

93



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS UN NUEVO
CONCEPTO BIOLÓGICO PARA PULPOTOMÍAS
VITALES.

T E S I S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A :
RUBÉN ANDRÉS FAJARDO ALVARADO

DIRECTOR: MTRO. JAVIER AUGUSTO HERNÁNDEZ PALMA



México, D. F.

Junio 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

93



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS UN NUEVO
CONCEPTO BIOLÓGICO PARA PULPOTOMÍAS
VITALES.

T E S I S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A :
RUBÉN ANDRÉS FAJARDO ALVARADO



DIRECTOR: MTRO. JAVIER AUGUSTO HERNÁNDEZ PALMA

México, D. F.

Junio 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

INTRODUCCION

1. Complejo Pulpa-Dentina	3
1.1 Pulpa	3
1.2 Morfología pulpar	6
1.3 Diferencias Anatómicas de Dientes Temporales y Permanentes	6
1.4 Dentina	8
2. Inflamación	9
2.1 Inflamación Aguda	9
2.2 Inflamación Crónica	10
3. Pulpotomía	11
3.1 Indicaciones	12
3.2 Contraindicaciones	12
3.3 Técnica Secuencial	13
3.4 Observación y Pronóstico	15
4. Proteínas Oseas Morfogenéticas(BMP)	16
5. Proteínas Morfogenéticas BMP en el Tratamiento de Pulpotomías	23
5.1 Caso 1	23
5.2 Caso 2	32
5.3 Caso 3	36
Conclusiones	40
BIBLIOGRAFÍA	41

INTRODUCCIÓN

La técnica de la pulpotomía se inicia en el siglo XIX con Spooner en 1836, que introduce el arsénico como agente químico desvitalizador mientras otros utilizaban el cobalto con 8% de hidrocloreto de cocaína. En 1904 Buckley expone las bases científicas de esta técnica en la escuela Americana basándose en la fórmula del formocresol puro, formaldehído 19%, glicerol 15%, tricresol al 35%, metanol al 15% y agua al 24%. Este procedimiento requería de 3 a 5 visitas para llevarse a efecto y se procuraba la desvitalización y fijación pulpar.

El procedimiento de pulpotomías para la dentición primaria ha experimentado fuertes controversias en los últimos años en cuanto a que medicamento se debe de colocar sobre los muñones pulpares radiculares por lo que se han desarrollado tres líneas de tratamiento: desvitalización, preservación y regeneración. La desvitalización, donde lo que se intenta es fijar el tejido vital, se tipifica por formocresol y actualmente por el electrocauterio. La preservación, es la conservación al máximo del tejido vital remanente sin inducción de dentina reparadora, se ejemplifica por la pulpotomía con zoe, glutaraldehído y sulfato férrico. La regeneración, promueve la estimulación de un puente dentinario, se ha asociado por largo tiempo con el hidróxido de calcio, sin embargo, este medicamento ha demostrado ser extremadamente agresivo para el tejido pulpar primario, en donde con mucha frecuencia ocasiona su utilización metaplasia de odontoblastos y por lo tanto, reabsorciones internas.

De las tres líneas de tratamiento, la regeneración se espera sea la de mayores avances, debido a los alcances de la Biología Molecular podemos hablar de las **Proteínas morfogenéticas (BMP)** que han abierto nuevas alternativas en a terapia de la pulpa. Las BMP del humano con propiedades

dentinogénicas han llegado a estar disponibles a través de tecnología recombinante. Ahora estamos entrando en una era de terapia de pulpotomía con cura, como el principio de guía.¹ y entrando en el campo de la pulpotomía biológica que, preconizó antes del tiempo de Boller en 1972.¹

¹Don M. Ranly. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. Pediatric Dentistry: November/December 1994-Volume 16, Number 6.

1. COMPLEJO PULPA-DENTINA

El conocimiento de la histopatología es de gran importancia para poder comprender el grado de afección a la pulpa, la que nos permite realizar un correcto diagnóstico, y además tener en cuenta el potencial reparador de la pulpa dental. Esto nos permitirá comprender el fracaso de muchos tratamientos.

1.1 PULPA

Histológicamente la pulpa de los dientes primarios y permanentes jóvenes es similar, es un tejido conectivo que proviene del mesénquima de la pulpa dental, y ocupa la cámara pulpar y los conductos radiculares. Se trata de un tejido blando que conserva toda la vida su aspecto mesenquimatoso. La mayor parte de sus células tienen en los cortes forma estrellada y están unidas entre sí por grandes prolongaciones citoplasmáticas.

La pulpa se encuentra muy vascularizada, los vasos principales entran y salen por los agujeros apicales, sin embargo, los vasos de la pulpa, incluso los más voluminosos, tienen paredes muy delgadas. Esto hace que el tejido sea muy sensible a cambios de presión porque las paredes de la cámara pulpar no pueden dilatarse. Un edema inflamatorio bastante ligero puede fácilmente causar compresión de los vasos sanguíneos y por lo tanto, necrosis parcial, o muerte pulpar. Si esto se presenta, la pulpa puede extirparse quirúrgicamente, en forma parcial ó total, y el espacio que deja, se llena con material inerte.²

² Ham. Arthur W. Tratado de histología. 7ª ed. Edditorial Interamericana.

La vascularización de la pulpa esta formada por un sistema de arterias y capilares cercanos a la base de los odontoblastos. Estos confluyen en pequeñas venas centradas en la pulpa. En la pulpa hay anastomosis arteriovenosas que son fácilmente localizadas. También hay numerosos haces de fibras nerviosas mielinicas, que entran en la cavidad pulpar por el canal de la raíz, forman un plexo en la pulpa, del cual se originan otros plexos más finos de fibras amielínicas para los estratos más periféricos. Se han localizado terminaciones nerviosas entre los odontoblastos.³

Anatómicamente, el órgano pulpar esta dividido en:

- a) Pulpa coronaria: ubicada en la cámara pulpar, en la porción coronaria del diente, incluidos los cuernos pulpares orientados hacia las crestas incisales y las puntas de las cúspides.
- b) Pulpa radicular: ubicada en los conductos pulpares (uno o más) de la porción dentinaria radicular. La pulpa radicular tiene continuidad con los tejidos periapicales a través de los agujeros apicales (uno o más foramen o foramina).
Conductos accesorios pueden extenderse lateralmente desde la pulpa a través de la dentina radicular hacia los tejidos periodontales.⁴

La pulpa dental esta integrada por nervios mineralizados y amielínicos, arterias, venas, conductos linfáticos, células conectivas, sustancia intercelulares, odontoblastos y fibras colágenas y fibrillas.

La pulpa es un órgano especializado, singular, de cuerpo humano que cumple cuatro funciones:

³ Fawcett. Tratado de Histología. 11ª ed. Editorial Interamericana. Mac Graw Hill.

⁴ Ten Cate. Histología Oral. 2ª ed. Editorial Panamericana Argentina. 1986.

