivo e in-vitro, reportes de caso y estudios descriptivos. Para cada temática se estructuró una tabla para la extracción de los datos principales de cada artículo seleccionado a partir de la cual se escribió la revisión siguiendo los parámetros de redacción científica establecidos en las directrices de Asociación Europea de Editores Científicos (EASE) **Conclusiones:** Se ha demostrado que las BFP-ASCs histológicamente tienen una morfología propia de tejido adiposo en comparación con células troncales de grasa subcutánea, además posee características proliferativas similares a las presentadas por células troncales de pulpa dental y células troncales de tejido graso subcutáneo, además de ser una gran fuente de células troncales de fácil acceso para los cirujanos maxilofaciales, teniendo así una fuente alterna de células troncales, en la cual se pueden enfocar futuras investigaciones con objetivos clínicos y terapéuticos.

**PALABRAS CLAVE:** Bola Grasa de Bichat, anatomía, fisiología, histología, células troncales, cultivo celular, aislamiento, diferenciación celular, fracción estromal vascular, estudios clínicos, estudios en humanos, estudios en animales.

## ABSTRACT

### BUCCAL FAT PAD AS A POTENTIAL SOURCE OF MESENCHYME STEM CELLS. LITERATURE REVIEW DATA EXTRACTION PHASE

**Background:** Mesenchyme stem cells obtained underneath adipose tissue are a promising cellular source for tissue engineering due to their abundance in the human body. This cellular population possesses self-renovation, differentiation, multi-lineage and high proliferation potential which makes it ideal for isolation, characterisation and expansion. The Buccal Fat Pad (BFP) represents a source of stem cells which are easy to access, from which adipose tissue stem cells have been isolated and their extraction is by means of a minimally-invasive or complicated procedure for the patient. **Objective:** The present review is aimed at studying the published scientific evidence, anatomical, histological and physiological characteristics of the BFP, as well the protocols which have reported its isolation, characterisation, expansion, proliferation and differentiation. Also, to identify their clinical applications in dentistry and regenerative medicine. **Methodology:** Three electronic searches of PUBMED were carried out, one for each topic of the revision; each had different strategies with their respective key words, as well as manual, reference searches and all articles with complete texts were selected without restriction of language, place or publishing date. The selected studies were *in vivo*, *in vitro*, case reports and descriptive studies. A table was developed for each topic for data collection from each article and from these the revision was redacted following the scientific parameters established in the European Association of Science Editors (EASE). **Conclusions:** It has been shown that the BFP-ASCs have a morphology which is characteristic of adipose tissue in comparison with subcutaneous fat stem cells; they have proliferative characteristics similar to dental pulp and subcutaneous fat stem cells, as well as being a great source and easily accessible type of said cells for maxilla-facial surgeons which can be the focus of future research with clinical and therapeutic objectives.

**Key words:** Buccal Fat Pad, anatomy, physiology, histology, stem cells, cellular culture, isolation, cellular differentiation, stromal vascular fraction, clinical studies, studies on humans, studies on animals.

## INTRODUCCIÓN

Las células troncales mesenquimales (MSCs) tienen un alto potencial de autorrenovación, proliferación y diferenciación multilinaje, siendo estas células de gran importancia en la medicina regenerativa. Asimismo, es importante destacar el potencial terapéutico de las MSCs y las posibles fuentes para su obtención (Gronthos et al., 2002).

El uso de las células Troncales (SCs, Stem Cells) representa una opción de tratamiento innovadora y prometedora para solucionar varias enfermedades como el Parkinson, la diabetes mellitus, las alteraciones cardíacas y las enfermedades osteodegenerativas y nerviosas, que provocan un daño irreversible en las células afectadas, haciendo que el correspondiente órgano o tejido pierda su funcionalidad (Mínguez et al., 2005).

Broccaioli et al., (2013) en su estudio refiere que en la BGB se encuentran células troncales con habilidad de multidiferenciación, autorrenovación y proliferación. En el estudio realizado por dicho autor se comparan dos poblaciones celulares: las células troncales adiposas de Bola Grasa de Bichat (BFP-ASCs) y las células troncales derivadas de tejido adiposo (ASCs), Con relación a esto se dice que el tejido adiposo humano contiene células caracterizadas por su plasticidad y desarrollo multilinaje al igual que las células troncales derivadas de la médula ósea. El tejido adiposo representa una fuente abundante, práctica y atractiva para la obtención de MSCs tal y como lo mencionan algunos autores en sus estudios, los cuales encontraron este tipo de células en la fracción estromal vascular (FEV) del tejido adiposo. Así mismo, las MSCs derivadas de tejido adiposo se pueden diferenciar en diversas células tales como condrocitos, mioblastos, osteoblastos y tejido nervioso, siendo esta una fuente menos invasiva para la obtención de MSCs en comparación con las de médula ósea, además tienen la ventaja de estar en grandes proporciones en el cuerpo humano.(Zuk et al., 2001).

El tejido adiposo se deriva del mesoderma embrionario y contiene un estroma que puede ser aislado con facilidad. (Londoño et al., 2007). Recientemente, se ha demostrado que su fracción estromal contiene células madre multipotentes (ADAS, Adipose-Derived Adult Stem Cells) que pueden diferenciarse hacia linajes específicos tales como adipogénico, condrogénico, osteogénico, miogénico y neurogénico. (Zuk et al., 2001).

Primordialmente, las MSCs se aislaron de la médula ósea, pero desde ese entonces se han aislado estas células de múltiples tejidos como placenta, pulpa dental, ligamento periodontal, papila apical y el tejido adiposo, siendo este último una fuente promisoriosa para la obtención de células troncales. (Zuk et al., 2001).



En Odontología una fuente importante de MSCs derivadas de tejido adiposo es la Bola Grasa de Bichat (BGB), que ha demostrado tener un buen potencial como fuente de fácil acceso para cirujanos orales y maxilofaciales, siendo esta una masa adiposa encapsulada ubicada a ambos lados de la cara entre el músculo buccinador, masetero y otros músculos faciales (Gassner et al., 2008). Varios autores describen la función de esta estructura en relación a la masticación y a la succión (Zhang et al., 2002). Por lo que el procedimiento para la extracción de esta estructura conocido como Bichectomia o perfilamiento facial, representa un riesgo mayor que el mínimo para el paciente, puesto que se realizan estudios en muestras de células sustraídas de la Bola Grasa de Bichat la cual es extraída por indicación terapéutica. Es una cirugía no invasiva, que ayuda a mejorar la estética y el contorno de la cara según T. Shiraishi et al., (2012). Los cirujanos maxilofaciales poseen competencias en cirugía cosmética oral y maxilofacial establecidas por la Asociación Colombiana de Cirugía Oral y Maxilofacial (ACCOMF) que les permiten realizar la extracción de BGB en Colombia.

En la actualidad, lo poco que reporta la evidencia se basa en estudios iniciales preclínicos, basados en modelos animales, en los cuales se evalúa la diferenciación multilinaje de las BFP-ASCs, además de su fenotipo celular, obteniendo resultados de gran impacto para poder seguir investigando más a profundidad acerca de estas células, pero en cuanto a los escasos estudios clínicos que se encuentran sobre el uso real de las BFP-ASCs en pacientes podemos evidenciar un común denominador que es la combinación de estas células con matrices o scaffolds que permiten una mayor adhesión y contacto con los tejidos, así mismo es objetivo de esta revisión es enfatizar en la Bola Grasa de Bichat como una estructura anatómica, funcional, que posee un amplio campo de estudio a nivel de ingeniería tisular debido al gran potencial de las células troncales que tiene esta estructura en contenido.

## 1. ANTECEDENTES

Existen diversas fuentes de células troncales mesenquimales tales como la médula ósea, pero desde ese entonces se han aislado estas células de múltiples tejidos como placenta (Igura et al., 2004), pulpa dental (Gronthos et al., 2000), ligamento periodontal (Seo et al., 2004), papila apical (Sonoyama et al., 2006) y el tejido adiposo (Katz et al., 2005), siendo este último una fuente promisoría para la obtención de células troncales. En la actualidad cualquier población celular que satisfaga las siguientes características independiente del tejido de donde se aíslen se conocen como MSCs: Primordialmente se adhieren al plástico y morfológicamente tienen una apariencia similar a un fibroblasto; funcionalmente tienen capacidad de autorrenovación, proliferación y diferenciación en células del linaje mesenquimal, células derivadas del endodermo y del ectodermo en condiciones de cultivo adecuadas; fenotípicamente expresan antígenos de superficie tales como CD105, CD90, CD45, CD34 y CD73 (Dominici et al., 2006).

Las MSCs se caracterizan por la capacidad de generar uno o más tipos celulares que desempeñan su función en el organismo. Dependiendo de su origen las células troncales pueden dividirse en embrionarias y somáticas. Las células troncales embrionarias (CTE) son células pluripotenciales es decir que pueden dar origen a todos los tipos celulares del organismo. Por su parte las células troncales somáticas en su mayoría son multipotenciales ya que pueden generar una gran variedad de tipos celulares de un tejido específico (Mayani et al., 2003).

Dentro del grupo de células troncales del adulto somáticas, encontramos las MSCs que han demostrado un alto potencial de diferenciación hacia diversos tejidos de origen mesenquimal tales como adipocitos, osteoblastos, condrocitos, células neuronales y musculares entre otros (Flores et al., 2006).

Se ha descrito que en el tejido adiposo humano encontramos MSCs con la capacidad de diferenciarse *in vitro* a linajes adipogénicos, osteogénicos, condrogénicos y miogénicos. Estas células troncales exhiben una proliferación estable *in vitro* permitiendo su manipulación, proliferación y expansión (Liu et al., 2007).

En un estudio realizado por Shiraishi et al., (2012) se muestran las características fenotípicas de las células troncales de tejido adiposo (ASCs) las cuales expresaron marcadores de superficie tales como CD90 (86,28%) CD105 (54,52%) (Marcadores de MSCs). Además, se observa que la expresión de CD45 (marcador de células hematopoyéticas) estaba casi ausente expresando tan solo un (0,01%),

esto indica que las ASCs tienen una gran expresión de marcadores propios de MSCs adultas (Shiraishi et al., 2012).

En otro estudio realizado por Chen et al., (2015) en el cual hicieron un análisis de las características biológicas de las MSCs adultas aisladas de diferentes tejidos; tejido adiposo (ASCs), tejido del cordón umbilical (UCMSCs), sangre de menstruación (MenSCs) y células de la médula ósea. Luego la recolección de la muestra de cada uno de estos tejidos fue purificada para el aislamiento y posterior expansión de las células hasta el pasaje número 20. En el pasaje número 5 los investigadores realizaron la caracterización celular de tres poblaciones diferentes ASCs, UCMSCs y MenSCs mostrando como resultado que las ASCs expresan marcadores de superficie (CD29 (90,14%) CD73 (95,90%) CD90 (99,64%) CD105 (90,72%)) que son propios de MSCs adultas, además que estos marcadores fueron similares a los expresados por las células aisladas del cordón umbilical (Chen et al., 2015).

En el año 2005 un grupo de investigación según Jing propuso por primera vez la hipótesis de que las ASCs podrían ser inducidas en el linaje odontogénico y podrían ser utilizadas como una fuente adecuada para reemplazar o reparar dientes perdidos de pacientes de edad avanzada por lo cual podemos evidenciar que las ASCs por tener su origen mesenquimal pueden diferenciarse a diversos tejidos tal y como se espera de una célula multipotente (Jing et al., 2008).

En un estudio realizado por Zuk et al., (2002) se muestra que el estroma del tejido adiposo puede ser aislado fácilmente y se identificó que en la Fracción del estroma vascular (FEV) se encuentra una población de células indiferenciadas es decir células troncales. Así mismo en este estudio se evaluaron las características de las ASCs, además diferenciaron estas células a linaje óseo, cartilaginoso, muscular y neuronal. Llegando a la conclusión que la diferenciación multilínea puede resultar del compromiso de múltiples precursores de un linaje específico como los derivados del tejido adiposo que expresan o poseen una multi potencialidad de diferenciación por lo cual esta población puede ser considerada como MSCs (Zuk et al., 2002).

Estos estudios demuestran el gran potencial que tiene el tejido adiposo para la obtención de MSCs y describen el potencial terapéutico de las MSCs para la aplicación en la medicina y odontología regenerativa, también muestran las ventajas que tiene la obtención del tejido adiposo en comparación con la obtención de médula ósea, ya que este último procedimiento es más invasivo, doloroso y puede necesitar de anestesia general o espinal, que puede producir un número más bajo de MSCs. De esta manera estos autores plantean que una fuente ideal de células troncales autólogas, de fácil obtención, con mínimas molestias para el paciente y capaz de proporcionar el número de células necesario para

iniciar un cultivo sería el tejido adiposo, en el cual en su FEV se ha descrito una población de MSCs (Zuk et al., 2001).

Las células troncales mesenquimales aisladas de tejido adiposo son una fuente prometedora para la terapia regenerativa debido al fácil acceso a este tejido y la gran cantidad de estas células que se pueden encontrar allí en solo una pequeña muestra (Farre.,2011), en odontología se ha descrito la Bola grasa de Bichat como un tejido del cual podemos aislar células troncales mesenquimales capaces de diferenciarse en otros tejidos como son hueso, cartílago, adiposo, músculo entre otros (Broccaioli.,2013), siendo esto de gran importancia para el campo de la regeneración tisular, generando nuevas expectativas en el manejo de dichas células para la regeneración tisular y la ingeniería de tejidos.

Zuk et al.,(2001) utilizó el método aislamiento y cultivo de las ASCs que también se ha descrito en otros estudios (Zuk et al., 2002; Kasamatsu et al., 2012; Rodríguez et al., 2005). Esta metodología es de gran importancia debido a su rigurosidad en el procesamiento y aislamiento de las células obtenidas del tejido adiposo tal y como se describe a continuación: Primordialmente aislaron la FEV la cual contiene las MSCs mencionadas anteriormente, el tejido extraído se lavó extensamente con PBS, luego se realizó una disgregación enzimática con colagenasa al 0.075% durante 30 min a 37°C. La actividad enzimática se neutralizó con medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contiene 10% de suero fetal bovino (SFB) y se centrifugó a 3g por 10 min para obtener la FEV. El sedimento o pellet es resuspendido en 160 mM NH<sub>4</sub>CL y se incubó a temperatura ambiente durante 10 min con el fin de lisar los glóbulos rojos contaminantes. FEV se recolectó por centrifugación como se detalla más arriba y se filtró en una malla de nylon de 100 mm para eliminar los desechos celulares y se incubaron durante la noche a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub> en medio control (DMEM, 10% FBS, 1% de antibiótico/ antimicótico en solución). Al otro día se lavaron las células con PBS para eliminar células no adherentes y nuevamente se les agrego medio control (Zuk et al., 2002).

El resultado de este cultivo fue una población media en un tiempo de 60h. Luego del aislamiento se observó un tiempo de retraso inicial de 5-7 días en los cultivos celulares. Después cuando las células entran en fase proliferativa llegaron a tener un 90% de confluencia en menos de 48h. Además, se observó una relación lineal entre la duplicación de la población acumulada y el pasaje lo que indica una población con una tasa de duplicación relativamente constante. No se observó ninguna disminución en la duplicación de población en los pasajes posteriores lo que sugiere que los cultivos de dichas células mantienen su potencial proliferativo durante periodos de cultivo extensos (Zuk et al., 2001).

En el campo de la Odontología una fuente importante de MSCs derivadas de tejido adiposo es la BGB siendo esta una masa de grasa ubicada a ambos lados de la cara entre el músculo buccinador, masetero y otros músculos faciales (Gassner et al., 2008; Zhang et al., 2002), se ha descrito la función de esta estructura en relación a la masticación y a la succión, esta estructura al momento de su extracción mejora el perfil facial y genera un menor choque masticatorio entre los dientes y los carrillos. Esta estructura también ha sido usada para la reconstrucción de la zona peri ocular, para la reparación de trastornos oro antrales y/o buco nasales y para labio-paladar hendido (Zhang et al., 2002).

Broccaioli et al., (2013) expone que en la BGB se encuentran células troncales con habilidad de multi diferenciación, autorrenovación y proliferación. En el estudio realizado por dicho autor se comparan dos poblaciones celulares: BFP-ASCs y ASCs, las dos poblaciones celulares fueron aisladas, caracterizadas y se contaron durante 21 días cada semana. Para la caracterización de las dos poblaciones celulares se usaron anticuerpos monoclonales CD14(-), CD31(-), CD34(-), CD73(+), CD105(+) y CD90(+) y como resultado de esta citometría se observó que CD73(91%), CD90(92%), CD105(94%) fueron expresados en mayor porcentaje por las BFP-ASCs en comparación con ASCs, sin embargo los marcadores que no se deben expresar o deben dar negativo CD14(0.88%), CD34(0.24%), CD31(1.65%) fueron expresados en menor proporción por ASCs en comparación con las BFP-ASCs en las cuales estos marcadores fueron mucho más altos (Broccaioli et al., 2013) .

