

166
2ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Odontología

LA FIBRONECTINA Y SU USO EN PERIODONCIA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

CIRUJANO DENTISTA

Presenta:

ALICIA ELLAMAS ROBLES
DELMIRA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, D.F. 1994.



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 está 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 MICHEL: CON AMOR

POR SU APOYO,

POR SU COMPRENSION,

Y POR ESTAR CONMIGO

A LA DRA. ANA PATRICIA VARGAS,

Con agradecimiento por sus
conocimientos transmitidos
y por hacer posible la rea-
lización del presente trabajo.

LA FIBRONECTINA

Y SU USO EN PERIODONCIA

I N D I C E

	Página
I. INTRODUCCION	1
1.2 Fibronectina y fibroblastos.	7
1.3 Laminina	8
1.4 Sulfato de heparan	11
1.5 Papel de la fibronectina en la embriogénesis	11
a) adhesión celular	12
b) Proliferación celular	12
c) Migración celular	12
d) Diferenciación celular	13
e) Morfogénesis	13
II.FIBRONECTINA EN LA CICATRIZACION DE HERIDAS.	15
2.1 Resumen de eventos en una simple herida incisional de piel	17
III. FIBRONECTINA EN EL TEJIDO CONJUNTIVO GINGIVAL Y EN EL LIGAMENTO PERIODONTAL	18
IV. FIBRONECTINA EN SALIVA Y FLUIDO GINGIVAL	23
V. INTERACCIONES DE LA FIBRONECTINA Y LOS MICROORGANISMOS	25
5.1 Introducción	25
5.2 Interacciones fibronectina-microbio	26
5.3 Interacciones de la unión de fibronec- tina-microorganismos	27
5.4 Interacciones de los microorganismos patogénicos orales con la fibronectina	29
5.5 Interacciones de los microorganismos periodonto- patogénicos con la fibronectina	30

VI.	FIBRONECTINA Y GINGIVITIS	38
VII.	LA PRESENCIA DE FIBRONECTINA EN EL FLUIDO GINGIVAL EN RELACION CON LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES	35
VIII.	EL EFECTO IN VITRO DE LA APLICACION DE LA FIBRONECTINA EN LAS SUPERFICIES RADICULARES MINERALIZADAS Y DESMINERALIZADAS	38
IX.	EVALUACION CLINICA DEL USO DE FIBRONECTINA EN LA CICATRIZACION DE LA CIRUGIA PERIODONTAL46
	9.1 Evaluación clínica del uso de la fibronectina y laminina en la cicatrización de la cirugía periodontal50
	9.2 Evaluación clínica del uso de la fibronectina en superficies radiculares desmineralizadas con tetraciclina	53
	9.3 Evaluación clínica del uso de fibronectina en lesiones de furcacion56
	9.4 Cicatrización periodontal después de la regeneración tisular guiada con la aplicación de ácido cítrico y fibronectina57
X.	FIBRONECTINA EN EL TISSUCOL	63
XI.	CONCLUSION67
XII.	BIBLIOGRAFIA69

INTRODUCCION

Las células adherentes en cultivo sintetizan y secretan componentes del tejido conjuntivo y algunos de éstos son depositados pericelularmente. El término de matriz pericelular se usa para enfatizar la cercana asociación de la matriz a la superficie de la célula y para definirla como un subgrupo de las diferentes formas de matriz extracelular. La matriz pericelular es una parte integral del fenotipo celular y está involucrada en el anclaje celular, en la migración, en la invasión y en la diferenciación celular.

La fibronectina forma el polipéptido de soporte de la matriz pericelular de las células derivadas del mesénquima in vitro y su polimerización parece indicar la fibrinogénesis de la matriz del tejido conjuntivo.

La fibronectina se deposita en cultivos primarios por las células epiteliales (aunque su deposición puede depender del estado de diferenciación de éste), por las células endoteliales, las células del músculo liso, los condroblastos, los mioblastos y las células de la glía. Ejemplos de células que no sintetizan fibronectina incluyen a las células neuronales y a las células del saco vitelino parietal, sin embargo, se debe de hacer énfasis de que tales

capas celulares pueden unirse a la fibronectina del suero de bovino en un medio de cultivo en su matriz pericelular.

En cultivos de fibroblastos humanos, la fibronectina se encuentra muy distribuida en forma de parches o de fibras largas a lo largo de las superficies celulares y en los espacios intercelulares. La fibronectina también se ha encontrado en la huella que dejan las células migratorias y, en el material remanente del sustrato después de la reparación celular, así como en el material no fibrilar que se une al sustrato a cierta distancia de las células.

Las funciones de la fibronectina dependen de sus uniones a un número de diferentes estructuras biológicas, por ejemplo, a la superficie celular, a la colágena, a la heparina y a la fibrina. Para entender estas afinidades, es necesario determinar la estructura primaria y terciaria de la fibronectina. Se conoce la estructura primaria de la fibronectina en humanos, en ratas y en bovinos, pero hasta ahora, no se ha reportado su estructura tridimensional o ninguno de sus fragmentos.

La fibronectina es una proteína de 450 a 500 kDa que se encuentra en la mayoría de los fluidos del cuerpo, en el tejido blando, en el tejido de granulación, en las membranas y en muchas estructuras embrionarias. Es un dímero de

disulfuro unido con dos subunidades similares de 220 a 250 kDa. (Fig 1). La fibronectina es más común en el plasma (0.3 g/l) donde se encuentra en forma dimérica soluble.

La fibronectina tisular es insoluble en la matriz extracelular del tejido conjuntivo, donde está organizada en estructuras fibrilares de 5 a 10 nm de diámetro.

El contorno de la fibronectina ha sido visualizado con el microscopio electrónico mostrando que la molécula es un filamento de dominios independientes globulares conectados por segmentos flexibles y cortos. (fig 1). La longitud de los filamentos es de 140 nm y su diámetro es de aproximadamente 2 nm. En la molécula de la fibronectina el dominio de adherencia celular es reconocido por las células adherentes y se ha localizado en el cuarto aminoácido de la secuencia en la región central de la sub-unidad de la fibronectina. Durante el desarrollo y en tiempos específicos se presentan fibrillas de fibronectina que pueden jugar un papel importante en la migración de las células y en la morfogénesis de los tejidos. Debido a que la fibronectina contiene dominios de unión específicos para otras moléculas de la matriz extracelular como son : la colágena, fibrina, glucosaminoglicanos (ácido hialurónico, heparina y sulfato de heparan y condroitin sulfato) y hacia ella misma. La matriz de la fibronectina puede unirse también a la actina, al DNA, a las bacterias, a las aminos y a los poliaminas . (fig 2).