1. **Función formativa o evolutiva:** consiste en la producción, a cargo de los odontoblastos, la dentina primaria y secundaria
2. **Función nutritiva:** aporta elementos nutricios y humedad a la dentina, a través de la irrigación sanguínea de los odontoblastos y sus prolongaciones.
3. **Función sensorial.** Provee fibras nerviosas sensorias a la pulpa para que medie en la sensación del dolor.
4. **Función defensiva:** de la pulpa esta relacionada primordialmente con su respuesta a la irritación mecánica, térmica, química o bacteriana. Estos irritantes pueden causar la degeneración y muerte de las prolongaciones odontoblasticas afectadas y sus correspondientes odontoblastos y la formación de la pulpa por odontoblastos y reemplazo que depositan dentina irregular o reparadora.⁵

En caso de una irritación severa, la pulpa responde con una reacción inflamatoria similar a la de cualquier otro tejido blando lesionado. Pero esta inflamación puede resultar irreversible y conducir a la muerte pulpar a causa de que la estructura en la que esta confinada, rígida, y la dentina que limita la respuesta inflamatoria y la capacidad de la pulpa para recuperarse.

También con la edad la pulpa suele tornarse más fibrosa a causa de episodios irritativos y puede contener denticulos . Este último mencionado son masas calcificadas, nodulares que suelen aparecer en la cámara pulpar y también suelen hacerlo en los conductos.

⁵ Bk.B.Berkovitz. Atlas a color de Anatomía Oral Histología y Embriología. Editorial Mosby.

Es importante la reacción que se va a presentar ante determinados medicamentos, como el Hidroxido de calcio, entre el tejido pulpar primario y el del permanente joven.

1.2 MORFOLOGÍA PULPAR

En términos generales las cámaras pulpares de los dientes temporales y permanentes jóvenes son de forma similar a la superficie externa que los dientes, sin embargo los cuernos pulpares mesiales que de los distales y por lo tanto están mas expuestos a caries o traumatismos.

Los dientes temporales reaccionan de forma diferente a traumatismos, invasiones bacterianas, irrigación y medicación. La elevada frecuencia de inflamación en los dientes temporales explicaría la mayor resorción tanto interna como externa por pulpotomías con hidróxido de calcio ya que se produce una inflamación intensa. A medida que cuando más intensa la inflamación será más intensa la resorción.

1.3 DIFERENCIAS ANATOMICAS DE DIENTES TEMPORALES Y PERMANENTES

Los dientes primarios son de menor tamaño en todas sus dimensiones; la cubierta de esmalte es más delgada, con menos estructura dentaria, protegiendo a la pulpa. Los cuernos pulpares primarios son más altos, especialmente los mesiales. Las raíces de los molares primarios son más largas y estrechas, y se encuentran en la región cervical y se ensanchan hacia el ápice, para dar cavidad a los folículos de los dientes permanentes.⁶

° J.I.Ingle. Endodoncia. 4° ed. Editorial Interamericana.

El piso de la cámara pulpar de los dientes primarios contienen una gran cantidad de conductos accesorios, lo cual hace que el piso sea permeable a determinados medicamentos como el formocresol, cuya molécula es capaz de atravesar al piso de la cámara pulpar, llegar a los tejidos periapicales y tiene distribución sistémica, estas son las razones por las cuales no se deben dejar entre cita y cita torundas de algodón impregnadas de formocresol, a diferencia de lo que sucede con los dientes permanentes.

Por las características del tejido pulpar primario la respuesta ante los medicamentos es diferente en el tejido pulpar permanente, ya que fisiológicamente el tejido pulpar primario actúa como un tejido pulpar envejecido puesto que ya cumplió con su función principal, que es la formativa, que se está preparando para el siguiente proceso, y es la participación en los procesos de resorción radicular, por lo tanto, es un tejido que cuenta con un gran número de fibras más que células por lo que no resisten las inflamaciones pulpares crónicas, ni irritaciones severas como las que provoca el hidróxido de calcio, por lo que en lugar de tender a regenerarse, se presenta metaplasia de los odontoblastos y por lo tanto resorciones dentinarias internas que no se detienen aún efectuando pulpectomías, al contrario el tejido pulpar permanente joven es un tejido altamente celular puesto que aún está cumpliendo su función formativa, por lo tanto, responde mejor a las agresiones que a las inflamaciones y a la utilización de medicamentos como hidróxido de calcio lo llevan a una función de cicatrización del tejido pulpar en lugar de la degeneración.



1.4 DENTINA

A la dentina la forman células denominadas odontoblastos, que se desarrollan a partir de una capa germinal embrionario llamada ectomesenquima. La dentina y la pulpa se forman a partir de la papila dental del germen dentario.

La dentina humana esta compuesta por alrededor de 75% de material inorgánico, 20% de material orgánico y un 5% de agua y de otros materiales. Color, es blanco amarillento grisáceo, tonalidad que transmite al esmalte.

Es de origen conjuntivo y presenta una gran sustancia fundamental en la que se precipitaron sales cálcicas, se constituye una matriz calcificada que se encuentra calcificada por los canaliculos o conductillos dentinarios y su contenido, las fibras de Tomes y fibras nerviosas.

Conductillos dentinarios: se orientan en forma perpendicular en sus dos superficies interna y externa, estos conductos son rectilíneos, sufren curvas en su trayecto. En el interior del conductillo dentinario se aloja la fibra de Tomes.

Fibra de Tomes: es la prolongación periférica del odontoblasto, que recorre al canaliculo en toda su extensión sin adherirse a sus paredes, sino simplemente adosada a el.

La dentina es un tejido extremadamente sensible, y por ello mencionaremos cuatro teorías, en reacciones dolorosas durante la preparación de una cavidad o acceso:

1. Fibras nerviosas en la dentina: es la presencia de terminaciones nerviosas en la dentina, provenientes del tejido pulpar.

2. Fibras de Tomes: se comportan como un órgano pseudosensorial, siendo responsable de la conducción sensorial.
3. Vía mixta: es la llegada de fibras nerviosas a la zona supraodontoblastica y hasta plena predentina, esos filetes terminan sobre el cuerpo del odontoblasto o en alguna parte del canaliculo dentinario y que el estímulo nervioso recorre el resto del trayecto, desde la periferia, a través de las fibras de Tomes.
4. La linfa: que otorga vitalidad al tejido dentario, y al producir calor por el fresado, se desgasta la linfa, y comprime la pulpa produciendo dolor.⁷

2. INFLAMACIÓN

Es la reacción de los tejidos vivos a todas las formas de la lesión, comprende respuestas vasculares, neurológicas, humorales y celulares en el sitio de la lesión:

2.1 INFLAMACIÓN AGUDA

Comprende la reacción inmediata y temprana ante un agente lesivo, su duración es corta de horas o días. La inflamación es una reacción de defensa del huésped. Hay dos principales componentes defensores; anticuerpos y leucocitos, que normalmente son transportados por el torrente sanguíneo.