De igual forma las BFP-ASCs siguen siendo MSCs debido a sus características y a los marcadores que fueron expresados como positivos también reportadas en otros estudios (Tsurumachi et al., 2016; Farré., 2010) donde se destaca un gran potencial en la BGB para la obtención y aislamiento de MSCs para su futura aplicación clínica a nivel oral y sistémico. Dichas células son de gran importancia en la terapia regenerativa a nivel oral; recubrimientos pulpaes directos, revitalización pulpar, regeneración del ligamento periodontal. Además las MSCs en general se están utilizando en terapias regenerativas para enfermedades sistémicas y cuál sería su efecto principalmente en la cicatrización, músculo cardiaco, células beta pancreáticas y en el hígado (Kim et al., 2012), para llegar a ello es de vital importancia contar con un protocolo estandarizado para llevar a cabo la obtención, aislamiento y expansión de las BFP-ASCs.

Diversos estudios realizados en animales (kawakami et al., 2016, Nagasaki et al., 2015, Takahashi et al., 2017) reportan en sus estudios la relevancia, importancia y utilidad de las BFP-ASCs en modelos experimentales In-vivo, estos estudios abarcan desde la neoformación de glándulas salivales a partir de la implantación de BFP-ASCs en defectos glandulares de ratones JCI demostrando histológicamente que en aquellas glándulas donde se implantaron las células se observó una

neoformación de células acinares y ductos propios de glándulas salivales.(kawakami)De igual manera en el estudio realizado por nagasaki et al., 2015 se realizó un modelo experimental in-vivo en ratones hembra a los cuales se les produjo un defecto óseo parietal bilateral para posteriormente implantar las células troncales extraídas de Bola Grasa de Bichat, inicialmente solo se implantaron células troncales, en otro grupo implantaron BFP-ASCs en combinación con matrices de hidroxiapatita y para el control no usaron ningún tipo de tratamiento. En aquellos ratones a los que se les implantaron BFP-ASCs en combinación con matrices presentaron una formación ósea mayor en comparación con aquellos que solo se les trasplantaron BFP-ASCs, igualmente al grupo que no se le implantaron células presentó una menor formación ósea en comparación con los otros dos grupos. En un estudio más reciente realizado por Takahashi et al., 2017, se plantearon como objetivo evaluar la formación neuronal, a partir de la implantación de BFP-ASCs en la parte media del cerebro para reducir la sintomatología epiléptica en ratones wistar machos adultos, para el estudio fueron seleccionados dos grupos, el grupo #1 fue tratado con las BFP-ASCs implantadas en la parte media del cerebro, mientras que el grupo #2 fue tratado con solución de Hank y fueron mantenidos como control, como resultados de este estudio obtuvieron que las ratas a las cuales se les habían trasplantado las BFP-ASCs en la parte media del cerebro había disminuido el comportamiento rotacional por inyección intraperitoneal, mientras que el grupo control se mantuvo en los mismos rangos de la línea base por lo cual se estableció que había una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos y el grupo #1 el cual fue tratado con las BFP-ASCs si tenía una neoformación neuronal que permite disminuir la condición clínica presentada por las ratas.

### **3. OBJETIVOS**

#### ***3.1 Objetivo General***

Identificar con base en la evidencia científica cuál es uso de las células troncales de la Bola Grasa de Bichat en tratamientos de odontología regenerativa.

#### ***3.2 Objetivos específicos***

- Describir con base en la evidencia científica la anatomía, histología y fisiología de la bola grasa de Bichat.
- Describir con base en la evidencia científica los protocolos de extracción de las células troncales de la bola grasa de Bichat.
- Describir los posibles tratamientos a partir de la obtención de células troncales mesenquimales de la Bola Grasa de Bichat.

#### **4. METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DE LA REVISIÓN**

a. *Tipo de Estudio:* Revisión de la literatura

#### **b. Metodo**

##### **1. Pregunta orientadora de la revisión**

¿Cuál es uso de las células troncales de la Bola Grasa de Bichat en tratamientos de odontología regenerativa?

##### **2. Estructura de la revisión**

Teniendo en cuenta la pregunta, se establece la estructura la revisión de acuerdo a las temáticas que se van a desarrollar

##### **Introducción/objetivo**

##### **Metodología de búsqueda de Información**

##### **1. Descripción de la bola grasa de Bichat**

- Anatomía
- Histología
- Fisiología

##### **2. Bola grasa de Bichat como fuente de células troncales**

- Protocolos de extracción de las células troncales de la bola grasa de Bichat.
- Características fenotípicas de las células troncales de la bola grasa de Bichat.
- Potencial de diferenciación de las células troncales de la bola grasa de Bichat.
- Fracción estromal vascular

##### **3. Aplicación clínica en odontología y medicina regenerativa de las células troncales de la bola grasa de Bichat**

- Estudios en animales



- Estudios en humanos

### 3. Búsqueda de información:

La metodología para la búsqueda de información que se expone a continuación se realiza a manera de ejemplo para la temática Descripción de la Bola Grasa de Bichat anatomía, histología y fisiología, las estrategias de búsqueda para las otras temáticas así como los cuadros de extracción de datos para las tres temáticas, se presentan en documentos anexos.

#### a. Selección de palabras claves por temática

Se definen las variables para cada temática a ser tratada en la revisión a partir de las de las cuales se establecen las palabras claves para poder elaborar estrategias de búsqueda de cada una de las temáticas propuestas: definición de los términos Mesh, Decs y Sinónimos o términos relacionado para lo cual se diligenciará la Tabla 1

Tabla 1. SELECCIÓN DE PALABRAS CLAVES POR TEMÁTICA DE REVISIÓN		
<b>TEMÁTICA 1</b>	Descripción de la bola grasa de Bichat: anatómica, histológica y fisiológica	
<b>Bola grasa de Bichat</b>	Palabra clave	Buccal fat Pad
	Términos [MeSH] inglés	Adipose Tissue
	Términos [DeSC] inglés	Adipose Tissue
	Sinónimos / Términos relacionados	Tissue, Adipose Fat Pad Buccal fat pad
<b>Histología</b>	Palabra clave	Histology
	Términos [MeSH] inglés	Histology
	Términos [DeSC] inglés	Histology
	Sinónimos / Términos relacionados	Histocytochemistry Histology, Comparative
<b>Fisiología</b>	Palabra clave	Physiology
	Términos [MeSH] inglés	Physiology
	Términos [DeSC] inglés	Physiology
	Sinónimos / Términos relacionados	Physiology, Comparative
<b>Anatomía</b>	Palabra clave	Anatomy
	Términos [MeSH] inglés	Anatomy
	Términos [DeSC] inglés	Anatomy
	Sinónimos / Términos relacionados	Anatomy, Comparative Anatomy, Regional

#### b. Estrategia de búsqueda

Se lleva a cabo la estrategia de búsqueda con base en las palabras clave, términos Mesh, Decs y Sinónimos o términos relacionados que se muestran en la Tabla 1. Se realiza una búsqueda para cada variable de la temática, en este caso: histología, fisiología y anatomía, utilizando operadores

booleanos como AND y OR con el fin de desarrollar la búsqueda de manera lógica y específica, para lo cual se diligenciará la tabla 2.

TABLA 2 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA	
TEMATICA 1	
TEMATICA 1	Descripción de la bola grasa de Bichat: anatómica, histología y fisiológica
Histología	#1: Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad #2: Histology OR Histochemistry OR Histology, Comparative #3: (Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND(Histology OR Histochemistry OR Histology, Comparative)
Fisiología	#1: Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad #2: Physiology OR Physiology OR Physiology, Comparative #3 (Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND (Physiology OR Physiology OR Physiology, Comparative)
Anatomía	#1: Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad #2: Anatomy, Regional OR Anatomy, Comparative OR Anatomy #3 (Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND (Anatomy, Regional OR Anatomy, Comparative OR Anatomy)

### c. Resultados de la aplicación de la estrategia de búsqueda

Se preseleccionan los artículos que podrían utilizarse en la revisión, por el título/abstract, luego de realizar las búsquedas para cada una de las variables, se muestran la cantidad de artículos encontrados con los diferentes algoritmos como se observa en la tabla 3.

TABLA 3: RESULTADOS APLICACIÓN DE ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA POR TEMÁTICA PUBMED			
TEMATICA 1		Descripción de la bola grasa de Bichat: <b>Histología</b>	
Busqueda	Algoritmos	Cantidad de artículos encontrados	Cantidad seleccionada por título/abstract
#1	Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad	121.725	
#2	Histology OR Histochemistry OR Histology, Comparative	4'829.334	
#3	(Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND(Histology OR Histochemistry OR Histology, Comparative)	45730	
TEMATICA 1		Descripción de la bola grasa de Bichat: <b>Fisiología</b>	
Busqueda	Algoritmos	Cantidad de artículos encontrados	Cantidad seleccionada por título/abstract
#1	Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad	121.725	
#2	Physiology OR Physiology OR Physiology, Comparative	11'465.173	
#3	(Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND (Physiology OR Physiology, Comparative)	88.578	

TEMATICA 1	Descripción de la bola grasa de Bichat: <b>Anatomia</b>		
Busqueda	Algoritmos	Cantidad de artículos encontrados	Cantidad seleccionada por título/abstract
#1	Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad	118.918	
#2	Anatomy, Regional OR Anatomy, Comparative OR Anatomy	4`839.531	
#3	(Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND (Anatomy, Regional OR Anatomy, Comparative OR Anatomy)	45.868	

#### d. Preselección de artículos por temática

Se copian los abstract preseleccionados en la búsqueda final de cada variable como se observa en la tabla 4.

Tabla 4. Preselección de artículos por temática	
TEMATICA 1	Descripción de la bola grasa de Bichat: anatómica, histología y fisiológica
BASE DE DATOS	PUBMED
ALGORITMO FINAL	(Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) OR (Anatomy, Regional OR Anatomy, Comparative OR Anatomy)
Artículos preseleccionados	
Referencia Vancouver y abstract	
<p><b>Ponrartana S, Patil S, Aggabao PC, Pavlova Z, Devaskar SU, Gilsanz V. Brown Adipose Tissue in the Buccal Fat Pad during Infancy. PLoS ONE 9(2): e89533.</b></p> <p><b>Abstract</b> The buccal fat pad (BFP) is an encapsulated mass of adipose tissue thought to enhance the sucking capabilities of the masticatory muscles during infancy. To date, no conclusive evidence has been provided as to the composition of the BFP in early postnatal life.</p> <p><b>Objective:</b> The purpose of this study was to examine whether the BFP of neonates and infants is primarily composed of white adipose tissue (WAT) or brown adipose tissue (BAT).</p> <p><b>Materials and Methods:</b> The percentage of fat in the BFP in 32 full-term infants (16 boys and 16 girls), aged one day to 10.6 months, was measured using magnetic resonance imaging (MRI) determinations of fat fraction.</p> <p><b>Results:</b> BFP fat fraction increased with age (<math>r = 0.67</math>; <math>P &lt; .0001</math>) and neonates had significantly lower values when compared to older infants; 72.669.6 vs. 91.862.4, <math>P &lt; .0001</math>. Multiple regression analysis indicated that the age-dependent relationship persisted after accounting for gender, gestational age, and weight percentile (<math>P = .001</math>). Two subjects (aged one and six days) depicted a change in the MRI characteristics of the BFP from primarily BAT to WAT at follow-up examinations two to six weeks later, respectively. Histological post-mortem studies of a 3 day and 1.1 month old revealed predominantly BAT and WAT in the BFP, respectively.</p> <p><b>Conclusion:</b> The BFP is primarily composed of BAT during the first weeks of life, but of WAT thereafter. Studies are needed to investigate the contributions of BAT in the BFP to infant feeding and how it is altered by postnatal nutrition.</p> <p><b>Cohen SR, Hewett S, Ross L, Delaunay F, Goodacre A, Ramos C, Leong T, Saad A. Regenerative Cells For Facial Surgery: Biofilling and Biocontouring. Aesthet Surg J. 2017 Jul 1;37(suppl_3):S16-S32.</b></p> <p>Zuk et al in 2001 identified stem and regenerative cells within the stromal vascular fraction of fat. In preclinical studies, these cells appeared to stimulate angiogenesis and reduce inflammation, and soon thereafter, clinical use of stromal vascular fraction (SVF) evolved as researchers such as Rigotti, Coleman</p>	

Mojallal, our group, and others demonstrated that fat can be used for both therapeutic and aesthetic indications. The regenerative effects of fat and its contents on facial aesthetics have been shown at the histologic and cellular level. Regeneration of elastin and collagen fibers as well as improvement in capillary density and reduction of inflammation have been reported. We review our current approach to the use of regenerative cells and different types of fat grafts in facial surgery.

The fat graft is classified, both from a regenerative point of view as well as a tissue product that can be modified into different tissue characteristics, depending on the area and condition treated. Clinical use of SVF enriched fat, millifat, microfat, and nanofat grafts as well as composite fat grafts are reviewed. Based on clinical experience and evidence to date, it appears that the regenerative effects seen with the use of SVF in aesthetic surgery are modest, but there appear to be definite histologic findings of regeneration. These improvements may not be clinically apparent to a patient when cell enriched fat grafts are compared to fat grafts alone. However, the subtle changes seen in histology may be cumulative over time. Three types of fat grafts are defined: millifat (parcel size  $2.4 <$ ), microfat ( $1.2 <$ ), and nanofat ( $400-600 \mu\text{m}$ ). Each are characterized by their injectability ratings and emulsification parcel size as well as amount of sSVF cells. Newer concepts of periosteal fat grafting, buccal fat pad grafting, pyriform aperture fat grafting, intraorbital fat grafting, and nanofat grafting are discussed. Composite fat grafts are presented as a new concept as is biofilling and biocontouring. The use of regenerative cells in facial surgery is evolving rapidly. Our understanding of the anatomic changes that occur with aging has become more precise and our ability to target histologic changes seen with aging has become more effective. Deep fat compartment grafting, superficial fat grafting, nanofat, and SVF are becoming important components of contemporary facial rejuvenation. The use of regenerative approaches in facial rejuvenation is a logical step in changing the paradigm from surgical treatment of aging to a more proactive prevention and maintenance approach that keeps up with changes in the tissues as they age.

**-Kawakami M, Ishikawa H, Tanaka A, Mataga I. Induction and differentiation of adipose-derived stem cells from human buccal fat pads into salivary gland cells. Human Cell 2016 29:101-110**

Atrophy or hypofunction of the salivary gland because of aging or disease leads to hyposalivation that affects patient quality of life by causing dry mouth, deterioration of mastication/deglutition, and poor oral hygiene status. Current therapy for atrophy or hypofunction of the salivary gland in clinical practice focuses on symptom relief using drugs and artificial saliva; therefore, there is still a need to develop new therapies. To investigate potential novel therapeutic targets, we induced the differentiation of salivary gland cells by coculturing human adipose-derived stem cells isolated from buccal fat pads (hBFP-ASCs) with human salivary-gland-derived fibroblasts (hSG-fibros). We examined their potential for transplantation and tissue neogenesis. Following the culture of hBFP-ASCs and hSG-fibros, differentiated cells were transplanted into the submandibular glands of SCID mice, and their degree of differentiation in tissues was determined.

We also examined their potential for functional tissue reconstitution using a three-dimensional (3D) culture system. Co-cultured cells expressed salivary-gland-related markers and generated new tissues following transplantation in vivo. Moreover, cell reconstituted glandular structures in the 3D culture system. In conclusion, coculture of hSG-fibros with hBFP-ASCs led to successful differentiation into salivary gland cells that could be transplanted to generate new tissues.

**INTRODUCTION:** Atrophy or hypofunction of the salivary gland can occur following radiotherapy for head and neck cancer, by obstructive defects in the salivary ducts, in chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplant, or by age-related changes. Under these conditions, the salivary gland is markedly impaired, especially acinar cells, and atrophied or decreased cell numbers causes a loss of functional parenchymal tissue. This subsequently causes decreased saliva secretion (dry mouth) which significantly affects the quality of life due to deterioration of mastication/deglutition disorder and poor oral hygiene.

Current therapy for dry mouth caused by atrophy of the salivary gland in clinical practice is only symptomatic and includes transiently increasing the secretory capacity of residual acinar cells by drugs, or moisturizing dry mouth tissues with artificial saliva. Minimally invasive, radical therapy to improve quality of life has yet to be established.

