



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**EL USO DE MOLÉCULAS DE SEÑALIZACIÓN  
BIOLÓGICA EN LA REGENERACIÓN PERIODONTAL.**

**T E S I N A**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

**P R E S E N T A:**

**VERÓNICA LETICIA VÁZQUEZ VELÁZQUEZ**

**TUTORA: Mtra. ANA PATRICIA VARGAS CASILLAS**

**MÉXICO, D.F.**

**2010**



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.

*A los autores de mi vida.*

*A mi padre:*

*¿Recuerdas mi primer día de clases? ¡Cómo juntos,  
de la mano, contábamos las huellas pintadas en el suelo!  
Esas mismas huellas que comencé a caminar contigo son las  
que me han traído hasta aquí.*

*Gracias por todos tu esfuerzos para brindarme la mejor  
educación, por siempre cumplir tus promesas, por estar conmigo, apoyarme,  
creerme, enseñarme y confiar en mí.*

*Eres el mejor padre, te amo y estoy muy orgullosa  
de ser tu hija, te dedico este gran logro porque no  
sólo es mío... ¡es nuestro!*

*A mi madre:*

*¿Jugamos? Esta vez yo era tu mamá y por fin podía  
regresarte un poquito de todo lo bello que me has dado.*

*Gracias por estar siempre al pendiente de mi educación,  
por impulsarme a querer y dar más, por esas levantadas madrugadoras para  
prepararme para ir a la escuela, por confiar en mi como  
mujer y como profesionalista, por anteponer tu amor antes que  
tus necesidades y enseñarme todo lo que soy.*

*Este gran logro en mi vida no sería nada si tú  
no estuvieras aquí. Te amo*

*A mi hermano Irving:*

*Mi compañero de juegos, mi compañero de aprendizajes y mi compañero de vida. Te dedico este gran logro por siempre creer en mí. Gracias por todos los bellos momentos que hemos vivido juntos y sobre todo, por enseñarme a que “todo al final sale bien”. Te quiero.*

*A mi hermano Eddie:*

*Mi niño gordito, gracias por tu admiración y tenerme en tan alta estima, estoy segura que nunca te defraudaré. Eres una gran persona y excelente hermano y soy muy afortunada por tenerte. Te adoro.*

*A José Luis:*

*Mi vida, este sueño no estaría completo sin ti. Gracias por compartir conmigo esta carrera y caminar de mi mano hacia un futuro prometedor, por darme ánimos en mis peores momentos y celebrar conmigo tantos éxitos. Por confiar en mí y darme estos seis maravillosos años de tu vida durante los cuales me has brindado todo tu amor.  
Te amo.*

*A la Dra. Patricia Vargas:*

*Gracias por ayudarme a realizar este trabajo, por su constancia y dedicación.*

*A la Dra. Amalia Cruz:*

*Gracias por su apoyo en este último peldaño de la licenciatura.*

*A mi Universidad:*

*Por todo lo que me impartió y seguirá impartiendo a lo largo de mi vida profesional.*

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>8</b>
<b>2. PROPÓSITO</b>	<b>10</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
<b>4. REGENERACIÓN PERIODONTAL</b>	<b>12</b>
4.1 Antecedentes	12
4.2 Re-inserción y nueva inserción	21
<b>5. CÉLULAS QUE PARTICIPAN EN LA REGENERACIÓN PERIODONTAL</b>	<b>22</b>
5.1 Receptores de superficie	22
5.2 Células del periodonto	28
5.2.1 Fibroblasto	29
5.2.2 Osteoblasto	30
5.2.3 Osteocito	31
5.2.4 Osteoclasto	33
5.2.5 Cementoblasto	34

5.2.6	Células de la vaina epitelial radicular de Hertwig	35
5.2.7	Cementocito	35
5.2.8	Restos Epiteliales de Malassez	36
5.2.9	Mastocito	37
5.2.10	Macrófago	37
5.2.11	Células Madre	37
<b>6.</b>	<b>MOLÉCULAS DE SEÑALIZACIÓN BIOLÓGICA</b>	<b>40</b>
6.1	Generalidades de las Moléculas de Señalización Biológica	40
6.2	Tipos de Moléculas de Señalización Biológica	40
6.2.1	Factores de Crecimiento	40
6.2.2	Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas	42
6.2.3	Factor de Crecimiento Insulínico	43

6.2.4	Factor de Crecimiento de Transfomación- $\beta$	44
	- Proteínas Oseomorfogénicas/Proteínas Osteógenas	46
	*Proteína Oseomorfogénica-2	51
	* Proteína Oseomorfogénica-7	52
6.2.5	Factor de Crecimiento Fibroblástico	52
6.3	Proteínas Derivadas de la Matriz del Esmalte	56
<b>7.</b>	<b>APLICACIÓN DE LAS MOLÉCULAS DE SEÑALIZACIÓN BIOLÓGICA EN EL TRATAMIENTO PERIODONTAL</b>	<b>60</b>
7.1	Estudios periodontales realizados con Moléculas de Señalización Biológica	60
7.1.1	Estudios <i>in vitro</i>	60
7.1.2	Estudios <i>in vivo</i>	62

7.2	Matrices para la colocación de Moléculas de Señalización Biológica	68
7.3	Aplicaciones de las Moléculas de Señalización Biológica en la Ingeniería Tisular	75
7.4	Las Moléculas de Señalización Biológica en la Terapia Genética	80
<b>8.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>87</b>
<b>9.</b>	<b>FUENTES DE INFORMACIÓN</b>	<b>88</b>





## 1. INTRODUCCIÓN

La Odontología es una ciencia multidisciplinaria que envuelve a la biología, medicina y actualmente a la ingeniería biomédica. De esta forma se ha optimizado la salud y la calidad de vida para millones de individuos alrededor del mundo reformando la manera de rehabilitar y mejorar la función de los tejidos de la cavidad bucal.

Millones de procedimientos dentales, orales y cráneo-faciales que van desde restauraciones dentales a reconstrucciones mayores de los tejidos duros y blandos se realizan anualmente. Sin embargo, en la actualidad, los reemplazamientos de estos tejidos poseen grandes limitaciones en comparación con los tejidos originales, no sólo en cuanto a estética, sino también en cuanto a función.

A lo largo de las décadas se han realizado diversos procedimientos para lograr la regeneración periodontal; se han utilizado injertos óseos, colocación de membranas y la utilización de las nuevas técnicas incluidas en la ingeniería tisular periodontal, tales como el uso de moléculas de señalización biológica y andamios. Sin embargo, el periodonto es un complejo que consta de diversos tejidos, y es debido a esto que la regeneración total del complejo periodontal es una meta que actualmente ha sido imposible de alcanzar en su totalidad.

El campo de la ingeniería tisular, está demostrando éxito en la aplicación a humanos. A lo largo de éste trabajo monográfico, se hará referencia a las moléculas de señalización biológica, así como sus funciones, la forma en cómo actúan sobre las células que forman el periodonto y los resultados logrados con su uso en procedimientos enfocados a la regeneración periodontal. Así mismo se expondrán las nuevas técnicas utilizadas para modificar a estas moléculas y aumentar



---

su tiempo de vida, optimizando los resultados para regenerar en su mayor parte a los tejidos que conforman al periodonto.



---

## 2. PROPÓSITO.

El hombre siempre ha tenido en mente la curación de enfermedades como parte de su naturaleza. Día a día los medios de comunicación publican grandes avances a pasos agigantados sobre biotecnología e ingeniería genética destinados a perpetuar la salud y/o mejorar la calidad de vida humana como objetivo principal.

El Cirujano Dentista, como parte del personal de salud, debe capacitarse para llevar a cabo las nuevas opciones terapéuticas para preservar y/o regenerar los tejidos duros y blandos, ya que se dispone de gran cantidad de elementos para elevar la atención odontológica integral a un nivel superior de carácter científico. Es por eso que el descubrimiento de las células madre, y la identificación de los factores que inducen a la diferenciación, proliferación, y función de éstas células son indispensables para la regeneración de tejidos periodontales, así como el conocimiento del funcionamiento y utilización clínica de estas moléculas.



---

### 3. OBJETIVOS.

#### Objetivo general.

Presentar la utilización que se les proporciona a las moléculas de señalización biológica en la regeneración periodontal.

#### Objetivos específicos.

Exponer el mecanismo de acción de las moléculas de señalización biológica en la regeneración periodontal.

Presentar los resultados de las diversas técnicas utilizadas para la aplicación de las moléculas de señalización biológica en la regeneración periodontal.

Indicar los nuevos vehículos que se están llevando a cabo para prolongar el tiempo de vida de las moléculas de señalización biológica en la regeneración periodontal.



## 4. REGENERACIÓN PERIODONTAL.

### 4.1 Antecedentes.

La enfermedad periodontal es la inflamación de los tejidos de soporte del diente como reacción a la agresión bacteriana. Es una infección que causa destrucción progresiva del Hueso Alveolar (HA) y Ligamento Periodontal (LP). Se caracteriza por presentar sangrado gingival, pérdida de inserción de las fibras del LP al Cemento Radicular (CR) con profundidad de sondeo mayor a 3 mm y evidencia radiográfica de pérdida ósea.<sup>1</sup>

El tratamiento de la enfermedad periodontal ha evolucionado a través de los siglos, desde los babilonios, sumerios y asirios alrededor del año 3000 A.C. quienes llevaban a cabo tratamientos periodontales mediante masaje gingival combinado con diversas hierbas medicinales, pasando por la edad media cuando los árabes comenzaron a escribir sobre procedimientos de raspado dental, llegando al renacimiento cuando Eustaquio y Paré mencionan el tratamiento y la causa de la enfermedad periodontal. En 1912, el Dr. Neumann publica un libro en el cual habla sobre las técnicas de cirugía periodontal con colgajos, y la modificación del contorno óseo. Estos tratamientos, principalmente resectivos, propiciaban la reparación del tejido. Después de la Segunda Guerra Mundial, a partir de la década de los 50, Estados Unidos y las naciones escandinavas comenzaron a realizar investigaciones periodontales clínicas y básicas; así mismo se crearon muchos modelos animales de la enfermedad periodontal investigando el impacto de los factores locales y sistémicos.<sup>2</sup>

Fue hasta 1976 cuando el Dr. Melcher escribió por primera vez sobre el término “compartimentalización”, el cual refiere que los tejidos del



periodonto se dividen en cuatro compartimientos los cuales son la encía, el ligamento periodontal, el cemento y el hueso alveolar. Así mismo realizó una hipótesis en la que afirmó que para obtener una regeneración del periodonto es necesario evitar la migración apical de las células de tejido gingival a la zona de la lesión, esto se debe a que las células que pueblan la superficie radicular durante el proceso de cicatrización, definen el tipo de cicatrización tisular, es decir, de esto dependerá que se presente una reparación por medio de la formación de un epitelio de unión largo o una regeneración periodontal por medio de la población de la lesión por células del LP y del HA.<sup>3</sup> A partir de éste momento es conocido el término de regeneración. Posteriormente ésta hipótesis fue probada por los Doctores Nyman, Lindhe, Karring y Gottlow, y de ésta forma nació la técnica de Regeneración Tisular Guiada (RTG) la cual es acuñada a éste último.<sup>4</sup>

La regeneración se define como la reconstrucción o reproducción de un parte perdida o lesionada. Así mismo se puede definir la Regeneración Periodontal (RP) como la restitución de los tejidos de soporte del diente, los cuales incluyen el HA, el LP y el CR previamente dañado.<sup>1</sup>

Han surgido diversas alternativas para lograr la RP; algunas técnicas a mencionar son: injertos óseos<sup>5</sup>, la RTG<sup>6</sup> y la Ingeniería Tisular (IT), los cuales comprenden el uso de moléculas de señalización biológica y transferencia genética<sup>7</sup>. Todas estas alternativas tienen un mismo propósito: la regeneración total de un periodonto sano.<sup>3</sup> La **tabla 1** muestra las alternativas de tratamiento que se han llevado a cabo para la RP, así como la ganancia ósea y de inserción, evaluación histológica y los resultados obtenidos de la aplicación de éstos.<sup>8</sup>

La regeneración es un complejo que requiere, a nivel celular, de muchas interacciones, dependiendo de cuatro componentes básicos: células, suplemento sanguíneo, moléculas de señalización y andamios



que se dirijan hacia el tejido lesionado. Las células se diferencian y forman tejido nuevo. Las moléculas estimulan la diferenciación celular y la producción de una nueva matriz. Las señales angiogénicas producen una nueva red vascular que sirve como base nutricional y homeostasis para el tejido nuevo. Y por último el andamio, que es la formación tridimensional que facilita el proceso de regeneración.

**Tabla 1.** Tipos de tratamientos en la Regeneración Periodontal.<sup>8</sup>

Material de injerto	Ganancia en el nivel de inserción en mm	Llenado óseo en % mm	Evaluación histológica	Resultados
<b>Autólogo</b>				
Extraoral (cresta iliaca) Schallhorn y cols. 1970 Forum y cols. 1975	3.3-4.2mm <sup>9</sup>	-	33/39 defectos mostraron evidencia de regeneración. <sup>9</sup>	- Solo un estudio controlado con 2.98 mm de ganancia ósea vs 0.66 mm con desbridamiento. <sup>10</sup>
Intraoral Hiatt y cols. 1973 y 1978.	2.88-3.44 mm <sup>11</sup>	73% <sup>12</sup>	0.7 mm de regeneración. <sup>12</sup>	-
<b>Aloinjerto (vital)</b>				
Humano Renvert y cols. 1972	3.6 mm reales <sup>13</sup> ; 3.6 en defectos de 1, 2 y 3 paredes; 2.1 mm en 0 paredes	-	Evidencia de regeneración. <sup>13</sup>	-Riesgo potencial de enfermedad de transmisión. <sup>13</sup>
<b>Aloinjerto (no vital)</b>				
DFDBA Sanders y cols. 1978 Barnett y cols. 1989	2 mm reales. <sup>14</sup>	60-68% de 1401 defectos. <sup>14</sup>	-	-Estudios controlados en defectos pares mostraron nula diferencia entre aloinjerto óseo congelado y seco y el desbridamiento. <sup>15</sup>



---

**Estudios comparativos**

FDBA vs FDBA + injerto  
autólogo.  
Hiatt y cols. 1978

-

FDBA 63-67%  
tuvo llenado ≥  
50% vs FDBA +  
injerto autólogo  
78-80% de los  
defectos ≥50%  
de llenado.<sup>12</sup>

-

-

Aloinjerto no vital  
DFDBA vs desbridamiento  
Sanders y cols. 1978  
Pearson y cols.1981  
Bowers y cols. 1989

2.3-2.9 vs 0-3-1.3  
mm.<sup>16</sup>

65% vs 11%.<sup>14</sup>

1.21 mm de regeneración  
periodontal.<sup>17</sup>

-

**Estudios comparativos**

DFDBA vs FDBA  
Pearson y cols.1981  
Rummelhart y cols. 1989

1.7-2.4 mm<sup>18</sup>

59% vs 66%.<sup>16</sup>

-

-

**Cerámicos**

HA vs desbridamiento  
Forum y cols. 1982  
Yukna y cols.1984

1.3-2.8 vs 0.5-0.9  
mm<sup>19</sup>

67% vs 10%.<sup>19</sup>;  
55-60% vs 31-  
32%.<sup>20</sup>

Sin nueva inserción periodon-  
tal, osteogénesis o cemento-  
génesis.<sup>20</sup>

-

HAP vs desbridamiento  
Yukna y cols.1984  
Krejci y cols.1987

3.6 mm vs 1.2  
mm<sup>21</sup>

24% vs 9%.<sup>19</sup>;  
58% vs 22%.<sup>22</sup>

-Formación ósea en los poros  
del implante y en la periferia.<sup>21</sup>  
-Sin nueva inserción.<sup>22</sup>

-

Carranza y cols. 1987 Mora y cols. 1988				Reducción de bolsas periodontales con epitelio de unión largo. <sup>23</sup>	
<b>Estudios comparativos</b>					
HAP vs FDBA Hiatt y cols.1978	1.3 vs 2.2 mm <sup>12</sup>	-	-	-Sin diferencias significativas. <sup>12</sup>	
HAP vs FDBA Bowen y cols.1989	1.6 vs 2.1 mm <sup>24</sup>	53% vs 61% <sup>24</sup>	-	-Sin diferencias significativas. <sup>24</sup>	
<b>Polímero composite biocompatible</b>					
RTD Carranza y cols. 1987 Stahmiri y cols. 1987 Yukna y cols.1990 Plotze y cols. 1993	3.4 vs 2.7 mm <sup>25</sup> 1.9 vs 1 mm <sup>26</sup>	61% vs 33% <sup>23</sup>		Sin regeneración pero evidencia de nueva inserción de tejido conectivo. <sup>27</sup>	-
<b>Carbonatos de calcio</b>					
Esqueleto natural de coral vs desbridamiento Yukna RA, 1990 y 1994	2.3 vs 0.7 mm <sup>28</sup>	67% vs 26% <sup>25</sup>	-	-ENC es mejor que el desbridamiento. <sup>25</sup>	
<b>Vidrio cerámico bioactivo</b>					
VCB vs desbridamiento Kitsugi y cols. 1995 Low y cols.1997 Zamet y cols. 1997 Forum y cols. 1998	3.4 vs 1.56 mm <sup>29</sup> ; 2.96 vs 1.54 mm <sup>30</sup>	-		El llenado óseo es por infiltración del implante. Cicatrización por EUL. <sup>31</sup>	-No se encontraron diferencias significativas en un estudio. <sup>32</sup>

---

**Estudio comparativo**

VCB vs DFDBA

Kitsugi y cols. 1995  
Lovellace y cols. 19982.27 vs 1.93mm<sup>33</sup>61.8% vs  
62.5%<sup>31</sup>

-

-Sin diferencias significativas.<sup>31</sup>**Xenoinjertos óseos  
bovinos**

XOB vs DFDBA

Zamet y cols. 1997  
Camelo y cols. 19983.5 vs 2.6 mm<sup>34</sup>55.8% vs  
46.8%<sup>32</sup>

-

-Sin diferencias significativas.<sup>32</sup>

XOBvs

XOB+RTG

Camelo y cols. 1998

-

-

Nuevo cemento y hueso con  
xenoinjerto siendo osteocon-  
ductivo; la membrana RTG  
adiciono incremento de la ci-  
catrización.<sup>34</sup>

-

**RTG**

Politetrafluoro-etileno

Gottlow y cols. 1992

2-5.3 mm<sup>6</sup>

-

0.5-1.7 mm de nueva inser-  
ción.<sup>6</sup>

-

Barrera reabsorbible de  
poliglactin-910 vs PTFEe  
Christgau y cols. 19924 vs 3.5 mm<sup>35</sup>77.5% vs  
70.7%<sup>35</sup>

-

-

---

**Estudios comparativos**PTFEe+DFDBA+ácido  
cítrico

Schallhorn y cols. 1988

4.7 mm<sup>36</sup>

-

-

-Se sugiere que esta combinación provee mejores resultados.<sup>36</sup>

PTFEe+DFDBA vs DFDBA

2.8 vs 3.2 mm<sup>37</sup>58% vs 71%<sup>36</sup>

-

-

Schallhorn y cols. 1988

Guillermin y cols.1993

PTFEe vs PTFEe+injerto de  
HA colágena vs injerto HA  
colágena sola3.70 mm vs 3.8  
mm vs 2.6 mm<sup>38</sup>1.5 mm vs 1.55  
mm vs 0.85 mm<sup>37</sup>