⁷ Gayton C. Arthur. Tratado de Fisiología Médica. Editorial Interamericana.

Esta inflamación tiene tres componentes principales:

1. Alteraciones en el calibre vascular que incrementa el flujo sanguíneo.
2. Cambios estructurales en la microvasculatura que permiten que las proteínas plasmáticas y los leucocitos salgan de circulación.
3. Agregación de los leucocitos en el foco de la lesión.⁸

2.2 INFLAMACIÓN CRÓNICA

Se origina por estímulos lesivos y persistentes que provocan la infiltración de células mononucleares y proliferación de fibroblastos. Los leucocitos acumulados son principalmente macrófagos y linfocitos y en ocasiones células plasmáticas. El exudado leucocítico en la inflamación crónica se denomina mononuclear para distinguirlo del exudado polimorfo nuclear de la inflamación aguda. La inflamación crónica es debido a dos motivos; puede seguir a la inflamación aguda ó puede ser crónica casi desde su inicio.

La transición de la aguda a la crónica ocurre cuando la respuesta inflamatoria aguda no puede resolverse ya sea por persistencia del agente causal, o por alguna interferencia en el proceso normal de cicatrización.⁹

⁸ Tuttle. Fisiología. 16ª ed. Editorial Interamericana. México 1969.

⁹ GaytonC. Arthur. Tratado de Fisiología Médica. Editorial Interamericana.

3. PULPOTOMÍA

La extirpación de la pulpa cameral, es un procedimiento aceptado en el tratamiento de dientes temporales y permanentes jóvenes con la finalidad de preservar la vitalidad dental, y a su vez mantenerlo en la cavidad oral, hasta la exfoliación, o hasta que se termine de formar la raíz.

Este procedimiento radica en el hecho de que el tejido pulpar coronal situado por debajo de caries profunda junto a la exposición mecánica traumática, suele contener microorganismos así como presentar signos inflamatorios y degenerativos. Con esta técnica es posible extirpar el tejido alterado, permitiendo que la cicatrización ocurra en la zona de entrada del conducto radicular, en una región donde la pulpa dental es esencialmente normal no contaminada.¹⁰

Por lo que el tratamiento pulpar de elección para estas condiciones, es la pulpotomía. Ya que se basa en extirpar la pulpa vital coronal, que esta inflamada de forma reversible y la aplicación de diversos medicamentos sobre la porción radicular del tejido pulpar con el objetivo de mantener el diente en la cavidad oral.¹¹

¹⁰ Mc. Donald. Odontología Pediátrica y de Adolescente. 6ª ed. Editorial Mosby. Madrid 1995.

¹¹ Koch. Modder. Odontopediatría Enfoque Clínico. Editorial Panamericana. 1994.

3.1 INDICACIONES

- a) Cuando el diente no tiene pulpitis radicular
- b) Cuando el dolor, si existe, es provocado y de corta duración y no necesita de analgésicos para quitarse.
- c) Cuando el diente es restaurable
- d) Cuando el diente posee al menos dos terceras partes de la longitud de la raíz
- e) Cuando no hay evidencia de reabsorción interna
- f) Cuando no hay pérdida de hueso interradicular
- g) Cuando no existe absceso o fistula
- h) Cuando la hemorragia del sitio de amputación es rojo pálido y fácil de controlar
- i) Cuando no existe signo de reabsorción radicular externa patológica.
- j) Cuando la pulpa presenta una inflamación mínima y reversible.¹²

3.2 CONTRAINDICACIONES

- Dolor espontáneo que requiera de analgésicos para eliminarse
- Dolor nocturno que mantiene despierto, o que lo despierta
- Drenaje por el surco
- Resorción interna
- Calcificaciones pulpares
- Resorción radicular externa patológica
- Zonas periapicales radiolúcidas

¹² Castillo Mercado Ramón. Manual de Odontología Pediátrica. 1ª ed. Editorial Actualidades Médico Odontológicas. 1996.

- Áreas interradiculares radiolúcidas
- Hemorragia pulpar excesiva u olor fétido al extirpar la pulpa coronal
- Tumefacción
- Sensibilidad de la percusión
- Movilidad anormal
- Fístula.¹³

3.3 TÉCNICA SECUENCIAL

1. Radiografía inicial
2. Anestesia del diente a tratar.
3. Aislamiento absoluto.
4. Eliminación completa del tejido cariado, empezando por las paredes de la cavidad para después bajar lentamente en el techo de la cámara pulpar.
5. Una vez que se hace comunicación pulpar o se observa transparencia pulpar, se procede a levantar el techo de la cámara pulpar, para lo cual en los molares con una fresa de bola o pera pequeña hacemos cuatro perforaciones a comunicar debajo de cada una de las cúspides.
6. Con una fresa de fisura unimos los cuatro puntos sangrantes de esta manera hacemos la apertura completa de la cámara pulpar.

¹³ J.R. Pink Ham. Odontología Pediátrica. Editorial Interamericana. Mac Graw Hill.

7. Observación del contenido de la cámara pulpar cameral, esta debe ser de color rojo pálido y no mostrar signos de inflamación pulpar.
8. Extirpación de la cámara pulpar coronal con una cucharilla endodóntica afilada con un solo corte o con fresa de bola grande del número ocho con ayuda de una pieza de baja velocidad estéril, una vez hecha la amputación se cohibe la hemorragia.
9. Hacer presión con torundas de algodón estériles en la entrada de los conductos pulpares, durante aproximadamente cinco minutos.
10. Al retirar la torunda de algodón no debe haber sangrado, o si este existe debe ser mínimo, si por el contrario al retirar la torunda de algodón hay sangrado profuso, nos indica que los conductos radiculares están inflamados o bien no se ha extirpado correctamente el tejido pulpar cameral.
11. Aplicación del medicamento de elección sobre los muñones pulpares radiculares (proteínas morfogenéticas).
12. Restauración final, con corona de acero cromo.
13. Radiografía de control

3.4 OBSERVACIÓN Y PRONÓSTICO

Se harán revisiones a los tres y a los seis meses para comprobar la ausencia de signos clínicos y radiológicos que nos indiquen regeneración pulpar y en el caso de dientes permanentes jóvenes, y que el desarrollo radicular prosigue con normalidad, pudiéndose afirmar que se ha obtenido el éxito cuando se observa en la radiografía la formación de un "puente dentinario" que separa la cámara pulpar de cada conducto radicular. Es muy útil comparar la imagen radiológica del diente tratado con la del diente contralateral para valorar adecuadamente el desarrollo radicular.¹⁴

En el caso de dientes primarios debe de permanecer el diente en la cavidad oral hasta su exfoliación normal.

El fracaso de la técnica se produce cuando aparece dolor espontáneo y/o inflamación, observándose radiolucidez periapical con o sin fístula, o presencia de reabsorción dentinaria interna (complicación grave que exige tratamiento de conductos inmediato). En ocasiones puede producirse la obliteración de la cámara pulpar por una exagerada formación dentinoblástica (reparación atípica).