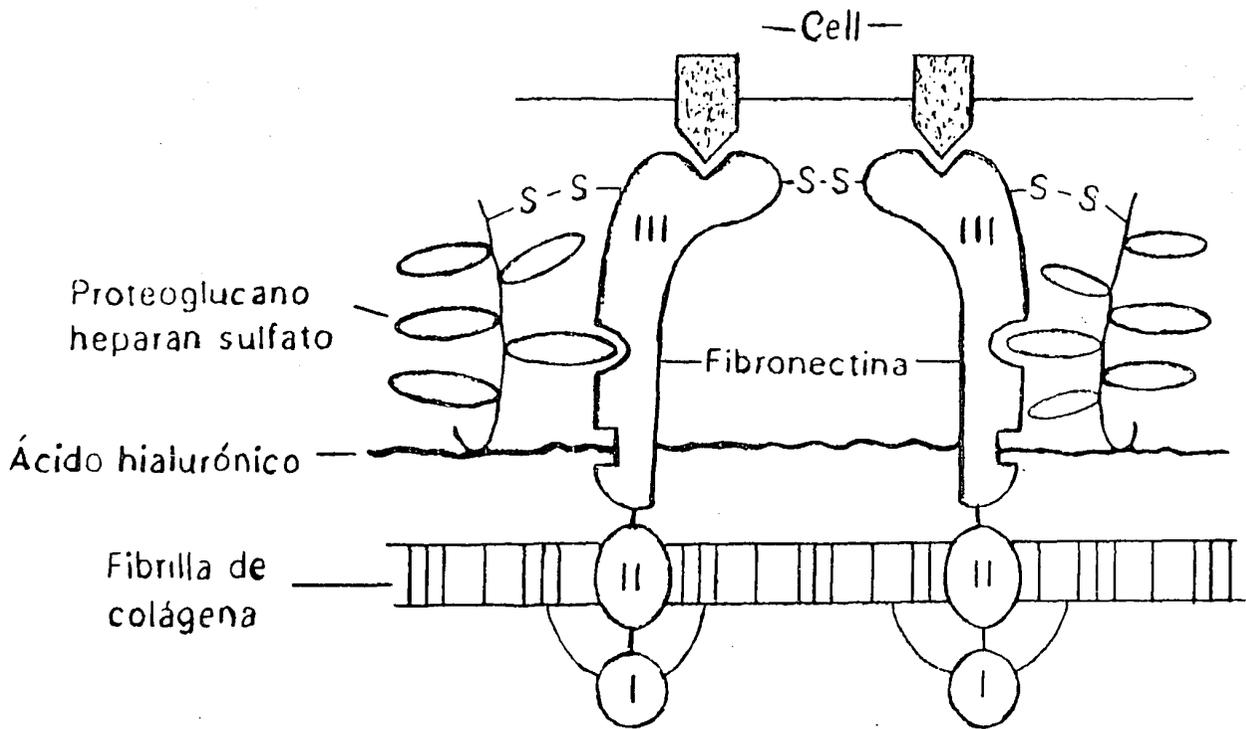


Fig. 1 Diafragma esquemático para ejemplificar la función atribuida a la fibronectina para unir una célula con la matriz extracelular. Nótese que la molécula de fibronectina, la cual se encuentra como un dímero unido por puentes de disulfuro, cerca de uno de los extremos de la molécula consta de numerosos dominios (I,II,III), los cuales se piensa llevan los sitios de enlace a estos diferentes ligandos.

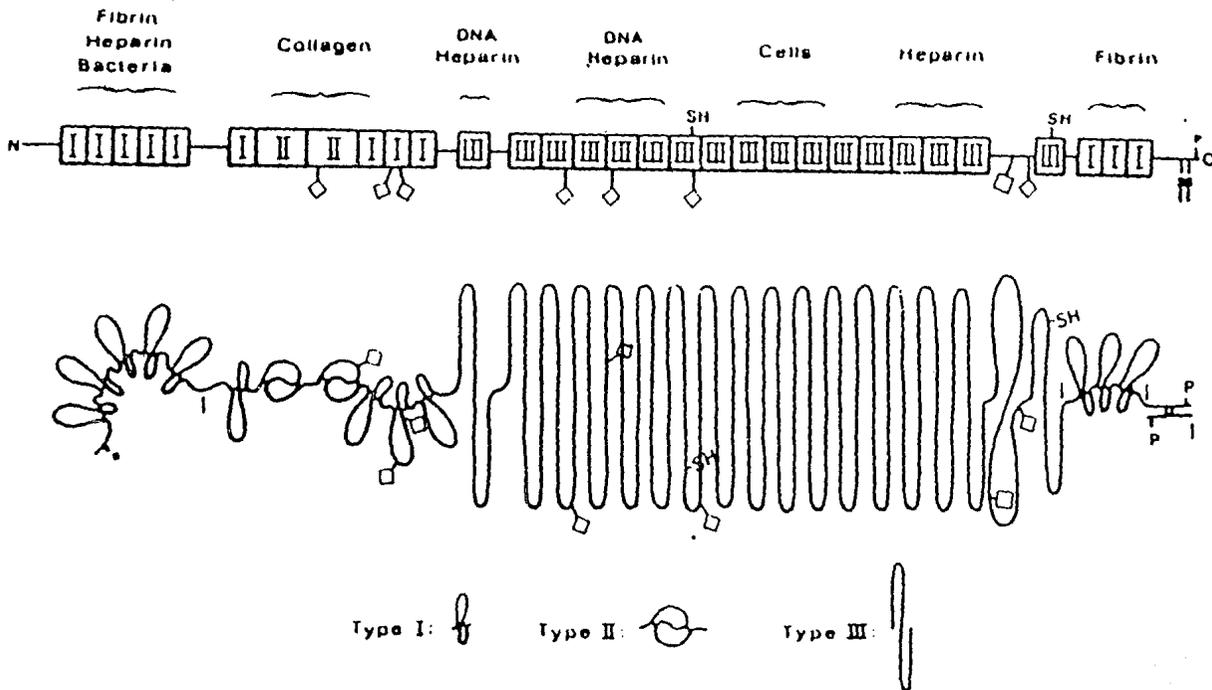


FIG. 2. Homology domain structure of fibronectin shown in three different schematic models. Each of the three types of homologies is indicated by Roman numeral (I, II, and III) or by symbols (shown in the lower line). There are a total of 12 type I homology units, 2 type II units, and 17 type III homology units in the longest variant of fibronectin.