**MATERIALS AND METHODS** This study was approved by the Ethics Committee of the Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Niigata, Japan. Informed consent was obtained preoperatively from patients undergoing surgery for salivary gland cancer, and the minimum necessary amount of tissue was extracted during surgery. This study adhered to the amended Declaration of Helsinki. BFP and salivary gland (submandibular glands) tissues were extracted from four patients aged 48-54 years. BFPs were washed in

Hanks' solution (Nissui, Tokyo, Japan) and minced with a scalpel (Crossfield, Japan). Cells were dissociated at 37 °C for 30 min in 0.01 % collagenase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)/0.05 % dispase (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), centrifuged, and the stromal vascular fraction was cultured.

**RESULTS:** Analysis of cultured cells Cells isolated from tissues were identified before the experiment. Cells cultured and isolated from BFPs were observed under phase contrast microscopy and were spindle shaped. Specific cell markers of hBFP-ASCs characterized by flow cytometry indicated they were strongly positive for CD44 (100 %), CD90 (99.8 %), and CD105 (94 %) (multipotent stromal cell markers), but negative for CD14 (0.1 %) and CD34 (0.03 %) (hematopoietic cell markers). To determine hBFP-ASC differentiation ability, they were subjected to osteogenic, adipogenic, and chondrogenic differentiation. After osteogenic induction, alizarin-red-positive mineralized nodules were observed in induced hBFP-ASCs, whereas no alizarin red staining was observed in controls. After adipogenic induction, clusters of Oil red O-positive cells were detected but not in controls. After chondrogenic induction, clusters of toluidine-blue-positive cells were detected in induced cells (Fig. 1e), but not in controls.

**CONCLUSIONS:** we successfully induced differentiation of cells to salivary gland-type cells by co-culturing hBFPASCs with hSG-fibros. This method is minimally invasive and safe for tailor-made salivary gland regeneration therapy.

**Zhang HM, Yan YP, Qi KM, Wang JQ, Liu ZF. Anatomical structure of the buccal fat pad and its clinical adaptations. *Plast Reconstr Surg.* 2002 Jun;109(7):2509-18; discussion 2519-20.**

Before performing plastic and aesthetic surgery around the buccal area, the authors reviewed the anatomical structures of the buccal fat pad in 11 head specimens (i.e., 22 sides of the face). The enveloping, fixed tissues and the source of the nutritional vessels to the buccal fat pad and its relationship with surrounding structures were observed in detail, with the dissection procedure described step by step. The dissection showed that the buccal fat pad can be divided into three lobes-anterior, intermediate, and posterior-according to the structure of the lobar envelopes, the formation of the ligaments, and the source of the nutritional vessels. The buccal, pterygoid, pterygopalatine, and temporal extensions (superficial and profound) are derived from the posterior lobe. The buccal fat pad is fixed by six ligaments to the maxilla, posterior zygoma, and inner and outer rim of the infraorbital fissure, temporalis tendon, or buccinator membrane. Several nutritional vessels exist in each lobe and in the subcapsular vascular plexus forms. The buccal fat pads function to fill the deep tissue spaces, to act as gliding pads when masticatory and mimetic muscles contract, and to cushion important structures from the extrusion of muscle contraction or outer force impulsion. The volume of the buccal fat pad may change throughout a person's life. Based on the findings of the dissections, the authors provide several clinical applications for the buccal fat pad, such as the mechanism of deepening the nasolabial fold and possible rhytidectomy to suspend the anterior lobe upward and backward. They suggest that relaxation, poor development of the ligaments, or rupture of the buccal fat pad capsules can make the buccal extension drop or prolapse to the mouth or subcutaneous layer. As such, the authors refined their methods and heightened their focus when using the buccal fat pad to perform a random or pedicled buccal fat pad fat flap or to correct a buccal skin protrusion or hollow.

**Kim M, Han W, Kim S. The use of the buccal fat pad flap for oral reconstruction. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery* 2017 39:5**

Many congenital and acquired defects occur in the maxillofacial area. The buccal fat pad flap (BFP) is a simple and reliable flap for the treatment of many of these defects because of its rich blood supply and location, which is close to the location of various intraoral defects. In this article, we have reviewed BFP and the associated anatomical background, surgical techniques, and clinical applications. The surgical procedure is simple and has shown a high success rate in various clinical applications (approximately 90%), including the closure of oroantral fistula, correction of congenital defect, treatment of jaw bone necrosis, and reconstruction of tumor defects. The control of etiologic factors, size of defect, anatomical location of defect, and general condition of patient could influence the prognosis after grafting. In conclusion, BFP is a reliable flap that can be applied to various clinical situations.

**INTRODUCTION**

Soft tissue coverage is an essential step for successful wound healing. Intraoral wounds have certain unique features compared to other wound sites. The soft tissue overlying the alveolar bone is relatively thin, and there is no fatty layer in the gingiva. Therefore, vascularized skin graft is too bulky in most cases, and the color

of skin graft is not matched to that of the oral mucosa . Free mucosal graft from the palate has a well-matched color and similar thickness to the gingiva. However, the size of the palatal mucosa is limited. As the palatal mucosal graft is a free graft, it is not indicated for poorly vascularized recipient beds.

Buccal fat pad flap (BFP) has been used for the reconstruction of maxillary defects induced by tumor since it was first reported in 1977. From then, many clinical applications of BFP have been introduced. The buccal fat pad appears 3 months in utero and continuously grows until birth . There is little change in the volume of buccal fat during aging, and it is approximately 10 mL . Therefore, it is a reliable flap for the reconstruction of oral defects.

#### **CONCLUSIONS**

Since the introduction of BFP for the reconstruction of the maxilla [13], many applications have been introduced. BFP has many advantages over other types of flaps. The surgical procedure is simple and has shown a high success rate in various applications. BFP can be used in epithelialization without additional skin graft. The rich vascularity of BFP is an advantage when it is used in a poorly vascularized recipient site. However, its size is a limitation, and repeated usage may not be possible. As the flap is fragile, damage to the vascular pedicle may result in graft loss. Removal of too much of the buccal fat pad may induce facial disfigurement or mouth opening limitation. These limitations should be considered for the clinical application of BFP.

#### **Komatsu S,Ikemura K, Kimata Y. Pedicled buccal fat pad for the augmentation of facial depression deformity. Komatsu et al. Medicine.2017,96:30.**

Tissue augmentation of facial depression deformities can be achieved by volume replacement with autologous fat injection, dermal filler injection, etc. Here, we report a case of tissue augmentation of a facial depression deformity using a pedicled buccal fat pad (BFP).

**PATIENT CONCERNS:**A 64-year-old woman was referred with a chief complaint of facial depression deformity.

**DIAGNOSES:**Her molars had been removed at another hospital 12 years prior to this referral, and the patient suffered from a left cheek depression deformity as a sequela of a postextraction infection.

**INTERVENTIONS:**An incision was made in the left gingivobuccal sulcus under local anesthesia, and BFP was carefully excised from its normal location. The subcutaneous scar tissue was dissected, and a pocket was created via the same mucosal incision. BFP was then pushed into the pocket.

**OUTCOMES:**The depression deformity immediately disappeared postoperatively. The transplanted BFP remained unabsorbed and soft 43 months postoperatively. The patient did not have any complications.

#### **Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V, Plikus MV. Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. Cell Metab. 2018 Jan 9;27(1):68-83.**

Adipose tissue depots can exist in close association with other organs, where they assume diverse, often non-traditional functions. In stem cell-rich skin, bone marrow, and mammary glands, adipocytes signal to and modulate organ regeneration and remodeling. Skin adipocytes and their progenitor signal to hair follicles, promoting epithelial stem cell quiescence and activation, respectively. Hair follicles signal back to adipocyte progenitors, inducing their expansion and regeneration, as in skin scars. In mammary glands and heart, adipocytes supply lipids to neighboring cells for nutritional and metabolic functions, respectively. Adipose depots adjacent to skeletal structures function to absorb mechanical shock. Adipose tissue near the surface of skin and intestine senses and responds to bacterial invasion, contributing to the body's innate immune barrier. As the recognition of diverse adipose depot functions increases, novel therapeutic approaches centered on tissue-specific adipocytes are likely to emerge for a range of cancers and regenerative, infectious, and autoimmune disorders.

#### **Tsuji W, Rubin J, Marra K. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. World J Stem Cells 2014 July 26; 6(3): 312-321**

##### **ABSTRACT**

Adipose-derived stem cells (ASCs) are mesenchymal stem cells (MSCs) that are obtained from abundant adipose tissue, adherent on plastic culture flasks, can be expanded in vitro , and have the capacity to differentiate into multiple cell lineages. Unlike bone marrow-derived

MSCs, ASCs can be obtained from abundant adipose tissue by a minimally invasive procedure, which results in a high number of cells. Therefore, ASCs are promising for regenerating tissues and organs damaged by injury and diseases. This article reviews the implications of ASCs in tissue regeneration.

#### **CONCLUSIONS**

ASCs have prominent implications in tissue regeneration due to their high cell yield in adipose tissue, the ability to differentiate into multiple lineages and secrete various cytokines, and immunomodulatory effects. A large number of clinical trials using ASCs have already performed and many of them are ongoing. However, very few phase III clinical studies have been published. ASCs are a promising cell source for regenerative medicine, and more research is needed to warrant the safety of ASCs and the efficacy of tissue engineering using ASCs.

#### **Kokai LE, Marra K, Rubin JP. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Transl Res.* 2014 Apr;163(4):399-408.**

There is a clear clinical need for cell therapies to repair or regenerate tissue lost to disease or trauma. Adipose tissue is a renewable source of stem cells, called adipose-derived stem cells (ASCs), that release important growth factors for wound healing, modulate the immune system, decrease inflammation, and home in on injured tissues. Therefore, ASCs may offer great clinical utility in regenerative therapies for afflictions such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease, spinal cord injury, heart disease, and rheumatoid arthritis, or for replacing lost tissue from trauma or tumor removal. This article discusses the regenerative properties of ASCs that can be harnessed for clinical applications, and explores current and future challenges for ASC clinical use. Such challenges include knowledge-based deficiencies, hurdles for translating research to the clinic, and barriers to establishing a new paradigm of medical care. Clinical experience with ASCs, ASCs as a portion of the heterogeneous stromal cell population extracted enzymatically from adipose tissue, and stromal vascular fraction are also described.

#### **Mohan S, Kankariya H, Harjani B. The use of the buccal fat pad for reconstruction of oral defects: review of the literature and report of cases. *J Maxillofac Oral Surg.* 2012 Jun;11(2):128-31.**

Although the buccal fat pad (BFP) was originally used as an alternative method for the closure of small to medium-sized oroantral and oronasal communications, its use has now been extended to use after excision of oral pre malignant lesions. This report describes experience with this technique.

#### **Hassani A, Shahmirzadi S, Saadat S. Applications of the Buccal Fat Pad in Oral and Maxillofacial Surgery. *A Oral Maxillofac Surg.* 2016 Aug;3(18).**

##### **Abstract**

The buccal fat pad (BFP) has become more and more popular in oral and maxillofacial surgery. Originally, it was described as an anatomic structure without any obvious function; it was even considered to be a surgical nuisance. Nowadays, the most reported application of the BFP is the closure of oroantral communications. In this chapter, different aspects of the BFP such as its applications, anatomy, physiology, and complications are explained.

#### **Alkan A, Dolanmaz D, Uzun E, Erdem E. The reconstruction of oral defects with buccal fat pad. *Swiss Med Wkly.* 2003 Aug 23;133(33-34):465-70.**

##### **Questions under study**

1) to evaluate the success of buccal fat pad used in the reconstruction of oral defects, 2) to clarify its indications and size limitations, 3) to identify risk factors if there were any.

##### **Methods**

In this prospective clinical study, buccal fat pad was used in 26 patients with different indications which included 5 defects resulting from tumour excisions, 3 maxillary cysts, 3 secondary maxillary cyst defects and 15 oro-antral communications. All defects were in the maxilla with a maximum size of 5×3 cm. Patients were evaluated for signs of flap epithelialisation, infection, fistulae recurrence and facial contour deficiency.

##### **Results**

The epithelialisation process was completed after 3 to 4 weeks without any complications in 22 patients. However, partial dehiscence of the graft occurred in 2 patients with large maxillary defects. We also observed serious bleeding during the operation of one of our cases. Because of the small fistula, 1 patient was re-operated.

##### **Conclusion**

The results of this series support the view that the use of buccal fat pad is a simple, convenient, and reliable method for the reconstruction of small to medium-sized oral defects.

**Stuzin JM, Wagstrom L, Kawamoto HK, Baker TJ, Wolfe SA. The anatomy and clinical applications of the buccal fat pad. Plast Reconstr Surg. 1990 Jan;85(1):29-37.**

The buccal fat pad is an anatomically complex structure that has great importance in facial contour. In properly selected individuals, judicious harvesting of buccal fat can produce dramatic changes in facial appearance by reducing the fullness of the cheek and highlighting the malar eminences. Using fresh cadaver dissection, the anatomy of the buccal fat pad is delineated and its relationship to the masticatory space, facial nerve, and parotid duct is defined. An intraoral approach for buccal fat harvesting is described based on these anatomic findings. Clinical experience manipulating the buccal fat pad for aesthetic modification of facial contour is illustrated.

#### **4. Criterios de selección e inclusión de artículos para elección final de artículos por temática**

Los artículos preseleccionados se obtendrán en texto completo y se les aplicarán los siguientes criterios de selección de los artículos de acuerdo a cada temática para la revisión final.

Criterios de selección de artículos

- Se seleccionarán todos los artículos publicados sin restricción en tiempo, idioma y período de publicación.
- Se seleccionarán estudios clínicos, estudios experimentales in vitro, estudios experimentales in-vivo y estudios descriptivos, reportes de caso.
- Se aplicaron las estrategias de búsqueda en la base de datos de PubMed.

#### **5. Proceso de extracción de información de artículos por temática:**

Autores/ Año / país, Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión), Sitio anatómico Origen / tipo Stemcells, Grupos de estudio o intervención, Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. Citometría de flujo, RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas, Conclusiones del artículo/ OBSERVACIONES propias o en discusión.

#### **6. Proceso estructuración de artículo**

La Redacción del artículo se hará siguiendo las Normas y el estilo para artículos de revisión de tema, acorde a las instrucciones de los autores de la revista (en anexo 2 se encuentra una guía para la estructura básica de un artículo de revisión narrativa)



## **7. Proceso de Edición en español para publicación**

Una vez terminado el artículo, se realizará corrección de estilo y traducción al inglés por parte de un editor certificado en español y en inglés para este fin teniendo como base las normas internacionales de Vancouver.

## 5. CONSIDERACIONES EN PROPIEDAD INTELECTUAL

### Derechos de autor

Según lo estipulado por la ley 1915 del 12 de julio de 2018, Cap. 1 “disposiciones relativas al derecho de autor y los derechos conexos” Art. 1; En todo proceso relativo al derecho de autor ante cualquier jurisdicción nacional se presumirá, salvo prueba en contrario, que la persona bajo cuyo nombre, seudónimo se haya divulgado la obra será el titular de los derechos de autor. También se presumirá, salvo lo contrario que la obra se encuentra protegida.

Art. 12; El autor tiene sobre la obra literaria derecho exclusivo a autorizar o prohibir, la reproducción de la obra bajo cualquier manera o forma permanente o temporal, mediante cualquier procedimiento incluyendo el almacenamiento electrónico, la comunicación al público de la obra, incluyendo su disposición para el público, la distribución pública de la obra original y copias, mediante venta o cualquier forma o transferencia de propiedad, realización de copias, alquiler comercial y **la traducción, adaptación, arreglo u otra transformación de la obra.**

Medidas tecnológicas e información sobre gestión de derechos. Se Incurrirá en una responsabilidad civil a quien realice cualquiera de las siguientes conductas: Sin autorización eluda las medidas tecnológicas efectivas impuestas para controlar el acceso a una obra protegida o que protegen derechos de autor frente a usos no autorizados, suprima o altere cualquier información sobre los derechos de la obra, distribuya o importe la información de la obra, copias o trabajos derivados de la misma sin autorización. Se entenderá por información sobre la gestión de derechos la información que identifica la obra, interpretación o ejecución.