¹⁴ Mc.Donald. Odontología Pediátrica y de Adolescente. 6ª ed. Editorial Mosby. Madrid 1995.

4. PROTEÍNAS ÓSEAS MORFOGÉNÉTICAS (BMP)

Dentro de las técnicas de pulpotomías podemos mencionar que la actualidad cuenta con un material de tipo biológico denominado Proteína ósea morfogénética, las cuales según estudios inducen a la formación de dentina sobre los muñones pulpares radiculares.

En 1930 Huggins notó que el epitelio implantado en la región urinaria dentro de la pared abdominal provocó la formación de un tejido similar al hueso. (Estudio realizado en perros).

En 1970, Urist observó en estudios realizados que el polvo de dentina desmineralizada inducirá la formación de hueso ectópico. Encontró también que esa matriz orgánica contiene otras moléculas biológicamente activas, capaces de la autoinducción y se le llamó factor de proteínas óseas morfogénica.

En 1972, Anneroth, Bang, y posteriormente en 1984 Sealter y Bender, observaron que al introducir fragmentos de dentina ó dentina desmineralizada durante la exposición mecánica, induce la formación de tejido muscular mineralizado.

Tziafas y Kolowis en 1990, colocaron pequeñas cantidades de dentina autóloga desmineralizada implantadas experimentalmente en las pulpas dentales de perros y observaron que se forma una capa de matriz atubada, seguida de una capa tubular como predentina y asociada con células odontoblasticas.

Nakashima en 1994, en el seguimiento de un estudio, reportó que la combinación de BMP -2 y -4 humano induce la dentinogénesis reparativa en

perros. Y que cuando él las colocó en pulpas dentales parcialmente amputadas ; Observandose despues de un tiempo la formación de dentina reparativa.

Las células de la pulpa dental tienen un potencial de diferenciación sobre los odontoblastos durante la cicatrización pulpar, sin embargo el medio de control de la diferenciación sobre los odontoblastos y la formación de dentina en el ámbito molecular no es muy bien comprendida.¹⁵

La matriz de dentina desmineralizada es osteoinductiva y contiene proteínas óseas morfogenéticas activas. Que están implicadas en la diferenciación odontogénica embrionaria y por lo tanto pueden jugar un papel en la diferenciación celular de pulpas adultas a odontoblastos durante la terapia pulpar (pulpotomía). Radiográficamente se ha observado la mineralización ha ocurrido en las cavidades donde se ha colocado BMP-2 y BMP-4.

No se presentaron señales de inflamación en el área en donde fue implantada la matriz de dentina, aunque después de un tiempo se observo regeneración , del área la cual se consideró como una nueva forma de dentina . El porcentaje de área reparada con el uso de proteínas BMP-2 y BMP-4 enriquecido con un acarreador(a base de colágeno) fue del 80% comparada, con el 42% en el caso de portador solo.¹⁶

Se ha descubierto por medio de estos estudios que las BMP-2,-4 y 7 recombinante humana (también conocida como OP-1) induce la formación de dentina de reparación en modelos experimentales de exposiciones prolongadas de pulpa en forma directa en los dientes.

¹⁵ Nikashima, Mitogenic an Denti-indictive Efec of Crude Bone Morfogenetec Protein Form Bone an Primary Adult Pulp Cell Culture. Medica Oral Pathology. April 1992. Vol 73.

¹⁶ Nikashima et al. Regulatory Role of Transforming Growth Factor-B, Bone Morfogenetec protein-2,-4 on Gene Expression of Extracellular Matrix Protein and Diferentation of Dental Pulp Cell. 1994.

El modo en que actúan estos agentes, es que la nueva dentina de reparación reemplaza los agentes de estimulación aplicados directamente a la pulpa parcialmente amputada. De ahí, el nuevo tejido forma continuidad con una gran superficie, y no en el gasto del tejido vital de pulpa remanente. Esto sugiere un alcance terapéutico que permite la inducción de una cantidad predeterminada y controlada de dentina de reparación. En forma adicional, la OP-1 ha sido asociada con la formación de dentina de reparación después de la aplicación de una capa recientemente cortada pero intacta de dentina.¹⁷

Las proteínas osteogénicas (OP) ó hueso morfogenético (BMP) comprende un subgrupo de una familia importante de proteínas estructuralmente relacionadas en diversas actividades biológicas llamadas, la superfamilia TGF-, que implica cierta diferenciación, la morfogénesis y reparación del tejido.

Entre las BMP podemos encontrar las siguientes BMP 2- 3- 4- 5- 6.

Son proteínas que tiene propiedades inductivas de hueso:

- La proteína BMP-4. Está asociada con interacciones epiteliales del mesénquima durante el desarrollo de los dientes.
- Las proteínas BMP-2 y -4. Se asocian a la formación de dentina sobre la pulpa.

Las OP 1 y 2, son conocidas también como BMP 7 y 8.

Las BMPs son sintetizados y reservados como los precursores de los cuales un gran péptido está subsecuente adherido a la forma del carboxilo terminal maduro, llamado molécula.

¹⁷ Bruce.Rutherford et al. A New Biological Approach to Vital Pulp Therapy. Crit Rev Oral Biol Med. 1995.

También encontramos dentro de esta familia a la Decampentaplegica Vg
Relacionada (DVR):

DVR-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-14, y -15.

En la tabla 1, se encuentra la familia por DVR, BMP y OP.¹⁸

Mammalian	Xenopus	Drosophila
		DPP/DVR-5
DVR-2/BMP-2/BMO-2a	DVR-1/Vgl	
DVR-3/BMP-3/osteogén	DVR-2	
DVR-4/BMP-4/BMP-2b	DVR-3	
DVR-5/BMP-5/	DVR-5	
DVR-6/BMP-6/vgr-1	DVR-5	
DVR-7/BMP-7/OP-1	DVR-7	
		DVR-8-14
	OP-2	
VgR-2 más otros tres.		

¹⁸ Don M. Rantly. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. Pediatric Dentistry: November/December 1994-Volume 16, Number 6.

Proteínas morfogenéticas							
	BMP-2	BMP-3	BMP-4	BMP-5	BMP-6	BMP-7	
Nombres alrenativos	(BMP-2A)	Osteogen	(BMP-2B)		(VgR-1)	(OP-1)	
Implantación ectópica	Hueso	Hueso	Hueso	Hueso		Hueso	Presumed
Revestimiento pulpar	Hueso y dentina Tubular*	Hueso- dentina tubular				(OP-1) Osteodentina? (BMP-7) Hueso y dentina tubular*	
Sujetos para experimentación	Bovino rH	Bovino rH	rH	rH	rH	Bovino rH	rH

*Preparación cruda de hueso de bovino que contiene BMP-2, BMP-3, BMP-7 Y algunas otras.¹⁹

rH=Recombinante humano

¹⁹ Don M. Ranly. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. Pediatric Dentistry: November/December 1994-Volume 16, Number 6.