Como ya se mencionó, las sub-unidades de la fibronectina del plasma tienen un peso molecular más bajo que las sub-unidades de la fibronectina aislada en cultivos celulares .

In vitro, la fibronectina es sintetizada por diferentes tipos de células, en un medio de cultivo celular, la fibronectina se encuentra en una forma soluble dimerica y en la matriz extracelular en forma insoluble donde forma agregados de disulfuro unidos.

La fibronectina plasmática es sintetizada por los hepatocitos cultivados y la fibronectina tisular es sintetizada por fibroblastos cultivados, son solamente similares. La fibronectina celular contiene 1 o 2 unidades de tipo III extras que no se presentan en la fibronectina plasmática. Estos segmentos extras reflejan procesos diferenciales de un nuevo RNAm y puede contar para algunas diferencias inmunológicas, estructurales y funcionales que se han descrito para la fibronectina plasmática y no para la fibronectina celular.

Los estudios in vivo han demostrado que la fibronectina plasmática se puede incorporar dentro de las matrices de los tejidos. Por lo tanto, parece probable que la fibronectina de

los tejidos se origine tanto del plasma como de las células circunvecinas.

La fibronectina celular puede funcionar como una proteína adhesiva para el enlace celular y para la organización del tejido. Cuando se cubre con un plástico o substrato de vidrio, la fibronectina promueve la adherencia y diseminación de las células. (20)

1.2 FIBRONECTINA Y FIBROBLASTOS

Se ha establecido que la fibronectina promueve la adhesión de los fibroblastos al substrato y en el proceso estimula también la unión de las microfilamentos citoplasmáticos dentro de las fibras de tensión. Los receptores de la fibronectina representan una membrana proteínica integral en la membrana plasmática del fibroblasto, el complejo receptor consiste de tres moléculas de glicoproteínas con un peso molecular total de aproximadamente 140 Kd. Cada fibroblasto puede tener un mínimo de 100,000 receptores de fibronectina desplegados sobre su superficie. En los fibroblastos con altísima movilidad, los receptores están difusamente distribuidos, mientras que en los fibroblastos estacionarios, éstos

existen en líneas ordenadas las cuales están codistribuidas con actina-alfa y agregados de fibronectina extracelulares. (20).

1.3 LAMININA

La laminina es una glucoproteína que se encuentra en las membranas basales como constituyente principal y exclusivo y puede actuar junto con la colágena de tipo IV, con el sulfato de herparan. Estos tres componentes se encuentran en todas las membranas basales y pueden interactuar en la configuración de una estructura supramolecular definida. En estudios de cultivos de células la laminina no sujeta la unión de los fibroblastos mientras que la fibronectina inhibe la unión de las células epiteliales.

El cuadro 1 representa las actividades biológicas de la fibronectina y la laminina .

Los factores de unión específicos para determinadas células, pueden transformar las propiedades fenotípicas de otras células una vez unidas. Cuadro 2. Por ejemplo, al exponer los fibroblastos a la laminina se obtienen resultados interesantes. Cuando se agregan 50 mg/ml de ésta al medio de cultivo, impide el crecimiento de fibroblastos tal vez mediante la reacción a los receptores que se localizan en la

Cuadro 2. Especificidad de la laminina y la fibronectina

Características fenotípicas	Efecto por exposición de células en cultivo	
	Laminina	Fibronectina
Afinidad a la fibronectina	Baja	Aumenta
Afinidad a la laminina	Aumenta	Baja
Receptores de fibronectina	Baja	Aumenta
Receptores de laminina	Aumenta	Baja
Melanogénesis	Aumenta	Baja
Invasión	Aumenta	Baja
Crecimiento de células epiteliales	Aumenta	Baja
Crecimiento de células mesenquimatosas	Baja	Aumenta

Cuadro 1 Actividades biológicas de la fibronectina y la laminina

Substancia	Actividad
Fibronectina	Promueve la adhesión de células mesenquimatosas Promueve la quimiotaxis de células mesenquimatosas Promueve el crecimiento de células mesenquimatosas Promueve la excrecencia de axones Promueve la fagocitosis Inhibe la adhesión de células epiteliales Inhibe el crecimiento de células epiteliales Inhibe la condrogénesis Inhibe la formación de miotubos Estimula la síntesis de matriz
Laminina	Promueve la adhesión de células endoteliales y epiteliales Promueve la quimiotáxis de células epiteliales Promueve el crecimiento de células epiteliales Promueve la excrecencia de axones Inhibe la adhesión de fibroblastos adultos Inhibe el crecimiento de fibroblastos adultos Se une al colágeno natural de tipo IV Se une al esmalte y dentina naturales Estimula la síntesis de matriz

superficie fibroblástica o de algún componente fundamental de la matriz. (16)

1.4 SULFATO DE HEPARAN

La habilidad de sintetizar sulfato de heparan es una propiedad general de las células de cultivo. En los cultivos de fibroblastos los proteoglicanos sulfato de heparan son componentes adicionales de la red fibrilar pericelular y revelan una co-distribución extensiva junto con la fibrina. Aunque los proteoglicanos no parecen ser esenciales para la integridad estructural de la matriz de la fibronectina preformada, existe la posibilidad de que el sulfato de heparan funcione en la difusión y/o en el inicio de la formación de la matriz del tejido conjuntivo en el cual la fibronectina parece tener un papel de organización trascendental. (20)