-

-PTFEe membranas ± injerto colágeno e HA fue mejor que HA sola.<sup>38</sup>

Guillermin y cols.1993

Kilic y cols.1997

PDME

PDME vs placebo o  
desbridamiento2.2 vs 1.7 mm<sup>39</sup>;  
4.26 vs 2.75 mm<sup>40</sup>74% vs 22.7%<sup>39</sup>Análisis histológico de ambos casos. Ambos tuvieron nuevo cemento e inserción pero sólo uno obtuvo formación ósea.<sup>41</sup>-Las PDME pueden estimular nueva inserción.<sup>41</sup>

Heijl y cols.1997

Heijl, L. 1997

Forum y cols. 2001

**Estudios comparativos**PDME vs RTG después de  
24 y 48 meses3 vs 2.9 mm<sup>42</sup>

-

-

-Ambas técnicas aumentaron la inserción del LP clínicamente.<sup>42</sup>

Sculean y cols.1999

PDME +VCB vs VCB Scuelan y cols.2002	3.22 vs 3.07mm <sup>43</sup>	-	-	-Sin diferencias significativas. <sup>43</sup>
PDME + Hueso bovino vs PDME + fibrina Lekovic y cols.2000	2.89 vs 2.83 mm <sup>44</sup>	-	-	-Sin diferencias significativas. <sup>44</sup>

*\*DFDBA= ALOINJERTO ÓSEO DESMINERALIZADO, CONGELADO Y DESHIDRATADO(siglas en inglés); FDBAS= ALOINJERTO ÓSEO CONGELADO Y DESHIDRATADO(siglas en inglés);\*PDME= PROTEÍNAS DERIVADAS DE LA MATRÍZ DEL ESMALTE;\*HA= HIDROXIAPATITA; +HAP= HIDROXIAPATITA POROSA; \*ENS= ESQUELETO NATURAL DE CORAL;\*RTD=REEMPLAZAMIENTO DE TEJIDO DURO;\*VCB=VIDRIO CERÁMICO BIOACTIVO;\*XOB=XENOINJERTO ÓSEO BOVINO; RTG=REGENERACIÓN TISULAR GUIADA; \*PTFEe= POLITETRAFLUOROETILENO EXPANDIDO;\*EUL=EPITELIO DE UNIÓN LARGO.*



---

## 4.2 Re-inserción y nueva inserción.

Se determina la regeneración periodontal como la nueva inserción que se logra con las técnicas regenerativas. El tratamiento periodontal regenerador comprende procedimientos especialmente destinados a restaurar las partes del aparato de sostén dentario perdido a causa de la periodontitis.<sup>45</sup>

La nueva inserción por lo tanto se define como la formación de nuevo cemento con inserción de fibras colágenas sobre la superficie radicular desprovista de su ligamento periodontal original, ya sea causado por enfermedad periodontal o desprendimiento mecánico; la reinsertión se define como la nueva unión entre los tejidos blandos circundantes y una superficie radicular que conserva el tejido de su ligamento periodontal.<sup>45</sup>



## 5. CÉLULAS QUE PARTICIPAN EN LA REGENERACIÓN PERIODONTAL.

### 5.1 Receptores de superficie en la membrana celular.

La membrana plasmática envuelve a la célula definiendo sus límites y manteniendo las diferencias esenciales entre su contenido y entorno. Las membranas celulares son estructuras dinámicas, fluidas y la mayoría de sus moléculas son capaces de desplazarse en el plano de la membrana. Tienen una cara citosólica, es decir, la cara de la membrana que está en contacto con el citosol, y una cara hacia la matriz extracelular.

Una bicapa lipídica constituye la estructura básica de la membrana y actúa de barrera relativamente impermeable al paso de la mayoría de las moléculas hidrosolubles. Está constituida de moléculas lipídicas dispuestas en forma de una doble capa continua de aproximadamente 5nm de grosor.

Las moléculas proteicas que atraviesan la bicapa lipídica son las responsables de la mayoría de las funciones de la membrana como el transporte de moléculas a través de ellas o la catalización de reacciones.<sup>46</sup>

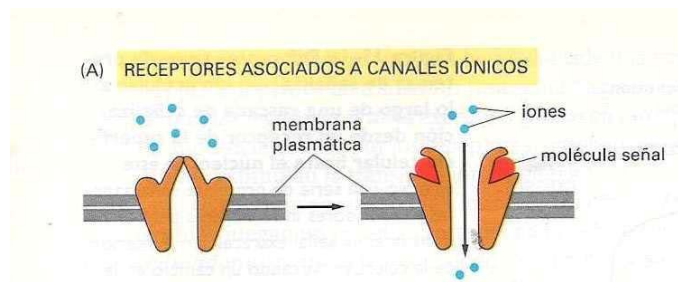
En todas las membranas plasmáticas se encuentran proteínas que actúan como sensores de señales externas, permitiendo que la célula cambie su comportamiento en respuesta a indicaciones ambientales; estas proteínas sensoras son conocidas como receptores y su función es transferir información a través de la membrana.<sup>47</sup>

La membrana celular está compuesta por tres clases principales de proteínas receptoras de la superficie celular: los receptores asociados a

canales iónicos, los asociados a las proteínas G y los asociados a enzimas. Éstos se definen en función del mecanismo de transducción que utilizan.<sup>46</sup>

Los receptores asociados a canales iónicos participan en la rápida señalización de células estimuladas eléctricamente. Este tipo de señalización está mediada por un pequeño número de neurotransmisores que se unen a una proteína y abren y cierran transitoriamente los canales iónicos, alterando la permeabilidad de la membrana plasmática.<sup>46</sup> Véase **Fig. 1.**

Los receptores asociados a proteínas G actúan indirectamente regulando la actividad de una proteína diana ligada a la membrana plasmática y que está separada de un receptor. Esta proteína diana puede ser una enzima o un canal iónico. La proteína G se encarga de unir a la proteína diana con su receptor.<sup>46</sup>



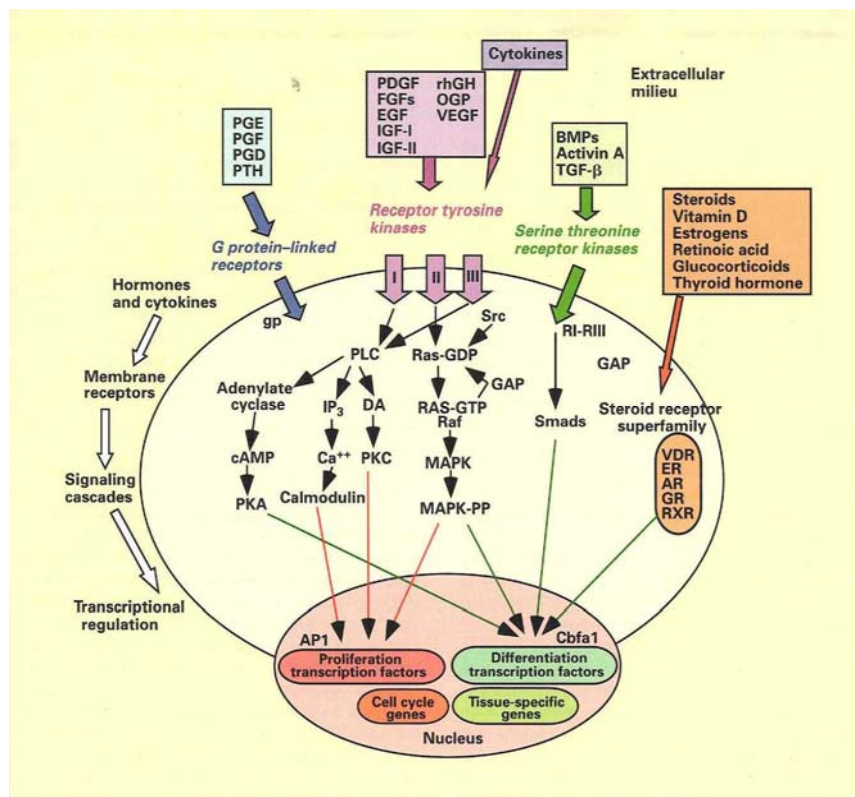
**Fig. 1** Los neurotransmisores abren y cierran los canales iónicos transitoriamente al unirse a los receptores asociados a estos mismos.<sup>46</sup>

Los receptores asociados a enzimas son proteínas transmembranas cuyo sitio de unión al ligando se encuentra en la superficie externa de la membrana citoplasmática y sus dominios citosólicos tienen una actividad enzimática intrínseca o están asociados directamente a una enzima. Cada subunidad de estos receptores cruzan la membrana una sola vez.<sup>46</sup>



Los receptores asociados a enzimas se descubrieron debido al papel que desempeñan en las respuestas a proteínas señalizadoras extracelulares; a estas proteínas señalizadoras se les conoce como factores de crecimiento cuyas principales funciones son mediar los efectos directos y rápidos del citoesqueleto de la célula, controlar el desplazamiento y transformación de las células.<sup>46</sup>

Véase **Fig. 2**.



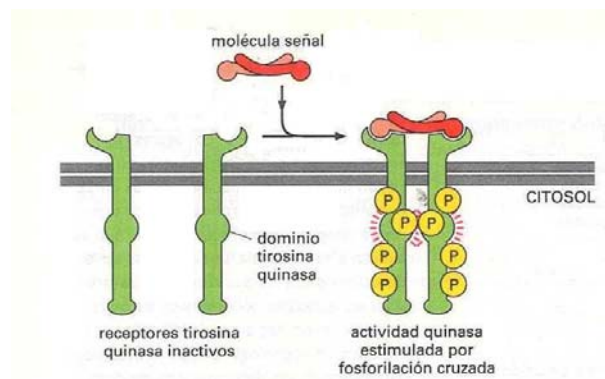
**Fig. 2** Diferentes clases de receptores que se unen a hormonas y factores de crecimiento se encuentran en la superficie de la membrana.<sup>46</sup>

Se han identificado seis tipos de receptores asociados a enzimas:

- Los receptores tirosina/quinasa.
- Los receptores serina/treonina quinasa.
- Receptores asociados a tirosina/quinasa.
- Las tirosinas fosfatasa semejantes a receptores.

- e) Los receptores guanilato ciclasa.
- f) Los receptores asociados a histidinas quinasa.

La unión de un FC al dominio de unión del ligando en el exterior de la célula activa al dominio tirosina/quinasa intracelular y una vez activado éste, transfiere un grupo fosfato del ATP a determinadas cadenas laterales de tirosina tanto de la propia proteína receptora como de otras proteínas de señalización intracelular, las cuales posteriormente se unen a receptores fosforilados. Véase **Fig 3**.



**Fig. 3** Los receptores dimerizan en respuesta a la unión del ligando. Los dos dominios quinasa se fosforilan de manera cruzada, uno a otro, incrementando y aumentando su actividad y activando así aún mas el dímero de receptores al fosforilar otros sitios del dímero.<sup>46</sup>

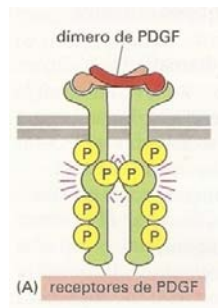
En la **tabla 2** se muestran algunos algunos FC que actúan mediante receptores tirosina/quinasa.

**Tabla 2.** FC que actúan mediante receptores tirosina/quinasa.<sup>46</sup>

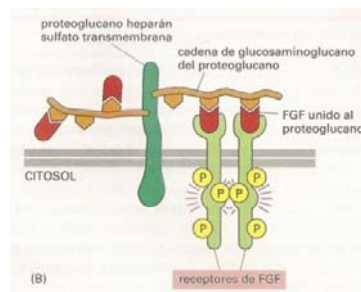
Ligando señalizador	Receptores
FCDP (AA,BB,AB)	Receptores de FCDP $\alpha$ y $\beta$
FCI-1 y FCI-2	Receptor de FCI-1
FCF	Receptores de FCF (R-1, R-4)

*FCDP=Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas;FCI-I= Factor de Crecimiento Insulínico-I; FCF=Factor de Crecimiento Fibroblástico.*

Para activar a un receptor tirosina/quinasa, el ligando señalizador o el FC se tiene que unir simultáneamente a dos cadenas de receptores adyacentes; en el caso de los receptores del FCDP, el ligando es un dímero que se une a dos receptores a la vez (**Fig. 4**), por el contrario, el FCF, que es un monómero, primero se asocia con otro FCF entre sí uniéndose a proteoglicanos de heparán sulfato formando así multímeros y de esta manera se forman multímeros, y de esta forma son capaces de entrecruzar receptores adyacentes (**Fig. 5**).<sup>46</sup>



**Fig. 4** El FCDP es un dímero unido covalentemente. El dímero tiene dos sitios de unión al receptor, de modo que puede entrecruzar directamente dos receptores adyacentes, iniciando así el proceso de señalización intracelular.<sup>46</sup>

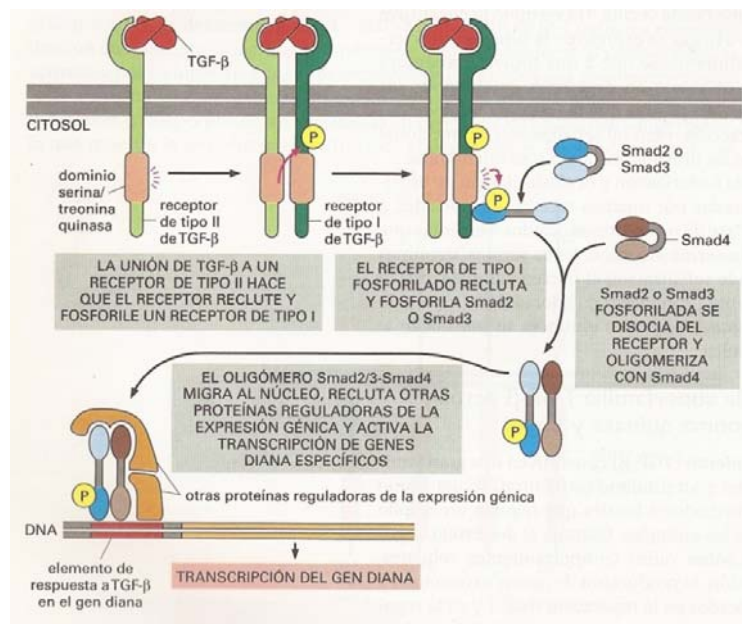


**Fig. 5** El FCF al ser un monómero se une a proteoglicanos formando conjuntos, lo que le permite entrecruzar a sus receptores. Los proteoglicanos pueden localizarse en la matriz extracelular o, tal como se muestra en la figura, en la superficie celular.<sup>46</sup>

Los factores de crecimiento de la superfamilia del Factor de Crecimiento de Transformación- $\beta$  (FCT- $\beta$ ) y las Proteínas Oseomorfogénicas (POMGs) se unen a los receptores serina/treonina quinasa y actúan sobre la cara citosólica de la membrana plasmática. Existen dos tipos de estos receptores, - tipo I y tipo II -, y ambos son

necesarios para la señalización. Su mecanismo de acción es mediante la unión del factor de crecimiento de transformación o POMG a un homodímero de receptores tipo II, el cual es activado y de esta manera recluta, fosforila y activa un homodímero de receptores tipo I. Este receptor, a su vez, fosforila sustratos señalizadores (proteínas) intracelulares llamados Smads (gen Sma en *C. elegans* y gen Mad en *Drosophila*).<sup>48</sup>

Los receptores del FCT- $\beta$  activados fosforilan Smad2 o Smad 3, mientras que los receptores de las POMGs fosforilan Smad1, Smad 5 y Smad 8. Cuando una de estas Smad se ha fosforilado, se disocia del receptor y se une a Smad 4, la cual puede formar un complejo con cualquiera de las 5 anteriores Smad activadas por receptor. Entonces el complejo Smad se transloca al núcleo, donde se asocia con otras proteínas reguladoras de la expresión génica, se une a sitios específicos en el ADN y activa un conjunto determinado de genes blanco y de esta manera inician la producción de proteínas de matriz ósea principalmente POMGs.<sup>49</sup> Véase **Fig 6**.



**Fig 6.** Modelo de la vía de señalización dependiente de las proteínas Smads activada por FCT- $\beta$ .<sup>46</sup>



El periodonto está formado por HA, CR y LP. Su origen embriogénico se debe a la interacción de células mesenquimatosas y las del tejido epitelial que actúan de distinta forma respondiendo ciertos estímulos. Esta formación acontece al mismo tiempo que la formación radicular, a partir de la capa celular interna del saco dentario.<sup>50</sup>

## 5.2 Células del periodonto.

El HA, LP y CR constituyen una unidad funcional y tienen una evolución correlativa a lo largo de la vida del diente. Esto se debe a la continua y permanente remodelación de las fibras periodontales y el tejido óseo, así como la aposición continuada y selectiva del cemento.<sup>50</sup>

Para que se lleve a cabo el proceso de Regeneración Periodontal (RP) debe producirse una cascada de eventos de diferente estirpe como la cementogénesis, osteogénesis y formación de tejido conectivo.<sup>51</sup>

Las células que conforman al LP son:

- Fibroblastos,
- Osteoblastos.
- Cementoblastos.
- Restos epiteliales de Malassez.
- Macrófagos
- Mastocitos
- Células madres ectomesenquimatosas (troncales).<sup>52</sup>

Las células que constituye al HA son:

- Osteoblastos.
- Osteocitos.
- Osteoclastos.<sup>50</sup>



Las células que forman el CR son:

- Cementoblastos.
- Células de la vaina epitelial radicular de Hertwig.
- Cementocitos.<sup>50</sup>

### 5.2.1 Fibroblasto.

El fibroblasto es la célula que se encuentra en mayor proporción en el LP. Su origen es de las células mesenquimatosas indiferenciadas o células troncales.

Estructuralmente es una célula fusiforme, exhibe extensiones citoplasmáticas, tiene un núcleo elíptico grande con presencia de cromatina laxa y cuenta con 2-4 nucleólos evidentes. Presenta en su superficie dos receptores muy característicos: el factor de crecimiento epidérmico y la Interleucina 1 (IL-1). Así mismo expresa también los receptores FCDP- $\alpha$  y FCDP- $\beta$ .<sup>53</sup>

Su ciclo de renovación es cada 45 días. Su disposición es paralela a los haces de fibras colágenas y da la apariencia de envolver a las mismas debido a su prolongaciones citoplasmáticas. Se adhiere a las fibras debido a la fibronectina; esta disposición es especial para que durante los movimientos dentales, los fibroblastos remodelen los haces de fibras colágenas del ligamento.<sup>50</sup>

Su función es la síntesis de fibras de colágena y sustancia intercelular amorfa: principalmente proteoglicanos y elastina. La síntesis de fibronectina y factores de crecimiento fibroblásticos a y b intervienen fundamentalmente en el proceso de la reparación.<sup>50</sup>



Además de sintetizar las fibras de colágena intervienen en la fagocitosis de fibras de colágena maduras mediante hidrólisis enzimática. Por lo tanto los fibroblastos regulan el metabolismo de colágena mediante el mecanismo de degradación intracelular.

Su importancia radica en el alto grado de recambio que experimenta el tejido periodontal debido a la remoción, reemplazamiento y remodelación de los haces de colágeno.<sup>50</sup>

### 5.2.2 Osteoblasto.

Es una célula mesenquimatosa especializada encargada de la síntesis, secreción y mineralización de la matriz orgánica del hueso (colágeno y sustancia fundamental), así mismo se encargan de producir proteínas no colágenas entre las cuales se pueden mencionar los glicosaminoglicanos, la osteopontina, la osteocalcina, y la sialoproteína ósea que interactúan con las integrinas, y su membrana se caracteriza por ser rica en fosfatasa alcalina.<sup>54</sup> Véase **Fig. 7**.