Rutherford en 1993-1994, reporto que la OP-1 humano no se ha identificado en la intervención de reproducción de dentina reparativa y que la proteína específicas responsables a sido la BMP-2.

Wang en 1990 realizo estudios en los cuales habia hecho algunas observaciones que no coincidian, con los resultados de Rutherford, diciendo que OP-1 (BMP-7) pueden ser osteoinducturas que BMP-2.

Después se realizaron estudios en OP-1 se obtuvieron los siguientes resultados:

1. OP-1, con una mezcla insoluble libera vehículo (CM) e induce a la dentinogénesis preparativa en primates.
2. La respuesta inicial, es una formación fibroblastica de la OP-1/CM, resultando en la mineralización de nuevo tejido muscular de la pulpa.
3. La cantidad de dentina reparativa formada fue proporcionada al total de masa de OP-1/CM, colocada sobre la pulpa recién amputada.
4. La formación de dentina reparativa OP-1/CM pareció ser independiente a la cantidad de pulpa coronal o pulpa radicular no removida.

La actividad óptima para las proteínas osteogénicas in vivo se alcanza combinándolas con una molecula acarreadora, la implantación de la combinación como una masa sólida. En la última decada, en la mayoría de las investigaciones de proteínas osteogénicas, la colágena derivada de hueso ha sido utilizada como una matriz de liberación. Mientras que la OP-1 tiene actividad osteogénica cuando se libera in vivo en solución y el uso del

acarreador basándose en colágeno alcanza sustancialmente su actividad. Los acarreadores a base de colágeno eran usados para liberar la BMP-2, 4, y la OP-1 en experimentos animales de formación de dentina de reparación. El acarreador de colágeno de OP-1 usado en experimentos con monos es un polvo que es disuelto con solución salina estéril y colocando en el sitio con un porta amalgama. Tiene una consistencia que asemeja a nieve mojada, que tiene ventajas, pero que probablemente no es adecuado para todas las situaciones clínicas.²⁰

²⁰ Bruce.Rutherford et al.A New Biological Approach to Vital Pulp Therapy.Crit RevOral Biol Med. 1995.

5. PROTEINAS MORFOGENETICAS BMP EN EL Tx. DE PULPOTOMÍAS

5.1 CASO 1

Materiales y Métodos:

Se preparó polvo de matriz de dentina desmineralizada inactivada con una partícula extraída de hidrocloreuro de Guanidina (200-500 micrones en medida) de incisivos permanentes de bovino. Se añadieron dos microgramos de BMP-2 recombinante humana (peso molecular de 32000), respectivamente, para acarrear 10 mg de polvo de matriz de dentina inactivada, 0.5 mg de sal de condroitina 6-sulfato de sodio, y 250 microgramos de colágeno. Las muestras fueron mezcladas y dejadas por una hora a temperatura ambiente, antes de que se disecara la proteína.

Procedimientos de encapsulamiento de pulpa:

Se usaron 12 dientes de 2 perros adultos jóvenes con peso de 15 kg. La anestesia quirúrgica se obtuvo por inyección intravenosa de 20mg de pentobarbital sódico por kg de peso corporal. Las pulpas del tercer incisivo y canino superiores y del canino inferior fueron encapsulados en las cavidades de cuatro dientes con pulpotomía. Las muestras disecadas fueron humedecidos con solución salina y transferidas a la pulpa amputada con un cepillo pequeño. Las cavidades sobre los materiales implantados fueron llenados con cemento Elite (cemento de fosfato de Zinck, G.C. corporación industrial dental, tokio, Japón) y clearfil.

Examen histológico

Todos los animales fueron sacrificados después de dos meses. Los dos tercios apicales de la raíz fueron removidos inmediatamente, y se fijaron los dientes en formalina al 10%. Entonces fueron desmineralizados en ácido fórmico al 10%, sumergidos en parafina, seccionados a 4-5 micrones, y teñidos con hematoxilina y eosina para microscopia de luz de rutina. Los dientes extraídos fueron evaluados por radiografía de contacto por aparato de rayos, durante 1 min. Antes de la desmineralización.

Análisis cuantitativos de dentina nuevamente formada

Se localizaron cantidades relativas de dentina nuevamente inducida en cada muestra. Capturando a través del microscopio de video imágenes de las preparaciones histológicas. 5 secciones por diente, a intervalos de 150 micrones. Se utilizó una videograbadora, para digitalizar las imágenes. Trazamos en la pantalla lo sobresaliente del tejido pulpar y la matriz de dentina implantada en la cavidad en la pulpa amputada y las áreas totales de estos fueron determinados por un programa.

RESULTADOS

Observaciones histológicas

Dos meses después del implante de BMP-2 con acarreador(a base de colágeno), hay un gradiente de respuesta celular desde el fondo de la cavidad en la pulpa amputada hasta el tope.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

La cavidad en la pulpa amputada fue dividida en 4 partes – designadas baja, media, alta y superior con un 1mm incrementa del sitio amputado. En la parte superior de la cavidad se observaron glóbulos rojos, monocitos, y células mesenquimales de forma de huso con delgados procesos conteniendo núcleos con forma de bastones elongados.



La parte alta de la cavidad estaba rellena con el tejido de pulpa y consistían de pérdida de tejido conectivo conteniendo capilares, células en forma de huso, y células poligonales u ovaes grandes cuyo núcleo estaba pálidoamente teñido. Algunas de las células grandes añadidas a la matriz de dentina implantada y algunas de las células con forma de huso formaron la matriz alrededor de ellas.



En la parte media de la cavidad estaban acomodados en forma regular células parecidas a odontoblastos, células polarizadas con largos procesos citoplásmicos habían formado una dentina tubular irregular.



Algunas células semejantes osteodentinocitos fuertemente teñidas con núcleo redondo u oval estaban sumergidos en lagunas irregularmente ovales, sintetizando osteodentina de matriz mineralizada extra celular. La parte inferior de la cavidad estaba mayormente rellena con dentina tubular irregular y unos cuantos odontoblastos, osteodentinocitos y los capilares permanecieron en la matriz mineralizada. Parte de la matriz de dentina implantada fue resorbida.



El diente encapsulado con BMP-4 más acarreador(a base de colágeno) mostraron resultados histológicos similares a los del BMP-2 más acarreador, como se describe arriba.



Cantidades considerables de osteodentina rodeaban a las células semejantes a la osteodentinocitos.



Ocasionalmente, la dentina tubular también se vió adyacente a la osteodentina.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la parte superior de la cavidad, las células con forma de huso depositaron matriz extracelular alrededor de las células por sí mismas.



En los dientes encapsulados solo con el acarreador, todas las partes de la cavidad fueron rellenas con tejido tisular.