Art. 16; Limitaciones y excepciones al derecho de autor y a los derechos conexos. El préstamo sin ánimo de lucro, por una biblioteca, archivo o centro de documentación de copias, siempre que figuren en las colecciones permanentes de esta o hagan parte de un programa de cooperación bibliotecaria y hubiesen sido lícitamente adquiridas. La puesta a disposición por parte de bibliotecas, archivos o centro de documentación, para fines investigativos o estudio personal de los usuarios, lícitamente adquiridas y que no estén sujetas a condiciones de

adquisición o licencia. Se permitirá la reproducción para enseñanza o para la realización de exámenes por instituciones de todos los niveles educativos, en la medida justificada por el fin que se persiga, a condición que se haga conforme a los usos honrados y que la misma no sea objeto de venta u otra transacción de título, ni tenga directa o indirectamente fines de lucro. Lo anterior siempre que se incluya el nombre del autor y la fuente.

## 6. RESULTADOS

### a. Resumen de proceso de búsqueda de información

**Se realizó una estrategia de búsqueda de información para cada una de las tres temáticas:**

1. **Descripción de la Bola Grasa de Bichat**, se realizó una búsqueda de datos bajo los criterios especificados en la tabla 5. Se utilizaron términos MeSH en la siguiente estrategia de búsqueda. (Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND (Histology OR Histochemistry OR Histology, Comparative) obteniendo 45730 resultados; (Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND (Physiology OR Physiology, Comparative) obteniendo 88578 resultados; (Buccal fat pad OR Adipose Tissue OR Fat Pad) AND (Anatomy, Regional OR Anatomy, Comparative OR Anatomy) obteniendo 45868 resultados, se eligieron 13 artículos de esta temática debido a su relevancia para el desarrollo de la revisión.

2. **Bola Grasa de Bichat como fuente de células troncales**, se realizó una búsqueda bajo los criterios especificados en la tabla 6. Se utilizaron los términos MeSH en la estrategia de búsqueda. ((Buccal fat pad) AND ((stem cells) OR mesenchymal stem cells)) AND ((cell culture) OR stem cell culture) obteniendo 8 resultados; ((Buccal fat pad) AND ((stem cells) OR mesenchymal stem cells)) AND ((isolation) OR stem cells isolation) obteniendo 1 resultado; ((Buccal fat pad) AND ((stem cells) OR mesenchymal stem cells)) AND ((cell differentiation) OR stem cell differentiation) obteniendo 17 resultados; ((Buccal fat pad) AND ((stem cells) OR mesenchymal stem cells)) AND stromal vascular fraction obteniendo 3 resultados, se eligieron 13 artículos de esta temática debido a su importancia para el desarrollo de la revisión.

3. **Aplicación clínica en odontología y medicina regenerativa de las células troncales de Bola Grasa de Bichat**, se realizó una búsqueda bajo los criterios especificados en la tabla 7. Se utilizaron los términos MeSH en la estrategia de búsqueda. ((((((surgery oral) OR maxillofacial surgery) OR endodontics) OR dentistry) OR periodontics)) AND (((stem cells) OR mesenchymal stem cells) OR Progenitor cells)) AND ((Buccal Fat Pad) OR facial adipose Tissue) obteniendo 51 resultados, de los cuales se escogieron un total de 21 artículos por relevancia útiles para el desarrollo de la revisión.

**Tabla 5.** Estrategia de búsqueda

Estrategia de búsqueda	Especificaciones
Base de datos	Pubmed
Palabras clave	Buccal fat pad, Histology, Physiology, Anatomy
Tipos de estudios	Reporte de casos, estudios experimentales, estudios descriptivos
Idioma	Sin restricción de idioma
Periodo de publicación	Todos los artículos publicados hasta 2018

**Tabla 6.** Estrategia de búsqueda

Estrategia de búsqueda	Especificaciones
Base de datos	Pubmed
Palabras clave	Buccal fat pad, Stem cells, Cells culture, Isolation, Cells differentiation, Stromal vascular fraction
Tipos de estudios	Reporte de casos, estudios experimentales, estudios descriptivos
Idioma	Sin restricción de idioma
Periodo de publicación	Todos los artículos publicados hasta 2018

**Tabla 7.** Estrategia de búsqueda

Estrategia de búsqueda	Especificaciones
Base de datos	Pubmed
Palabras clave	Buccal fat pad, clinical study, Stem cells, Human studies, animal studies
Tipos de estudios	Reporte de casos, estudios experimentales, estudios descriptivos
Idioma	Sin restricción de idioma
Periodo de publicación	Todos los artículos publicados hasta 2018

Para la búsqueda de información también se realizó una búsqueda de datos manual del artículo: Salehi et al., 2017, del cual se seleccionaron 5 artículos que no habían sido obtenidos en las búsquedas previas.

Posteriormente se seleccionaron 3 artículos más en la búsqueda de datos manual de algunos de los artículos referenciados para complementar la búsqueda de información los cuales fueron citados por los siguientes autores: Rapidis et al., 2000, Hwang et al., 2005, Yousuf S et al 2009.

### b. Resultados de proceso de extracción de información

A continuación se observa la tabla N° 8 de extracción de datos de algunos de los artículos seleccionados para la revisión.

Tabla 8. Extracción de datos de artículos seleccionados

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIONES propias o en discusión
Ponrartana et al., 2014 USA	Estudio descriptivo	Bola grasa de Bichat	Dos grupos	Estudios Histológicos de Bola grasa de Bichat	En la resonancia magnética la BGB en un niño de 1 día de edad y una niña de 6 días muestra aumentos en los valores de Fracción de grasa (FF) de 55 a 84% y de 64 a 94% de dos a seis semanas más tarde. La FF media de la BGB aumentó significativamente en los neonatos de 1 día a 1 mes de edad ( $r = 0,64$ ; $P = 0,011$ ), no	Se necesitan estudios para investigar las contribuciones de BAT en la BGB a la alimentación infantil y cómo se ve alterada por la nutrición postnatal. La Bola grasa de Bichat está vinculada a la función muscular y la nutrición infantil, y a establecer el significado de este tejido adiposo en
	N=32 bebés nacidos(16 niños y 16 niñas)	No se hizo análisis de Stem cells		Resonancia magnética		
	1 día a 10,6 meses de nacidos			Análisis descriptivos y de regresión lineal con Software Statview (versión 5.0.1; SAS Institute, Cary, NC).		

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIONES propias o en discusión
					hubo diferencias significativas. Hubo Diferencias en los valores de FF entre los bebés mayores de 1 mes de edad (r = 0.21; P = .411). Los estudios histológicos post mortem de 3 días y 1,1 meses revelaron predominantem ente BAT y WAT en la BGB.	recién nacidos con peso al nacer que se sabe que carecen de coordinación en Succionar, tragar y respirar.
Cohen S, et al., 2017 USA	Estudio Clínico  Hombres y mujeres	Células estromales y vasculares	Solo un grupo	Fracción del estroma vascular	Se definen tres tipos de injertos de grasa: milifat (tamaño de la parcela 2.4 <), microfat (1.2 <) y nanofat (400-600 μm). Cada uno se caracteriza por sus clasificaciones de inyectabilidad y tamaño de parcela de emulsificación, así como por la cantidad de células SVF.	En el futuro vendrán mejores biofiltros que no solo aumentarán sino que también regenerarán el tejido.
Kawakami M, et al., 2016 JAPON	Experimental in vivo  N: 4 pacientes con edades entre 48-54 años	Glándulas salivales	Solo un grupo	Las glándulas salivales Derivadas de ratones y humanos  Cultivo y aislamiento celular Sistema de cultivo tridimensional	Siguiendo el cultivo de hBFP-ASCs y hSG-fibros, Se transplantaron células diferenciadas en las glándulas submandibulare	La diferenciación de células a células de tipo de glándula salival mediante el co-cultivo de

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIO NES propias o en discusión
				<p>Transplante de células Co-SG in vivo</p> <p>Análisis cromosómico</p> <p>Examen histológico</p> <p>Inmunocitoquímica</p> <p>Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR)</p> <p>Análisis de cariotipo de células co-SG</p>	<p>s de ratones SCID, y se determinó su grado de diferenciación en los tejidos. Las células cocultivadas expresaron marcadores relacionados con las glándulas salivales y generaron nuevos tejidos después del trasplante in vivo.</p>	<p>hBFP-ASCs con hSG-fibros. Es un método mínimamente invasivo y seguro para la terapia de regeneración de glándulas salivales.</p>
Kim M, et al., 2017 KOREA	<p>Estudio de caso</p> <hr/> <p>n=1 Mujer de 64 años de edad</p>	Almohadilla de grasa bucal pediculada (BFP)	Individual	<p>-Incisión en el surco gingivobucal izquierdo</p> <p>-BFP se extirpó</p>	<p>Cierre de la fístula oroantral por la aleta de la almohadilla adiposa bucal</p> <hr/> <p>La deformidad de la depresión desapareció inmediatamente después de la operación. El BFP trasplantado permaneció sin absorción y suave 43 meses después de la operación.</p>	
Komatsu et al.,	<p>Reporte de caso</p> <hr/> <p>n=1</p>	Almohadilla de grasa bucal pediculada (BFP).	Individual	<p>-Una incisión en el surco gingivobucal izquierdo bajo anestesia local</p>	<p>La deformidad de la depresión desapareció inmediatamente después de la</p>	<p>Presentamos una nueva aplicación de Bola Grasa de Bichat, es</p>



Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIONES propias o en discusión
2017 JAPON	Mujer de 64 años			<p>-La Bola Grasa de Bichat se extirpó cuidadosamente de su ubicación normal.</p> <p>-Se diseccionó el tejido cicatricial subcutáneo y se creó un bolsillo a través de la misma incisión de la mucosa.</p>	operación. La Bola Grasa de Bichat trasplantada permaneció sin absorción y fue suave 43 meses después de la operación. El paciente no tuvo ninguna complicación.	decir, el aumento de tejido de una deformidad de depresión facial causada por cicatriz. Aunque este procedimiento o tiene una aplicación limitada, tiene poca capacidad de invasión y es un procedimiento simple y útil.
Tsuji, et al., 2014 USA	Este artículo revisa las implicaciones de las ASC en la regeneración de tejidos.	Las células madre derivadas de tejido adiposo (ASCs)	No aplica	<p>-Caracterización de ASC</p> <p>-La secreción del factor de crecimiento de las ASC</p> <p>-La capacidad de diferenciación in vitro e in vivo</p> <p>-Las posibles aplicaciones clínicas.</p>	En un estudio de caso, la infusión intravenosa de ASC alogénicas en el tratamiento de la enfermedad de injerto contra huésped aguda resistente refractaria ha demostrado ser eficaz. Los pacientes tratados con trastornos hematológicos e inmunológicos, como la púrpura trombocitopénica idiopática y la aplasia eritrocítica pura refractaria, con infusiones de ASC alogénicas, e informaron	Las ASC tienen implicaciones importantes en la regeneración tisular debido a su alto rendimiento celular en el tejido adiposo, la capacidad de diferenciarse en múltiples linajes y segregar diversas citoquinas y los efectos inmunomoduladores. Las ASC son una fuente de células prometedora para la

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIO NES propias o en discusión
					mejoras significativas en estos pacientes. A partir de estos resultados, se sugiere que las ASC tengan inmunomodula dores.	medicina regenerativa, y se necesita más investigación para garantizar la seguridad de las ASC y la eficacia de la ingeniería de tejidos utilizando las ASC.
Kokai , et al., 2014 PITTSBU RGH	Estudio descriptivo	Células madre derivadas de tejido adiposo (ASC)	No aplica	-Propiedades biológicas para aplicaciones clínicas de ASC - Factor de crecimiento de secreción - Potencial multilinjaje - Inmunomodulaci ón - ASCs Hogar de tejido lesionado	La eficacia de la SVF es variable en todos los estudios clínicos y aún no se sabe si el aislamiento de ASC de la SVF es necesario o si la dosis celular debe optimizarse aún más para el éxito terapéutico. Tampoco está claro si los datos demográficos del paciente, como la edad, el sexo o el índice de masa corporal, afectan el potencial terapéutico de la célula. El trabajo futuro destinado a definir el rango de dosis celular apropiado también debe considerar las variables del donante o	Los avances logrados en el uso clínico de la SVF y la ASC son emocionantes y dan mucha esperanza para la atención futura del paciente con terapias novedosas y efectivas para varias enfermedades debilitantes. Durante los últimos 12 años, hemos aprendido mucho sobre la biología de ASC y continuarem os aprendiendo e implementan do nuevas ideas para
No aplica						

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIO NES propias o en discusión
					realizar experimentos en un gran número de pacientes.	dirigir y controlar el comportamie nto de las células madre in vivo. Hasta la fecha, los estudios clínicos sugieren SVF y Las ASC son seguras y son capaces de reparar y regenerar tejidos para una multitud de aplicaciones.
Mohan S, et al ., 2011 INDIA	Estudio clínico  N= 11 pacientes Hombres n=8 y mujeres n=3 con edades entre 17- 60 años con defectos quirúrgicos de tamaño mediano	Almohadilla de grasa bucal (BFP)  -Maxilar superior -Mucosa bucal -Paladar	3 grupos Defectos en el maxilar superior n=4 En el área retroma ndibular n=3 Mejilla y comisura oral n=3	-Espécimen extirpado - La almohadilla de grasa bucal se evaluó diariamente - El enjuague oral se probó durante los primeros 4 a 5 días - Fisioterapia oral	Se observó que todos los pacientes tuvieron buenos resultados, excepto en 2 pacientes. Uno de ellos tuvo una pérdida parcial del injerto con fístula orto- antral que puede atribuirse a que continúa fumando en el período postoperatorio que se suturó nuevamente. En el otro caso se observó un hematoma en la almohadilla de grasa bucal que curó con fibrosis	La almohadilla de grasa bucal se convierte en una opción ideal para defectos intraorales de medianos a incluso más grandes, debido a que los colgajos locales como el colgajo de avance bucal, el colgajo pediculado del paladar, los colgajos de cierre de doble capa que usan tejidos bucales y

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIONES propias o en discusión
					moderada. Todos los demás pacientes habían mejorado significativamente la apertura de la boca.	palatinos y otros procedimientos similares producen decepcionantemente grandes áreas desnudadas y no son adecuados para grandes defectos. Los hallazgos respaldan la opinión de que la BFP es un método alternativo útil, fácil y sin complicaciones para la reconstrucción de defectos quirúrgicos de tamaño pequeño a mediano de los tejidos orales duros y blandos.
Hassani, et al., 2016 Iran	Descriptivo	La almohadilla de grasa bucal (BFP)	No aplica	-Historia -Anatomía, fisiología y embriología. -Relación con el conducto parotídeo y las ramas del nervio facial. -Suministro de sangre -Volumen y tamaño - Abordaje quirúrgico	La extracción de la Bola Grasa de Bichat de la región facial profunda es un procedimiento seguro con un riesgo mínimo de complicaciones no peligrosas. Debido a las características únicas de la Bola Grasa de Bichat,	El Bola Grasa de Bichat tiene una variedad de aplicaciones en cirugía oral y maxilofacial. Entre las diferentes aplicaciones, su uso para el cierre de OAC es la aplicación

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIONES propias o en discusión
				-Aplicaciones de la Bola grasa de Bichat	como su ubicación, fácil acceso, abundante suministro de sangre, una fuente rica de ASC y La alta tasa de epitelización, utilizando el término "colgajo versátil" es verdaderamente adecuada. Se puede utilizar en diferentes direcciones. Puede desplazarse anteriormente hasta la región canina, no más allá de la línea media, posteriormente en la región de la tuberosidad del paladar duro, la región retromolar, el paladar blando y el pilar amigdalino anterior	más común reportada. Aunque la mayoría de las veces el colgajo de la Bola grasa de Bichat se utiliza únicamente y puede utilizarse junto con otros colgajos, como el colgajo miocutáneo del músculo pedicular temporal. El éxito de la Bola Grasa de Bichat se ha atribuido a su rico suministro vascular, menos morbilidad en el sitio del donante, facilidad de recolección y menor tasa de complicaciones.
Alkan , et al., 2003 Turquía	Estudio clínico  N= 26 pacientes Hombres y Mujeres en edades entre 15-30 años	-Cresta Alveolar -Paladar -pared maxilar	- Epitelización del colgajo - Infección - Recurren	Enucleación quística.	El proceso de epitelización se completó después de 3 a 4 semanas sin complicaciones en 22 pacientes. Sin embargo, se produjo una	Los resultados apoyan la opinión de que el uso de la almohadilla de grasa bucal es un método simple,

Autor(es) País	Tipo de estudio /n-muestra /criterios selección (inclusión y exclusión)	Sitio anatómico origen / tipo Stemcells	Grupos de estudio o interven ción	Indicador de resultados (variable y escala en la que se expresa) ej índices, / instrumentos de medición ej. citometría de flujo	RESULTADOS descriptivos/ diferencias estadísticas	Conclusiones del artículo/ OBSERVACIONES propias o en discusión
			cia de fístulas - Deficiencia del contorno facial.		dehiscencia parcial del injerto en 2 pacientes con grandes defectos maxilares. También observamos sangrado grave durante la operación de uno de nuestros casos. Debido a la pequeña fístula, 1 paciente fue reoperado.	conveniente y confiable para la reconstrucción de defectos orales pequeños y medianos.