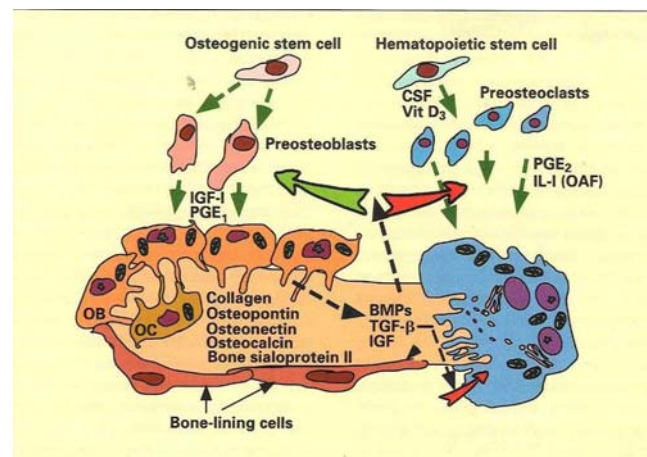
Yacen inmediatamente adyacente al hueso alveolar a manera de una capa epitelioide de células conectadas entre sí formando la zona osteógena. Los osteoblastos se encuentran separados de la matriz ósea calcificada por una zona de matriz no mineralizada, denominada sustancia osteoide.<sup>50</sup>

Su estructura es cuboide mononucleada, con un citoplasma que tiene apetencia por los colorantes. Se diferencian de células madre mesenquimatosas multipotentes que dan origen a células progenitoras como preosteoblastos que a su vez proliferan y amplifican para convertirse en osteoblastos. Su tiempo de vida es aproximadamente de un mes, periodo tras el cual sufren apoptosis para ser reemplazados por células osteoblásticas recién diferenciadas, o de forma alternativa, casi la

tercera parte de estas células se incorporan a la matriz calcificada funcionando como osteocitos.<sup>55</sup>

Debido a sus múltiples funciones, el osteoblasto se encuentra bajo control de hormonas como la Paratiroidea (HPT), 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>, 24,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>, hormona del crecimiento (HC), estrógenos y tirosina; también responden ante factores de crecimiento como el FCT- $\beta$  y el FCI-I, los cuales no sólo son producidos por ellos mismos, sino que también los afectan directamente indicando su rol como autócrinos y parácrinos.<sup>56</sup>

En su superficie expresan los receptores IGF- $\beta$  tipo 1, IGF- $\beta$  tipo 2, FCDP-BB $\alpha$ , FCDP-BB $\beta$ .<sup>52</sup>



**Fig. 7** El osteoblasto es una célula que se encarga de producir proteínas colágenas y no colágenas.<sup>46</sup>

### 5.2.3 Osteocito.

Es la célula mas diferenciada del linaje de los osteoblastos. Son las células osteoblásticas que se quedaron atrapadas en la sustancia osteoide mineralizada secretada por ellas mismas. Se alojan en las cavidades llamadas lagunas.





De las lagunas se desprenden radialmente gran número de conductillos calcóforos en cuyo interior se alojan las prolongaciones citoplasmáticas de los osteocitos formando el sistema canaliculolacunar o sistema de microcirculación ósea por el cual todas las células están conectadas entre sí.

Sus funciones no son comprendidas completamente, sin embargo existen pruebas convincentes que indican que el osteocito tiene una función como sustentador del contenido mineral de la sustancia ósea y es la principal célula responsable de la transducción mecánica ya que al producirse una fuerza, el flujo de fluido pulsátil pasa a través de los conductillos calcóforos.<sup>49</sup>

Los osteocitos también responden ante estímulos hormonales. Esto se debe a el espacio periostiocítico, -que se encuentra entre la pared del conductillo y la membrana citoplasmática del osteocito-, contiene líquido extracelular con gran cantidad de potasio.<sup>50</sup>

Su matriz extracelular incluye colágena tipo I, osteocalcina, osteopontina y osteonectina. Las células son sensibles a tensiones mecánicas que se transducen en señales bioquímicas. El osteocito señala a células vecinas a través de sus canaliculos secretando factores como la Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) y óxido nítrico. Son capaces de soportar mucho estrés mecánico y pueden propagar señales a largas distancias.

Estas células responden ante hormonas como los estrógenos y la 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>, 24,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>, sin embargo sus funciones difieren mucho de las de los osteoblastos.<sup>56</sup>

### 5.2.4 Osteoclasto.

Se encarga de degradar la matriz ósea, es decir, produce la resorción ósea. Este proceso comienza con la remoción de la matriz osteoide por los osteoblastos activados por la paratohormona. Al ser liberadas moléculas de señalización por esta matriz, llegan los monocitos que dan lugar a los preosteoclastos, que a su vez se transforman en osteoclastos.<sup>58</sup> Véase **Fig. 8**.

Estructuralmente son células grandes y multinucleadas que contienen diversas mitocondrias con gránulos de fosfato de calcio. Constan de gran motilidad y se adhieren a la interface entre el hueso y la médula ósea.<sup>50</sup>

Su función es la liberación de ácidos orgánicos y enzimas hidrolíticas lisosomales hacia el espacio extracelular para causar la desmineralización de la matriz ósea. De esta manera los osteoclastos van formando excavaciones en la superficie del tejido óseo llamadas lagunas de Howship. Una vez que terminan el proceso de resorción, los osteoclastos se retiran y estas lagunas son llenadas por osteoblastos que forman nuevo tejido óseo, y de ésta manera se completa el proceso de remodelado.<sup>50</sup>

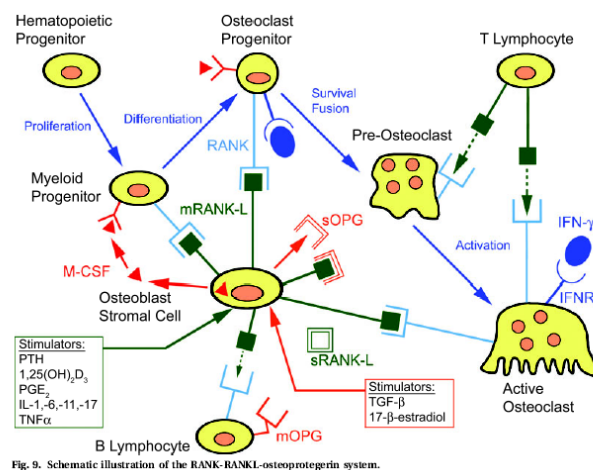


Fig. 9. Schematic illustration of the RANK-RANKL-osteoprotegerin system.

**Fig. 8** Sistema osteoprogenitor del osteoclasto.<sup>57</sup>



### 5.2.5 Cementoblasto.

Se encuentran adosados a la superficie del cemento del lado del LP. En un diente funcional, los cementoblastos se consideran parte estructural del LP.<sup>58</sup>

Existe la teoría de que se originan de células mesenquimatosas indiferenciadas localizadas en espacios endosteales de hueso alveolar.<sup>58</sup>

Pueden encontrarse activos, cuya estructura es cuboidal, o inactivos apareciendo como células aplanadas y secretan la matriz del cemento.<sup>50</sup>

Su ubicación en las raíces, en el periodo de desarrollo, es a lo largo de toda la extensión de éstas. No obstante, en los dientes con raíces completamente formadas se encuentran cementoblastos activos solo a partir del tercio medio de la raíz y en ocasiones solo en el tercio apical.

Sus funciones son la síntesis de tropocolágeno que formará las fibras colágenas intrínsecas, y proteoglucanos o glucosaminoglucanos para la matriz extracelular.<sup>50</sup>

El CR humano maduro, esta compuesto por extractos proteicos, los cuales promueven la adherencia celular, la quimiotaxis y estimulan la síntesis de proteínas en fibroblastos gingivales y del LP. Entre estas moléculas la proteína de adherencia celular (CP siglas en inglés) es una especie de 56 kDa, la cual es únicamente expresada en este tejido, en células progenitoras del linaje cementoblastico localizadas en los espacios endosteales del hueso alveolar y en poblaciones de cementoblastos putativos in vitro (Arzate et al., 1992,1996,1998, 2000, 2002, 2003).<sup>58</sup>



Hasta ahora no ha sido posible aislar cementoblastos y estudiarlos en cultivo, por lo tanto aún es desconocido el proceso que se lleva a cabo para la formación del cemento, así como su regulación o los procesos que afectan tanto el reclutamiento como la diferenciación de las células formadoras de éste.<sup>58</sup>

#### 5.2.6 Células de la vaina epitelial radicular de Hertwig.

Hallazgos recientes indican que las células de la vaina epitelial radicular de Hertwig sintetizan y secretan proteínas relacionadas al esmalte tales como tuffelina y ameloblastina lo que permite a estas células una transformación ectomesenquimatoso y producción de un tejido similar al cemento acelular, junto con la expresión transitoria de osteopontina, sialoproteína ósea, osteocalcina y la actividad de la fosfatasa alcalina. Estos datos indican que los productos génicos de la vaina epitelial radicular de Hertwig participan en la diferenciación de los cementoblastos.<sup>58</sup>

De hecho, las células epiteliales de la vaina adoptan la morfología cementoblástica y el ensanchamiento de sus espacios intercelulares se llenan con fibras colágenas, lo cual es típico de células cementoblásticas formadoras de fibras. Sin embargo, estas células expresan tonofilamentos rudimentarios y desmosomas, lo cual indica el linaje epitelial de estas células cementoblásticas, por lo que estos hallazgos apoyan el concepto de que los cementoblastos se originan a partir de las células de la vaina epitelial radicular de Hertwig.<sup>58</sup>

#### 5.2.7 Cementocito.

Los cementocitos son cementoblastos que han quedado atrapados en la matriz que ellos mismos secretan, son relativamente inactivos y degeneran eventualmente. Se aloja en cavidades conocidas como lagunas.<sup>58</sup>



Su estructura es ovoide con su eje mayor paralelo al eje longitudinal de la raíz. Presenta de 10 a 20 prolongaciones citoplasmáticas que pueden llegar a medir 20-30  $\mu\text{m}$  de longitud y éstas se comunican entre sí con otras prolongaciones de otros cementocitos y su dirección es hacia la superficie externa, es decir, al LP ya que es la fuente de nutrición de éstos.<sup>50</sup>

#### 5.2.8 Restos epiteliales de Malassez.

Son los restos desorganizados de la vaina epitelial de Hertwig. Se encuentran en el LP con frecuencia, hacia el lado de la superficie cementaria.

Su presencia y distribución cambian con la edad; se encuentran con mayor frecuencia en niños que en adultos. Hasta la segunda década de vida se pueden localizar en la región apical, posteriormente se ubicarán en la proximidad gingival de la cresta alveolar.

Su estructura varía dependiendo al corte histológico; en cortes longitudinales o transversales se observan como cordones macizos de acúmulos celulares; en un corte tangencial, paralelo a la raíz dental se observa una red atravesada por fascículos de fibras colágenas cortadas a través. Estas células pueden ser escamosas o cilíndricas con un núcleo prominente.

Sus funciones son la degradación de colágena intercelularmente, como los fibroblastos, y la secreción prostaglandinas. En condiciones patológicas, pueden proliferar y producir quistes o tumores.<sup>50</sup>



### 5.2.9 Mastocito.

Son conocidos también como células cebadas; su localización es alrededor de los vasos sanguíneos. Contienen gránulos densos de heparina, histamina y enzimas proteolíticas. En condiciones patológicas liberan estos gránulos en lesiones tisulares.<sup>50</sup>

En condiciones patológicas liberan estos gránulos en lesiones tisulares, sin embargo su función en el LP se discute.<sup>50</sup>

### 5.2.10 Macrófago.

Es la célula de defensa principal. Contiene gran cantidad de lisosomas los cuales se encargan de la desintoxicación del huésped así como de su defensa, gracias a su gran capacidad de ingerir sustancias extrañas y microorganismos dañinos para el LP

Representan el 4% de la población del LP, y se diferencian de los fibroblastos debido a su riqueza en lisosomas y la presencia de microvellosidades.<sup>50</sup>

Estas células expresan receptores para el FCDP- $\beta$ .<sup>56</sup>

### 5.2.11 Células Madre.

Son células autorrenovantes multipotentes que en el organismo maduro tienden a reproducirse con poca frecuencia, aunque por definición son células que poseen un potencial proliferativo elevado, sin embargo, no se reciclan de forma continua.<sup>59</sup>

Basado en su origen, las células madre se clasifican en:

- Células madre embrionarias (CME).



- Células madre del adulto (CMA).

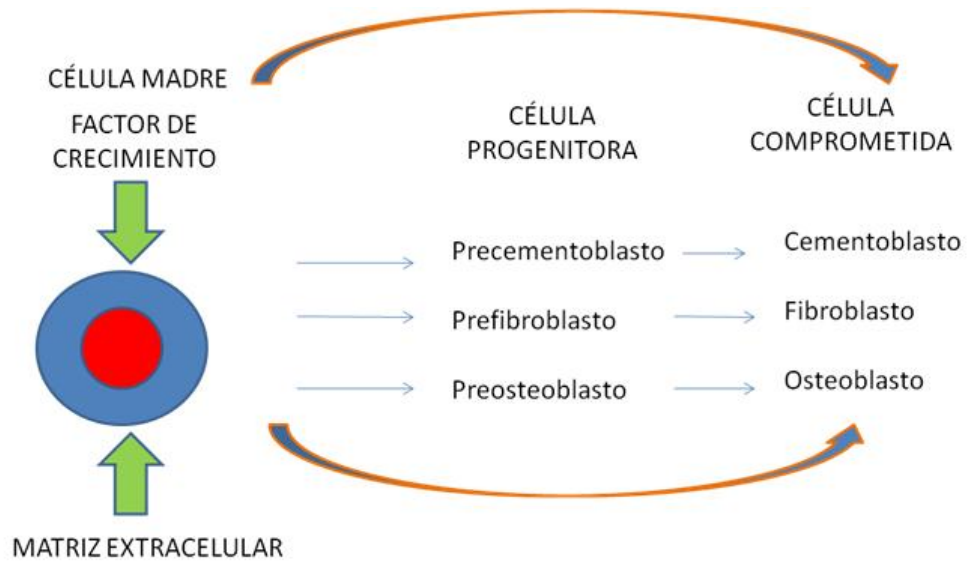
Las que participan en el proceso de regeneración periodontal son las CMA.

Las CMA son multipotentes, es decir, se diferencian en mas de un tipo celular, pero no pueden diferenciarse en todos los tipos celulares; su plasticidad permite que se diferencien en un tipo celular diferente al origen de la célula de la cual son derivadas, por ejemplo, una célula madre del tejido pulpar no sólo se puede diferenciar en células de tejido dental, sino también puede diferenciarse en células de origen neural.<sup>56</sup> En la **Fig.9** se muestra la diferenciación de una CMA y una célula progenitora en células del LP.

Así mismo, por su origen, estas células también pueden ser clasificadas:

- Células madre de origen hematopoyético. Se obtienen de la sangre periférica o del cordón umbilical.
- Células madre de origen mesenquimatoso. Se obtienen de la médula ósea, del hígado, de la piel, tejido pulpar, ligamento periodontal, mucosa bucal, papila interdental.

Cuando se presenta una lesión, las células madre son atraídas por los FC, de ésta forma la célula madre se renueva a través de una división celular y da pie a la formación de una célula madre hija y una célula madre progenitora. Ésta última es una célula intermedia formada antes de que consiga un estado diferenciado completamente la cual produce a la célula diferenciada.<sup>59</sup>



**Fig. 9** Diferenciación de una CMA y de las células progenitoras en células del LP.<sup>60</sup>





## 6. MOLÉCULAS DE SEÑALIZACIÓN BIOLÓGICA.

### 6.1 Generalidades.

Las Moléculas de Señalización Biológica (MSB) se definen como los factores, o proteínas con la facultad del alterar los tejidos del hospedador estimulando o regulando el proceso de cicatrización de las heridas.<sup>61</sup>

Las MSB son proteínas naturales que regulan varios aspectos del crecimiento y desarrollo celular. Su objetivo, en el tratamiento periodontal, es aumentar la respuesta normal de la cicatrización de la lesión para promover la regeneración del LP, HA y CR.

Las principales MSB relacionadas con la regeneración periodontal son: Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas, Factor de Transformación- $\beta$ , Factor de Crecimiento Fibroblástico y Factor de Crecimiento Insulínico; así como las Proteínas Oseomorfogénicas y las Proteínas Derivadas de Matriz del esmalte (PDME).<sup>61</sup>

### 6.2 Tipos de moléculas de señalización biológica.

#### 6.2.1 Factores de Crecimiento.

- Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas.
- Factor de Crecimiento Insulínico. FCI-I, FCI-II.
- Factor de Crecimiento de Transformación- $\beta$ . Incluyendo a las Proteínas Oseomorfogénicas y las Proteínas Osteógenas. POMG-2, POMG-7/PO-1.
- Factor de Crecimiento Fibroblástico. FCFa, FCFb.