1.5 PAPEL DE LA FIBRONECTINA EN LA EMBRIOGENESIS

En embriones de animales vertebrados, la fibronectina aparece inmediatamente después de la fertilización y su futura distribución como componentes bioquímicos de la matriz extracelular y de la membrana basal a menudo han sido interpretados como esenciales en varios mecanismos diferentes

de la morfogénesis. A continuación se mencionan las posibles relaciones de la fibronectina en el proceso primario.

a) Adhesión celular.- Estas propiedades son similares a las mencionadas anteriormente

b) Proliferación celular.- Varios tipos de células han crecido exitosamente con la presencia de fibronectina o en la presencia de una matriz extracelular previamente depositada por otras células. Aunque el papel primario de los factores de crecimiento no se puede negar, su importancia permanece mal definida en embriones y por lo tanto, no está claro si la matriz extracelular y particularmente la fibronectina pueden inducir a la proliferación celular.

c) Migración celular.- Las fibronectinas han sido implicadas en el mecanismo de la migración celular, principalmente porque ellas inducen la migración de las células previamente inmóviles. La habilidad de las matrices de fibronectina para inducir el ensamble al citoesqueleto en las células normales y transformadas y la posibilidad de establecer interacciones cercanas con los microfilamentos sub-membranosos es indicativo de la importancia de la fibronectina en la promoción de la adhesión y el movimiento.

d) Diferenciación celular.- En varias ocasiones se ha demostrado que la fibronectina disminuyen durante la diferenciación celular y su adición puede temporalmente bloquear la diferenciación.

e) Morfogénesis.- La organización dispersa de las células mesenquimatosas dentro de estructuras como las epiteliales y la transmisión invertida comunmente encontrada desde el inicio de la embriogénesis se acompaña a menudo por la remodelación o desaparición local de una membrana basal rica en fibronectina. La integridad del epitelio se puede restaurar después del agregamiento de diferentes componentes de la matriz extracelular incluyendo la fibronectina.

Generalmente, debido a su gran sensibilidad a las proteasas, la fibronectina parece ser un componente adecuado de la membrana basal en los tejidos embrionarios jóvenes en los cuales la remodelación se efectúa rápidamente. Aunque no existen datos definitivos de la importancia de la fibronectina como constituyente necesario para la formación y organización final de los tejidos, su estructura y su amplia distribución sugiere que contribuye en una variedad de procesos morfogénicos.

La fibronectina es un componente de todas las membranas basales y de los tejidos mesenquimatosos. Durante el

desarrollo embrionario, la fibronectina se asocia con varios tejidos . Es posible que la fibronectina juegue diferentes papeles en distintas regiones. Sin embargo, la adhesión de las células a la matriz extracelular es una de sus principales funciones. En asociación con otros componentes de la matriz extracelular, ella puede estabilizar el epitelio y a las células del tejido conjuntivo, y por otro lado, puede promover la migración celular. Estos dos papeles aparentemente contradictorios se pueden ajustar por la relativa habilidad de las células para responder a la matriz extracelular rica en fibronectina.

Las células que endógenamente producen y ensamblan fibronectina podrían estabilizarse y después organizarse dentro de los tejidos, mientras que las células que tienen la capacidad para unirse a la fibronectina exógena y que tienen la habilidad intrínseca para migrar serán capaces de moverse en el medio ambiente mientras que ellas no elaboren o retengan fibronectina en su superficie. (20)

II.- FIBRONECTINA EN LA CICATRIZACION DE LAS HERIDAS

La reparación de la herida es una respuesta esencial, biológica, adaptativa que requiere de interacciones orquestadas de muchos tipos de células y moléculas. La falla para lograr una reparación exitosa lleva a muchas situaciones clínicas importantes de morbilidad, incluyendo ceguera en úlceras corneales no cicatrizadas, contracturas de heridas por quemaduras, infección de úlceras de piel en diabéticos o hipertensión portal en la cirrosis. Las presiones en la evolución han seleccionado mecanismos altamente efectivos de cicatrización de heridas que comparten características homólogas en diversas especies. Como es esperado, estos mecanismos regenerativos emplean componentes usados en procesos de desarrollo. Como ya se reportó, la fibronectina es una de las moléculas más comunes e importantes.

Los fibroblastos, las células epiteliales, las células endoteliales y los macrófagos están dentro de las células de las heridas que potencialmente son afectadas por la fibronectina (tabla 1).

Como ya se ha mencionado, la fibronectina es un componente sobresaliente de la matriz provisional que puede promover la adhesión, migración y diferenciación celular.

TABLE I
PROPOSED ROLES OF FIBRONECTIN IN WOUND HEALING

Cells	Function
Fibroblasts	Attachment factor for migration Chemotaxis/haptotaxis Linkage to matrix for contraction Template for collagen assembly
Epithelium	Attachment factor for migration ?Effect on function
Endothelium	Attachment factor for migration Chemotaxis/haptotaxis
Macrophages	Attachment factor for migration Chemotaxis (fragments) Opsonin Aggregation Enhancement of Fc and C3 receptors Stimulus for growth factor production
Neutrophils	Bacterial opsonin
Schwann cells/neurons	Haptotaxis
Parenchymal cells	?Inhibits differentiation

Aunque falta la prueba definitiva de esas funciones en la cicatrización de las heridas, se han demostrado funciones similares en muchos experimentos in vitro. (20)

2.1 RESUMEN DE EVENTOS EN UNA SIMPLE HERIDA INCISIONAL DE PIEL

La consecuencia inicial de una herida incisional es la fuga de todos los componentes de la sangre de los vasos sanguíneos desgarrados y una rápida activación del sistema de coagulación; ésto llena el espacio de la herida en minutos con una matriz provisional "gel adhesivo", la cual contiene fibrina, plaquetas, leucocitos y fibronectina. La consecuencia es un cierre temporal del defecto en los vasos y en el epitelio. A los pocos minutos u horas después del daño, los neutrófilos y entonces los monocitos migran de la microvasculatura a los tejidos adyacentes y al espacio llenado con el gel de fibrina y fibronectina. Continuando con la debridación y remoción de los componentes del tejido dañado.