### c. Artículo original con bibliografías

#### Titulo

Bola grasa de Bichat como una fuente potencial de células troncales mesenquimales. Revisión de la literatura.

#### Resumen

**Antecedentes:** Las células troncales mesenquimales obtenidas del tejido adiposo son una población celular prometedora en la ingeniería de tejidos, debido a su abundancia en el cuerpo humano. Dicha población celular posee características de autorrenovación, diferenciación multilinaje y alto potencial de proliferación que la hace ideal para su aislamiento, caracterización, expansión. En odontología la Bola Grasa de Bichat (BFP) representa una fuente de células troncales de fácil acceso a partir de la cual se han aislado células troncales de tejido adiposo y su extracción quirúrgica es a través de un procedimiento poco invasivo con complicaciones mínimas para el paciente. **Objetivo:** Esta revisión tiene

como objetivo estudiar a partir de la evidencia científica publicada, las características anatómicas, histológicas y fisiológicas de la BFP, así como los protocolos que se han reportado para el aislamiento, caracterización, expansión, proliferación y diferenciación de sus células troncales, además, identificar cuáles son sus aplicaciones clínicas en odontología y medicina regenerativa. **Metodología:** Se realizaron tres búsquedas electrónicas la base de datos PUBMED una por cada temática desarrollada en la revisión, para cada una se establecieron diferentes estrategias de búsqueda con sus respectivas palabras clave además se realizaron búsquedas manuales y de referencias, se seleccionaron todos los artículos de revisión en texto completo. La búsqueda no tuvo restricción de idioma, lugar o fecha de publicación. Se seleccionaron estudios experimentales in-vivo e in-vitro, reportes de caso y estudios descriptivos. Para cada temática se estructuró una tabla para la extracción de los datos principales de cada artículo seleccionado a partir de la cual se escribió la revisión siguiendo los parámetros de redacción científica establecidos en las directrices de Asociación Europea de Editores Científicos (EASE) **Conclusiones:** Se ha demostrado que las BFP-ASCs histológicamente tienen una morfología propia de tejido adiposo en comparación con células troncales de grasa subcutánea, además posee características proliferativas similares a las presentadas por células troncales de pulpa dental y células troncales de tejido graso subcutáneo, además de ser una gran fuente de células troncales de fácil acceso para los cirujanos maxilofaciales, teniendo así una fuente alterna de células troncales, en la cual se pueden enfocar futuras investigaciones con objetivos clínicos y terapéuticos.

**Palabras claves** Bola Grasa de Bichat, anatomía, fisiología, histología, células troncales, cultivo celular, aislamiento, diferenciación celular, fracción estromal vascular, estudios clínicos, estudios en humanos, estudios en animales.

## **Introducción**

Las células troncales mesenquimales (MSCs) tienen un alto potencial de autorrenovación, proliferación y diferenciación multilineaje, siendo estas células de gran importancia en la medicina regenerativa. Asimismo, es importante destacar el potencial terapéutico de las MSCs y las posibles fuentes para su obtención (Gronthos et al., 2002).

El uso de las células Troncales (SCs, Stem Cells) representa una opción de tratamiento innovadora y prometedora para solucionar varias enfermedades como el Parkinson, la diabetes mellitus, las alteraciones cardíacas y las enfermedades osteodegenerativas y nerviosas, que provocan un daño irreversible en las células afectadas, haciendo que el correspondiente órgano o tejido pierda su funcionalidad (Mínguez et al., 2005).

Broccaioli et al., (2013) en su estudio refiere que en la BGB se encuentran células troncales con habilidad de multidiferenciación, autorrenovación y proliferación. En el estudio realizado por dicho autor se comparan dos poblaciones celulares: las células troncales adiposas de Bola Grasa de Bichat (BFP-ASCs) y las células troncales derivadas de tejido adiposo (ASCs), Con relación a esto se dice que el tejido adiposo humano contiene células caracterizadas por su plasticidad y desarrollo multilínea al igual que las células troncales derivadas de la médula ósea. El tejido adiposo representa una fuente abundante, práctica y atractiva para la obtención de MSCs tal y como lo mencionan algunos autores en sus estudios, los cuales encontraron este tipo de células en la fracción estromal vascular (FEV) del tejido adiposo. Así mismo, las MSCs derivadas de tejido adiposo se pueden diferenciar en diversas células tales como condrocitos, mioblastos, osteoblastos y tejido nervioso, siendo esta una fuente menos invasiva para la obtención de MSCs en comparación con las de médula ósea, además tienen la ventaja de estar en grandes proporciones en el cuerpo humano.(Zuk et al., 2001).

El tejido adiposo se deriva del mesoderma embrionario y contiene un estroma que puede ser aislado con facilidad (Londoño et al., 2007). Recientemente, se ha demostrado que su fracción estromal contiene células madre multipotentes (ADAS, Adipose-Derived Adult Stem Cells) que pueden diferenciarse hacia linajes específicos tales como adipogénico, condrogénico, osteogénico, miogénico y neurogénico. (Zuk et al., 2001).

Primordialmente, las MSCs se aislaron de la médula ósea, pero desde ese entonces se han aislado estas células de múltiples tejidos como placenta, pulpa dental, ligamento periodontal, papila apical y el tejido adiposo, siendo este último una fuente promisoría para la obtención de células troncales. (Zuk et al., 2001).

En Odontología una fuente importante de MSCs derivadas de tejido adiposo es la Bola Grasa de Bichat (BGB), que ha demostrado tener un buen potencial como fuente de fácil acceso para



cirujanos orales y maxilofaciales, siendo esta una masa adiposa encapsulada ubicada a ambos lados de la cara entre el músculo buccinador, masetero y otros músculos faciales (Gassner et al., 2008). Varios autores describen la función de esta estructura en relación a la masticación y a la succión (Zhang et al., 2002). Por lo que el procedimiento para la extracción de esta estructura conocido como Bichectomia o perfilamiento facial, representa un riesgo mayor que el mínimo para el paciente, puesto que se realizan estudios en muestras de células sustraídas de la Bola Grasa de Bichat la cual es extraída por indicación terapéutica. Es una cirugía no invasiva, que ayuda a mejorar la estética y el contorno de la cara según Shiraishi et al., (2012). Los cirujanos maxilofaciales poseen competencias en cirugía cosmética oral y maxilofacial establecidas por la Asociación Colombiana de Cirugía Oral y Maxilofacial (ACCOMF) que les permiten realizar la extracción de BGB en Colombia.

En la actualidad, lo poco que reporta la evidencia se basa en estudios iniciales preclínicos, basados en modelos animales, en los cuales se evalúa la diferenciación multilineaje de las BFP-ASCs, además de su fenotipo celular, obteniendo resultados de gran impacto para poder seguir investigando más a profundidad acerca de estas células, pero en cuanto a los escasos estudios clínicos que se encuentran sobre el uso real de las BFP-ASCs en pacientes podemos evidenciar un común denominador que es la combinación de estas células con matrices o scaffolds que permiten una mayor adhesión y contacto con los tejidos, así mismo es objetivo de esta revisión es enfatizar en la Bola Grasa de Bichat como una estructura anatómica, funcional, que posee un amplio campo de estudio a nivel de ingeniería tisular debido al gran potencial de las células troncales que tiene esta estructura en contenido.

## **Método**

Se realizaron tres búsquedas electrónicas utilizando la base de datos PUBMED, una por cada temática desarrollada en la revisión, para cada una se establecieron diferentes estrategias de búsqueda con sus respectivas palabras clave (Bola Grasa de Bichat, anatomía, fisiología, histología, células troncales, cultivo celular, aislamiento, diferenciación celular, fracción estromal vascular, estudios clínicos, estudios en humanos, estudios en animales) además se realizaron búsquedas manuales y de referencias, se seleccionaron todos los artículos de revisión en texto completo (Rapidis AD et al ., 2000,Hwang K et al .,2005, Yousuf S et al., 2009). La búsqueda no tuvo restricción de idioma, lugar o fecha de publicación. Se

seleccionaron estudios experimentales in-vivo e in-vitro, reportes de caso y estudios descriptivos. Para cada temática se estructuró una tabla para la extracción de los datos principales de cada artículos seleccionado a partir de la cual se escribió la revisión siguiendo los parámetros de redacción científica establecidos en las directrices de Asociación Europea de Editores Científicos (EASE)

### **Anatomía, histología y fisiología de la bola grasa de Bichat**

Las células madre derivadas de tejido adiposo (ASCs) son mesenquimales, por lo tanto, las ASC tienen implicaciones importantes en la regeneración tisular debido a su alto rendimiento celular en el tejido adiposo ya que pueden regenerar tejidos, órganos dañados y constituyen una interesante alternativa de investigación, principalmente por su potencial terapéutico que es descifrado cada vez más por el área de investigación. (Tsuji et al., 2014)

Zuk et al., [2001] identificaron células troncales mesenquimales dentro de la fracción vascular estromal de la grasa. En estudios preclínicos, estas células parecen estimular la angiogénesis y reducir la inflamación, y poco después, el uso clínico de la fracción vascular estromal (SVF) Zuk et al., [2002] y Shiraishi et al., [2012] demostraron que la grasa puede usarse para ambas indicaciones terapéuticas y estéticas.

Los efectos regenerativos de la grasa y sus contenidos en la estética facial se han demostrado a nivel histológico y celular. Varios estudios clínicos sugieren que la SVF y las ASC son seguras, y son capaces de reparar y regenerar tejidos para una multitud de aplicaciones. Kokai et al., 2014). El uso de grasa es clasificado, tanto regenerativo como un producto que se puede modificar en diferentes características de tejido, dependiendo del área y condición tratada. (Cohen et al., 2017)

Estas modificaciones pueden no ser clínicamente evidentes para un paciente cuando los injertos de grasa enriquecidos en células troncales mesenquimales se comparan con los injertos de grasa solo. Sin embargo, los cambios que se observan en la histología pueden ser acumulativos a lo largo del tiempo. Se definen tres tipos de injertos de grasa: millifat (tamaño del paquete < 2.4), microfat (< 1.2 ) y nanofat (400-600  $\mu\text{m}$ ). Cada uno se caracteriza por sus clasificaciones de inyectabilidad y el tamaño del paquete de emulsificación, así como la

cantidad de células de la fracción del estroma vascular (sSVF). Es por ello que se utilizan conceptos más recientes de injerto de grasa de la Bola grasa de Bichat. (Cohen et al., 2017)

Una fuente importante de MSCs derivadas de tejido adiposo es la Bola Grasa de Bichat (Kawakami M et al., 2016), que ha demostrado tener un buen potencial como fuente de fácil acceso para cirujanos orales y maxilofaciales, aparece a los 3 meses en el útero y crece continuamente hasta el nacimiento. Penetra en el borde anterior del músculo masetero y se extiende hasta el conducto parotídeo, donde descansa sobre la fascia bucofaríngea, que cubre el músculo buccinador. (Kim et al., 2017)

La almohadilla de grasa bucal (BFP) (también conocida como Bola Grasa de Bichat) es una masa encapsulada de tejido adiposo ubicado entre los músculos masticatorios. Su función percibida en fetos y lactantes es para chupar y mejorar las capacidades de los buccinadores y otros músculos masticatorios. (Ponrartana et al., 2014)

Hassani, et al., (2016) reporta que la Bola grasa de Bichat (BGB) fue descrita por primera vez en 1732 por Heister, quien imaginó que esta estructura era de naturaleza glandular, denominándola justamente "Glándula Malar". En 1802, luego de estudios minuciosos en cadáveres, Xavier Bichat es el nombre del biólogo y fisiólogo que descubrió estas bolas de grasa que se ubican en las mejillas, descubre la verdadera configuración de esta masa, calificándola como una Bolsa netamente Grasa, llevando desde entonces el nombre de "Bola de Bichat".

La Bola de Bichat es una estructura anatómica muy bien definida que tiene una gran relevancia en el contorno de las mejillas y en la región media e inferior de la cara. Tiene un cuerpo principal y cuatro extensiones: bucal, pterigoide, superficial y temporal profundo. (Komatsu S et al., 2017) El cuerpo principal está rodeado por el músculo buccinador, el músculo masetero y el arco cigomático. El cuerpo principal se coloca a lo largo del maxilar posterior y se cubre con una cápsula delgada. (Hassani, et al., 2016)

El cuerpo central y la extensión bucal representan aproximadamente el 50% de la Bola Grasa y son las partes clínicamente más significativas. El suministro de sangre de la Bola Grasa de Bichat está compuesta por 3 Fuentes: la arteria maxilar, temporal superficial y facial. Las arterias principales que suministran la Bola Grasa de Bichat se derivan de las ramas bucal y

temporal profunda de la arteria maxilar, de la rama facial transversal de la arteria temporal superficial y de algunas ramas de la arteria facial. (Mohan et al .,2011)

Está íntimamente asociada con los músculos masticatorios, es decir, entre el músculo masetero y el buccinador. Hwang K et al ., (2005) refiere que las ramas del nervio facial son vulnerables durante la manipulación de la Bola grasa de Bichat; ya que está relacionada también con las ramas bucal y cigomática del nervio facial, por lo que se debe tener cuidado en la manipulación quirúrgica para evitar paresias o alguna parálisis relacionada. (Zhang et al., 2004)

Otra relación es el conducto parotídeo que perfora el buccinador en el borde anterior de la bola grasa de Bichat. El conducto parotídeo y las ramas cigomáticas y bucales del nervio facial atraviesan las superficies anterior y lateral de la BGB. El conducto perfora los buccinadores y se presenta en la cavidad bucal adyacente a los segundos molares superiores. La arteria y la vena facial ascienden en el mismo plano que la Bola de Bichat y delimitan la extensión del paquete graso en la mejilla. (Hassani, et al .,2016)

Poissonnet C et al. (1988) informaron que la diferenciación del tejido adiposo comienza en el segundo trimestre de la gestación. El tamaño de los lóbulos grasos aumenta hasta la semana 29 de gestación. En los fetos, la Bola Grasa de bichat es prominente, tiene forma globular y está bien limitada. (Yousuf S et al., 2009) La grasa de la mejilla es la primera grasa que se desarrolla; al igual que los adultos, el Bola Grasa de Bichat tiene un papel importante en la prominencia de la mejilla de los recién nacidos y es uno de los tejidos adiposos iniciales que se desarrollan. (Hassani , et al .,2016)

Existen algunas funciones fisiológicas de la Bola Grasa de Bichat las cuales son llenar el espacio masticatorio, actuar como amortiguador para los músculos masticatorios, contrarrestar la presión negativa durante la succión en un recién nacido, y como una red venosa rica, con estructuras similares a válvulas, posiblemente involucrado en el flujo sanguíneo exo-endocraneal a través del plexo pterigoideo. (Hassani , et al .,2016)

El retiro apropiado en rostros redondeados u ovalados produce cambios sorprendentes en la simetría facial, está compuesta de lóbulos y estructuras altamente móviles. La extracción de la Bola de Bichat es una intervención quirúrgica que se realiza por estética facial,

consiguiendo mejorar el contorno de las mejillas al reducir su prominencia, y de esta manera aumenta indirectamente la luminosidad de las eminencias malares. (Zhang et al., 2004)

En la infancia estos acúmulos grasos son en general de mayor volumen, dando al contorno facial el típico óvalo redondeado y relleno de la cara de un bebé o niño. Con el pasar de los años este tejido graso comienza lentamente a disminuir de tamaño, generando fascias más afinadas en la adultez, cuando el volumen de las mejillas, en relación a los pómulos y la mandíbula, se hace menor. (Poissonnet et al., 1988)

Su fisiología se ilustra mejor en los infantes, donde actúa primordialmente en el acto de succión. La Bola de Bichat proporciona el volumen y contorno de las mejillas en los niños; con la edad y el crecimiento de las estructuras faciales subyacentes. (Hassani , et al .,2016)El volumen promedio de la Bola Grasa de Bichat es de 10 cm<sup>3</sup> (promedio de 9.6 ml, rango 8.33–11.9 ml); el peso es de 9.3 g; si se aplana, puede cubrir la superficie de 10 cm<sup>2</sup>, conservando un grosor de 6 mm. El tamaño es bastante constante entre diferentes individuos, independientemente del peso corporal total y la distribución de la grasa. Disminuye relativamente en tamaño ya que se observa disminución moderada del volumen después de los 50 años. (Hassani , et al .,2016) Debido a esto hay pocos cambios en el volumen de grasa bucal durante el envejecimiento, y es de aproximadamente 10 ml.