## 6.2.2 Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas.

Es también conocido como FCDP o PDGF (siglas en inglés) -, es uno de los primeros FC descubiertos. En 1975, Antoniades y cols. lo aislaron por primera vez a partir de las plaquetas durante el proceso de degranulación.<sup>62</sup> Se demostró que existía un polipéptido catiónico en el suero, - así se le llamó al factor previamente -, que iba en función a la cantidad de plaquetas contenidas en el plasma, capaz de inducir el ciclo mitótico celular. Este polipéptido catiónico se encontraba en los megacariocitos, o en los gránulos  $\alpha$  plaquetarios y se liberaba de éstos durante la coagulación.<sup>61</sup> Su peso molecular es de aproximadamente 30,000 daltons y se une a la heparina.<sup>53</sup>

Es el factor de crecimiento mayormente evaluado en un gran número de estudios; es considerado la hormona más importante en la cicatrización.<sup>63</sup> Se sintetiza de manera paracrina.<sup>53</sup>

### Lugar de síntesis.

Este factor se expresa en una gran serie de tejidos, se piensa que tiene acciones tanto locales como sistémicas; es secretado por plaquetas durante la primera fase de cicatrización; se libera posteriormente a una lesión tisular, y es producido por una infinidad de células durante la reparación tisular como osteoblastos, células endoteliales, monocitos, fibroblastos y macrófagos activados. Su estructura se compone de dos cadenas polipeptídicas unidas por un puente disulfuro y es el producto de cuatro diferentes genes, - FCDP-A, FCDP-B, FCDP-C y FCDP-D -, que son ensamblados en cinco isoformas: FCDP-AA, FCDP-BB, FCDP-CC, FCDP-DD (homodímeros) y FCDP-AB (heterodímero). El homodímero con mayor potencia es el FCDP-BB ya que se une a los receptores  $\alpha$  y  $\beta$  inducidos por los fibroblastos gingivales en humanos y células del LP durante la regeneración tisular periodontal.<sup>55</sup>



Su liberación se presenta de la siguiente forma: las plaquetas son células con numerosos pseudópodos, invaginaciones y vesículas; estas vesículas están compuestas por tres diferentes tipos de gránulos: los lisosomales, los densos y los  $\alpha$ . Los gránulos  $\alpha$  contienen las cinco isoformas del FCDP, FCT y el FCI en su interior, de forma incompleta e inactiva.<sup>52</sup> Las plaquetas participan en el proceso de cicatrización y estos factores son activados durante el proceso de coagulación; esto produce un cambio interno en la estructura plaquetaria que causa la secreción de los FC activos al fusionarse la membrana de los gránulos  $\alpha$  con la membrana celular de la plaqueta. Estos factores tienen dos sitios activos llamados dímeros y se unen únicamente a receptores específicos de la membrana celular.<sup>64</sup>

#### Funciones.

- Incrementa el número de células cicatrizantes al sitio de la lesión.
- Potente mitogénico de células del LP.
- Poderoso quimiotáctico en células de origen mesenquimatoso.
- Transforman mitosis endoteliales en capilares funcionales.
- Desbridan el sitio de la lesión.
- Proveen una segunda fuente de factores de crecimiento que continúan la regeneración ósea.
- Estimula la síntesis de ADN en fibroblastos.
- Inicialmente estimula la resorción ósea, y también estimula la proliferación y quimotáxis de osteoblastos.
- Estimula la síntesis de colágeno en fibroblastos.<sup>52</sup>

La aplicación de este factor de manera tópica ha sido considerada segura debido a los diversos estudios preclínicos y clínicos realizados. La colocación de éste se ha llevado a cabo en lesiones óseas ocasionado un aumento significativo en el crecimiento óseo y llenado de defectos periodontales comparado con terapia estándar, -es decir, realización de



desbridamientos por colgajo con o si el uso de membranas para la Regeneración Tisular Guiada.<sup>52</sup>

### 6.2.3 Factor de Crecimiento Insulínico.

Se descubrió que la supervivencia y crecimiento de las células indiferenciadas de los vertebrados *in vitro* dependía del suero, debido a ésto se aislaron nuevos factores de crecimiento, y de esta forma se descubrió el FCI, el cuál debe su nombre a que el 50% de su estructura es similar a la de la insulina.<sup>61</sup>

El FCI es un factor polipeptídico que muestra efectos pleotrópicos en la homeostasis ósea. Su peso molecular es de aproximadamente 7,500 daltons. Cuenta con dos isoformas las cuales son FCI-I y FCI-II y éstas comparten el 62% de la secuencia aminoácida homológica con la proinsulina y se unen a dos diferentes receptores superficiales. Ambos regulan células óseas de manera autocrina o paracrina, elevando la síntesis de ADN en osteoblastos, síntesis de osteocalcina y la actividad de la fosfatasa alcalina. El FCI-II es el más abundante en el organismo, sin embargo su potencia es menor que el FCI-I como promotor de la formación ósea. Estimula la formación de matriz ósea y de esta manera aumenta la proliferación de condrocitos.<sup>65</sup>

#### Lugar de Síntesis.

Su producción depende de la Hormona de Crecimiento (HC, GH). Se localiza en el hígado como mayor fuente de producción ya que es el órgano diana al cual llega la HC, aunque también se encuentra en cerebro, corazón, riñón, bazo y músculo liso en grandes cantidades; y en menor proporción circulando en el sistema vascular o en fluidos extracelulares. Se sintetizan por una gran variedad de células, incluidos el hueso y el cartílago.<sup>61,66</sup> Es producido por osteoblastos y estimula la



formación ósea causando diferenciación, proliferación y biosíntesis de colágeno.

Su producción se aumenta con la presencia de la HC, estradiol y factores locales como PGE<sub>2</sub> y se inhibe con el cortisol.

Funciones.

Este factor tienen gran cantidad de efectos que regulan la formación ósea y actividad del LP; sus funciones se pueden resumir de la siguiente forma:

- Promueve la aposición de matriz ósea *in vitro*.
- Actúa como mitogénico de fibroblastos del LP y osteoblastos en una forma dosis-dependiente.
- Es quimiotáctico para los fibroblastos del LP, osteoblastos y células progenitoras de osteoclastos.<sup>64</sup>
- Existe evidencia de que regula la habilidad de la hormona paratiroidea para estimular la proliferación de células osteoprogenitoras en hueso.
- Estimula la síntesis de colágeno y la aposición de la matriz ósea por lo osteoblastos.
- Juega un papel muy importante en el mantenimiento de la masa ósea.<sup>66</sup>

#### 6.2.4 Factor de Crecimiento de Transformación- $\beta$

El FCT fue descubierto gracias al estudio de los sarcomas. Este factor se aisló de un sarcoma debido a que es el responsable de la transformación del fenotipo de los fibroblastos, por lo cual se le dio el nombre de factor de crecimiento de los sarcomas. Inicialmente se creyó que sólo se podía aislar de tejidos transformados, sin embargo,



posteriormente se descubrió que también podía ser extraído de tejidos normales, aunque en un nivel mas bajo.<sup>61</sup>

Su peso molecular es de aproximadamente 25,000 daltons. Existen cinco isoformas del FCT- $\beta$  desde FCT- $\beta$ 1 hasta el FCT- $\beta$ 5, sin embargo las relacionadas con la osificación intramembranosa y endocondral son el FCT- $\beta$ 1, FCT- $\beta$ 2, y FCT- $\beta$ 3.<sup>61</sup>

Este factor pertenece a una super familia de proteínas, entre las cuales están las POMGs, las activinas e inhibinas con las cuales comparte una estructura similar, sin embargo, su función es muy diferente. Todas estas proteínas desempeñan diversas funciones que se encargan de la regular la proliferación y diferenciación celular, así como la producción de matriz extracelular.<sup>63</sup>

#### Lugar de síntesis.

Es un factor multifuncional que se libera de gran número de células y casi todos los tipos celulares pueden ser estimulados por él.<sup>64</sup> Se sintetiza de manera parácrina.

La mayor parte de las células producen éste factor o responden ante él, sin embargo podemos encontrarlo en mayores concentraciones en el hueso, plaquetas y cartílago.<sup>64</sup>

#### Funciones.

Este factor tiene una acción bifuncional debido a que durante los estadios primarios de formación ósea, recluta y estimula a las células osteoprogenitoras para que proliferen proporcionando un conjunto de osteoblastos primarios. En cambio, durante las fases tardías de



diferenciación de osteoblastos, bloquea la diferenciación y mineralización.<sup>6,65</sup>

Otras funciones de este factor se pueden resumir de la siguiente forma:

- Quimiotáctico de células óseas.
- Débil mitogénico de osteoblastos y preosteoblastos.
- Estimula síntesis de colágeno tipo I.<sup>67</sup>
- Induce a la aposición de matriz ósea.<sup>63</sup>
- Induce la formación de hueso y cartílago cuando se coloca próximo a sitios óseos.<sup>67</sup>
- Tiene interacciones con otros FC, por ejemplo: los niveles del ARN mensajero del FCT- $\beta$  aumentan con el FCF y disminuye la unión del FCDP-AA a su receptor en células óseas.<sup>67</sup>
- Inicia y regula diversos efectos durante la cicatrización de una fractura ósea, ya que las células que se encuentran dentro del callo óseo expresan ARN mensajero del FCT- $\beta$  el cual induce acciones locales durante la reparación de ésta.<sup>63</sup>

El tratamiento con glucocorticoides disminuye el efecto del FCT- $\beta$  durante la síntesis de colágena y de ADN en las células óseas. Su mecanismo de acción parece estar relacionado con el impedimento de la unión de los receptores activados en la membrana.<sup>67</sup>

#### - Proteínas Oseomorfogenéticas/Proteínas Osteógenas.

Las Proteínas Osteógenas y Proteínas Oseomorfogenéticas, como se ha mencionado anteriormente, son parte de la super familia del FCT- $\beta$  debido a sus secuencias aminoácidas, y son inductores sumamente poderosos para la diferenciación ósea endocondral.



Desde la antigüedad es conocido que el hueso tiene grandes capacidades de reparación y regeneración. En 1920, cuando la insulina fue descubierta, el uso de proteínas como terapéutica clínica comenzó a llevarse a cabo para el tratamiento de algunas enfermedades.<sup>68,69</sup>

En el año 1901 Sacerdotti y cols. realizaron la primera serie de investigaciones experimentales acerca de la formación de hueso por inducción. Estos estudios se basaron en la ligadura de la arteria renal en conejos y teniendo como resultado la conversión del riñón en hueso con médula. Gracias a esto, en el año 1945 Lacroix lanzó una hipótesis acerca de unas sustancias llamadas osteogeninas encontradas en hueso que inician el crecimiento y la diferenciación ósea. Ésta hipótesis se basó en la implantación, vía intramuscular, de fragmentos óseos en ácidos alcohólicos en conejos y dando como resultado la formación ósea *de novo*. En el año de 1965, Urist habla por primera vez de la formación ósea por inducción llevando a cabo procedimientos de introducción subcutánea heterotópica de matriz ósea desmineralizada vía intramuscular en ratas observando la formación de hueso endoncondral *de novo*. En 1972, Reddi y Huggins identificaron qué moléculas y acciones bioquímicas se dan a lugar en cada paso de la diferenciación ósea por inducción.<sup>57</sup> Butler y cols. en 1977 descubren que las POMGs también se encuentran en la dentina. En 1988 se descubre por Wozney y cols. que los factores responsables de la actividad de diferenciación ósea de las POMGs son la subfamilia de la super familia del FCT-B. Posteriormente Rosen y Thies en 1992 hablan acerca de la reminiscencia encontrada durante la cascada de eventos celulares que ocurren en la formación de hueso ectópico y la diferenciación de hueso endoncondral embrionario en huesos largos durante el desarrollo y en las fracturas óseas. En 1993, Vanio descubre que las POMGs están presentes durante el desarrollo dental embrionario actuando como moléculas señalizadoras. Al año siguiente, Vukicevik y cols. que las POMGs se encuentran altamente expresadas en todos los tejidos esqueléticos del organismo, y que la ausencia de algún





componente de las POMGs causa anomalías óseas impidiendo la formación de cartílago y hueso (Kingsley y cols). Ese mismo año, Ripamonti descubre que en dientes erupcionados la POMG-3 se encuentra estimulando la reparación del LP, y Rutherford habla sobre la presencia de POMG-7 incrementado la formación de dentina de reparación.<sup>70</sup>

Aunque se les conoce como parte de los FC, las POMGs son otro tipo de proteínas. La diferencia radica en que los FC relacionados con el hueso se encuentran principalmente en la matriz ósea y son liberados durante el remodelado en respuesta al trauma. De ésta manera, modulan o estimulan a las células osteoprogenitoras que están presentes alrededor del área induciendo y acudiendo la formación ósea. Es debido esto que a que los FC dependen de las células progenitoras y que no pueden inducir a la formación ósea *de novo* en sitios ectópicos. Su efecto únicamente se limita a defectos óseos.<sup>64</sup> Sin embargo, las POMGs no requieren de la existencia de células osteoprogenitoras para inducir a la formación ósea, ya que son factores osteoinductivos que controlan el fenotipo celular, estimulando a las células mesenquimatosas para que se diferencien en células formadoras de cartílago y hueso.<sup>64,21</sup>

#### Lugar de síntesis.

El origen principal de las POMGs es la matriz ósea desmineralizada. El proceso para aislarlas y purificarlas fue difícil debido a que sólo una diminuta cantidad de éstas está en el hueso y son los componentes menores de la matriz ósea en comparación con muchos otros FC. Posteriormente, avances científicos, -como la aislación de clones recombinantes-, permitieron el descubrimiento de tres POMGs en hueso bovino las cuales fueron POMG-1, POMG-2 y POMG-3. Desde entonces el número de Proteínas Oseomorfogénicas descubiertas ha aumentado, y hasta hoy se conocen por lo menos 15.<sup>63</sup> No obstante, no todas las



POMGs forman hueso o cartílago en animales adultos por lo tanto es necesario realizar un gran número de estudios para identificar las funciones de cada una de ellas. Su producción se lleva a cabo usando el sistema de expresión celular mamífero – también existe sistema de expresión celular bacteriano y de células de insectos- la cual permite una ejecución competente de modificaciones post-translacionales presentes en las POMGs.

Para producir su expresión celular, la secuencia que codifica a la POMG recombinante se une a un fuerte promotor y a un marcador selectivo. Esta construcción es transferida a una célula hospedera y las células que contienen la secuencia de codificación son seleccionadas por el marcador. A continuación, una serie de líneas celulares son creadas y de ésta forma es escogida la línea que exprese mayores niveles de proteínas. Posteriormente la línea celular deberá ser validada mediante varios pasos, incluyendo el chequeo de la fidelidad de la secuencia de codificación de la POMG recombinante.<sup>71</sup>

Para su producción farmacéutica, las líneas celulares de POMG recombinante son expandidas y congeladas en amplios bancos celulares, de esta forma las células iniciadoras idénticas pueden ser usadas por décadas. Un banco de células es descongelado y gradualmente aumentado a través de medios de crecimiento.

La producción se lleva a cabo en grandes contenedores de fermentación, los cuales son regulados constantemente en su temperatura, crecimiento celular y oxigenación. Posteriormente el medio es cosechado, las células son eliminadas por filtración y la proteína recombinante se purifica del medio a través de cromatografía hasta el 98% de purificación; finalmente el líquido de proteína recombinante es esterilizado por ultrafiltración previo a su colocación en frascos y liofilización.



La disponibilidad de las POMGs recombinantes ha permitido probar las actividades de cada una de ellas, de esta manera se pudo identificar que las POMG-2, POMG-4, POMG-5, POMG-6 y la POMG-7 o PO-1 son proteínas osteoinductivas. De éste grupo de cinco proteínas, únicamente se mencionará usos, funciones y aplicación de la POMG-2 y la POMG-7 debido a su aplicación en procedimientos de Regeneración Periodontal.<sup>77</sup>

### Funciones.

La FDA ha regulado el uso de POMGs y se han realizado estudios experimentales en defectos maxilares en animales y humanos.<sup>64</sup>

La función que desempeñan las Proteínas Oseomorfogénicas durante la vida adulta en cuanto a la formación ósea son dos:

- Osificación Intramembranosa. Consiste en la diferenciación directa de las células mesenquimales en osteoblastos sin pasar por una fase intermedia de formación de cartílago. Este tipo de osificación se presenta en huesos planos del esqueleto craneofacial.
- Osificación Endocondral. Posterior al injerto de las POMGs, se produce la infiltración de éste con células mesenquimales que se diferencian en condroblastos; estas células se hipertrofian y mineralizan y el tejido cartilaginoso se elimina. La formación ósea se observa durante el proceso de maduración y eliminación cartilaginosa, inclusive puede originarse antes, dependiendo de la cantidad de POMGs. El hueso comienza a poblarse con médula hematopoyética y prosigue a la remodelación.<sup>73,77</sup>



\* POMG-2 humana recombinante.

Sus actividades comprenden las siguientes:

- Diferencia células mesenquimales en osteoblastos.
- Quimiotáctica de células de tipo osteoblástico.
- Induce la secuencia completa de osificación endocondral.
- A mayor cantidad de ésta, menor cantidad de tiempo para la formación ósea.
- Induce ambos desarrollos: endoncondral e intramembranoso.
- Aumenta y preserva el reborde alveolar.
- Disminuye el tiempo de la oseointegración de los implantes.<sup>73</sup>

Las grandes desventajas de su uso son que produce zonas de anquilosis en los defectos donde se coloca, además del el alto costo que tiene.<sup>72</sup>

Su uso clínico es principalmente en las reconstrucciones maxilofaciales y crestales, así como en la reparación de fracturas o elevaciones del piso del seno maxilar.

La FDA (U.S. Food and Drug Administration) aprobó en marzo del año 2007 el uso de esta proteína que se encuentra en el mercado con el nombre de Infuse® como una alternativa para el aumento del piso del seno maxilar y defectos localizados del reborde alveolar asociados a cavidades pos extracciones, sin embargo su costo es sumamente elevado en comparación con otros biomateriales ocupados para el mismo fin.<sup>73</sup>



\*PO-1 humana recombinante/POMG-7 humana recombinante.

- Inicia la formación ósea endocondral.
- Promueve la formación ósea de *novo*.
- Promueve el crecimiento de los osteoblastos.
- Mantiene fenotipo osteoblastico.
- Induce cementogénesis en defectos en furcaciones en animales.<sup>63</sup>
- Aumenta la formación ósea alrededor de implantes de titanio.<sup>74</sup>
- A diferencia de la POMGhr-2, esta proteína no causa anquilosis.<sup>72</sup>

La aplicación clínica de esta proteína es similar a la de la POMGhr-2. El empleo terapéutico principal de este factor es:

- Estimulación la regeneración ósea alrededor de los dientes.
- Estimulación la regeneración ósea alrededor de los implantes.
- Contribuye en procesos de aumento del piso del seno maxilar.<sup>75</sup>

#### 6.2.5 Factor de Crecimiento Fibroblástico

El FCF fue aislado de tejido neuronal en 1940, al descubrirse que en el cerebro existían diversas sustancias que estimulaban la división fibroblástica en cultivos. Su nombre se debe a sus efectos de crecimiento en muchas células de tipo fibroblástico.<sup>61</sup>

Se clasifica en factor ácido o básico; el básico tiene funciones más potentes que estimulan a otros factores de crecimiento.



## Lugar de síntesis.

Este factor fue aislado por primera vez en tejido neural, sin embargo, en la actualidad se sabe que se encuentra en diversos tejidos, almacenado y sintetizado, derivado del mesodermo y neuroectodermo y en células con gran capacidad angiogénica. Se encuentra almacenado en hueso, estimula la angiogénesis para la invasión vascular en hueso, tejido blando y migración celular.<sup>61</sup>

## Funciones.

Dentro de sus funciones están la mitogénesis de células derivadas del mesodermo y la diferenciación celular. Esta última se debe a su capacidad de control de síntesis y depósito de varios componentes de la matriz extracelular, -como el colágeno, fibronectina y proteoglicanos-, los cuales afectan la polaridad de la superficie celular y la expresión genética.<sup>52,76</sup>

Otras funciones que realiza este factor son:

- Aumenta el número de osteoblastos por replicación celular.
- No tiene efecto estimulante en osteoblastos maduros.
- Estimula la migración y proliferación endotelial y de células del LP.<sup>64,65</sup>
- Promueve la proliferación de las células mesenquimales y mantiene las características multipotentes de dichas células.<sup>77</sup>

En la **tabla 5** se muestra un resumen de los efectos celulares de los factores de crecimiento usados en la regeneración periodontal, así mismo en la **tabla 6** se encuentran los efectos de estos factores durante las fases de cicatrización.

**Tabla 5.** Efectos celulares de los FC usados en la RP.<sup>49</sup>

FC	EFECTO
<b>FCDP</b>	Migración, proliferación y síntesis de matriz no colágena de células mesenquimales.
<b>FCI-I</b>	Migración celular, proliferación, diferenciación y síntesis de matriz.
<b>FCF-II</b>	Proliferación y unión de células endoteliales y células del LP.
<b>FCT-B</b>	Proliferación de cementoblastos y fibroblastos del LP.
<b>POMG</b>	Diferenciación de osteoblastos, diferenciación de células del LP en osteoblastos.
<b>PDME</b>	Proliferación, síntesis de proteínas y formación de nódulos mineralizados de células del LP, osteoblastos y cementoblastos.