Dentro de las primeras 24 horas en el margen de la herida, el epitelio se contrae y forma una placa de células que empiezan a migrar bajo el coágulo y del tejido dañado, pudiendo cubrir un defecto simple en 2 o 3 días (aproximadamente 0.3 mm por día en la piel y de 1 a 2 mm por

día en la córnea), la migración precede a la división celular, la cual ocurre entre los bordes del corte. El epitelio migra sobre una capa de fibrina-fibronectina antes de los componentes de la membrana basal.

Los vasos sanguíneos empiezan a ramificarse dentro del lecho de la herida así como también en la matriz rica en fibrina y fibronectina, durante el primer o segundo día. Como en el caso del epitelio, la migración precede a la división celular la cual se concentra inicialmente en la periferia de la herida en asociación con el aumento de la fibronectina endotelial.

Por el tercer o cuarto día, los fibroblastos en el tejido empiezan a dividirse y a sintetizar glucosaminoglicanos especialmente ácido hialurónico, fibronectina y colágena. Durante este tiempo, la fibronectina y la colágena tipo III, progresivamente aumentan y se convierten en los principales componentes de la matriz recién formada. Si el defecto de la herida es grande, el espacio empieza a llenarse con "tejido de granulación" que consiste de nuevos vasos sanguíneos, fibroblastos y matriz suelta. Los fibroblastos en forma de miofibroblastos ricos en actina intervienen en la contracción de la herida, lo que acelera el cierre de la misma. Ocurren numerosas remodelaciones en las siguientes semanas, la fibronectina, la fibrina y la colágena

tipo III son reemplazadas por colágena tipo I, conforme la fuerza tensil es resturada y disminuye la vascularidad. (20)

III.- FIBRONECTINA EN EL TEJIDO CONJUNTIVO
GINGIVAL
Y EN EL LIGAMENTO PERIODONTAL

En los tejidos orales la fibronectina se ha manifestado en la erupción de los dientes, en la mucosa bucal, y en la pulpa dental humana, en el diente y en los tejidos periodontales en ratas. (10)

Singer y cols (1982) lleyaron a cabo estudios microscópicos de inmunofluorescencia y electrónicos del contacto fibroblasto-matriz en el tejido de granulación, mostrando que la fibronectina estaba presente en los filamentos extracelulares cerca de un contacto especializado llamado fibronexus.

Nuevamente Cho y cols (1985) trataron de determinar la localización de la fibronectina en el tejido conjuntivo gingival en un perro beagle, por medio de inmunofluorescencia con microscopio de luz en encía inflamada y no inflamada. Mostaron una fibronectina teñida en las membranas basales del epitelio y en los vasos sanguíneos no inflamados a manera de una banda uniforme e intensamente teñida de un espesor de cerca de 3 a 10 micras. La fibronectina también estaba distribuída en todo el tejido conjuntivo pero su tinción era

menos intensa y en asociación con fibrillas de colágena en los espacios extracelulares del tejido conjuntivo gingival.

Ellos mismos, extendieron sus observaciones con microscopio electrónico usando una técnica de anticuerpo indirecto-ferritina conjugada y peroxidasa conjugada.(11) Nuevamente observaron que la fibronectina estaba presente en todo el tejido conjuntivo en asociación cercana con fibrillas individuales de colágena, aparentemente sirviendo como una sustancia cementificante interfibrilar. Así como también parches de fibronectina localizados en la superficie celular de los fibroblastos, en las células plasmáticas, en los linfocitos, en las células endoteliales, en las células del músculo liso y en los neutrófilos. Observaron que estos parches amorfos unían células adyacentes a través de espacios delgados y unían a su vez estas células a las fibrillas de colágena.

Cho y cols (1986) y Pitaru y cols (1987) también detectaron la fibronectina marcada en el ligamento periodontal en el molar de la rata y en el perro respectivamente. La intensidad de la tinción en la encía fue más leve que en el ligamento periodontal y concluyen que aunque las diferencias en la intensidad de tinción puede estar relacionada a la antigenicidad de la fibronectina en la

encia, es posible que esto represente diferentes requerimientos funcionales para la fibronectina ya que:

a) Las fuerzas transmitidas al ligamento periodontal por el diente durante la función dental son diferentes a las aplicadas al tejido gingival.

b) Los fibroblastos del ligamento periodontal de la rata y el ratón están dentro de la actividad migratoria de los incisivos y de los molares, un hecho que implica la formación continua (y liberación) de adhesiones entre la matriz y la colágena.

c) El índice de recambio de la colágena en el ligamento periodontal es mas alto que en la encía.

Ya que la función principal de la fibronectina es servir como adhesivo ligando a las células y a la matriz, es posible que los niveles más altos de fibronectina en el ligamento periodontal se relacionen con las demandas funcionales dentro del tejido (25).

IV.- FIBRONECTINA EN SALIVA Y FLUIDO GINGIVAL

La fibronectina está presente en varios fluidos corporales, incluyendo en el plasma en un nivel de 300 mg/ml. La fibronectina se ha encontrado en la saliva estimulada y no estimulada con parafina. La presencia de fibronectina de origen glandular también esta apoyada por el hallazgo de fibronectina en las glándulas salivales menores. (37). Puesto que el exudado gingival contiene algunas proteínas del plasma, es posible que la fibronectina del plasma esté también presente en el fluido gingival.

Tynelius-Bratthall y cols (1986) estudiaron la presencia de la fibronectina en el fluido gingival y en la saliva estimulada de las glándulas parótidas, submandibular y sublingual estimuladas y no estimuladas. En las muestras de sangre, la concentración de la fibronectina fue estudiada por una prueba de Elisa. Ellos encontraron a la fibronectina en la saliva mandibular y sublingual pero no pudieron detectarla en la saliva de la parótida, también la encontraron en el fluido gingival y en el plasma. Aunque no se encontro una diferencia importante entre la concentración de fibronectina por mg/proteína en el plasma (300 mg/ml) y en el fluido crevicular. Ya que el fluido gingival contiene varias proteínas plasmáticas es concebible que se pueda encontrar la

concentración plasmática de fibronectina en el fluido gingival. Ellos concluyen que la fibronectina salival esta mezclada con la fibronectina del fluido gingival.