En el estudio realizado por Rapidis et al., (2000) donde la Bola grasa de Bichat se usó como un injerto pediculado para reconstruir defectos quirúrgicos evidencian que la BGB es un método alternativo útil, fácil y sin complicaciones para la reconstrucción de defectos quirúrgicos de tamaño pequeño a mediano de los tejidos orales duros y blandos.

### **Bola grasa de Bichat como fuente de células troncales: Protocolos de extracción, características fenotípicas, potencial de diferenciación, fracción estromal vascular.**

Las características fenotípicas las células troncales mesenquimales de Bola grasa de Bichat (Buccal Fat Pad Adipose Stem Cells) BFP-ASCs han sido caracterizadas por su inmunofenotipo en un estudio realizado por Broccaioli et al., (2013); el análisis citofluorométrico representativo mostró que las células troncales tanto de Bola grasa de Bichat (BFP) como de Tejido adiposo subcutáneo tienen una forma similar a fibroblastos, pero difieren en el tamaño. Ambos tipos de células troncales de tejido adiposo (ASCs) aisladas

expresaron los marcadores de células troncales como CD73, CD90 y CD105, y no expresaron antígenos de linfocitos o leucocitos y marcadores hematopoyéticos tales como CD14, CD31 y CD34. Una semana después del aislamiento, las poblaciones de ASC comienzan a proliferar.

En otro estudio Farré et al., (2010) evaluaron la morfología de BFP-ASCs y células troncales de tejido adiposo abdominal subcutáneo (SC) donde observaron algunas células 48 h después del cultivo. Las células de BFP y SC permanecieron en una fase latente durante 2-4 días; luego, comenzaron a multiplicarse rápidamente, acercándose a la confluencia como una monocapa. Ambas células BFPASCs y SC mostraron una morfología similar; es decir, tenían forma de huso. Después de 7 días de cultivo, ambas células BFP y SC exhibieron una morfología más similar a fibroblastos siendo una característica de ASCs. En este momento, las células alcanzaron el 90% de confluencia y se les realizó el pasaje.

En el estudio realizado por Broccaioli et al., (2013) evaluaron el potencial multilinaje de BFP- y SC-ASCs en diferenciación adipogénica ASC donde hubo una producción considerable de vacuolas lipídicas tanto de BFP-ASCs como SC-ASC y diferenciación osteogénica, donde observaron que tanto BFP-ASCs como SC-ASC mostraron una regulación positiva significativa de dos marcadores específicos, ALP actividad y deposición de colágeno. Farré et al., (2010) evaluaron el potencial de diferenciación osteogénico de BFPASCs y ASCs donde observaron que después de una semana de cultivo, las ASCs cambiaron su morfología de huso en una forma más poligonal, que estuvo acompañado por un aumento en la actividad de Fosfatasa alcalina (ALP) hasta el día 21 de cultivo en medio osteogénico, se mostró un aumento de 2,5 veces en la actividad de ALP en el día 7. La densidad granular apareció y múltiples capas de ASCs se formaron después de 2 semanas. Estas áreas fueron teñidas con rojo de alizarina, lo que indica la calcificación de la matriz extracelular. La expresión proteica de osteocalcina fue determinado por inmunofluorescencia. Las ASCs cultivadas en medio osteoinductor (OM) mostraron expresión de osteocalcina. Durante el proceso de diferenciación, la expresión de la osteogénesis dada por genes CBFA1 y osteonectina (SPARC) tuvo un aumento de dos veces, en el día 14 del cultivo. En este estudio estos datos demuestran que las ASC de BFP son capaces de diferenciación osteogénica in vitro.

En otro estudio Niada et al. también demostraron que los SC-AdSCs y BFPSC derivados de cerdos, diferenciados por inductores osteogénicos, aumentaron significativamente la

producción de marcadores de hueso específico en comparación con las células no diferenciadas, tales como colágeno, ECM calcificada, ALP y osteonectina. Observaron también capacidades similares en la diferenciación adipogénica y condrogénica tanto en BFPSCs como en SC-AdSCs.

En cuanto al aislamiento y cultivo, Broccaioli et al., (2013) obtuvieron las células troncales mesenquimales de la Bola grasa de Bichat (BFP-ASCs) y del tejido subcutáneo abdominal (SC-ASC). Los tejidos se dirigieron enzimáticamente mediante colagenasa de tipo I al 0,075% durante 30 minutos a 37°C. La fracción estromal vascular se obtuvo por centrifugación a 1200 g durante 10 min, se filtró y se sembró (105 células / cm<sup>2</sup>) en el medio de control cDMEM (CTRL), compuesto por medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM; Aldrich, Milán, Italia) complementado con 10% de suero bovino fetal (FBS), 50 U / ml de penicilina, 50 µg / ml de estreptomina y 2mM de L-glutamina (Sigma-Aldrich). Las células se mantuvieron a 104 células / cm<sup>2</sup> en incubadora.

En el estudio realizado por Kawakami et al., (2016) extrajeron la BFP y las glándulas submandibulares de 4 pacientes de 48-54 años. La BFP fue lavada con solución de Hanks (Nissui, Tokio, Japón) y fue disgregada mecánicamente con bisturí (Crossfield, Japón). Disociaron las células a 37°C durante 30 minutos en colagenasa al 0,01% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) / Dispase 0,05% (Life Technologies, Carlsbad, CA, EE. UU.), las centrifugaron y cultivaron la fracción estromal vascular (FEV). La identificación de BFPSCs fue realizada mediante un análisis de marcadores de superficie celular y el potencial de diferenciación de dichas células. Las glándulas salivares fueron lavadas con solución de Hanks, cortadas con un bisturí tipo navaja y cultivadas en condiciones estáticas. Los fibroblastos fueron separados utilizando papel filtro (Toyo Roshi Kaisha, Japón), estas células se consideraron hSG-fibros, y después de la identificación se usaron para inmunotinción y RT-PCR. Estas células fueron cultivadas en medio de crecimiento (GM) [Medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM)/F12 complementado con suero fetal bovino al 15% (FBS; Life Technologies), solución de aminoácido no esencial 10 MM (Life Technologies), 100 U/ml de penicilina, 50 lg/ml de estreptomina (Life Technologies) y 0.25 lg / ml de anfotericina B (Fungizone; Life Technologies)] en una incubadora de CO<sub>2</sub> (4,7% de CO<sub>2</sub>? 95,3% de aire). El GM fue cambiado dos veces por semana, durante el cultivo, las células fueron observadas

mediante un microscopio de contraste de fase invertida (Olympus, Tokio, Japón). Para el cultivo primario y el subcultivo usaron 0.2% de solución de tripsina-0.02% de EDTA / PBS (-) (Trypsin 250; Difco, Detroit, MI,USA) y la solución de Hanks. Las células fueron cultivadas en pozos de 60 mm (Falcon Plastics, Franklin Lakes, NJ, EE. UU.). La manipulación de agregados celulares en cultivo (cultivo primario, subcultivo y criopreservación) fue realizada utilizando pipetas desechables de 5ml(Nippon Genetics, Tokio,Japón), 15 ml (Greiner-bio-one, Tokio, Japón), 50 ml y tubos de centrifuga (Falcon Plastics). Farré et al., (2010) estudiaron si en la fracción estromal vascular de la Bola grasa de Bichat existían células progenitoras con características de ASC. Para esto extirparon la Bola grasa de Bichat de cinco pacientes sanos y aislaron la fracción estromal vascular, se analizó recién aislada y cultivada para determinar la morfología celular y los marcadores de membrana expresados, para observar si las células derivadas de BFP compartían características con ASC de otra fuente de tejido adiposo como grasa abdominal. Describieron la FEV de la Bola grasa de Bichat como una fuente rica de ASCs. El tejido adiposo se puede dividir en dos fracciones diferentes: una fracción que contiene adipocitos maduros y otra fracción que contiene una población de células heterogéneas (FEV).

En este estudio la FEV de BFP contenía un alto porcentaje de células (21% -38%) que expresaron CD90, CD73, CD29 y CD34, y que no expresaron el fenotipo hematopoyético ni marcadores de linaje endotelial (CD45, CD19, CD14, HLA-DR y CD146). En un estudio realizado por Zuk et al., (2002) se muestra que el estroma del tejido adiposo puede ser aislado fácilmente y se identificó que en la FEV se encuentra una población de células indiferenciadas es decir células troncales.

### **Aplicación clínica, estudios en animales y humanos de la bola grasa de Bichat en odontología.**

El primer estudio en reportar la aplicación in vivo en un modelo animal de ratas fue el de Shiraishi et al, 2012, en este realizaron un cultivo celular a partir de células obtenidas de la Bola Grasa de Bichat (Buccal Fat Pad Adipose Stem Cells) BFPASCs, para posteriormente implementarlas en un modelo in-vivo de regeneración ósea. En esta investigación se extrajeron en promedio 10 ml de la Bola Grasa de Bichat de donde se aislaron las BFPASCs, se evaluó el fenotipo celular además de la capacidad de diferenciación osteogénica in-vitro,



para posteriormente realizar un trasplante de las células a ratones. Para el trasplante se usaron  $1 \times 10^5$  células en 1 ml de medio (DMEM suplementado con 10% de SFB) los cuales se mezclaron con 30 mg de gránulos de hidroxiapatita HA, las células se cultivaron con medio inductor osteogénico por 13 días cambiando el medio cada tercer día, posteriormente lavaron las células con PBS y se trasplantaron a un ratón hembra BALB c de 6 semanas de edad. Bajo anestesia general crearon 4 defectos óseos mandibulares posteriores y los compuestos de HA se trasplantaron durante 8 semanas. Una vez cumplidas las 8 semanas se evaluó el tejido óseo formado teniendo como resultado la detección de tejidos similares a hueso e incluso células similares a osteocitos y al hueso natural. Posteriormente en el año 2014 Kishimoto et., al 2014 realizaron un estudio en el cual compararon la habilidad de diferenciación ósea in-vitro entre células desdiferenciadas de tejido adiposo de Bola Grasa de Bichat y las células troncales de Bola Grasa de Bichat propiamente dichas BFPASCs, primeramente aislaron el tejido adiposo de Bola Grasa de Bichat, para posteriormente realizar una disgregación mecánica y enzimática, luego de esta disgregación separaron los dos tejidos celulares, el primer tejido principalmente conformado por adipocitos los cuales fueron llevados a una caja de cultivo celular que contiene medio DMEM suplementado con SFB y antibiótico, mientras que el pellet o la fracción estromal vascular fue llevada a otra caja de cultivo para realizar la técnica de cultivo tradicional reportada por Zuk et al., en el 2001. Posteriormente cuando las células se encontraban adheridas a las cajas de cultivo se realizó un análisis de citometría de flujo para caracterizar las células como células troncales, así mismo hicieron un análisis de DNA, para evaluar la diferenciación ósea se midió la concentración de fosfatasa alcalina, osteocalcina, calcio y la tinción rojo alizarina fue utilizada para evaluar la deposición de matrices calcificadas. Los resultados de ese estudio demostraron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de osteocalcina al día 14 observando mayor concentración en las células desdiferenciadas de Bola Grasa de Bichat, mientras que las concentraciones de fosfatasa alcalina, calcio no se encuentran diferencias estadísticamente significativas. Por el contrario, con la tinción rojo de alizarina se observó una mayor cantidad de matriz ósea mineralizada en las células desdiferenciadas de Bola Grasa de Bichat. Este estudio concluyó que las células desdiferenciadas de Bola Grasa de Bichat presentaron mayor diferenciación ósea estimuladas con el medio osteoinductor previamente descrito, en comparación con las células troncales de bola grasa de bichat.

Diversos estudios realizados en animales (kawakami et al., 2016, Nagasaki et al., 2015, Takahashi et al., 2017) reportan en sus estudios la relevancia, importancia y utilidad de las BFP-ASCS en modelos experimentales In-vivo, estos estudios abarcan desde la neoformación de glándulas salivales a partir de la implantación de BFP-ASCS en defectos glandulares de ratones JCI demostrando histológicamente que en aquellas glándulas donde se implantaron las células se observó una neoformación de células acinares y ductos propios de glándulas salivales.(kawakami)De igual manera en el estudio realizado por nagasaki et al., 2015 se realizó un modelo experimental in-vivo en ratones hembra a los cuales se les produjo un defecto óseo parietal bilateral para posteriormente implantar las células troncales extraídas de Bola Grasa de Bichat, inicialmente solo se implantaron células troncales, en otro grupo implantaron BFP-ASCS en combinación con matrices de hidroxiapatita y para el control no usaron ningún tipo de tratamiento. En aquellos ratones a los que se les implantaron BFP-ASCS en combinación con matrices presentaron una formación ósea mayor en comparación con aquellos que solo se les trasplantaron BFP-ASCS, igualmente al grupo que no se le implantaron células presentó una menor formación ósea en comparación con los otros dos grupos. En un estudio más reciente realizado por Takahashi et al., 2017, se plantearon como objetivo evaluar la formación neuronal, a partir de la implantación de BFP-ASCS en la parte media del cerebro para reducir la sintomatología epiléptica en ratones wistar machos adultos, para el estudio fueron seleccionados dos grupos, el grupo #1 fue tratado con las BFP-ASCS implantadas en la parte media del cerebro, mientras que el grupo #2 fue tratado con solución de Hank y fueron mantenidos como control, como resultados de este estudio obtuvieron que las ratas a las cuales se les habían trasplantado las BFP-ASCS en la parte media del cerebro había disminuido el comportamiento rotacional por inyección intraperitoneal, mientras que el grupo control se mantuvo en los mismos rangos de la línea base por lo cual se estableció que había una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos y el grupo #1 el cual fue tratado con las BFP-ASCS si tenía una neoformación neuronal que permite disminuir la condición clínica presentada por las ratas.

La evidencia también reporta estudios clínicos y la aplicación clínica de la BFP-ASCS con diferentes objetivos terapéuticos como: tratar defectos óseos mandibulares posteriores a resección quirúrgica de un ameloblastoma en combinación con hueso autólogo (Manimaran

et al., 2016), cierres de hendiduras alveolares palatinas (Khojasteh et al., 2017) y el tratamiento el aumento de una atrofia maxilar severa por medio de BFP-ASCs en combinación con hueso iliaco autólogo (Khojasteh et al., 2016).

En el estudio clínico realizado en el 2016 por Khojasteh et al., tenían como objetivo evaluar el incremento de la actividad osteogénica al combinar dos tejidos para la reconstrucción de defectos alveolares extensos, por medio del uso de las BFPASCs combinadas con cresta ilíaca anterior. 8 pacientes acudieron al hospital universitario de Teherán, Irán, y fueron seleccionados para el estudio, 4 de los pacientes se trataron con el método de inducción ósea previamente descrito. En primer lugar, extrajeron la Bola Grasa de Bichat para ser procesada en el laboratorio y ser cultivadas con 10% o 20% de DMEM suplementado con SFB y antibiótico. Posteriormente evaluaron el fenotipo celular por medio de citometría de flujo para así determinar si la población celular que iban a implantar eran realmente BFP-ASCs. Luego de confirmado el fenotipo celular procedieron a evaluar la diferenciación osteogénica in-vitro, el medio que usaron para la diferenciación osteogénica fue ácido ascórbico 2-fosfato, 10 Nm dexametasona, 10 nM de glicerofosfato, posterior a las 3 semanas de cultivadas las células con este medio procedieron a evaluar la diferenciación osteogénica por medio de rojo alizarina para ver la cantidad de matriz ósea depositada. En cuanto a la cantidad de hueso cortical de cresta iliaca anterior fueron implantadas las células troncales de Bola Grasa de Bichat a una concentración de 10<sup>5</sup> células, para posteriormente evaluar la adhesión celular al injerto por medio de microscopia electrónica. El procedimiento por el cual se llevó el injerto al reborde se basó en una exposición completa del reborde alveolar, para posteriormente llevar los injertos hasta el reborde y fijarlos con minitornillos, cubriendo el injerto con matrices de colágeno. De los 8 pacientes evaluados cuatro del grupo control y cuatro del grupo de estudio, todos los pacientes del grupo estudio presentaron un aumento en el reborde alveolar en mm, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

El estudio realizado por Manimaran et al., 2016 titulado “Regeneración del defecto de un ameloblastoma mandibular con la ayuda de células madre de pulpa dental autóloga y la fracción estromal vascular de Bola Grasa de Bichat”. Reporta el caso clínico de un paciente de 14 años el cual presentaba una lesión mandibular anterior la cual se diagnosticó como un

ameloblastoma unicístico, de 2cm x 5cm de extensión. El tratamiento que se empleó para el manejo de este paciente fue en primer medida una marsupialización de la lesión durante 2 semanas, posteriormente extrajeron los dientes 45, 44, 42, 41, 31 los cuales presentaban una movilidad patológica debido a la lesión presentada por el paciente, en ese mismo tiempo quirúrgico se extrajo el diente 14 un diente vital del cual aislaron 4.5 millones de células troncales diente en el laboratorio y posteriormente fueron cultivadas, el cultivo de estas células duró 5 semanas en donde se obtuvieron un total de 20 millones de células, posteriormente estas células las almacenaron hasta el día de la cirugía. El día de la cirugía al paciente se le extrajeron 15g de Bola Grasa de Bichat del lado izquierdo, posteriormente aislaron 45 millones de células de la fracción estromal vascular. Al momento de tener las células de pulpa dental y de Bola Grasa de Bichat aisladas, procedieron a retirar la lesión mandibular para posteriormente colocar una placa en la cortical lingual, se colocaron cinco andamios de Sybografts Beta fosfato tricalcico, para que actuara como un soporte para las células troncales que fueron injertadas, las 20 millones de células troncales de pulpa dental y los 45 millones de células de Fracción estromal vascular mezcladas con plasma rico en plaquetas, el injerto fue cubierto con la mucosa previamente levantada por capas. Luego del primer mes de cirugía se retiró 1cm de malla cerca al reborde inferior mandibular debido a que se expuso a la cavidad oral producido por la contracción de la herida, para el tratamiento de este defecto se extrajo parte de la Bola Grasa de Bichat del lado derecho de la cual se aisló la FSV para ser combinada con plasma rico en plaquetas y ser injertado en el defecto. Luego a los diez meses de evolución se reporta una formación ósea satisfactoria evaluada por medio de un tac además de la normal cicatrización de la mucosa oral.