*\*FCDP= FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS; FCI=FACTOR DE CRECIMIENTO INSULÍNICO; FCT-β=FACTOR DE CRECIMIENTO DE TRANSFORMACIÓN BETA;FCF=FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO; POMG=PROTEÍNAS ÓSEOMORFOGENÉTICA.;PDME=PROTEÍNA DE MATRIZ DERIVADA DEL ESMALTE..*

**Tabla 6.** Efectos de los FC por fase de cicatrización.<sup>78</sup>

Fase de cicatrización de la herida	FC	Origen celular	Función
INFLAMATORIA	<b>FCDP</b>	Plaquetas	Aumenta quimiotáxis de macrófagos y monocitos.
	<b>FCT-B</b>	Plaquetas, leucocitos y fibroblastos	Aumenta quimiotáxis de neutrófilos y monocitos.
PROLIFERATIVA	<b>FCF</b>	Macrófagos y células endoteliales	Estimula la proliferación de fibroblastos y la síntesis de matriz extracelular.
	<b>FCDP</b>	Macrófagos y células endoteliales	Estimula la proliferación de fibroblastos y la síntesis de matriz extracelular. Incrementa la proliferación diferenciación y quimiotáxis de las cels. Endoteliales.
	<b>FCT-B</b>	Macrófagos, leucocitos y	Estimula la migración y proliferación epitelial; estimula la



---

		fibroblastos.	síntesis de matriz extracelular; inhibe proteasas y la producción de inhibidores.
REMODELADO ÓSEO Y SÍNTESIS DE MATRIZ	<b>POMG-2</b>	Osteoblastos	Estimula la proliferación celular de los precursores mesenquimales.
	<b>POMG-7</b>	Osteoblastos	Estimula la diferenciación celular de osteoblastos y condroblastos.
	<b>FCF</b>	Osteoblastos y células endoteliales	Estimula la migración de de las células mesenquimales progenitoras.
	<b>FCI</b>	Macrófagos y fibroblastos	Estimula la proliferación osteoblástica y la síntesis de matriz extracelular
	<b>FCDP</b>	Macrófagos	Estimula la diferenciación fibroblastica en miofibroblastos; sestimula la proliferación de células progenitoras mesenquimales.
	<b>FCT-B</b>	Fibroblastos y osteoblastos.	Induce la apoptosis de cels. Endoteliales y fibroblastos; induce la diferenciación de fibroblastos; quimiotáxis y supervivencia de osteoblastos

---

*\*FCDP= FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS; FCI=FACTOR DE CRECIMIENTO INSULÍNICO; FCT-β=FACTOR DE CRECIMIENTO DE TRANSFORMACIÓN BETA;FCF=FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO;POMG-2=PROTEÍNAS ÓSEOMORFOGENÉTICA-2; POMG-7=PROTEÍNA OSEOMORFOGENÉTICA-7.*





### 6.3 Proteínas Derivadas de la Matriz del Esmalte.

Las Proteínas Derivadas de la Matriz del Esmalte (PDME) son una preparación de extracto proteínico de ácido acético de gérmenes dentales porcinos en desarrollo que contienen una mezcla de proteínas de bajo peso molecular.<sup>3,79</sup>

La idea del uso de PDME como molécula señalizadora se debe a la creencia de que ésta imita, durante la regeneración de la lesión, la formación del aparato de unión periodontal en el desarrollo dental.<sup>80</sup> En 1976, Slavkin escribió sobre la evidencia real de que la vaina radicular epitelial de Hertwig secreta proteínas derivadas del esmalte en la formación radicular, y éstas son las responsables de la formación de cemento acelular durante el desarrollo dental; sin embargo el concepto de el uso de éstas proteínas para promover la regeneración periodontal fue introducido por Hammarström en 1997 y reafirmado por Gestrelus y cols. en el año 2000.<sup>81</sup> A partir de esto se han realizado una gran serie de investigaciones experimentales *in vitro* para conocer el mecanismo de acción de la PDME; las primeras se realizaron con el fin de conocer las acciones celulares que conlleva la aplicación de la matriz como el reclutamiento celular, la proliferación y la diferenciación de las células del LP y los osteoblastos (Tokiyasu y cols 2000; Van der Pauw 2000) y la inhibición de la proliferación de las células epiteliales (Kawase y cols. 2000,2001). Consecuentemente, se ha utilizado las PDME en los procedimientos terapéuticos para la regeneración de tejidos periodontales (Giannobile y Somerman 2003).<sup>82,83</sup>

La matriz derivada del esmalte tiene la habilidad de promover una verdadera regeneración periodontal en humanos al inducir nuevo cemento acelular, LP y formación de hueso alveolar. Gracias a ésta creencia es que este producto se ha utilizado en procedimientos de RP.<sup>84</sup>



## Lugar de Síntesis.

Se origina de la extracción de proteínas derivadas del esmalte de gérmenes dentarios porcinos durante el periodo embrionario, estas proteínas son secretadas por la vaina epitelial radicular de Hertwig e inician la diferenciación de cementoblastos así como la inducción de la formación de cemento acelular. La matriz del esmalte cruda es removida de estos dientes y posteriormente las proteínas se extraen y purifican; posteriormente estas proteínas se siembran y se mezclan con un vehículo a base de alginato de propilenoglicol para colocarse en las raíces acondicionadas de los defectos óseos periodontales.<sup>3</sup>

Se compone de gran mezcla de proteínas, dentro de las cuales el 90% corresponde a amelogeninas, sin embargo, estas proteínas no tienen efectos significativos en la proliferación o quimiotaxis de células de LP *per se*, es por esto que el uso clínico de la MDE requiere de una interacción combinada de varios componentes de la matriz del esmalte.<sup>9,85</sup>

En el mercado únicamente existe una casa que lo produce y se le ha dado el nombre de Emdogain® de la casa Straumann. Este producto consiste en una mezcla de matriz derivada del esmalte y un vehículo a base de alginato de propilenoglicol llamado Emdogain gel®.<sup>86</sup>

## Funciones.

- Promueve la formación de la proliferación de las células del LP.
- Incrementa la síntesis de proteínas de las células del LP.
- Promueve la formación de nódulos mineralizados por las células del LP.<sup>87</sup>
- Aumenta la formación de matriz mineralizada.
- Libera los siguientes FC: FCI, FCT-*b*, FCF-2.



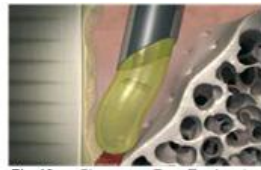
- Reduce la flora patogénica local debido a la acción antimicrobiana del vehículo.<sup>88</sup>
- Su principal función es la estimulación de la formación de cemento acelular, lo cual permitirá la formación del ligamento periodontal.

Las PDME se aplica es superficies radiculares denudadas; esta matriz se precipita para formar una matriz extracelular con una superficie hidrofóbica capaz de soportar interacciones entre las células de tejidos adyacentes.

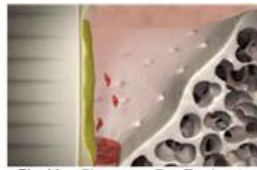
Posterior al desbridamiento, las raíces de los órganos dentarios adyacentes al defecto intraóseo, - al cual se le realizará la aplicación este FC -, se acondicionan previamente por dos minutos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) en gel, el cual tiene un pH de 6.7. Esto se hace con el fin de eliminar los restos de barrillo dentinario. Posteriormente se irrigan perfectamente bien con solución salina para eliminar cualquier resto de EDTA. Inmediatamente después se realiza la colocación del Emdogain® que se lleva al sitio del defecto a través de su vehículo.<sup>89</sup> En las **Figs. 10 a 17** Se muestra el mecanismo de acción de Straumann Emdogain®.

La duración de este factor en el sitio de aplicación es por más de 4 semanas posterior a la colocación. No se conoce la causa de esta prevalencia, sin embargo se cree que es debido a que ayuda durante la primera fase de cicatrización.

Su principal desventaja es que no sostiene al colgajo en defectos muy amplios por lo que se ha tenido que formular una combinación de éste con membranas o substitutos óseos.<sup>92</sup>



**Fig.10** Straumann® Emdogain se distribuye uniformemente y se precipita sobre la superficie radicular para formar una matriz extracelular.



**Fig.11** Straumann® Emdogain estimula la atracción y proliferación de células mesenquimales desde la parte superior.



**Fig.12** Se segregan citoquinas naturales y específicas, así como sustancias autocrinas, lo que promueve la proliferación necesaria.



**Fig.13** Atracción y diferenciación a cementoblastos, que comienzan con la formación de la matriz de cemento donde se fijan las fibras periodontales.



**Fig.14** La capa de cemento de nueva formación aumenta de grosor. Las fibras de ligamento periodontal se anclan a la superficie radicular.



**Fig.15** En unos meses, el defecto se rellena con tejido periodontal de nueva formación.



**Fig. 16** Crece nuevo hueso alveolar sobre la capa de cemento y en el hueco del defecto.



**Fig.17** Straumann® Emdogain regenera la compleja estructura dental del periodonto, estableciendo un nuevo soporte funcional.

**Fig. 10 a 17** mecanismo de acción del Straumann® Emdogain.<sup>99</sup>



## 7. APLICACIÓN CLÍNICA DE LAS MOLÉCULAS DE SEÑALIZACIÓN BIOLÓGICA.

### 7.1 Estudios periodontales realizados con Moléculas de Señalización Biológica.

#### 7.1.1 Estudios *in vitro*.

A partir del año 1988 comenzaron a realizarse una serie de investigaciones experimentales *in vitro* en células animales y humanas. Las primeras fueron realizadas en ratas y perros, en células óseas, y células del LP; las segundas se realizaron principalmente en células del LP.

La **tabla 6** muestra el resumen de los estudios experimentales *in vitro*.

El FC mas utilizado fue el FCDP, sin embargo también fueron utilizados el FCI, FCT, FCF.

Los hallazgos encontrados en estos estudios fueron:

- La combinación de los FC que brindaron los mejores resultados son FCDP+ FCI.
- Defectos periodontales tratados con FCDP+FCI estimulan la formación del aparato de inserción periodontal.
- La isoforma con mayor potencia del FCDP es el FCDP-BB. Esto se debe a que produce en los fibroblastos quimiotaxis, proliferación y síntesis de proteínas colágenas. Así mismo afirmaron este factor tiene función parácrina, ya que estimula a ciertas células para que secreten sus propios factores de crecimiento.
- El FCDP actúa como inhibidor de toxinas bacterianas debido a que inhabilita la síntesis de hialuronidasa, pues evita la acción de los

productos bacterianos acumulados en las superficies radiculares que impiden la proliferación fibroblástica.

- Los FC no producen toxicidad aún en concentraciones suprafisiológicas ya que actúan sobre la morfología de las células fibroblásticas y no influyen en la función mitogénica de éstas.<sup>59</sup>

**Tabla 6.** Estudios experimentales *in vitro*.<sup>62</sup>

Autor y año	Tipo de estudio	FC utilizado	Hallazgo
Kolch y cols 1988.	Animal	<b>FCI</b>	Estimulación de la matriz ósea.
Lynch y cols. 1989.	Animal	<b>FCI/FCDP</b>	Formación de nuevo ligamento sin anquilosis.
Terranova y cols; Tweedden y cols. 1989	Animal	<b>FCF</b>	Migración y proliferación de células del LP y células epiteliales.
Matsuda y cols. 1992	Animal	<b>FCF, FCDP y FCT</b>	FDCP+FCI mas efectivo; la forma de FDCP-BB es la isoforma mas potente.
Blom y cols. 1994	Animal	<b>FCE/FCDP/ FCF</b>	Los FC influyen en la función mitogénica celular.
Cho y cols. 1994	Animal	<b>FCDP</b>	Las células del LP tienen tres receptores para cada uno de los dímeros del FDCP.
Giannobile y cols. 1997	Animal	<b>FCDP/FCI/ FCF/FCT</b>	Los resultados <i>in vivo</i> se modifican debido a la secreción de citoquinas proinflamatorias liberadas por un factor psicológico que contribuye a la liberación de algunas células presentes en la reabsorción ósea.
Pinche y cols. 1989	Humano	<b>FCDP</b>	Estimulación de la proliferación de células periodontales.



---

Bartold y cols. 1992	Humano	<b>FCDP</b>	Inhibidor de toxinas bacterianas.
Denninson y cols. 1989	Humano	<b>FCDP/FCT</b>	Los fibroblastos periodontales responde mayormente a los FC que los fibroblastos gingivales.

---

\*FCDP= FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS; FCI=FACTOR DE CRECIMIENTO INSULÍNICO; FCT=FACTOR DE CRECIMIENTO DE TRANSFORMACIÓN; FCF=FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO.

### 7.1.2 Estudios *in vivo*.

Tras los primeros estudios de Srugel y Mcpherson en 1987 se comenzaron aplicaciones *in vivo* en la práctica periodóncica a partir del año 1989. Se realizaron en animales, principalmente en defectos periodontales en perros y monos, y en humanos.

El FC mayormente utilizado fue el FCDP. De igual forma se utilizaron otros factores individualmente o combinados y los hallazgos encontrados en estos estudios fueron:

- Existe una fuerte evidencia de que el vehículo utilizado en la colocación de FC influye directamente en la eficacia del mismo.
- La vida media de un FC es muy corta, sin embargo al desencadenar eventos estimulan la regeneración periodontal aunque ya no estén presentes.
- Los FC están en mayor cantidad durante la enfermedad periodontal en los humanos, este es el efecto de retroalimentación. Esto permite que se de una alimentación autocrina a partir de células de de tipo inflamatorio permitiendo una autorregulación de la enfermedad.<sup>64</sup>



- Los FC pueden actuar como factores de competencia (FCDP) haciendo que la célula entre en el ciclo celular a partir de la fase de reposos G<sub>0</sub>; o pueden actuar como factores de progresión (FCI), una vez que las células adquieren la capacidad para iniciar el ciclo celular.<sup>47</sup>

#### Estudios realizados con el FCDP-BB.

El FCDP-BB fue evaluado en humanos en tres estudios recientes. El primero se evaluó en conjunto con un Aoinjerto Óseo Seco Desmineralizado, Congelado y Deshidratado (DFDBA) en el tratamiento de tres defectos óseos periodontales. Histológicamente se halló evidencia de regeneración periodontal. El estudio mas reciente evaluó los beneficios de FCDP humano recombinante asociado con fosfato tricálcico beta sintético para el tratamiento periodontal de 180 pacientes. Este estudio demostró que el uso de este factor es seguro e incrementa el llenado óseo y la unión gingival a las superficies radiculares de los dientes tratados.<sup>34</sup>

#### Estudios realizados con la POMG-2.

Desde 1997 comenzaron a realizarse estudios en pacientes para mostrar su eficacia y seguridad. Las conclusiones a las que se llegaron fueron las siguientes:

- La Ingeniería genética proporciona proteínas terapéuticas.
- Esta proteína promueve la neoformación ósea en sitios atróficos.
- La POMG-2 humana recombinante requiere de un vector. La Esponja de Colágeno Bioabsorbible (ECB) muestra los mejores resultados.
- Esta combinación de POMGhr-2/ECB es segura para su uso humano.





- Posterior a la extracción dental, la POMGhr-2 asegura un volumen óseo estable.
- Esta proteína permite el aumento de volumen óseo subsinusal.<sup>32</sup>

En estudios clínicos se ha demostrado que:

- Se ha utilizado en defectos periodontales supracrestales, fenestraciones, en furcaciones y se ha encontrado ganancia ósea y de cemento de 3.5 mm y 1.6 mm respectivamente en comparación con sitios de control donde las ganancias fueron de 0.8 y 0.4 mm.<sup>90</sup>
- Aumenta la supervivencia de implantes colocados cerca del seno maxilar cuando se coloca en una dosis de 1.5 mg/ml con ECB como andamio. Debido a que actúa como osteoinductora permitiendo colocar una carga funcional a los implantes.<sup>91</sup>
- Su uso junto con una ECB ayuda a la preservación o aumento del reborde alveolar posterior a una extracción.<sup>92</sup>

Estudios realizados con la OPhr-1/POMG-7.

Ripamonti y cols. realizaron un estudio en 2001.<sup>93</sup> Se estudiaron 12 furcaciones de premolares en tres primates. Se trató un primate con POhr-1, otro con POMGhr-2 y el último con ambas. Después de 60 días se encontraron los siguientes hallazgos:

- El primer primate tratado con POhr-1 mostró cementogénesis sustancial pero relativamente poca formación ósea.
- El segundo primate tratado con POMGhr-2 recombinante mostró poca cementogénesis y mayor formación ósea de todos los primates.
- El tercer primate tratado con POhr-1 y POMGhr-2 obtuvo la menor cantidad de hueso formado y la formación del aparato de unión; esto se debe principalmente la dosis colocada.



Estudios realizados con el FCF.

En estudios realizados en perros y primates no humanos, induce a las células del ligamento periodontal a producir un ambiente regenerativo que soporte la regeneración y la angiogénesis. Las células son inducidas para producir matriz extracelular que contiene heparán sulfato, osteopontina y hialuronato los cuales están asociados comúnmente a la cicatrización. Al realizarse estudios histológicos se reveló la neoformación de CR con fibras de Sharpey; fibras del LP orientadas funcionalmente y nuevo hueso alveolar. Esto sugiere que la aplicación tópica del FCFb podría ser eficaz en la regeneración de tejido periodontal que ha sido destruido por enfermedad periodontal.<sup>94</sup>

En estudios clínicos controlados se realizó la colocación de FCFb en diferentes dosis, de tal forma que pudiera determinarse la seguridad de la aplicación del factor así como la dosis indicada para la regeneración periodontal. El estudio se realizó en 80 pacientes que contaban con defectos periodontales verticales de 2 y 3 paredes  $\geq 3$  mm de la cresta alveolar. Estos pacientes fueron divididos en cuatro grupos:

- Grupo A. de control.
- Grupo B. 0.03% de FCFb.
- Grupo C. 0.1% de FCFb.
- Grupo D. 0.3% de FCFb.

Los pacientes fueron sometidos a cirugía periodontal durante la cual se les aplicó 200  $\mu$ l de la sustancia placebo como vehículo al sitio de la lesión. Después de 9 meses se encontró un incremento significativo en la altura del HA a través de radiografías estándar entre el grupo A (23.9%) y el grupo D (58.62%).



No se presentaron efectos secundarios durante el curso de este estudio clínico. Los resultados sugirieron que la aplicación tópica del FCFb puede ser eficaz en la regeneración periodontal de pacientes con defectos de 2 y 3 paredes.<sup>94</sup>

La **tabla 7** muestra un resumen de los estudios experimentales *in vivo*.

**Tabla 7.** Estudios experimentales *in vivo*.<sup>61</sup>

Autor y año	Tipo de estudio	FC utilizado	Hallazgos
Lynch y cols. 1991.	Animal	<b>FCDP/FCI</b>	Desencadenan una cascada de eventos provocando regeneración periodontal sin anquilosis.
Eppley y cols. 1991	Animal	<b>FCF</b>	Coadyuvante en la cicatrización de tratamientos de autoinjertos.
Rutherford y cols. 1993	Animal	<b>FCDP</b>	Acción sinérgica de los FC con dexametasona.
Selvig y cols. 1994	Animal	<b>FCI/FCF/FCT</b>	Importancia del vehículo de transporte y retroalimentación.
Cho y cols. 1995	Animal	<b>FCDP</b>	Sinergismo con membranas y acondicionamiento radicular con ácido cítrico.
Giannobile y cols. 1996	Animal	<b>FCI/FCDP</b>	El FCDP actúa como factor de competencia; el FCI actúa como factor de progresión.
Sculean y cols. 1997	Animal	<b>FCDP</b>	Formación de fibras de colágeno apicocoronales a partir de fibras



---

			oxitalámicas.
Tatakis y cols. 2000	Animal	<b>FCT</b>	El uso de carbonato cálcico como vehículo disminuye su eficacia.
Howell y cols. 1997	Humano	<b>FCI/FCDP</b>	El uso de FC en humanos y la relación entre dosis y el vehículo transportador.
Skaleric y cols. 1997	Humano	<b>FCT</b>	Retroalimentación durante la EP.