Contrariamente, el estudio de Lopatín y cols (1989), encuentran que los volúmenes del fluido gingival son muy bajos (<0.1 ml) en la mayoría de los sitios sanos que ellos midieron. No obstante con la aparición de inflamación gingival en los sujetos de control suficientes para permitir la expresión de grandes volúmenes de fluido, el contenido de la fibronectina que ellos encontraron fué aproximadamente de 1/3 de los niveles del plasma.

V.- INTERACCIONES DE LA FIBRONECTINA CON LOS MICROORGANISMOS

La primera bacteria que se detectó que se unía a la fibronectina fue el *S. aureus*, un descubrimiento que fue probablemente producto del azar.

Munch (1908) (20) observó que ciertas cadenas del estafilococo se agrupaban en la presencia del plasma sanguíneo, más tarde encontró que el fibrinógeno es el principal factor responsable de éste fenómeno, demostrando la unión de esta proteína a la bacteria. El agrupamiento de varias cadenas estafilococoides también se puede presentar un agotamiento del fibrinógeno plasmático, indicando que el estafilococco puede unirse a otras proteínas plasmáticas. Después de ocho décadas de la observación de Munch, se reportó que la fibronectina también puede promover el agrupamiento de estafilococcos.

Para inducir el agrupamiento de las bacterias, una proteína debe contener dos o más sitios de unión capaces de unirse con alta afinidad a los componentes presentes en la superficie de la bacteria. Tanto el fibrinógeno como la fibronectina cumplen con este requerimiento, ya que ambas moléculas en su estado natural existen como dímeros de tres

y una cadenas de polipéptidos respectivamente. Además los estudios recientes han demostrado que tanto la fibronectina como el fibrinógeno pueden unirse con alta afinidad a las proteínas receptoras presentes en la superficie de la bacteria. (20)

5.2 INTERACCIONES FIBRONECTINA-MICROBIO

Estudios recientes sugieren que la fibronectina puede actuar como una opsonina y facilitar la fagocitosis de la bacteria por un fagocito profesional. Ciertos aspectos de esta hipótesis han sido apoyados por reportes de diferentes laboratorios. Parece claro que la fibronectina puede promover el enlace del receptor fibrina-bacteria positiva al leucocito polimorfonuclear y al macrófago, pero las proteínas no parecen facilitar la ingestión o la muerte de los microorganismos.

Algunos estudios han demostrado que los microorganismos que tienen receptores para la fibronectina pueden adherirse a las superficies recubiertas con fibronectina.

No está del todo claro si todos los tipos de microorganismos que presentan receptores para la fibronectina usan éstos para su adhesión a los tejidos del huésped. Si en

verdad las uniones de fibronectina representan un mecanismo importante en la adhesión tisular del microbio, entonces ésta reacción puede ser el blanco para el diseño de futuros medicamentos para prevenir y tratar infecciones. (20)

5.3 INTERACCIONES DE LA UNIÓN DE FIBRONECTINA-MICROORGANISMOS

La tabla 1 muestra una lista de microorganismos que se unen a la fibronectina en un tipo de interacción receptor-ligando.

La aparente afinidad que los receptores de las bacterias tienen para la fibronectina son en general, considerablemente mayores que los reportados para las células de animales vertebrados.

La mayoría de las uniones fibronectina-bacteria (Gram + o Gram-) reconocen la región terminal amino de la proteína. (Fig 2). (20)

TABLE I
BINDING OF FIBRONECTIN TO MICROORGANISMS

Microorganism	Number of binding sites/cell	K_d	References
<i>Staphylococcus aureus</i>	250-7.5 × 10 ³	6 × 10 ⁻⁸	Kuusela (1978); Espersen and Clemmensen (1982); Rydén <i>et al.</i> (1983); Proctor <i>et al.</i> (1982a); Switalski <i>et al.</i> (1983); Kuusela <i>et al.</i> (1984)
Coagulase-negative staphylococci			Switalski <i>et al.</i> (1983)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10 ³	10 ⁻⁸	Myhre and Kuusela (1983); Simpson and Beachey (1983); Switalski <i>et al.</i> (1982); Speziale <i>et al.</i> (1984); Courtney <i>et al.</i> (1983)
<i>Viridans streptococci</i>			Inni <i>et al.</i> (1984); Babu <i>et al.</i> (1983); Babu and Dabbous (1986); Scheld <i>et al.</i> (1985)
<i>Bacillus subtilis</i>			Van de Water <i>et al.</i> (1983)
<i>Escherichia coli</i>	(Two classes) 10 ⁴ /5 × 10 ³	3 × 10 ⁻¹⁰ /3 × 10 ⁻⁹	Fröman <i>et al.</i> (1984); Van de Water <i>et al.</i> (1983); Faris <i>et al.</i> (1986); Baloda <i>et al.</i> (1986)
<i>Salmonella typhimurium</i> <i>S. enteritidis</i> <i>S. dublin</i>			Van de Water <i>et al.</i> (1983) Baloda <i>et al.</i> (1985) Kristiansen <i>et al.</i> (1987)
<i>Treponema pallidum</i>	3 × 10 ³	5.6 × 10 ⁻⁸	Peterson <i>et al.</i> (1983); Fitzgerald <i>et al.</i> (1984); Thomas <i>et al.</i> (1985a); Steiner and Sell (1985)
<i>Trypanosoma cruzi</i> (trypomastigotes)	6 × 10 ⁴	10 ⁻⁸	Ouassii <i>et al.</i> (1984, 1986)
<i>Leishmania</i> spp.			Wyler <i>et al.</i> (1985)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			Van de Water <i>et al.</i> (1983)
<i>Candida albicans</i> <i>C. tropicalis</i>			Skerl <i>et al.</i> (1984); Scheld <i>et al.</i> (1985)

5.4 INTERACCIONES DE LOS MICROORGANISMOS PATOGENICOS ORALES CON LA FIBRONECTINA

Como se mencionó anteriormente la fibronectina se une al estafilococco aureus, a los estreptococos y a ciertas cepas del E. coli .