La evidencia también reporta el tratamiento para el cierre de hendiduras alveolares con el uso de células troncales derivadas de Bola Grasa de Bichat en combinación de hueso autógeno en un artículo publicado por Khojasteh et al., 2017, este fue un ensayo clínico aleatorizado en el cual se incluyeron pacientes que presentaban labio y paladar hendido unilaterales con cirugías correctivas previas. Se incluyeron un total de 10 pacientes en el estudio los cuales fueron distribuidos en tres grupos terapéuticos, el primer grupo constaba de un injerto de hueso iliaco, el segundo grupo fue tratado con injerto de hueso iliaco en combinación con células troncales mesenquimales y un último grupo que fue tratado con

hueso de la cortical lateral de rama mandibular en combinación con células troncales mesenquimales. Las células troncales mesenquimales fueron aisladas de la Bola Grasa de Bichat, específicamente de la fracción estromal vascular, fueron extraídos de 3 a 5 ml de BFP y posteriormente fueron cultivados en DMEM. Para el suplemento del medio se utilizó suero humano autólogo. Previo al injerto de estos implantes, las células obtenidas se cargaron en 2 ml de hueso cera a una concentración de 10<sup>6</sup> células. Durante el procedimiento quirúrgico las células se injertaron en los defectos óseos que presentaba cada paciente, en combinación con el injerto de hueso específico para cada grupo, en cuanto la evaluación clínica en el postoperatorio la cicatrización de tejidos blandos fue evidente y no presentó complicaciones, la evaluación radiográfica se realizó por medio de una tomografía computarizada a los seis meses evidenciando una nueva formación de hueso. Como resultados de este estudio se evidencia que en todos los casos y los tres grupos se logró cerrar el defecto o la atrofia maxilar. En los tres grupos se evidenció una neoformación ósea en el grupo de LRCP + BFPASCs de 69% y 85%, mientras que el grupo tratado con hueso ilíaco y BFPASCs fue 70%, 85% y 90% y el grupo tratado con hueso iliaco fue de 65%, 70% y 85%, el primer grupo claramente presenta una formación ósea mayor en comparación con los otros dos grupos, pero no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre estos.

Kakudo et al., 2017 publicaron un estudio en el cual se utilizaron células desdiferenciadas aisladas de tejido adiposo obtenido de una mujer sana de 27 años de edad, de la cual se extrajo tejido adiposo para posteriormente ser procesado por medio de la técnica en techo para la obtención así de células desdiferenciadas, luego de caracterizar las células por medio de citometría de flujo como células troncales mesenquimales, procedieron a implantar las células en ratones machos Jcr+ y Jcl+ de 5 semanas de edad con un peso promedio de 27.5g. Este estudio contó con tres grupos, a los dos primeros grupos de ratas se les indujo un infarto cerebral izquierdo, g1; se administró 30 ul de PBS, g2; se le administró 30 ul de PBS junto con 5x10<sup>5</sup> DFAT, g3; se le administró 30 ul de PBS pero a este grupo no se les indujo el infarto cerebral. En los tres grupos evaluaron el comportamiento por medio de tres pruebas 1. Función motora por cables montados, 2. Aprendizaje de laberinto de agua, 3. Prueba de suspensión de cola, además se realizó una prueba de depresión la cual fue la prueba de natación forzada. Obtuvieron como resultado 9 de los 10 ratones trasplantados con DFAT

sobrevivieron 4 semanas, los resultados de las pruebas de comportamiento no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos, por otro lado, la prueba de natación forzada mostró diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$  entre los ratones del grupo trasplantado con DFAT y el grupo tratado con PBS.

Shafieian et al., 2017 realizaron un estudio en Irán el cual tenía como objetivo evaluar la formación de matriz ósea en defectos óseos de tamaño crítico generados por los científicos en el laboratorio en alveolar mandibulares de perros adultos machos de 2 años de edad. Para este estudio usaron tejido graso subcutáneo del cual extrajeron las células troncales mesenquimales, el procedimiento de creación de los defectos óseos críticos constó en: extraer todos los premolares mandibulares dejándolos cicatrizar un mes para posteriormente perforar dos defectos perpendiculares a la corteza lateral en cada lado de la mandíbula con una fresa trefina de 10 mm de diámetro en los 5 perros. Los grupos se dividieron de la siguiente forma grupo 1: El defecto fue llenado con hueso mandibular autólogo grupo 2: no se colocó ningún material de relleno en el defecto óseo. Grupo 3: HA + PRP + Células Troncales Mesenquimales. La evaluación de la formación ósea la hicieron por medio de análisis radiográficos, evaluación histológica y cuantificación de osteocitos. En los tres grupos se observó una deposición de matriz ósea calcificada, además se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la formación ósea y la distribución de la matriz ósea entre el grupo I y el control normal con  $p < 0.01$ , grupo II y el control normal  $p < 0.001$ , grupo III y el control normal  $p < 0.05$ . El valor del grupo III fue mayor al grupo I con un  $p < 0.05$ .

La evidencia es amplia y también se reporta un estudio experimental con un modelo en ratas Lewis de 8 semanas de vida, el cual tiene como objetivo evaluar la regeneración del nervio facial por medio de B-DFAT evaluando la funcionalidad y estructura del nervio. Este estudio empleó tres grupos, a todos se les seccionó parte del nervio facial en su rama bucal y fueron tratados de la siguiente manera. Grupo 1: se realizó un trasplante de nervio facial contralateral. Grupo 2: se colocó un tubo de silicona el cual contenía B-DFAT y gel de colágeno tipo I. Grupo 3: se colocó un tubo de silicona solamente con colágeno tipo I. Se realizaron análisis histológicos para evaluar la formación de fibras axonales, además de vainas de mielina y células de Schwann, además de la evaluación del potencial compuesto de acción

muscular. Como resultado macroscópicamente el grupo del autoinjerto se cubrió de tejido de granulación y no se observó una formación nerviosa real mientras que en los otros dos grupos se observa una formación nerviosa real macroscópicamente, destacando en el grupo tratado con B-DFAT el nervio era más grueso y macroscópicamente más estable en comparación con los otros dos grupos, de igual forma este grupo present vasos sanguíneos más gruesos ubicados a los largo de todo el epineuro, con vainas de mielina y regeneración axonal, sin embargo el número de fibras reales formadas era mayor en el grupo del autoinjerto en comparación con los otros grupos con un  $p < 0.05$  pero el diámetro de la fibra, el diámetro del axón y el grosor de la mielina fueron significativamente mayores en el grupo al cual se le trasplantaron las células troncales mesenquimales de tejido graso con un  $p < 0.05$  (Matsumine et al.,2014).

## **CONCLUSIONES**

La Bola Grasa de Bichat llamada también Bolsa de Grasa Bucal (BGB) es un tejido adiposo que se encuentra entre las mejillas, localizado exactamente entre el músculo masetero y el buccinador. Su función percibida en fetos y lactantes es para chupar y mejorar las capacidades de los buccinadores y otros músculos masticatorios.

La Bola Grasa de Bichat se describió por primera vez en 1732 por el anatomista Lorenz Heister, quien las llamó “glándulas malares”, años después en 1802, el anatomista y biólogo francés, Xavier Bichat describió su anatomía real y la clasificó como una “bolsa” de grasa.

Los hallazgos encontrados dan a conocer que la Bola grasa de Bichat es un método útil, fácil y sin complicaciones. debido a esto la BGB Puede ser utilizada en la corrección de diversos defectos y lesiones bucales, no solo cierre de fístulas y comunicaciones bucosinusales, sino también para reconstrucciones post resección de tumores, rehabilitación de pacientes desfigurados, correcciones estéticas de la cara y recubrimiento de injertos para implantes, también es utilizada para la reconstrucción de defectos quirúrgicos de tamaño pequeño a mediano de los tejidos orales duros y blandos.

En la actualidad la Bola grasa de Bichat se convierte en una opción ideal para algunos Odontólogos y cirujanos maxilofaciales, esta cuenta con una variedad de aplicaciones en

cirugía oral y maxilofacial en donde se pueden conseguir resultados estéticos sorprendentes en el contorno facial siendo esta manipulada por un experto con experiencia.

Es por ello que es de gran importancia conocer su anatomía, fisiología, función y su relación con los músculos masticatorios.

En efecto los diversos estudios clínicos realizados en animales Kawakami et al., 2016, Nagasaki et al., 2016, Shirarishi et al., 2012, Takahashi et al., 2017, Kakudo et al., 2018, Matsumine et al., 2014, demuestran el potencial de diferenciación y regeneración ósea y nerviosa que tienen las células troncales aisladas, caracterizadas y expandidas a partir de la Bola Grasa de Bichat, además de su potencial de regeneración ósea en perros demostrada por Shafieian et al., 2017.

Los protocolos de aislamiento, expansión y caracterización usados en los diferentes estudios demostraron efectividad en cuanto a la expresión de marcadores de membrana específicos para células troncales mesenquimales, la capacidad de diferenciación in-vitro de las células hacia tejidos: óseos, condrogénicos, adiposos, entre otros, sin embargo, hacen falta más estudios para establecer un protocolo específico para BFPASCs, puesto que los utilizados son específicos para ASCs.

Por otro lado, los diversos estudios realizados en humanos por Manimaran et al., 2016 y Kojhasteh et al., 2016, demuestran la capacidad de diferenciación osteogénica y regeneración ósea a partir de BFPASCs en conjunto con células troncales de pulpa dental y autoinjertos de hueso.

Por lo cual es de vital importancia el seguir investigando acerca de las aplicaciones potenciales de dichas células en odontología y medicina regenerativa.

## **REFERENCIAS**

1. Alkan A, Dolanmaz D, Uzun E, Erdem E. The reconstruction of oral defects with buccal fat pad. *Swiss Med Wkly.* 2003 Aug 23;133(33-34):465-70.
2. Ardeshiryajimi A, Mossahebi-Mohammadi M, Vakilian S, Langroudi L, Seyedjafari E, Atashi A, Soleimani M..Comparison of osteogenic differentiation potential of human adult stem cells loaded on bioceramic-coated electrospun poly (L-lactide) nanofibres. *Cell Prolif.* 2015 Feb;48(1):47-58.



3. Broccaioli E, Niada S, Rasperini G, Ferreira LM, Arrigoni E, Yenagi V, Brini AT. Mesenchymal Stem Cells from Bichat's Fat Pad: In Vitro Comparison with Adipose-Derived Stem Cells from Subcutaneous Tissue. *Biores Open Access*. 2013 Apr;2(2):107-17.
4. Cohen SR, Hewett S, Ross L, Delaunay F, Goodacre A, Ramos C, Leong T, Saad A. Regenerative Cells For Facial Surgery: Biofilling and Biocontouring. *Aesthet Surg J*. 2017 Jul 1;37(suppl\_3):S16-S32.
5. Farré E, Martí , Hernández F, Klein J, Casals N. Buccal fat pad, an oral access source of human adipose stem cells with potential for osteochondral tissue engineering: an in vitro study. *Tissue Eng Part C Methods*. 2010 Oct;16(5):1083-94.
6. Gassner HG, Rafii A, Young A, Murakami C, Moe KS, Larrabee WF Jr, et al., Surgical anatomy of the face: implications for modern face-lift techniques. *Arch Facial Plast Surg*. 2008;10(1):9–19.
7. Ghaderi H, Razmkhah M, Kiany F, Chenari N, Haghshenas MR, Ghaderi A. Comparison of Osteogenic and Chondrogenic Differentiation Ability of Buccal Fat Pad Derived Mesenchymal Stem Cells and Gingival Derived Cells. *J Dent (Shiraz)*. 2018 Jun;19(2):124-131.
8. Ghoreishian M, Rezaei M, Beni BH, Javanmard SH, Attar BM, Zalzali H. Facial nerve repair with Gore-Tex tube and adipose-derived stem cells: an animal study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013 Mar;71(3):577-87.
9. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher L.W, Cherman N, Boyde A, et al., Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells. *J Dent Res* 2002;81(8):531-5.
10. Hassani A, Shahmirzadi S, Saadat S. Applications of the Buccal Fat Pad in Oral and Maxillofacial Surgery. *A Oral Maxillofac Surg*. 2016 Aug;3(18).
11. Kakudo T, Kishimoto N, Matsuyama T, Momota Y. Functional recovery by application of human dedifferentiated fat cells on cerebral infarction mice model. *Cytotechnology*. 2018 Jun;70(3):949-959.
12. Kawakami M, Ishikawa H, Tanaka A, Mataga I. Induction and differentiation of adipose-derived stem cells from human buccal fat pads into salivary gland cells. *Hum Cell*. 2016 Jul;29(3):101-10.
13. Khojasteh A, Sadeghi N. Application of buccal fat pad-derived stem cells in combination with autogenous iliac bone graft in the treatment of maxillomandibular atrophy: a preliminary human study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016 Jul;45(7):864-71.
14. Kim M, Han W, Kim S. The use of the buccal fat pad flap for oral reconstruction. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery* 2017, 39(5).

15. Kishimoto N, Momota Y, Hashimoto Y, Tatsumi S, Ando K, Omasa T, Kotani J. The osteoblastic differentiation ability of human dedifferentiated fat cells is higher than that of adipose stem cells from the buccal fat pad. *Clin Oral Investig*. 2014 Nov;18(8):1893-901.
16. Kishimoto N, Honda Y, Momota Y, Tran S. Oral Dis. Dedifferentiated Fat (DFAT) cells: A cell source for oral and maxillofacial tissue engineering. 2018 Oct;24(7):1161-1167
17. Kokai LE, Marra K, Rubin JP. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Transl Res*. 2014 Apr;163(4):399-408.
18. Komatsu S, Ikemura K, Kimata Y. Pedicled buccal fat pad for the augmentation of facial depression deformity. *Medicine*. 2017, 96:30
19. Manimaran K, Sharma R, Sankaranarayanan S, Perumal S. Regeneration of mandibular ameloblastoma defect with the help of autologous dental pulp stem cells and buccal pad of fat stromal vascular fraction. *Ann Maxillofac Surg*. 2016 Jan-Jun;6(1):97-100.
20. Matsumine H, Takeuchi Y, Sasaki R, Kazama T, Kano K, Matsumoto T, Sakurai H, Miyata M, Yamato M. Adipocyte-derived and dedifferentiated fat cells promoting facial nerve regeneration in a rat model. *plast Reconstr Surg*. 2014 Oct;134(4):686-97.
21. Mínguez A, Escamilla F. Terapia celular y otras estrategias neurorregenerativas en la enfermedad de Parkinson (I). *Revista neurológica*, 41, 604-614, 2005.
22. Mohan S, Kankariya H, Harjani B. The use of the buccal fat pad for reconstruction of oral defects: review of the literature and report of cases. *J Maxillofac Oral Surg*. 2012 Jun;11(2):128-31.
23. Nagasaki R, Mukudai Y, Yoshizawa Y, Nagasaki M, Shiogama S, Suzuki M, Kondo S, Shintani S, Shirota T. A Combination of Low-Intensity Pulsed Ultrasound and Nanohydroxyapatite Concordantly Enhances Osteogenesis of Adipose-Derived Stem Cells From Buccal Fat Pad. *Cell Med*. 2015 Apr 22;7(3):123-31.
24. Niada S, Ferreira L, Arrigoni E, Addis A, Campagnolo M, Broccaioli R, Brini A. Porcine adipose-derived stem cells from buccal fat pad and subcutaneous adipose tissue for future preclinical studies in oral surgery. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(6):148.
25. Pellacchia V1, Renzi G, Becelli R, Socciarelli F. Bone Regeneration of the Maxillofacial Region Through the Use of Mesenchymal Cells Obtained by a Filtration Process of the Adipose Tissue. *J Craniofac Surg*. 2016 May; 27(3):558-60.