---

*FCDP= FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS; FCI=FACTOR DE CRECIMIENTO INSULÍNICO; FCT=FACTOR DE CRECIMIENTO DE TRANSFORMACIÓN; FCF=FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO.*

#### Estudios realizados con las PDME.

En estudios clínicos se ha encontrado que la colocación de estas proteínas produce un incremento en la ganancia de la formación del aparato de unión periodontal, así como aumenta la ganancia de formación de hueso en defectos intraóseos y disminuye la profundidad de las bolsas periodontales. Esto se ha demostrado gracias a la realización de múltiples estudios comparativos acerca de la realización de desbridamientos por colgajo y desbridamientos por colgajo con la aplicación de PDME.<sup>95</sup>

Así mismo se ha demostrado su éxito al colocarse en defectos en furcaciones clase II, reduciendo la profundidad horizontal del defecto, el dolor post-operatorio y la hinchazón.<sup>96</sup>

Estudios clínicos controlados realizados por Lekovic y cols. en el año 2000 y Zucchelli y cols. en el 2003, han indicado que la combinación de PMDE con xenoinjertos óseos bovinos pueden aumentar el nivel de inserción comparado con la colocación de PDME solas; sin embargo, existe aún gran controversia sobre la capacidad de éstos biomateriales a ser reabsorbidos y sustituidos por hueso recién formado.<sup>97</sup>

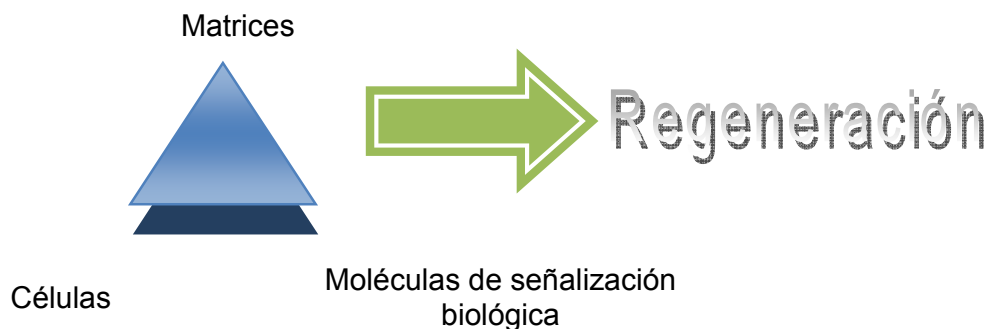
Combinaciones de PMDE con injerto de hueso autógeno fueron comparados con tratamientos de regeneración con PMDE únicamente. Los resultados indicaron que ambos tratamientos resultaron en ganancias de inserción comparables así como llenado óseo; sin embargo se encontró menor recesión en el tratamiento combinado.<sup>98</sup>

## 7.2 Matrices para la colocación de Moléculas de Señalización Biológica.

La ingeniería tisular es una ciencia contemporánea de investigación biomédica aplicada, dirigida al desarrollo de procedimientos y biomateriales para la fabricación de nuevos tejidos con el fin de sustituir tejidos dañados. Su base está en la biología celular, biología evolutiva y la ciencia de los biomateriales.<sup>99</sup>

Para que la ingeniería tisular resulte exitosa requiere de tres componentes: células cultivadas e implantadas que crearán el nuevo tejido, un biomaterial que actúe como andamio o matriz para sostener las células y moléculas de señalización que instruyen a las células para formar el tejido deseado. Véase la **Fig. 18**.<sup>100</sup>

Las matrices son materiales y biomateriales capaces de soportar la inserción celular y en algunos casos son capaces de proveer la entrada necesaria para un desarrollo espacial y temporal controlado.<sup>101</sup>



**Fig.18** determinantes de la ingeniería tisular en periodoncia.<sup>103</sup>



La biocompatibilidad, biodegradabilidad, porosidad, capacidad para inducir el crecimiento celular y su uso como vehículo administrador de genes y proteínas son las rasgos esenciales e indispensables de los materiales andamio.<sup>102</sup>

Se han utilizado gran cantidad de materiales como matrices de sostén o andamios. En la **tabla 8** se muestran los diferentes biomateriales utilizados como andamios que se encuentran en el mercado. A continuación se mencionarán lo más utilizados así como las características ideales de estos materiales:

- Aloinjertos óseos.
- Cerámicos sintéticos.
- Colágeno bovino tipo I.
- Polímeros sintéticos y naturales.
- Sulfato de calcio.
- Membranas de titanio.
- Matriz extracelular.

Para que un material andamio se considere idóneo deberá contar con las siguientes características:

- Evitar el colapso de los tejidos del área de cicatrización proveyendo soporte físico. Los materiales que proveen mejores resultados para este fin son los aloinjertos óseos y cerámicos sintéticos como el fosfato tricálcico.
- Actuar como barrera evitando la migración celular de manera selectiva. Aquí se puede mencionar los materiales usados en la RTG como los polímeros sintéticos y naturales. Algunos ejemplos de éstos son la membrana no reabsorbible de politetrafluoroetileno

expandido, la membrana reabsorbible de ácido poliglicólico y el sulfato de calcio.

- Proceder como matriz de soporte para la proliferación y migración celular, tal es el ejemplo de la acción que efectúa la matriz colágena.
- Servir potencialmente como un mecanismo de liberación temporal de moléculas de señalización.<sup>103</sup>

**Tabla 8.** Tipos de biomateriales utilizados como matrices.<sup>97</sup>

Biomaterial	Nombre comercial
<b>Aloinjertos</b>	
DFDBA	Distribuido bajo varios nombres en los bancos óseos.
FDBA	Distribuido bajo varios nombres en los bancos óseos.
<b>Xenoinjertos</b>	
XOB Hidroxiapatita	Bio-Oss®, OsteoGraft®, Pep-Gen P-15®
<b>Aloplásticos</b>	
Fosfato tricálcico	Synthograft®
Hidroxiapatita	Periograft®, Osteogen®, ProOsteone®
VCB	PerioGlas®, BioGran®
Polímero de reemplazamiento de tejido duro	Bioplant®
Carbonato cálcico de Coralina	Biocoral®
<b>Polímeros y colágenas</b>	
Colágena	Collaplug®, Collacote®, Gelfoam®, Helistat®
Láctico-poliglicólico	
Metilcelulosa	
Éster hialurónico	

*\*DFDBA=aloinjerto óseo desmineralizado, congelado y deshidratado siglas en inglés; FDBA aloinjerto óseo congelado y deshidratado siglas en inglés; XOB= xenoinjerto óseo bovino;VCB= vidrio cerámico bioactivo.*

Injertos alogénicos y aloplásticos óseos.

Desde 1970 se han utilizado los DFDBA (aloinjerto óseo desmineralizado, congelado y deshidratado siglas en inglés) y FDBA (aloinjerto óseo congelado y deshidratado siglas en inglés) debido a sus



características como materiales ideales regenerativos.<sup>84</sup> Casos clínicos controlados indican que el llenado óseo varía de entre 1.3 a 2.6 mm al usar FDBA en defectos periodontales; así mismo se ha evaluado el uso de DFDBA en defectos periodontales con un llenado óseo que varía de 1.7 a 2.9 mm.<sup>16</sup> En contraste, otros estudios han evaluado a estos aloinjertos y han cuestionado su potencial osteogénico, sugiriendo que esto dependerá del monto óseo, los procedimientos de procesado utilizados y las características del donador.<sup>104</sup>

Alternativamente existe una gran variedad de xenoinjertos y materiales aloplásticos disponibles para su utilización como andamios.

Los injertos óseos aloplásticos consisten en cerámicas como la hidroxiapatita, hidroxiapatita porosa, fosfato tricálcico y polímeros composites biocompatibles.

La hidroxiapatita es un material con grandes capacidades mecánicas, sin embargo, debido a su porosidad, su resistencia no es la más adecuada. Otra desventaja muy importante de este material es que la neovascularización del injerto es casi nula debido a la ausencia de conexiones entre los poros de ésta; no obstante, se ha descubierto que las células cultivadas en este andamio, desarrollan altas capacidades osteogénicas.<sup>103</sup>

El fosfato tricálcico es uno de los materiales de cerámica porosos biodegradables y es altamente biocompatible, sin embargo tiene constata de escasas propiedades mecánicas. Clínicamente es usado en combinación con el FCDP-BB debido a la gran cantidad de estudios realizados en animales y humanos que han probado su seguridad. Así mismo se identificó que el 45% del FCDP-BB absorbido, fue liberado por este andamio a lo largo de 10 días, posteriormente este material fue reabsorbido y remplazado por periodonto regenerado.<sup>103</sup> Éste material





rellena los defectos óseos y provee una matriz de soporte previniendo el colapso de los tejidos circundantes a la lesión. Es un material osteoconductor y ayuda a cicatrizar más rápidamente al tejido.<sup>84</sup> No obstante se ha determinado que este material al ser colocado se degrada muy rápidamente por lo que se han desarrollado nuevas mezclas de éste con hidroxiapatita o polímeros. Al ser materiales híbridos se describen como vehículos fiables para la distribución celular.<sup>88</sup>

### Membranas de colágena

El colágeno es una proteína estructural para el soporte tisular; así mismo juega un rol muy importante en la cicatrización de las heridas actuando como un andamio biológico para las actividades celulares tales como la unión, migración y proliferación.<sup>84</sup>

Ha sido ampliamente usado en la ingeniería tisular para germinar células madre mesenquimales así como para incorporar moléculas de señalización biológica.<sup>105,106</sup>

Debido a que la mayoría de las membranas colágenas han sido obtenidas de la piel o tejido esquelético bovino existen grandes consideraciones acerca de su pureza. Esto ha propiciado la producción de andamios atelocollagenos que son una modificación de la estructura del colágeno a los cuales se les altera los telopéptidos N-antigénico y C-terminal.<sup>88</sup>

### Sulfato Cálcico.

Este material de injerto es uno de los utilizados con mayor antigüedad. Estudios clínicos en animales indican que es biocompatible, se degrada en un tiempo y es remplazado subsecuentemente por hueso regenerado



así como puede utilizarse en tejido infectado sin presentar mayores complicaciones.<sup>107</sup>

Recientemente se ha publicado que funciona como material de barrera, aumenta la angiogénesis y es efectivo como vehículo de antibióticos y factores de crecimiento.<sup>89,108,109</sup>

Otro beneficio de la aplicación del sulfato cálcico es que disminuye localmente el pH.<sup>110</sup>

Polímeros reabsorbibles y no reabsorbibles.

Membrana de politetrafluoroetileno expandido no reabsorbible.

Los resultados del uso de membranas no reabsorbibles como el Politetrafluoroetileno expandido (PTFEe) muestran un aumento del llenado óseo sustancial de 3 a 5 mm con materiales de injerto con mejores resultados en defectos de 3 paredes.<sup>33</sup>

La desventaja de estos materiales de andamio es que, -como su nombre lo indica-, no pueden ser reabsorbidos por lo que requiere una segunda intervención quirúrgica para eliminar la membrana.

Este tipo de membrana ha sido elaborada principalmente para guiar el tejido como una membrana barrera; sin embargo también puede ser utilizada como una membrana nutritiva de células específicas, expandidas *ex vivo* y luego ser aplicada en el sitio del defecto.<sup>88</sup>



$\alpha$ -hidroxiácidos. Reabsorbibles.

Los polímeros reabsorbibles como el ácido poliglicólico y ácido poliláctico han sido considerados como agentes para la IT debido a sus propiedades biocompatibles. Una gran ventaja de este material es que no requiere de una segunda intervención quirúrgica debido a que, -como su nombre lo indica-, la membrana se reabsorbe.

Estos materiales han sido sumamente usados para el cultivo de células en la IT, su degradación natural por medio de procesos no enzimáticos ocasiona que los productos de desecho que rodean al implante se eliminen por rutas de degradación tisular normales sin producir reacciones de inflamación crónica contra un cuerpo extraño.

Se manipulan químicamente para que sean degradados en un tiempo de conveniencia para el clínico y se comercializa en formas y tamaños variables según las características del sitio de lesión dónde se colocará.<sup>88</sup>

Otra gran ventaja de estos materiales es que permiten la adhesión celular con mayor rapidez que las membranas de PTFEe, y sus resultados clínicos son comparables.<sup>111</sup>

Membranas de titanio.

Es un andamio no reabsorbible que cuenta con grandes propiedades mecánicas debido a su rigidez, lo cual lo convierte en un material con grandes ventajas para su colocación en defectos de gran tamaño debido a que evita la inclusión de tejido epitelial al sitio de la lesión.<sup>88</sup>

Diversos estudios demuestran que este tipo de andamio es ampliamente recomendable para sostener el crecimiento y la osteogénesis que brindan las células medulares.<sup>112</sup>



Andamios de la matriz extracelular.

Los derivados de la matriz extracelular han sido desarrollados como productos comerciales para la distribución celular. Su gran desventaja es que, al incorporar derivados animales o tejidos alógenos pueden constituir una fuente de agentes patógenos.

Otra alternativa es la construcción de matriz extracelular *in vitro* debido a que induce potencial biodegradable. Xiao y cols. han llevado a cabo diversos estudios para comprobar su eficacia y seguridad. Uno de estos estudios consistió en la construcción de una matriz formada por osteoblastos *in vitro*, que posteriormente fue utilizada como andamio para el trasplante de osteoblastos con el fin de producir osteoinducción en defectos periodontales de tamaño crítico *in vivo*. El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera: se cultivaron osteoblastos humanos durante tres semanas con el fin de que produjeran su propia matriz estructurada, una vez lograda la formación de ésta, se verificó que las células osteoblasticas sobrevivieran y proliferaran dentro de dicha matriz. Posteriormente se trasplantó el andamio en los defectos óseos y se descubrió que los osteoblastos del defecto se diferenciaban a través de los osteoblastos y células mesenquimatosas trasplantadas.<sup>113</sup>

### 7.3 Aplicaciones de las Moléculas de Señalización Biológica en la Ingeniería Tisular.

El proceso de cicatrización de tejidos naturalmente resulta en una reparación. Por medio de ingeniería tisular, el proceso de cicatrización es manipulado para que se presente una regeneración.<sup>114</sup>

Ejemplos del uso temprano de ingeniería tisular incluye la utilización de injertos óseos y plasma rico en plaquetas, sin embargo existen reportes



del poco éxito del uso de estos biomateriales. Con el desarrollo de FC recombinantes y morfógenos, así como el uso de andamios sintéticos, el nivel de éxito ha aumentado.<sup>100</sup>

La ingeniería tisular es ahora aplicable con dos sistemas comerciales disponibles los cuales consisten en el uso de FCDP-BB y fosfato tricálcico beta (GEM 21S®; Osteohealth, Shirley, NY, USA) y POMG con esponja de colágena tipo I (INFUSE®; Medtronic Sofamore Danek, Memphis, TN, USA). De la misma manera se está desarrollando un tercer sistema, el cual consistirá en la utilización de FCFb-II.<sup>100</sup>

GEM 21S® es una matriz que aumenta el FCDP-BB. Sus indicaciones son en defectos infraóseos, furcaciones y recesiones gingivales asociadas a defectos periodontales.<sup>115</sup> En la **fig. 19** se muestra la presentación de GEM 21S® así como su uso en la colocación de implantes y en las **Figs. 20 a 26** se muestran fotografías clínicas del uso de este biomaterial así como imágenes radiográficas.

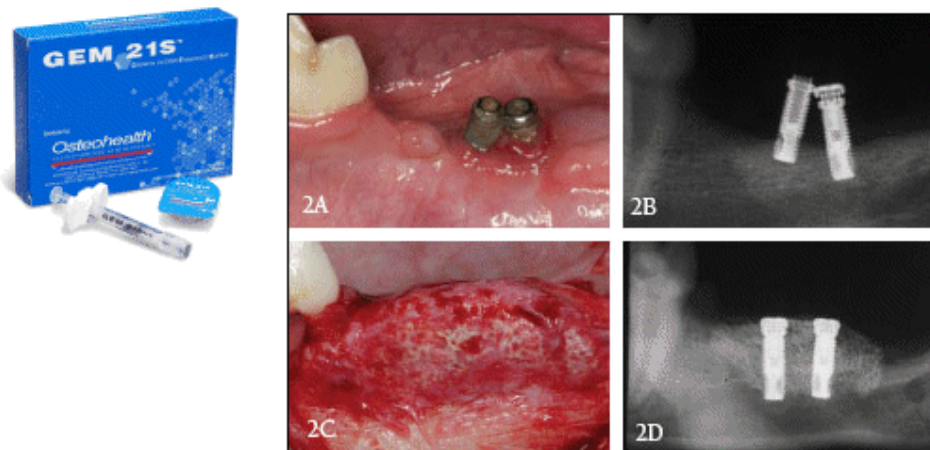
No debe ser usado cuando:

- Haya presencia de infecciones agudas no tratadas en el sitio quirúrgico.
- En presencia de neoplasias malignas en el sitio quirúrgico.
- Cuando el tejido blando que rodea al defecto no pueda cubrir el sitio operativo.
- Exista hipersensibilidad a los componentes de la fórmula.<sup>118</sup>

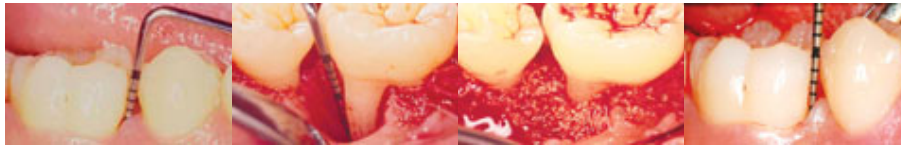
Su seguridad aún no ha sido establecida en pacientes menores de 18 años, pacientes embarazadas o que se encuentren en periodo de lactancia, en defectos óseos no periodontales, pacientes con fuerte adicción al tabaco (fumadores de más de 20 cigarrillos al día), en pacientes con furcaciones clase III o en dientes que padecen movilidad mayor a grado II.<sup>118</sup>

La forma de utilizar este biomaterial es la siguiente:<sup>118</sup>

- Se debe contar con una radiografía previa a la cirugía.
- Exponer el defecto mediante un colgajo de espesor total y remover todo el tejido de granulación para garantizar la eficacia del injerto.
- Posteriormente se debe estimar la cantidad de GEM 21S® requerida para llenar el defecto.
- Se debe evitar la sobreobtención del defecto.
- Para prepararse, el GEM 21S® debe ser totalmente saturado con partículas de fosfato tricálcico- $\beta$  con la solución del FCDPhr-BB y dejar asentar el producto por aproximadamente 10 minutos.
- Posteriormente esta preparación debe ser colocada en el defecto con presión moderada y teniendo cuidado en no desintegrar las partículas. Para que se obtenga el efecto deseado, el injerto debe colocarse en contacto directo a hueso vascularizado.
- Una vez colocado el injerto se debe reposicionar el colgajo y suturar para lograr, en lo posible, una cicatrización de primera intención.



**Fig. 19** Presentación de GEM 21S® y su uso en la colocación de implantes dentales.<sup>118</sup>



**Fig.20** sondeo de 11 mm de profundidad de bolsa.

**Fig.21** 10 mm de profundidad por 4 de pared a pared

**Fig.22** Colocación de GEM 21S®

**Fig.23** 6 meses después de la cirugía el sondeo disminuyó 6 mm.



**Fig.24** radiografía preoperativa

**Fig.25** 6 meses después de la cirugía

**Fig.26** 18 meses después de la cirugía

**Figs. 20-26.** <sup>118</sup>

El injerto óseo INFUSE® contiene un material sintético aprobado por la FDA. En la **Fig. 27** se muestra la presentación de este producto. Su uso está indicado para los siguientes procedimientos quirúrgicos orales y maxilofaciales:

- Aumento del piso del seno maxilar.
- Aumento del reborde alveolar en zonas localizadas.