También se ha demostrado que la fibronectina está presente en las películas artificiales de los dientes, así como también en las superficies de las células epiteliales orales y se ha sugerido que actúa como un receptor para la adherencia del estreptococco piógenes a la superficie celular. (20)

Babu y cols, (1986) indican que la fibronectina en la forma soluble e inmóvil influye en la adherencia a las superficies de los dientes artificiales de las dos cepas de S. mutans, del S. rattus y del S. sobrinus. El también establece que la fibronectina soluble en la saliva puede servir como una aglutinina para la eliminación de organismos de la cavidad bucal así como un receptor para el S. cariogénico cuando se inmoviliza en la superficie del diente. El balance entre estas dos funciones de la fibronectina puede jugar un papel en la regulación de la ecología de la cavidad bucal.

5.5 INTERACCIONES DE LOS MICROORGANISMOS PERIODONTOPATOGÉNICOS CON LA FIBRONECTINA

Los conocimientos de las interacciones de las bacterias con los substratos de colágena son de importancia para el entendimiento de los mecanismos de destrucción tisular, el cual ocurre durante los períodos activos de la Enfermedad Periodontal.

Los Porfiromonas Gingivales (*Bacteroides Gingivalis*) se han asociado con las enfermedades periodontales en humanos y parecen ser muy invasivos. Estas bacterias y sus componentes antigénicos han sido detectados en los tejidos conjuntivos gingivales humanos. Y niveles elevados de anticuerpos en contra de estas bacterias están con frecuencia presentes en el suero de adultos con Periodontitis de Progreso Rápido.

Las cepas del *P. gingivalis* se caracterizan por ser altamente proteolíticas y son de los pocos microorganismos que inhabilitan la boca, ya que pueden degradar substratos colagenosos.

Estos microorganismos producen proteasas incluyendo a la colagenasa y se ha sugerido que ésta enzima está localizada en la superficie celular de la bacteria. (21)

El efecto inhibitorio de la fibronectina en la unión de la célula del *P. gingivalis* al substrato colagenoso es de interés ya que se reconoce que esta proteína une las moléculas de colágena por estar presente en las membranas basales.

Naito y cols (1988) han observado que la presencia de fibronectina disminuye al adhesión del *P. gingivalis* a la colágena tipo I tratada con hidroxapatita y por las partículas de colágena de bovino. Esto parece deberse a la unión de la fibronectina a la molécula de colágena en el pretratamiento de colágena-hidroxapatita con fibronectina seguida de un lavado, causando un grado similar de inhibición.

La investigación de Naito también demostró que la tripsina tratada con el complejo fibronectina-colágena, puede promover la adhesión de los *P. gingivalis*.

La membrana basal debajo del epitelio gingival es la última barrera que protege al tejido conjuntivo. Naito especula que, "los niveles elevados de proteasas, las cuales

se encuentran en el medio ambiente de la encía como una secuela de una higiene oral pobre y la subsecuente inflamación gingival, tienden a remover a la fibronectina y a exponer el dominio en las moléculas de colágena en la membrana basal, la cual podría promover la unión de las bacterias. Una vez adherido firmemente, podría esperarse que las enzimas colagenolíticas del organismo degradaran esos elementos colagenosos y facilitarían a la célula bacteriana la penetración debajo del tejido conjuntivo".

La unión de los polimorfonucleares (PMN's) al área, podría liberar enzimas lisosomales dentro del tejido conjuntivo antes de que salgan del epitelio del surco gingival y esto causaría una futura destrucción del epitelio. Eventualmente, podría ocurrir una respuesta de anticuerpos a la invasión de organismos, los cuales podrían conducir a la eliminación de los tejidos. Tales series de eventos parecen ser una de las probables posibilidades las cuales explican los episodios de la destrucción de los tejidos en la Periodontitis.

VI.- FIBRONECTINA Y GINGIVITIS

Como ya se mencionó anteriormente, Cho y colaboradores (1986) en una investigación en un perro beagle estudiaron la localización de la fibronectina tisular en una encía inflamada, y fue interesante el intenso teñimiento de la fibronectina en las crestas papilares del tejido conjuntivo inflamado. Esto puede reflejar un aumento en la pérdida de proteínas del plasma, incluyendo a la fibronectina en éstos sitios. Las células endoteliales, epiteliales, macrófagos y fibroblastos son conocidos productores de fibronectina. Sin embargo, estas células no están presentes en cantidades mucho mayores en la cresta papilar que en otras partes del tejido conjuntivo papilar así es que, éstas células no contribuyen a las mayores cantidades de fibronectina en el sitio.

Cuando estos autores lo observaron al microscopio electrónico (11) usando una técnica de anticuerpo indirecto-ferritina conjugada y peroxidasa conjugada, notaron que la encía inflamada del perro beagle, estaba caracterizada por una proliferación de proyecciones papilares con gran infiltrado inflamatorio de células plasmáticas y pérdida de colágena dentro del tejido conjuntivo subepitelial. En éstos sitios la fibronectina estuvo presente como una banda intensamente teñida rodeando los vasos sanguíneos y en la

cresta papilar del tejido conjuntivo, más cerca del espacio del surco.

La fibronectina en la membrana basal debajo del epitelio estaba disminuída y se teñía menos uniformemente. Una red delicada de fibronectina estuvo también rodeando las células del plasma y los restos de fibras de colágena.

En la inflamación, Vercellotti y cols. (1983) encontraron que los productos liberados por los neutrófilos alteraban a la fibronectina, lo que causó un aumento en la adherencia de los neutrofilos a las células endoteliales. Por lo tanto, tales alteraciones en la fibronectina pueden servir como un amplificador en la inflamación.

VII.- LA PRESENCIA DE FIBRONECTINA EN EL FLUIDO
GINGIVAL EN RELACION CON LAS ENFERMEDADES
PERIODONTALES.

Lamberts y cols (1989) fijaron a la fibronectina como un índice del flujo del fluido gingival del surco para determinar si se podía encontrar una relación entre su nivel en la saliva no estimulada y el estado de salud periodontal. Ellos no encontraron diferencias importantes del nivel de fibronectina en saliva no estimulada y el fluido gingival de personas con o sin Enfermedad Periodontal, excepto posiblemente en los casos extremos de enfermedad.