Se presenta la formación de dentina tubular. La formación de dentina tubular fue de manera escasa comparada con la BMP-2 y BMP-4 enriquecida con el acarreador, aunque células parecidas a los odontoblastos se encontraron alineados en la matriz implantada sobre las partes inferior y media de la cavidad.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Rara vez se observó la formación de osteodentina. En todos los dientes implantados, no hubo signo de inflamación o mineralización distrófica en el tejido de pulpa remanente.



Algo de la nueva dentina inducida apareció en zonas discontinuas.

Radiografía

La observación radiográfica de contacto mostró que la mineralización óptima había ocurrido en las cavidades de dientes implantados con BMP-2 y BMP-4. Cuando se implantó solo el acarreador, se encontró un área radio lúcida(zona oscura) significativamente más grande comparada con aquellos en los que se usó el encapsulamiento con BMP-2 y BMP-4



Análisis Cuantitativo

Ya que no hubo signo de inflamación, el área excluyendo el tejido de pulpa y la matriz de dentina implantada fue considerada como dentina nuevamente formada. Por lo tanto el tejido de pulpa y la matriz de dentina implantada fueron trazados en área definida desde la parte inferior y media de la cavidad en la pulpa amputada, y las áreas relacionadas de la dentina nuevamente formada fueron calculadas como sigue: $[1 - (\text{área total de tejido de pulpa y matriz implantada}) / \text{área definida}] \times 100$. El área relativa de BMP-2 y BMP-4 enriquecida con acarreador fue de un 80 a 82% comparado con el 42% del acarreador solo.

Conclusiones

Esta investigación ha demostrado que tanto la BMP-2 como la BMP-4 recombinante humana, más acarreador de matriz de dentina indujeron la formación de una gran cantidad de dentina. La dentina nuevamente inducida fue en su mayoría dentina tubular en la parte inferior de la cavidad y osteodentina en la parte de arriba. Hubo una respuesta celular graduada desde el fondo de la cavidad en la pulpa amputada hasta el tope.

"La dentina reparadora se define como una zona localizada de dentina que es depositada en pulpas no expuestas en respuesta a algunos estímulos externos. Dependiendo de la dentina de reparación se ha considerado que sea una consecuencia ya sea de factores fisiológicos que ocurren en forma natural, tal como desgaste oclusivo, erosión, abrasión, y edad en efectos patológicos, tales como caries, enfermedad peri-odontal, infecciones orofaciales y trauma por instrumentación durante la preparación del diente. "el puente de dentina" se ha usado en la literatura para describir que la deposición de una nueva matriz tanto en forma directamente adyacente

como subyacente, a alguna clase de material, tal como el agente de encapsulamiento de pulpa, han mostrado sin embargo, que la curación de la pulpa expuesta depende no del efecto de un tipo particular de medicamento sino preferentemente de la capacidad de los agentes de encapsulación para prevenir fuga bacteriana.

La capacidad de curación inherente del tejido de pulpa ha sido sugerido por varios autores. En este artículo, en particular la dentina estimulada por BMP-2 y BMP-4 como formación de "dentina inducida".

La BMP-2 y la -4 no afectan la proliferación de las células mesenquimatosas de la pulpa in vitro, pero estimulan la diferenciación de células de la pulpa en odontoblastos in vitro.

La BMP-2 con acarreador de colágeno indujeron dentina de un modo dosis dependiente. Estos descubrimientos sugieren que las BMP tienen efecto estimulador en la formación de dentina. Es claro que la cavidad estaba libre de infección bacteriana debido a instrumentación aséptica, encapsulamiento y doble sello con cemento de fosfato de zinc y clearfil con agua fuerte de esmalte y vínculos que cubrían la cara bucal completa de los dientes. Por lo tanto, la secuencia de curación de los dientes con implante de BMP-2 con acarreador y el BMP-4 con acarreador se describe como sigue:

- 1.- las células semejantes a fibroblastos migran del tejido de la pulpa subyacente y proliferan, y el tejido de pulpa se regenera en la pulpa amputada bajo el ambiente adecuado sin infección bacteriana.
- 2.- la matriz de dentina inactivada provee un sitio local para células de la pulpa que hacen factible la unión, un ambiente óptimo para la diferenciación.
- 3.- la BMP-2 y la BMP-4 estimulan la diferenciación de las células unidas en odontoblastos.

El presente estudio demostró la utilidad de los agentes de encapsulamiento de pulpa bio-activos BMP-2 y BMP-4. Los factores morfogenéticos pueden inducir una gran cantidad de dentina en pulpa amputada sin afectar la pulpa remanente. Un mayor refinamiento del sistema de liberación puede resultar en inducción predecible óptima de dentina.²¹

5.2 CASO 2

Material y Métodos:

El germen dentario (a partir del periodo de crecimiento aposicional hasta antes de completar la calcificación de la corona), dientes no erupcionados (después de completar la calcificación de la corona) y dientes erupcionados como los definen Schour y Massler (1940, fueron obtenidos de 20 mandíbulas de terneras de un año). Los dientes de cada etapa fueron disecados y separados en los tejidos duros y tejidos suaves . Después de disecados los especímenes fueron lavados en agua fría conteniendo 10 micromol/L de N etil maleimide (NEM), los tejidos duros fueron congelados en nitrógeno líquido, sedimentados en un Wiley mil a un tamaño de 1.0mm³, disecadas en cloroformo-metanol, y después lavados exhaustivamente en agua fría deionizada .

Los tejidos duros fueron desmineralizados en 0.6 mol/l de HCL a 4°C por 48 hr. Y lavados en forma extensa en una solución de NaN₃, 1mmol/l. Aunque

²¹ Nikashima. Induction of Dentine Formation on Canine Amputated Pulp by Recombinan Human Bone Morphgenetic Protein(BMP)-2 and -4. September.1994.

Nikashima. Induction of Dentine in Amputated Pulp of Doqs by Recombinan Human Bone bMorphogenetic Protein-2 and -4.

no mineralizados, los tejidos suaves sin embargo fueron acidificados en 0.6mol/L de HCL bajo las mismas condiciones. Todas las muestras fueron tratadas por el procedimiento estandar de Uris (1973) para remover la sal neutral a las proteínas no colágenas solubles en acido edético y simultáneamente, la conversión del colágeno a gelatina de matriz de dentina insoluble en agua fría. Las proteínas de la gelatina de matriz de dentina insoluble fueron extraídas en 0.5mol/l CaCl₂ en 6 mol/l de urea conteniendo 10mmol/l y 1mmol/l de HCL de benzamidina para proteger la BMP contra las enzimas degradantes endógenas a 28°C por 24 hrs.

El CaCl₂/6mol/l partículas insolubles en urea fueron separadas siendo coladas a través de una capa de queso, y la solución filtrada a través de papel No1 de Whatman. Las sustancias solubles fueron dializadas con agua deionizada (40% del volumen de la solución de urea de CaCl₂) a 4°C por tres días hasta que se completo la formación de un precipitado. El agua se cambió dos veces al día. El precipitado se separó por centrifugación a 4000 g por 30 min. A 35°C, se lavó en agua fría deionizada, liofilizada y pesada para conseguir electroforesis , bio-ensayo y fraccionamiento cromatográfico. La fracción no unida fue colectada, la fracción unida fue arrojada por 1 mol/L de buffer de fosfato de sodio (pH 6.8) en 6 mol/L de urea y 1mol/NaCl.