Este consiste en dos componentes esenciales, la POMGhr-2 en una presentación pura, congelada, seca y pulverizada, y un vehículo de esponja colágena absorbible hecha de materiales encontrados en hueso y tendones. Este vehículo se encarga de liberar la proteína al ser colocada en el defecto y de esta manera funciona como andamio donde se forma nuevo hueso. Después de que el sitio de colocación del injerto cicatriza, la esponja de colágena es absorbida y reemplazada por tejido óseo.<sup>116</sup>

Una de las principales ventajas de su uso es que es una alternativa al uso de autoinjertos. Antes de que se utilizara, la opción de colocar autoinjertos era la que brindaba mayores resultados, sin embargo gracias al empleo de INFUSE® se pueden obtener resultados osteogénicos similares sin necesidad de realizar un segundo lecho quirúrgico.

Su uso está restringido en los siguientes casos:

- Pacientes menores de 18 años.
- Embarazadas o en periodo de lactancia.
- Hipersensibilidad a los componentes de la fórmula.
- En sitios cercanos a una resección tumoral.
- En pacientes que cursan con alguna lesión maligna activa o que se encuentran en tratamiento.
- En pacientes con infecciones activas en el sitio quirúrgico.<sup>119</sup>

La forma en que se utiliza este biomaterial es la siguiente:

- La POMGhr-2 debe ser mezclada con agua estéril.
- Ésta solución se coloca en la membrana colágena.
- Posteriormente se lleva al sitio quirúrgico donde inducirá a la nueva formación de tejido óseo.<sup>119</sup>



**Fig. 27** Presentación comercial de INFUSE®.<sup>119</sup>





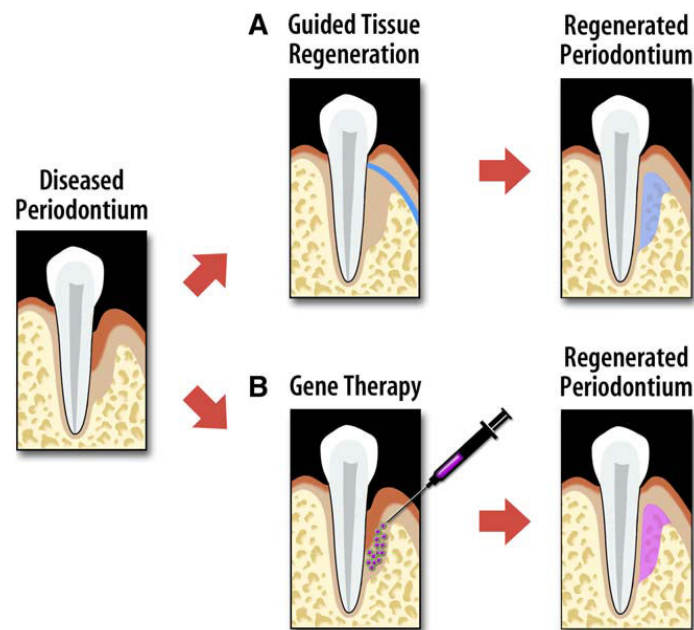
## 7.4 Las Moléculas de Señalización Biológica en la Terapia Genética.

Una de las mayores limitaciones asociadas al uso de las MSB es la corta vida biológica de éstos ya que van desde minutos hasta pocas horas. Estos factores sufren degradaciones proteolíticas y problemas en la unión a receptores dependiendo de la estabilidad del vehículo, por lo tanto son poco efectivos en la regeneración periodontal cuando se aplican solos, esto se debe a la deficiente capacidad terapéutica para mantener altos niveles proteínicos en el sitio de la lesión y a la estructura tridimensional del defecto. Los métodos de transferencia genética pueden disminuir muchas de las limitaciones que existen en la transferencia de proteínas a tejidos blandos lesionados.<sup>117</sup>

La aplicación de FC o formas solubles de receptores de citoquinas por transferencia genética provee mayor sustentabilidad de los FC dentro de los tejidos periodontales dañados y de esta manera provee mayor potencial regenerativo.

La terapia genética consta de la transferencia de información genética a células diana, lo cual les permite sintetizar proteínas específicas para tratar una enfermedad. Existen diversas estrategias para la entrega genética, su uso depende de la duración requerida para la liberación de proteínas y de la morfología del sitio blanco. Véase **Fig. 28**.

La transferencia genética es llevada a cabo mediante el uso de vectores virales y no virales. Algunos ejemplos de estos vectores virales son retrovirus, adenovirus (Ad) y adenovirus asociados; los vectores no virales incluyen plásmidos y complejos poliméricos de ADN.<sup>118</sup>



**Fig. 28** Avances en la regeneración de los tejidos de soporte del diente. A) RTG con membranas exclusivas para regenerar tejidos periodontales. B) alternativamente, un ejemplo de terapia genética utilizando vectores codificadores de FC aumentando y estimulando la regeneración de células del LP.<sup>118</sup>

Los retrovirus introducen ARN junto con la enzima transcriptasa reversa y la enzima integrasa en la célula blanco. Inicialmente la transcriptasa reversa habilita la producción de una copia de ADN de la molécula de ARN del retrovirus, subsecuentemente, la integrasa agrega la copia de ADN en el ADN de la célula blanco. Cuando la célula alterada genéticamente se divide, sus células descendientes contienen el ADN modificado. Sin embargo, debido a que la enzima integrasa inserta la copia de ADN en una posición arbitraria, pueden presentarse alteraciones genéticas y división celular descontrolada degenerando en cáncer. Una gran ventaja es que no es inmunogénico, sin embargo, su desventaja es que infecta únicamente a células en mitosis y puede producir mutagénesis.

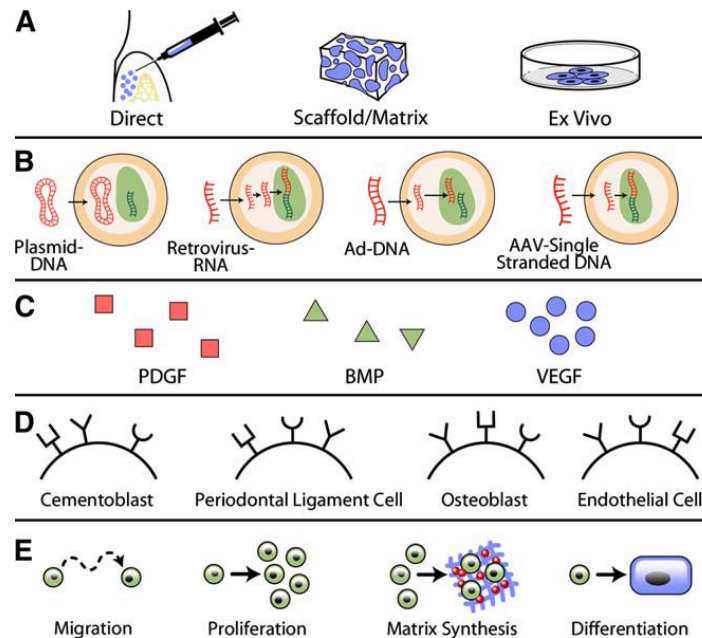


El adenovirus contiene ADN, el cual es introducido en la célula blanco y posteriormente transferido a su núcleo. A diferencia de la dirección que lleva la copia del ADN retroviral, el ADN del adenovirus no se incorpora con el material genético de la célula blanco. Consecuentemente, cuando la célula infectada por el ADN adenoviral se divide, sus descendientes no se encuentran alterados genéticamente ya que no contienen el ADN adenoviral. Una gran ventaja es que infecta células mitóticas y no mitóticas, sin embargo se considera potencialmente inmunogénico.<sup>119</sup>

El adenovirus asociado es parte de la familia del parvovirus, la cual consta de pequeños virus con un genoma que no causa enfermedades en humanos. Su gran desventaja es que es pequeño e incapaz de llevar más de dos genes, sin embargo infecta células mitóticas y no mitóticas y tiene muy baja inmunogenicidad; no se considera patogénico en humanos.<sup>120</sup>

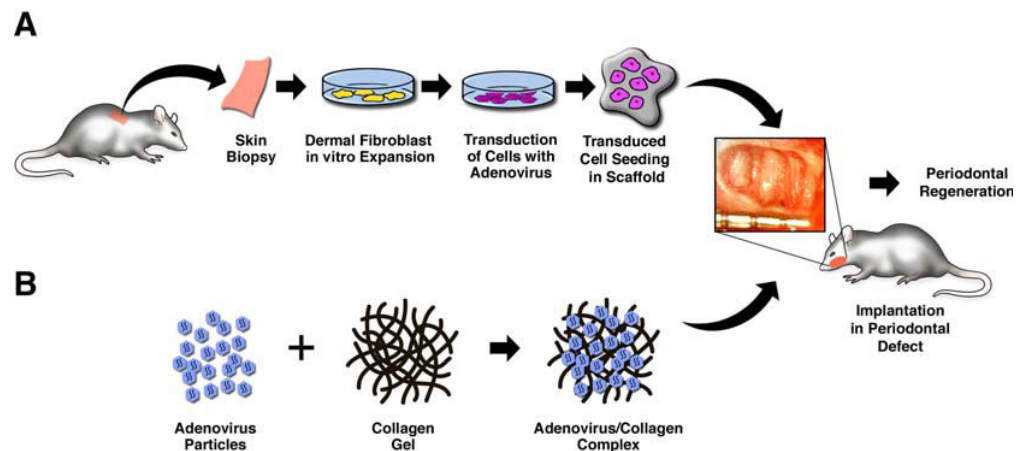
Los vectores no virales no tienen desventajas en cuanto a reacciones inmunes o tumorigénesis potenciales. Los plásmidos y los complejos poliméricos de ADN transmiten información genética en forma de ADN para expresar proteínas extrañas. Una gran desventaja es que producen una transducción muy deficiente. El diseño de características no virales para la entrega de ADN deberá coincidir con algunos requerimientos como la integración cromosomal o la habilidad de alterar la expresión genética.<sup>120</sup> Véase **Fig. 29**.

Diversos métodos de entrega genética se encuentran disponibles para la administración de FC. El método de entrega puede ser a la medida de las características específicas del sitio dañado, es decir, un defecto horizontal de una a dos paredes podría utilizar una matriz con soporte, como un andamio; otro defecto podría ser propicio para el uso de vectores adenovirales embebidos en una matriz de colágeno.



**Fig. 29** Las diferentes técnicas de terapia genética usadas en la ingeniería tisular periodontal. A) métodos de entrega, B) vector de terapia genética, C) factor de crecimiento tisular, D) receptores de las células blanco, y E) efecto local. La decisión del método de entrega, vector ADN o factor de crecimiento deberá maximizar el efecto esperado, minimizar el riesgo del paciente y reflejar las características del sitio de la lesión.<sup>118</sup>

Existen dos estrategias importantes para la entrega genética por vectores, las cuales han sido aplicadas para la ingeniería tisular periodontal.<sup>121</sup> Véase **Fig. 30**.



**Fig. 30** Avances en la entrega genética en la ingeniería tisular periodontal. A) entrega genética ex vivo y B) entrega genética *in vivo*.<sup>118</sup>



Los vectores genéticos pueden ser introducidos al sitio blanco mediante una técnica *in vivo*, o las células seleccionadas pueden ser cultivadas, expandidas, transducidas genéticamente y reimplantadas por una técnica *ex vivo*.<sup>123</sup>

La transferencia genética *in vivo* engloba la inserción del gen de interés directamente en el hospedero, sin embargo se debe tener en cuenta la modificación genética que sufrirá la célula blanco. La técnica *ex vivo* incluye la incorporación del material genético en las células expuestas procedentes de una biopsia con una implantación subsecuente en el huésped.<sup>123</sup>

La aplicación de estrategias para la entrega genética del FCDP en la ingeniería tisular originalmente fue generada para mejorar la cicatrización de los tejidos blandos. La entrega genética de este factor por plásmidos y adenovirus ha sido evaluada en estudios preclínicos y clínicos, dónde ha se ha encontrado gran seguridad para su uso clínico.<sup>122</sup>

Estudios anteriores utilizando vectores adenovirales recombinantes que codifican al FCDP demostraron la habilidad de estos vectores para transducir potencialmente células aisladas del periodonto como osteoblastos, cementoblastos, fibroblastos del ligamento peridontal y fibroblastos gingivales.<sup>123</sup>

Los doctores Giannobile y Chen demostraron en el año 2002, la capacidad del adenovirus para hacer la entrega genética y prolongar los efectos del FCDP<sup>124</sup>, posteriormente el doctor Anusaksathien y cols. realizaron una investigación *ex vivo* en la cual se mostró que la expresión de los genes del FCDP se prolongada mas de 10 días en tejidos gingivales. La codificación adenoviral del FCDP transdujo fibroblastos gingivales y mejoró el llenado óseo induciendo la migración de los fibroblastos gingivales así como su proliferación.<sup>125</sup>



Por el contrario, la exposición continuada de los cementoblastos al FCDP- $\alpha$  produce un efecto inhibitorio en la mineralización del cemento. Esto se debe posiblemente a la sobrerregulación de la osteopontina y el subsecuente aumento de células gigantes multinucleadas en andamios de cemento.

El doctor Jin y cols. demostraron en el año 2004, que la transferencia *in vivo* del FCDP-B estimula la regeneración en defectos periodontales grandes. La descripción histológica e histomorfométrica reveló que la entrega genética de FCDP-B en humanos promueve la regeneración del CR y HA.<sup>126</sup>

También se han realizado estudios sobre la terapia genética utilizando POMGs. Los fibroblastos y queratinocitos se han transducido con POMG-7, de esta manera han inducido a la formación ósea y se han convertido en osteoblastos tras la implantación *in vivo*.<sup>127</sup> Esta estrategia puede ser usada para inducir la cementogénesis y osteogénesis.

El doctor Lieberman y cols. en el año 1999, realizaron un estudio experimental en roedores en el cual demostraron la terapia genética para la regeneración ósea. Los resultados revelaron que la transducción de células del estroma de la médula ósea con POMGhr-2 llevaron a la formación de hueso dentro de un defecto experimental comparable a hueso esquelético.<sup>128</sup>

En otro estudio realizado por Huang y cols en el año 2005, se llevó a cabo una comparación entre la eficacia de un andamio en blanco y un andamio con la codificación del ADN de la POMG-4 por un plásmido. Los resultados fueron a favor del segundo, debido a que se encontró mayor cantidad de hueso formado. En este estudio se encontró que se aumentó la formación ósea en comparación con andamios en blanco.<sup>129</sup>



---

El uso de la entrega genética ofrece nuevas ventajas para la entrega de FC. Aunque el entendimiento de la regulación genética del FCDP y las POMGs ha aumentado gracias a estudios experimentales, la seguridad y eficacia del uso de la terapia genética para la regeneración no ha sido evaluada aún en humanos.<sup>100</sup>



## 8. CONCLUSIONES.

Las moléculas de señalización biológica son las encargadas de acelerar los procesos de cicatrización de lesiones periodontales y óseas. Así mismo se encargan de proliferar células progenitoras y diferenciarlas en células del periodonto propiciando la regeneración periodontal.

La manera más eficiente en la que actúan estas moléculas es sinérgicamente y son más eficaces cuando se colocan en conjunto con matrices y/o injertos.

Gracias a la ingeniería tisular, se ha promovido el uso de biomateriales inteligentes como andamios que interactúen con células y factores bioactivos dentro del periodonto.

Mediante terapia genética se ha logrado aumentar el periodo de efectividad de las moléculas de señalización biológica logrando así una mayor regeneración periodontal.

Para que el uso de las moléculas de señalización biológica se convierta en una realidad cotidiana, es necesario que se tomen en cuenta los siguientes aspectos:

- a) Consideración de la liberación dual y/o múltiple de los factores de crecimiento.
- b) Síntesis de vectores para la entrega genética que no produzcan patogenicidad, inmunogénesis ni mutagénesis en las células blanco.
- c) Realización de estudios clínicos que comprueben la eficacia y seguridad del uso de terapia genética.
- d) Evidencia de reconstrucción tridimensional de los defectos anatómicos con los procedimientos de la terapia genética.





## 9. FUENTES DE INFORMACIÓN.

- 1 American Academy of Periodontology. Glossary of Periodontal Terms. Chicago: American Academy of Periodontology; 2001.
- 2 Carranza F, Newman M & Takei H. Periodontología Clínica. 9° edición. Ed. McGraw Hill. 2004. p. 1-14.
- 3 Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol 1976;47:256-260.
- 4 Periodontal Regeneration. Position Paper. J Periodontol 2005.
- 5 Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. Ann Periodontol 2003;8:227-265.
- 6 Gottlow J, Nyman S, Karring T. Maintenance of a new attachment gained through guided tissue regeneration. J Clin Periodontol 1992;19:315.
- 7 Baum BJ, O'Connell BC. The impact of gene therapy on dentistry. JADA 1995;126:179-89.
- 8 Rose I, Genco RJ, Cohen W. Periodontics: medicine, surgery and implants. Ed. Elsevier Mosby. St Louis Missouri, USA. 2004. p.572-609.
- 9 Schallhorn RG, Hiatt WH, Boyce W. Iliac transplants in periodontal therapy. J Periodontol 1970;41:556.
- 10 Forum SJ, Thaler R, Scopp IW, Stahl SS. Osseous autografts. I. Clinical responses to bone blend or hip marrow grafts. J Periodontol 1975;46:515.



---

11 Hiatt WH, Shallhorn RG. Intraoral transplants of cancellous bone and marrow in periodontal lesions. J Periodontol 1973;44:144.

12 Hiatt WH, Schallhorn RG, Aaronian AJ. The induction of new bone and cementum formation. IV. Microscopic examination of the periodontum following human bone and marrow allograft, autograft and non-graft periodontal regenerative procedures. J Periodontol 1978;44:495.

13 Renvert S, Shallhorn RG, Egelberg J. Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. III. Effects of osseous grafting and citric acid conditioning, J Clin Periodontol 1972;14:702.

14 Sanders JJ, Sepe WW, Bowers GM et al. Clinical evaluation of freeze-dried bone allograft in periodontal osseous defects. Part III. Composite freeze-dried bone allografts with and without autogenous bone grafts. J Periodontol 1978;54:1.

15 Barnett JD, Melloning JT, Gray JL, Towle HT. Comparison of freeze-dried bone allograft and porous hidroxyapatite in human periodontal defects. J Periodontol 1989;60:231.

16 Pearson GE, Rosen S, Deporter DA. Preliminary observations on the usefulness of decalcified, freeze-dried cancellous bone allograft material in periodontal surgery. J Periodontol 1981;52:55.

17 Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R et al. Histologic evaluations of new attachment apparatus formation in humans. Part III. J Periodontol 1989;60-683.



---

18 Rummelhart JM, Melloning JT, Gray JL, Towle HJ. A comparison of freeze-dried bone allograft and demineralized freeze-dried bone allograft in human periodontal osseous defects. J Periodontol 1989;60:655.

19 Yukna RA, Mayer ET, Brite DV. Longitudinal evaluation of durapatite ceramic as an alloplastic implant in periodontal osseous defects after 3 years. J Periodontol 1984;55:663.

20 Forum SJ, Kusher L, Scopp TW, Stahl SS. Human clinical and histologic responses to durapatite implants in intraosseous lesions. J Periodontol 1982;53:719.

21 Krejci CB, Bissads NF, Farah C, Greenweit H. Clinical evaluation of porous hidroxyapatite in the treatment of human periodontal bony defects. J Periodontol 1987;58:521.