26. Ponrartana S, Patil S, Aggabao PC, Pavlova Z, Devaskar SU, Gilsanz V. Brown Adipose Tissue in the Buccal Fat Pad during Infancy. *PLoS ONE* 2014; 9(2): e89533.
27. Rezai Rad M, Bohlooli M, Akhavan Rahnama M, Anbarlou A, Nazeman P, Khojasteh A. Impact of Tissue Harvesting Sites on the Cellular Behaviors of Adipose-Derived Stem Cells: Implication for Bone Tissue Engineering. *Stem Cells Int.* 2017;2017:2156478.
28. Shafieian R, Matin MM, Rahpeyma A, Fazel A, Sedigh HS, Nabavi AS, Hassanzadeh H, Ebrahimzadeh-Bideskan A. Effects of Human Adipose-derived Stem Cells and Platelet-Rich Plasma on Healing Response of Canine Alveolar Surgical Bone Defects. *Arch Bone Jt Surg.* 2017 Nov;5(6):406-418.
29. Shiraishi T, Sumita Y, Wakamastu Y, Nagai K, Asahina I. Formation of Engineered Bone with Adipose Stromal Cells from Buccal Fat Pad. *J Dent Res* 2012; 91(6):592-597.
30. Stuzin JM, Wagstrom L, Kawamoto HK, Baker TJ, Wolfe SA. The anatomy and clinical applications of the buccal fat pad. *Plast Reconstr Surg.* 1990 Jan;85(1):29-37.
31. Takahashi H, Ishikawa H, Tanaka A. Regenerative medicine for Parkinson's disease using differentiated nerve cells derived from human buccal fat pad stem cells. *Hum Cell.* 2017 Apr;30(2):60-71.
32. Tsuji W, Rubin JP, Marra KG. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. *World J Stem Cells.* 2014 Jul 26;6(3):312-21.
33. Tsurumachi N, Akita D, Kano K, Matsumoto T, Toriumi T, Kazama T, Oki Y, Tamura Y, Tonogi M, Isokawa K, Shimizu N, Honda M. Small Buccal Fat Pad Cells Have High Osteogenic Differentiation Potential. *Tissue Eng Part C Methods.* 2016 Mar;22(3):250-9.
34. Tsurumachi N, Akita D, Kano K, Matsumoto T, Toriumi T, Kazama T, Oki Y, Saito-Tamura Y, Tonogi M, Shimizu N, Honda M. Effect of collagenase concentration on the isolation of small adipocytes from human buccal fat pad. *Journal of Oral Science,* 2018; 60(1):14-23.
35. Zhang HM, Yan YP, Qi KM, Wang JQ, Liu ZF. Anatomical structure of the buccal fat pad and its clinical adaptations. *Plast Reconstr Surg* 2002;109(7):2509-18; discussion 19-20.
36. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al., Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211-228.

37. Zuk P, Zhu M, Ashjran P, Ugarte D, Huang J, Mizuno H, et al., Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells. *Mol Biol Cell* 2002;13(12):4279-95.
38. Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V, Plikus MV. Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. *Cell Metab.* 2018 Jan 9;27(1):68-83.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alkan A, Dolanmaz D, Uzun E, Erdem E. The reconstruction of oral defects with buccal fat pad. *Swiss Med Wkly*. 2003 Aug 23;133(33-34):465-70.
2. Ardeshirylajimi A, Mossahebi-Mohammadi M, Vakilian S, Langroudi L, Seyedjafari E, Atashi A, Soleimani M. Comparison of osteogenic differentiation potential of human adult stem cells loaded on bioceramic-coated electrospun poly (L-lactide) nanofibres. *Cell Prolif*. 2015 Feb;48(1):47-58.
3. Broccaioli E, Niada S, Rasperini G, Ferreira LM, Arrigoni E, Yenagi V, Brini AT. Mesenchymal Stem Cells from Bichat's Fat Pad: In Vitro Comparison with Adipose-Derived Stem Cells from Subcutaneous Tissue. *Biores Open Access*. 2013 Apr;2(2):107-17.
4. Chen J, Mou X, Du X, Xiang C. Comparative analysis of biological characteristics of adult mesenchymal stem cells with different tissue origins. *Asian Pac J Trop Med* 2015;8(9):739-46.
5. Cohen SR, Hewett S, Ross L, Delaunay F, Goodacre A, Ramos C, Leong T, Saad A. Regenerative Cells For Facial Surgery: Biofilling and Biocontouring. *Aesthet Surg J*. 2017 Jul 1;37(suppl\_3):S16-S32.
6. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al., Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8(4):315-7.
7. Farré E, Martí , Hernández F, Klein J, Casals N. Buccal fat pad, an oral access source of human adipose stem cells with potential for osteochondral tissue engineering: an in vitro study. *Tissue Eng Part C Methods*. 2010 Oct;16(5):1083-94.
8. Flores-Figueroa E, Montesinos JJ, Mayani H. Mesenchymal stem cell; history, biology and clinical application. *Rev Invest Clin* 2006;58(5):498-511.
9. Gassner HG, Rafii A, Young A, Murakami C, Moe KS, Larrabee WF Jr, et al., Surgical anatomy of the face: implications for modern face-lift techniques. *Arch Facial Plast Surg*. 2008;10(1):9-19.
10. Ghaderi H, Razmkhah M, Kiany F, Chenari N, Haghshenas MR, Ghaderi A. Comparison of Osteogenic and Chondrogenic Differentiation Ability of Buccal Fat Pad Derived Mesenchymal Stem Cells and Gingival Derived Cells. *J Dent (Shiraz)*. 2018 Jun;19(2):124-131.
11. Ghoreishian M, Rezaei M, Beni BH, Javanmard SH, Attar BM, Zalzali H. Facial nerve repair with Gore-Tex tube and adipose-derived stem cells: an animal study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013 Mar;71(3):577-87.
12. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher L.W, Cherman N, Boyde A, et al., Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells. *J Dent Res* 2002;81(8):531-5.
13. Hassani A, Shahmirzadi S, Saadat S. Applications of the Buccal Fat Pad in Oral and Maxillofacial Surgery. *A Oral Maxillofac Surg*. 2016 Aug;3(18).
14. Hwang K, Cho HJ, Battuvshin D , Chung IH, Hwang SH. Interrelated buccal fat pad with facial buccal branches and parotid duct. *J Craniofac Surg*. 2005 Jul;16(4):658-60.

15. Igura K, Zhang X, Takahashi K, Mitsuru A, Yamaguchi S, Takashi TA, et al., Isolation and characterization of mesenchymal progenitor cells from chorionic villi of human placenta. *Cytotherapy* 2004;6(6):543-53.
16. Jing W, Wu L, Lin Y, Liu L, Tang W, Tian W, et al., Odontogenic differentiation of adipose-derived stem cells for tooth regeneration: necessity, possibility, and strategy. *Med Hypotheses* 2008;70(3):540-2.
17. Kakudo T, Kishimoto N, Matsuyama T, Momota Y. Functional recovery by application of human dedifferentiated fat cells on cerebral infarction mice model. *Cytotechnology*. 2018 Jun;70(3):949-959.
18. Katz A, Tholpady A, Tholpady S, Shang H, Ogle R. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. *StemCells* 2005;23(3):412-23.
19. Kawakami M, Ishikawa H, Tanaka A, Mataga I. Induction and differentiation of adipose-derived stem cells from human buccal fat pads into salivary gland cells. *Hum Cell*. 2016 Jul;29(3):101-10.
20. Khojasteh A, Sadeghi N. Application of buccal fat pad-derived stem cells in combination with autogenous iliac bone graft in the treatment of maxillo-mandibular atrophy: a preliminary human study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016 Jul;45(7):864-71.
21. Kim M, Han W, Kim S. The use of the buccal fat pad flap for oral reconstruction. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery* 2017, 39(5).
22. Kishimoto N, Honda Y, Momota Y, Tran S. Oral Dis. Dedifferentiated Fat (DFAT) cells: A cell source for oral and maxillofacial tissue engineering. 2018 Oct;24(7):1161-1167
23. Kishimoto N, Momota Y, Hashimoto Y, Tatsumi S, Ando K, Omasa T, Kotani J. The osteoblastic differentiation ability of human dedifferentiated fat cells is higher than that of adipose stem cells from the buccal fat pad. *Clin Oral Investig*. 2014 Nov;18(8):1893-901.
24. Kokai LE, Marra K, Rubin JP. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Transl Res*. 2014 Apr;163(4):399-408.
25. Komatsu S, Ikemura K, Kimata Y. Pedicled. buccal fat pad for the augmentation of facial depression deformity. *Medicine*.2017, 96:30
26. Lee DY, Kim HB, Shim IK, Kanai N, Okano T, Kwon SK. Treatment of chemically induced oral ulcer using adipose-derived mesenchymal stem cell sheet. *J Oral Pathol Med*. 2017 Aug;46(7):520-527.
27. Liu TM, Martina M, Hutmacher DW, Hui JH, Lee EH, Lim B, et al., Identification of common pathways mediating differentiation of bone marrow and adipose tissue derived human mesenchymal stem cells into three mesenchymal lineages. *Stem Cells* 2007;25(3):750-60.
28. Manimaran K, Sharma R, Sankaranarayanan S, Perumal S. Regeneration of mandibular ameloblastoma defect with the help of autologous dental pulp stem cells and buccal pad of fat stromal vascular fraction. *Ann Maxillofac Surg*. 2016 Jan-Jun;6(1):97-100.

29. Matsumine H, Takeuchi Y, Sasaki R, Kazama T, Kano K, Matsumoto T, Sakurai H, Miyata M, Yamato M. Adipocyte-derived and dedifferentiated fat cells promoting facial nerve regeneration in a rat model. *plast Reconstr Surg*. 2014 Oct;134(4):686-97.
30. Mayani H. A glance into somatic stem cells biology: basic principles, new concepts, and clinical relevance. *Arch Med Res* 2003;34(1):3-15.
31. Mínguez A., Escamilla F. Terapia celular y otras estrategias neuroregenerativas en la enfermedad de Parkinson (I). *Revista neurológica*, 41, 604-614, 2005.
32. Mohan S, Kankariya H, Harjani B. The use of the buccal fat pad for reconstruction of oral defects: review of the literature and report of cases. *J Maxillofac Oral Surg*. 2012 Jun;11(2):128-31.
33. Nagasaki R, Mukudai Y, Yoshizawa Y, Nagasaki M, Shiogama S, Suzuki M, Kondo S, Shintani S, Shirota T. A Combination of Low-Intensity Pulsed Ultrasound and Nanohydroxyapatite Concordantly Enhances Osteogenesis of Adipose-Derived Stem Cells From Buccal Fat Pad. *Cell Med*. 2015 Apr 22;7(3):123-31.
34. Niada S, Ferreira L, Arrigoni E, Addis A, Campagnolo M, Broccaioli R, Brini A. Porcine adipose-derived stem cells from buccal fat pad and subcutaneous adipose tissue for future preclinical studies in oral surgery. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(6):148.
35. Pellacchia V, Renzi G, Becelli R, Socciarelli F. Bone Regeneration of the Maxillofacial Region Through the Use of Mesenchymal Cells Obtained by a Filtration Process of the Adipose Tissue. *J Craniofac Surg*. 2016 May;27(3):558-60.
36. Ponrartana S, Patil S, Aggabao PC, Pavlova Z, Devaskar SU, et al., Brown Adipose Tissue in the Buccal Fat Pad during Infancy. *PLoS ONE* 2014; 9(2): e89533.
37. Rapidis AD, Alexandridis CA, Eleftheriadis E, Angelopoulos AP. The use of the buccal fat pad for reconstruction of oral defects: review of the literature and report of 15 cases. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000 Feb;58(2):158-63
38. Rezai Rad M, Bohloli M, Akhavan Rahnama M, Anbarlou A, Nazeman P, Khojasteh A. Impact of Tissue Harvesting Sites on the Cellular Behaviors of Adipose-Derived Stem Cells: Implication for Bone Tissue Engineering. *Stem Cells Int*. 2017;2017:2156478.
39. Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, Ailhaud G, Dani C, et al., The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie* 2005; 87(1):125-8.
40. Roskies MG, Fang D, Abdallah MN, Charbonneau AM, Cohen N, Jordan JO, Hier MP, Mlynarek A, Tamimi F, Tran SD. Three-dimensionally printed polyetherketoneketone scaffolds with mesenchymal stem cells for the reconstruction of critical-sized mandibular defects. *Laryngoscope*. 2017 Nov; 127(11):E392-E398.
41. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, et al., Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364(9429):149-55.
42. Shafieian R, Matin MM, Rahpeyma A, Fazel A, Sedigh HS, Nabavi AS, Hassanzadeh H, Ebrahimzadeh-Bideskan A. Effects of Human Adipose-derived Stem Cells and Platelet-Rich

- Plasma on Healing Response of Canine Alveolar Surgical Bone Defects. *Arch Bone Jt Surg.* 2017 Nov;5(6):406-418.
43. Shiraishi T, Sumita Y, Wakamastu Y, Nagai K, Asahina I. Formation of Engineered Bone with Adipose Stromal Cells from Buccal Fat Pad. *J Dent Res* 2012; 91(6):592-597.
  44. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, et al., Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoSOne*2006; 1:e79.
  45. Strem B, Hicok K, Zhu M, Wulur I, Zeni A, Schreiber R, Fraser J, Hedrick M. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 2005; 54 (3): 132–141.
  46. Stuzin JM, Wagstrom L, Kawamoto HK, Baker TJ, Wolfe SA. The anatomy and clinical applications of the buccal fat pad. *Plast Reconstr Surg.* 1990 Jan;85(1):29-37.
  47. Takahashi H, Ishikawa H, Tanaka A. Regenerative medicine for Parkinson's disease using differentiated nerve cells derived from human buccal fat pad stem cells. *Hum Cell.* 2017 Apr;30(2):60-71.
  48. Tsuji W, Rubin JP, Marra KG. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. *World J Stem Cells.* 2014 Jul 26;6(3):312-21.
  49. Tsurumachi N, Akita D, Kano K, Matsumoto T, Toriumi T, Kazama T, Oki Y, Tamura Y, Tonogi M, Isokawa K, Shimizu N, Honda M. Small Buccal Fat Pad Cells Have High Osteogenic Differentiation Potential. *Tissue Eng Part C Methods.* 2016 Mar;22(3):250-9.
  50. Tsurumachi N, Akita D, Kano K, Matsumoto T, Toriumi T, Kazama T, Oki Y, Saito-Tamura Y, Tonogi M, Shimizu N, Honda M. Effect of collagenase concentration on the isolation of small adipocytes from human buccal fat pad. *Journal of Oral Science,* 2018; 60(1):14-23.
  51. Weinzierl K, Hemprich A, Frerich B. Bone engineering with adipose tissue derived stromal cells. *J Craniomaxillofac Surg.* 2006 Dec;34(8):466-71.
  52. Yousuf S, Tubbs RS, Wartmann CT, Kapos T, Cohen-Gadol AA, Loukas M. A review of the gross anatomy, functions, pathology, and clinical uses of the buccal fat pad. *Surg Radiol Anat.* Junio 2010; 32 (5): 427-36.
  53. Zhang HM, Yan YP, Qi KM, Wang JQ, Liu ZF. Anatomical structure of the buccal fat pad and its clinical adaptations. *Plast Reconstr Surg* 2002;109(7):2509–18; discussion 19–20.
  54. Zuk P, Zhu M, Ashjran P, Ugarte D, Huang J, Mizuno H, et al., Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells. *Mol Biol Cell* 2002;13(12):4279-95.
  55. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al., Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211–228.
  56. Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V, Plikus MV. Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. *Cell Metab.* 2018 Jan 9;27(1):68-83.