Bio-ensayo

La actividad osteo-inductiva fue examinada por implante de fracciones de proteína aislada en la bolsa del músculo de muslo de ratones. Las muestras pesadas se encerraron en cápsulas de gelatina, esterilizadas con oxido de etileno por 12 hr., y degasificado en aspiradora parcial por 24 hrs. Las extremidades posteriores fueron examinadas por medio de métodos micro-radiográficos e histológicos tres semanas después del implante.

implantes de albúmina sérica de bovino fueron implantados en las extremidades contra-laterales para controles.

Análisis cuantitativo de bio-ensayo

Como un sustituto de mediciones de peso de ceniza en tiempo de consumo, Kawai y Urist diseñaron y aplicaron un sistema de imagen computarizada cuantitativa que es rápida y con agudeza de reproducción. La imagen de nueva formación ósea en el film de rayos x fue reproducido por cámara de video y transferido a un área de memoria de acceso al azar (RAM) vía sistema Macvisión. La imagen en el área (RAM) de video fue escaneada por el programa básico como un medio de contar las áreas repletas de puntos de una nueva formación ósea, y luego convertidas a un valor representando el mm² refiriéndose al estándar. El área absoluta fue dividida por el peso liofilizado de proteínas no colagenas asociada con agua insoluble (D-BMP/NCP) implantada.

Resultados

Esta tabla resume información sobre el peso seco de los tejidos dentales blandos y duros disecados, el porcentaje de peso seco de BMP/NCP preparado por precipitación diferencial, incidencia de porcentaje de formación ósea inducida en implantes de varios tejidos dentales en el ensayo del muslo de ratón, y área de nuevo hueso formado por mg de BMP/NCP. Los implantes de BMP/NCP de tejidos dentarios calcificados previamente se asociaron con una alta incidencia, de 71 a 83%, de formación ósea inducida. EL BMP/NCP preparado de mandíbulas completas indujo formación de nuevo hueso en 56%. Las proteínas de pulpa de dientes erupcionados fallaron en iniciar la formación ósea.

El tejido suave que rodea los dientes y la pulpa de dientes no erupcionados indujeron depósitos diminutos de hueso en un porcentaje relativamente pequeño de implantes de 5 a 18%. Los depósitos con el área más grande de formación de nuevo hueso, calculado por medio del análisis de imagen de computadora, fueron inducidos por implantes de BMP/NCP preparado a partir de matriz combinada de tejidos dentales duros o dientes no erupcionados. Los dientes erupcionados producen una incidencia mas baja (71%) que los no erupcionados.

Los tejidos no mineralizados mostraron proteínas de bajo peso molecular agudamente definidas y triples características, que se sabe que incluyen la historia. Una extensa banda densamente teñida ha sido identificada como proteínas ricas en ácido gamacarboxyglutamico de la matriz que parece prominentemente en tejidos suaves dentales con baja o nula actividad osteo-inductiva. La BMP/NCP con alta actividad osteo-inductiva estaba densamente teñida y muy estrechamente empacada para asegurar las características que distinguen la BMP de otras NCP de bajo peso molecular.

Un patrón PAGE (tabletas de gel de policlidamida) SDS (sulfato de sodio) de extractos de dientes erupcionados mostró una triada de componentes de bajo peso molecular.

Los patrones de PAGE SDS de dientes no erupcionados presenta la mayor actividad osteo-inductiva también consistieron de BMP/NCP con componentes MW (bajo peso molecular).

Los implantes control de albúmina produjeron formación de tejido fibroso solamente, y sin formación ósea.²²

²² Kawai and Urist. Bovine Tooth-derived Bone Morphogenetic Protein. June 1989.

5.3 CASO 3

Las pulpas dentales del humano fueron mecánicamente removidas de dientes recientemente extraídos (la mayoría de los odontoblastos permanecen unidos a los dientes) y procesados para cultivos de células o RNA total. Los cultivos de fibroblastos de la pulpa fueron propagados de extracción de pulpas frescas por medio de cultivo celular en suero. El RNA total fue preparado congelando primero y pulverizando los tejidos de la pulpa. El polvo de la pulpa pulverizada fue mecánicamente homogeneizada. El RNA fue preparado de cultivos de células de la pulpa por una extracción estandar de isothrocyanato deguanadina y centrifugación de densidad de gradiente de cloruro de caestum.

Los dos siguientes impresiones para BMP-2 y -4 fueron como se publicó(1994), y las dos impresiones de reversa fueron designados usando una estrategia de diseño asistida por computadora y seleccionada de 4 exones diferentes de los siguientes 2. Las impresiones de OP-1, también eran de diferentes exones. También se generaron usando una estrategia de diseño asistida por computadora.

RT-PCR (reacción en cadena inversa en transcripción polimerasa) se realizó usando un equipo de PCR de RNA Gene amp y siguiendo las instrucciones del fabricante. El RNA total (menos de 1 microgramo en un volumen de 3 microlitros) se calentó a 65°C por 5 min y se enfrió inmediatamente en hielo para remover la estructura secundaria de RNA. La transcripción reversa con hexámeros al azar se realizó como sigue: 42°Cm 30 min, 99C, 5 min, 5C 5min.

El RNA tratado por DNAsa 1 se utilizó para comparar diferentes condiciones. Una porción de la mezcla de PCR fue resuelta por agarosa al 1%, electroforésis de gel y las bandas del tamaño correcto cortadas del gel. El DNA fue purificado, subclonado en el vector PCR y transformados en células competentes de un tiro provenientes del mismo kit. El plásmido fue aislado por la mini prep.

Para la hibridización in situ, se utilizó el vector alineado (PCR) conteniendo el fragmento 698 bp BMPR-IB PCR como formato para la síntesis de [S] pruebas sensibles, de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

El campo de las pruebas fue cuantificado por analizador de sentilación líquida. Los fibroblastos de la pulpa humana fueron sembrados en cortes en cámaras de LabTek. A células de 1.5×10^4 a la 3 por cámara y cultivados como se describe por 5-7 días. Los cortes fueron fijados en MB Histochoice por 20 min., aumetado brevemente en agua libre de RNAsa y colocada en 0.1M de trietanolamina (TEA), PH 8.0, lavando dos veces en 2x citrato salino estándar, deshidratadas en concentraciones ascendentes de etanol fresco y almacenadas en aspiradora por al menos 1 h antes de aplicar la solución de hibridización. Las pruebas se suspendieron (10 a la 2 cuentas min por micro lit) en mezcla de hibridización, solución de Denhardt 1x sulfato de dextrán 10 a la 9 en la noche a 50C. Las rebanadas fueron sumergidas en emulsión fotográfica, expuestas por 3-4 semanas a 4C, desarrolladas y teñidas con eosina.