22 Mora F, Ouhayoun JP. Clinical evaluation of natural coral and porous hidroxyapatite implants in periodontal bone lesions: results of 1 year follow-up. J Clin Periodontol 1988;59:67.

23 Carranza FA, Kenney EB, Lekovic V. Histologic study of healing of human periodontal defects after placement of porous hidroxyapatite implants. J Periodontol 1987;58:689.

24 Bowen JA, Melloning IT, Gray JL, Towle HT. Comparison of decalcified freeze-dried bone allograft and porous particulate hidroxyapatite in human periodontal defects. J Periodontol 1989;60:647.

25 Yukna RA. HTR polymer grafts in human periodontal osseous defects. I. 6 month clinical results. J Periodontol 1990;61:633.



---

26 Stahmiri S, Singh IJ, Stahl SS. Clinical response to the use of HTR polymer implant in human intrabony lesions. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1987;58:103.

27 Plotze E, Barbose S, Sasjleti CE et al. Histologic and histometric responses to polymeric composite grafts. *J Periodontol* 1993;64:342.

28 Yukna RA. Clinical evaluation of coralline calcium carbonate as a bone replacement graft material in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1994;65:177.

29 Low SB, King CJ, Krieger J. An evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17:359.

30 Forum SJ, Weinberg MA, Tarnow D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in treatment of human periodontal defects. A clinical study. *J Periodontol* 1998;69:698.

31 Kitsugi T, Nakamura T, Oka M et al. Bone bonding behavior of three heat-treated silica gels implanted in mature rabbit bone. *Calcif Tissue Int* 1995;57:155.

32 Zamet JS, Dabar UR, Griffiths GS et al. Particulate bioglass as grafting material in treatment of periodontal intrabony defects. *J Clin Periodontol* 1997;24:410.

33 Lovelace TB, Melloning JT, Meffert RM et al. Clinical evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal osseous defects in humans. *J Periodontol* 1998;69:1027.



---

34 Camelo M, Nevins ML, Schenk R et al. Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio.Oss and Bio-Gide. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998;18:321.

35 Christgau M, Schmalz G, Reich E, Wenzel A. Clinical and radiographical split-mouth study on resorbable GTR membranes. *J Periodontol* 1992;22:306.

36 Schallhorn RG, McClain PK. Combined osseous grafting, root conditioning and guided tissue regeneration. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1988;4:9.

37 Guillermin MR, Melloning JT, Brusvold MA. Healing in periodontal defects treated by decalcified freeze-dried bone allografts in combination with ePTFE membranes. I. Clinical and scanning electron microscope analysis. *J Clin Periodontol* 1993;20:528.

38 Kilic AR, Efeoglu E, Yilmaz S. Guided tissue regeneration in conjunction with hidroxyapatite-collagen grafts for intrabony defects. A clinical and radiological evaluation. *J Clin Periodontol* 1997;19:315.

39 Heijl L, Heden G, Svardstrom G, Ostgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Periodontol* 1997;24:705.

40 Forum SJ, Weinberg MA, Rosenberg E et al. A comparative utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a 12-month re-entry study. *J Periodontol* 2001;72:25.



---

41 Heijl L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. J Periodontol 1997;24:693.

42 Sculean A, Donos N, Blaes A et al. Comparison of enamel matrix proteins and bioabsorbible membranes in the treatment of intrabony periodontal defects. J Periodontol 1999;70:255.

43 Scuelan A, narbe G, chiantella GC et al. Clinical evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. J Periodontol 2002;73:401.

44 Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender PM et al. A comparison between enamel matrix proteins used alone and in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects in humans. J periodontol 2000;71:1110.

45 Lindhe, Jan. Periodontología clínica e implantología odontológica/ Jan Lindhe; Niklaus Lang; Thorkild Karring.9ª -ed. Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2009. p.542.

46 Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K & Walter P. Biología Molecular de la célula. 4ª -ed. Ed. Ediciones Omega, S.A. 2004. p.871-906.

47 Guyton AC, Halle JE. Tratado de fisiología médica. 9ª -ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. 1997. p. 1012-1013.

48 Macías M. receptores de las proteínas morfogenéticas.  
<http://www.ifc.unam.mx/researchers/marina-macias/es>



---

49 Ramseier CA, Abramson ZR, Jin Q & Giannobile WV. Gene therapeutics for periodontal regenerative medicine. Dent Clin North Am, 2006;50(2):245-265.

50 Gómez de Ferraris ME & Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. Buenos Aires, Argentina. Editorial Panamericana. 2001.

51 Carranza F, Newman M & Takei H. Periodontología Clínica. 9ª edición. Ed. McGraw Hill. 2004. p. 39.

52 Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. Periodontology 2000, 1997;13:91–120

53 Morales AL, Ariza M. Eventos de señalización asociados al factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP). Universitas scientiarum Revista de la Fac de Ciencias 2002;10:5-10.

54 Toríz A. Células óseas. <http://www.fecasog.org/jm/index.php>

55 Hughes F.J., Turner W., Belibasakis G., Martuscelli G. Efectos de los factores de Crecimiento y de las citoquinas sobre la diferenciación de los fibroblastos. J Periodontol 2000 (Ed. Esp) 2007;15:48-72.

56 Wilson TG & Kornman KS. Fundamentals of periodontics. 2ª Ed. Ed. Quintessence Publishing Co, Inc. 2003.

57 Cho M, Garant P., Development and General Structure of the Periodontium. Periodontology 2000, 2000;24:21-22

58 Arzate, H, Alvarez M A. Biología Del Cemento Radicular Memorias del 1er. Congreso de Biología Oral Disco Compacto, elaborado por el



---

Laboratorio de Bioquímica de DEPel de la Fac. de Odontología – UNAM.  
México 2004.

59 Nadig RR. Stem cell therapy- hype or hope? A review. 2010  
<http://www.jcd.org.in>

60 Ivanovski s, Gronthos S, Shi S, Bartold PM. Invited Review: stem cells  
in the periodontal ligament. Oral diseases, 2006;12:358-363.

61 Ibero Sagastibelza ,Castro Lara J. Bascones Martínez A. Factores de  
crecimiento y periodoncia. Una revisión bibliográfica actualizada. Av  
Periodon Implantol. 2002;14:115-128.

62 Antoniades H. Stathakos, Scher C. Isolation of a cationic polypeptide  
from human serum that stimulates proliferation of 3T3 cells. Proc Natl  
Acad Sci, USA 1975;72:2635.

63 Garg AK. Bone, biology, harvesting, grafting for dental implants:  
rationale and clinical applications. Ed. Quintessence Publishing Co, Inc.  
2004. p. 253-271.

64 Marx RE, Garg AK. Dental and Cranefacial Applications of Platelet-  
Rich Plasma. Ed. Quintessence Publishing Co, Inc. 1999. p. 14-17.

65 Khoury F, Antoun H, Missika P. Bone augmentation in oral  
implantology. Ed. Quintessence Publishing Co, Lid. 2007. p 373-389.

66 Tokimasa C, Kawata T, Fujita T, et al. Effects of insulin-like growth  
factor on nasopremaxillary growth under different masticatory loadings in  
growing mice. Arch Oral Biol 2000;45:871-878.





---

67 Pfeilschifter J, Oechsner M, Naumann A, Gronwald RGK, Minne HW, Ziegler R. Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between IGF-I, PDGF and TGF-beta. *Endocrinology* 1990;127:69-75.

68 Ripamonti U & Renton L. Las Proteínas Morfogénicas óseas y la inducción a la regeneración del tejido periodontal. *Periodontol* 2000. Ed español 2007;15:73-87.

69 Hwang CJ, Vaccaro AR, Lawrence JP, Hong J, Schellekens H, Alaoui-Ismaili MH et al. Immunogenicity of bone morphogenetic proteins. A review. *J Neurosurg Spine* 2009;10:443-451.

70 Helder MN, Karg H, Bervoets TJM, Vukicevik S, Burger EH, D'Souza RN et al. Bone Morphogenetic Protein-7 (Osteogenic Protein-1, OP-1) and Tooth Development. *J Dent Res* 1998;77(4):545-554.

71 Lynch S, Genco R, Marx R. *Tissue Engineering. Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Ed. Quintessence Publishing, Co, Inc. Chicago, EEUU, 1999. p.103-123.

72 Sigurdsson TJ, Lee MB, Kubota K, Turek TJ, Wozney JM, Wikesjo UM. Periodontal repair in dogs: recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. *J Periodontol* 1995;66:131-138.

73 <http://www.fda.gov/cdrh/pdf5/p050053c.pdr>.

74 Cook SD, Salkeld SL, Rueger. Evaluation of recombinant human osteogenic protein-1(rhOP-1) placed with dental implants in fresh extraction sites. *J Oral Implantol* 1995;21(4):281-289.



---

75 Dunn CA, Jin Q, Taba M, Franceschi Rutherford R, Giannobile WV. BMP Gene Delivery for Alveolar Bone Engineering at Dental Implant Defects. *Mol Ther.* 2005;11(2):294–299.

76 Harper RA, Pierce J, Savage GR. Purification of Human Epidermal Growth Factor by monoclonal antibody affinity chromatography. *Methods Enzymol* 1987;146:3-11.

77 Tatsumi S, Shimazu A, Miyazaki K, Pan H, Koike C, Yoshida E, Takagishi K & Kato Y. Retention of multilineage differentiation potential of mesenchymal cells during proliferation in response to FGF. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288:413–419.

78 Darnell Kaigler D, Cirelli J, Giannobile WV. Growth factor delivery for oral and periodontal tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv* 2006;3(5): 647–662.

79 Cochran DL, Wozney JM. Biological Mediators for Periodontal Regeneration. Department of Periodontics, School of Dentistry, University of Texas Health Science Center, San Antonio, USA. *J Periodontol* 2000 1999;19:40-58.

80 Esposito M, Coulthard P, Thomsen P, Worthington HV. Enamel matrix derivative for periodontal tissue regeneration in treatment of intrabony defects: A Cochrane Systematic Review. *Journal of Education* 2004;68: 834-844.

81 Lindhe, Jan. Periodontología clínica e implantología odontológica/ Jan Lindhe; Niklaus Lang; Thorkild Karring. 5ª ed. Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2009. p. 558



---

82 Zeldich E., Koren R., Nemcovsky C, and Weinreb M. Enamel Matrix Derivate Stimulates Human Gingival Fibroblast Proliferation ERK. J Dent Res 2007;86(1):41-46.

83 Brett PM, Parkar M, Olsen I & Tonetti M. Expression Profiling of Periodontal Ligament Cells Stimulated with Enamel Matrix Proteins *in vitro*: A Model for Tissue Regeneration. J Dent Res 2002;81(11):776-783.

84 Heijl L, Heden G, Svadstrom G & Ostgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. J Clin Periodontol 1997;24:705-714.

85 Barkana I, Alexpolou E, Zis S, Jacob-Hirsch J, Amariglio N, Pitaru S, et al. Gene profile in periodontal cells and clones with enamel matrix proteins derivate. J Clin Periodontol 2007;34:599-609.

86 Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C, Gestrelius S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. J Clin Periodontol 2001;28:281-188.

87 Gestrelious S, Andersson C, Lidstrom D, Hammarström L & Somermann, M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. J Clin Periodontol 1997;24:685-692.

88 Casarin RCV, Del Peloso Ribeiro É, Nociti FH, Sallum AW, Sallum EA, Ambrosano GMB, et al. A double-blind randomized clinical evaluation of enamel matrix derivative proteins for the treatment of proximal class-II furcation involvements. J Clin Periodontol 2008;35:429-437.

89 Döri F, Nikolidakis D, Húszár T, Arweiler NB, Gera I, Sculean A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with an



---

enamel matrix protein derivative and natural bone mineral. *J Clin Periodontol* 2008;35:44-50.

90 Shimabukuro Y, Ichikawa T, Terashima Y, Iwayama T, Oohara H, Kajikawa T, et al. Basic fibroblast growth factor regulates expression of heparan sulfate in human periodontal ligament cells. *Matrix Biol* 2008;27:232–241.

91 Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, Moy PK, Nevins M, Spagnoli DB, Triplett G. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:1693–1707.

92 Howell TH, Fiorellini J, Jones A, Alder M, Nummikoski P, Lazaro M, Lilly L, Cochran D. A feasibility study evaluating rhBMP-2 / absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17:124–139.

93 Ripamonti U, Crooks J, Petit JC, Rueger D. Periodontal tissue regeneration by combined applications of recombinant human osteogenic protein-1 and bone morphogenetic protein-2: A pilot study in Chacma baboons (*Papio ursinus*) *Eur J Oral Sci* 2001;109:241-248.

94 Shimabukuro Y, Ichikawa T, Terashima Y, Iwayama T, Oohara H, Kajikawa T, et al. Basic fibroblast growth factor regulates expression of heparan sulfate in human periodontal ligament cells. *Matrix Biol* 2008;27:232–241.

95 Jepsen S, Topoll H, Rengers H, Heinz B, Teich M, Hoffman T, et al. Clinical outcomes after treatment of intra-bony defects with an



---

EMD/synthetic bone graft or EMD alone: a multicentre randomized controlled clinical trial. J Clin Periodontol 2008;35:420-428.

96 Jepsen S, Heinz B, Jepsen K, Arjomand M, Hoffman T, Richter S, et al. A randomized clinical trial comparing enamel matrix derivative and membrane treatment of buccal class II furcation involvement in mandibular molars. Part I: study design and results for primary outcomes. J Clin Periodontol 2004;75:1110-1116.

97 Lekovic V, Camargo PM, Weinlander M, Nedic M, Aleksic Z & Kennedy EB. A comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. J Periodontol 2000;71:1110-1116.

98 Guida L, Annunziata Z, Belardo S, Farina R, Scabbia A & Trombelli L. Effect of autogenous cortical bone particulate in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intraosseous defects. J Periodontol 2007;78:231-238.

99 Harold C, Slavkin P., Bartold M. Posibilidades y desafíos en la ingeniería tisular. J Periodontol 2000 (Ed. Español) 2007;15:9-15.

100 Bartold PM, Xiao Y, Lyngstaadas SP, Paine ML, Sneal ML. Principios y aplicaciones de los sistemas de distribución de células para la regeneración periodontal. J Periodontol 2000 (ed Esp) 2007;15:123-135.

101 Scheller EL, Krebsbach PH, & Kohn DH. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. J Oral Rehabil 2009;36(5):368-389.



---

102 Dualibi S, Dualibi M, Vacanti JP, Yelick P. Perspectivas para la regeneración periodontal. J Periodontol 2000 (Ed. Esp) 2007;15:177-187.

103 Kao RT, Murakami & Beirne OR. The use of biologic mediators and tissue engineering in dentistry. J Periodontol 2000, 2009;50:127-153.

104 Becker W, Urist MR, Tucker LM, Becker BE, Ochsenbein C. Human demineralized freeze-fried bone: inadequate induced bone formation in athymic mice, a preliminary report. J Periodontol 1995;66:822–828.

105 Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly LC, Alder M, Nummikoski P. A feasibility study evaluating rhBMP-2 / absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. Int J Periodontics Restorative Dent 1977;17:11–25.

106 Hou L, Liu C, Liu B, Change P, Chen M, Ho M, Jehng S, Liu H. Tissue engineering bone formation in novel recombinant human bone morphogenic protein 2 – atelocollagen composite scaffolds. J Periodontol 2007;78:335–343.

107 Peltier LF. The use of plaster of Paris to fill large defects in bone: a preliminary report. Clin Orthop 2001;382:3–5.

108 Beardmore AA, Brooks DE, Wenke JC, Thomas DB. Effectiveness of local antibiotic delivery with an osteoinductive and osteoconductive bone graft substitute. J Bone Joint Surg Am 2005;87:107–112.

109 Strocchi RO, Iezzi G, Scarano A, Rubini C, Pecora G, Piattelli A. Bone regeneration with calcium sulfate: evidence for increased angiogenesis in rabbits. J Oral Implants 2002;28:43–48.



---

110 Walsh WR, Morberg P, Yu Y, Yang JL, Haggard W, Sheath P, Svehla M, Bruce W. Response of a calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous defect. Clin Orthop Relat Res 2003;406:228–236.

111 Laurell L, Falk H, Fornell J, Johard G, Gottlow J. Clinical use of a bioresorbable matrix barrier in guided tissue regeneration therapy. Case series. J Periodontol 1994;65:967-975.

112 Van den Dolder J, Vehof JW, Spauwen PH, Jansen JA. Bone formation by rat marrow cells cultured on titanium fiber mesh: effect of in vitro culture time. J Biomed Mater Res. 2002;62:350-358.

113 Xiao Y, Hasse H, Young WG, Bartold PM. Development and transplantation of a mineralized matrix formed by osteoblasts in vitro for bone regeneration. Cell transplantation 2004;13:15-25.

114 Lynch SE. Introduction to tissue engineering. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics. Hanover, IL: Quintessence Publishing Co, 1999.

115 <http://www.osteohhealth.com/CaseStudies4.aspx>

116 [http://www.infusebonegraft.com/omf\\_about.html](http://www.infusebonegraft.com/omf_about.html)

117 Fang J, Zhu YY, Smiley E, Bonadio J, Rouleau JP, Goldstein SA, McCauley LK, Davidson BL, Roessler BJ. Stimulation of new bone formation by direct transfer of osteogenic plasmid genes. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:5753–5758.



---

118 Partridge KA, Oreffo RO. Gene delivery in bone tissue engineering: progress and prospects using viral and nonviral strategies. *Tissue Eng* 2004;10(1-2):295-307.

119 Zolotukhin S. Production of recombinant adeno-associated virus vectors. *Hum Gene Ther* 2005;16(5):551-7.

120 Sirninger J, Muller C, Braag S, et al. Functional characterization of a recombinant adeno-associated virus 5-pseudotyped cystic fibrosis transmembrane conductance regulator vector. *Hum Gene Ther* 2004;15(9):832-841.

121 Jin QM, Anusaksathien O, Webb SA, et al. Gene therapy of bone morphogenetic protein for periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 2003;74(2):202-13.

122 Gu DL, Nguyen T, Gonzalez AM, et al. Adenovirus encoding human platelet-derived growth factor-B delivered in collagen exhibits safety, biodistribution, and immunogenicity profiles favorable for clinical use. *Mol Ther* 2004;9(5):699-711.

123 Zhu Z, Lee CS, Tejeda KM, et al. Gene transfer and expression of platelet-derived growth factors modulate periodontal cellular activity. *J Dent Res* 2001;80(3):892-897.

124 Chen QP, Giannobile WV. Adenoviral gene transfer of PDGF downregulates gas gene product PDGFalphaR and prolongs ERK and Akt/PKB activation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;8:538-544.





---

125 Anusaksathien O, Webb SA, Jin QM. Platelet-derived growth factor gene delivery stimulates ex vivo gingival repair. *Tissue Eng* 2003;9(4):745–56.

126 Jin Q, Anusaksathien O, Webb SA. Engineering of tooth-supporting structures by delivery of PDGF gene therapy vectors. *Mol Ther* 2004;9(4):519–26.

127 Jin QM, Anusaksathien O, Webb SA, Rutherford RB, Giannobile WV. Gene therapy of bone morphogenetic protein for periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 2003;74:202–213.

128 Lieberman JR, Daluiski A, Stevenson S, et al. The effect of regional gene therapy with bone morphogenetic protein-2-producing bone-marrow cells on the repair of segmental femoral defects in rats. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81(7):905–17.

129 Huang YC, Simmons C, Kaigler D, et al. Bone regeneration in a rat cranial defect with delivery of PEI-condensed plasmid DNA encoding for bone morphogenetic protein-4 (BMP-4). *Gene Ther* 2005;12(5):418–26.