Los experimentos demostraron que el RNAm la BMP-2, -4, OP-1, Actr-1, BMPR-1^a, -1B y BMPR-II se expresaron en los tejidos pulpares dentales del humano. Los mismos resultados se obtuvieron en los fibroblastos de pulpa de bajo pasaje cultivados bajo condiciones que no dan lugar a la deposición mineral. La expresión de cada gen fue detectada en RNA preparado de tres

pulpas dentales completas y cuatro poblaciones de fibroblastos pulpaes de diferentes individuos. Las secuencias de aminoácidos de BMP-2 y -4 fueron 86% idénticas, mientras que las BMP-5, -6 y -7 estuvieron en un rango de 71 a 80%. Por lo tanto para descartar la posibilidad de mal identificar los genes debido a miscelánea de impresión a las secuencias de DNAc altamente homólogas, nosotros determinamos que la secuencia de nucleótidos para cada clon empató exactamente las secuencias publicadas.

La expresión de BMPR-IB por células pulpaes también se detectó por hibridación in situ. Es importante descartar la contaminación de DNA genómico cuando se usa RT PCR para analizar expresión genética específica en preparaciones de RNA total. Esto se hace mejor seleccionando primero al menos un intrón. Para las impresiones BMP-2, -4 y OP-1, utilizados en estos experimentos, al menos un intrón se posiciona entre las impresiones pares. El tamaño de los fragmentos de DNA de BMP-2, -4 y OP-1 clonados es exactamente el predicho de la posición de las impresiones en los mapas de DNAc de los genes respectivos. Esto descarta la contaminación del DNA genómico como el formato de amplificación.

No estaban disponibles los mapas genómicos para ActR.1, BMPR-1^a, -1b y II. Para control para contaminación por DNA genómico las preparaciones de RNA fueron incubadas con Dnasa 1 antes de amplificación con RT PCR. Comparando estos resultados con PCR directo de RNA sin transcripción reversa encontramos que el tratamiento con DNasa 1 elimino cantidades detrasas de amplificación no especifica de DNA sin disminuir la amplificación especifica de ActR.1, BMPR-1^a, -1b y II de las preparaciones de RNA. Por lo tanto no es probable que hayamos amplificado los fragmentos genéticos de ActR.1, BMPR-1^a, -1b y II del DNA genómico contaminando las preparaciones de RNA utilizadas en el RT PCR.

BMP posiblemente puede inducir formación de tejido disparando a las células de responsables para iniciar una cascada no característica de eventos bioquímicos y celulares. Las células responsables pueden ser residentes al tejido o a la sangre. Las células cultivadas a partir de pulpa dental humana expresan el BMP-2, -4 y OP-1. El RNAm de ActR-1, BMPR-1^a, -1B y -II y son responsables del BMP-2, -4 y OP-1, tanto in vitro como in vivo, sugiriendo que los BMPs inducen las células pulpares residentes a iniciar la formación tisular in vivo. Las uniones de OP-1 a ActR-1, BMPR-1^a y 1B y BMP-4 a BMPR-1^a y 1B en la presencia o ausencia de los receptores tipo II sugiriendo que el Act R-1, BMPR-1^a, -1B son receptores tipo I para OP-1 y BMPR-1^a y -1B para BMP-4. La información que determina cuales interacciones del receptor BMP traducen señales bajo condiciones fisiológicas aun no esta disponible.²³

²³ Keni Gu-Richard H Smoke, Expression of Genes for Bone Morphogenetic Proteins and Receptors In Human Dental Pulp.

CONCLUSIONES

Con los grandes avances que se han dado respecto al seguimiento de la utilización de las Proteínas Óseas Morfogenéticas(BMP), coincidimos que es una alternativa muy prometedora para la realización de las pulpotomías, dado que es un elemento que esta presente en el propio organismo.

Se demuestra que las Proteínas Óseas Morfogenéticas, en especial la BMP-2, -4 y 7 recombinante humana(también conocida como OP-1) inducen la formación de dentina de reparación en modelos experimentales(animales).

El modo en que estas proteínas actúan parece único, ya que se inicia la regeneración, siendo un beneficio para la pulpa, asociado a la formación de dentina de reparación.

Estas proteínas, son una buena alternativa que nos permite mantener al diente en la cavidad oral hasta su exfoliación, además que al formarse el puente dentinario gracias a las BMP nos ayuda a separar la cámara pulpar del conducto, el cual queda vital, procediendo a restaurar sin tener irritación pulpar.

BIBLIOGRAFIA

1. Bk.B.Berkovitz. Atlas a color de Anatomía Oral Histología y Embriología. Editorial Mosby.
2. Castillo Mercado Ramón. Manual de Odontología Pediátrica. 1ª ed. Editorial Actualidades Médico Odontológicas.1996.
3. Gayton C. Arthur.Tratado de Fisiología Médica. Editorial Interamericana.
4. Ham.Dr.Arthur W. Tratado de histología.7ª ed.Editorial Interamericana.
5. J.I.Ingle. Endodoncia. 4ª ed. Editorial Interamericana.
6. J.R.Pink Ham. Odontología Pediatría. Editorial Interamericana. Mac Graw Hill.
7. Kawai and Urist.Bovine Tooth-derived Bone Morphogenetic Protein.June 1989.
8. Keni Gu-Richard H Smoke.Expression of Genes for Bone Morphogenetic Proteins and Receptors In Human Dental Pulp.
9. Koch.Modder. Odontopediatría Enfoque Clínico. Editorial Panamericana. 1994.
10. Mc.Donald. Odontología Pediátrica y de Adolescente. 6ª ed. Editorial Mosby. Madrid 1995.

11. Nikashima. Mitogenic an Denti-indictive Efec of Crude Bone Morfogentic Protein Form Bone an Primary Adult Pulp Cell Culture. Medica Oral Pathology. April 1992. Vol 73.
12. Nikashima et al. Regulatory Role of Transforming Growth Factor-B, Bone Morfogentic protein-2,-4 on Gene Expression of Extracellular. Matrix Protein and Diferentation of Dental Pulp Cell. 1994.
13. Nikashima. Induction of Dentine Formation on Canine Amputated Pulp by Recombinan Human Bone Morphgenetic Protein(BMP)-2 and – 4. September. 1994.
14. Nikashima. Induction of Dentine in Amputated Pulp of Dogs by Recombinan Human Bone Morphogenetic Protein-2 and –4.
15. Ranly. Dom M. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. Pediatric Dentistry: November/December 1994-Volume 16, Number 6.
16. Rutherford. Bruce. et al. A New Biological Approach to Vital Pulp Therapy. Crit Rev Oral Biol Med. 1995.
17. Ten Cate. Histología Oral. 2ª ed. Editorial Panamericana Argentina. 1986.
18. Tuttle. Fisiología. 16ª ed. Editorial Interamericana. México 1969.