Lopatín y cols (1989) se interesaron también en investigar las concentraciones que actualmente existen en el fluido gingival que baña las superficies radiculares y determinar si existía una correlación entre la concentración de la fibronectina en el plasma y en el fluido gingival con los diferentes niveles de Enfermedad Periodontal.

El exámen de los sitios más enfermos de cada grupo, mostró que las concentraciones de la fibronectina en el fluido gingival crevicular eran más elevadas en salud y reducidas cuando existía inflamación gingival. En ningún caso la fibronectina del fluido gingival se encontro estar biológicamente activa.

Los autores explican que la presencia de enzimas degradativas por microorganismos en la gingivitis explicaría no sólo la disminución de la fibronectina, sino también la carencia de fibronectina biológicamente activa en la muestra. Por lo tanto, el grado de disminución de la fibronectina en el fluido gingival crevicular quizás esté más relacionado a las proporciones y cantidades de microorganismos específicos de la flora del surco.

Así mismo, ellos consideran que los factores del huésped pueden agotar el contenido de la fibronectina, el infiltrado de leucocitos dentro del surco durante los episodios inflamatorios quizás puedan ser responsables de la degradación proteolítica de la fibronectina exógena. Además, la disminución de a fibronectina quizás ocurra durante los procesos de reparación tisular ya que es removida a través de la actividad fagocitaria. Por lo tanto, en la actividad de la enfermedad gingival del surco, en la destrucción y reparación del tejido, se puede deducir a que está asociada con el consumo de cantidades importantes de fibronectina. (19)

No existen reportes de la presencia de fibronectina tisular en la Periodontitis.

Los autores explican que la presencia de enzimas degradativas por microorganismos en la gingivitis explicaría no sólo la disminución de la fibronectina, sino también la carencia de fibronectina biológicamente activa en la muestra. Por lo tanto, el grado de disminución de la fibronectina en el fluido gingival crevicular quizás esté más relacionado a las proporciones y cantidades de microorganismos específicos de la flora del surco.

Así mismo, ellos consideran que los factores del huésped pueden agotar el contenido de la fibronectina, el infiltrado de leucocitos dentro del surco durante los episodios inflamatorios quizás puedan ser responsables de la degradación proteolítica de la fibronectina exógena. Además, la disminución de fibronectina quizás ocurra durante los procesos de reparación tisular ya que es removida a través de la actividad fagocitaria. Por lo tanto, en la actividad de la enfermedad gingival del surco, en la destrucción y reparación del tejido, se puede deducir a que está asociada con el consumo de cantidades importantes de fibronectina. (19)

No existen reportes de la presencia de fibronectina tisular en la Periodontitis.

VIII.- EL EFECTO IN VITRO DE LA APLICACION DE
LA
FIBRONECTINA EN SUPERFICIES RADICULARES
MINERALIZADAS Y DESMINERALIZADAS

La destrucción de los tejidos periodontales que ocurre en la Periodontitis, resultan en la pérdida de inserción de la encía, del ligamento periodontal y del epitelio de unión al diente. Después de la pérdida de inserción del tejido conjuntivo, el epitelio de unión migra apicalmente sobre la superficie radicular expuesta conduciendo a la formación de una bolsa periodontal.

Idealmente, el tratamiento quirúrgico de la Enfermedad Periodontal debe de resultar en una nueva inserción del ligamento periodontal y de la encía a la superficie radicular expuesta con la migración de las células del ligamento periodontal y de la encía hacia la superficie radicular. Su inserción y migración sobre esta superficie radicular es una parte esencial de una cicatrización de herida exitosa.

El estado de la superficie radicular parece influir en este proceso, por ejemplo, los productos bacterianos tales como las endotoxinas que se acumulan sobre la superficie radicular aparentemente inhiben la adherencia de los fibroblastos in vitro. (Aleo 1977, Fine y cols 1980).

Mientras que el alisado de la superficie radicular mejora la inserción , otros estudios han indicado que las superficies radiculares desmineralizadas facilitan la nueva inserción in vivo (Register & Burdick 1975, Garret y Egelberg 1978).

Se sabe que la desmineralización expone las fibras de colágena en la superficie radicular (Garret y cols 1978) y los estudios in vitro han demostrado que la desmineralización promueve la adherencia a largo plazo de los fibroblastos y la generación de una estructura de tejido orientada (Pitaru y cols 1984). La colágena expuesta da un substrato natural para la adherencia de las células del tejido conjuntivo y puede también dar un estímulo quimiotáctico para esas células.

Se ha encontrado que tanto la fibronectina y la laminina están involucradas en la adhesión de los fibroblastos gingivales hacia la superficie del diente. (Terranova & Martin 1982, 1986), por lo que ha existido un interés clínico en utilizar a la fibronectina como un agente para el re-establecimiento de la inserción entre el tejido conjuntivo y la superficie radicular en el tratamiento de las enfermedades periodontales.

Karp y cols (1986) han estudiado la unión de la fibronectina y la laminina en la dentina no desmineralizada y

desmineralizada usando la prueba de ELISA modificada en raíces de premolares de cerdo, donde encontraron que la fibronectina se unía dos veces más a las superficies radiculares desmineralizadas comparadas con las no desmineralizadas. En cuanto a la laminina, sus estudios mostraron una unión dos veces más a las raíces no desmineralizadas comparadas con las desmineralizadas. Estos resultados indican que el tratamiento de las superficies radiculares expuestas puede ser usado para promover la adhesión de las proteínas específicas y así promover la adherencia selectiva de las células hacia la superficie radicolare del diente.

Pitaru y cols (1988) han desarrollado un medio definido que soporta la migración selectiva y el crecimiento de las células epiteliales a las superficies dentarias. Este medio se utilizó para establecer los efectos de la fibronectina con la desmineralización parcial del cemento en la migración de las células epiteliales y su crecimiento sobre el cemento in vitro.

Utilizaron 60 superficies radiculares de cerdo con células epiteliales de encía de perros, las superficies radiculares fueron separadas en 4 grupos iguales, de acuerdo al tratamiento de:

a) cemento mineralizado no tratado, 2) tratado con 5 mg de fibronectina, 3) desmineralizado parcialmente con el 18 % de EDTA por 30 minutos y 4) desmineralizado y tratado con fibronectina.

El medio de cultivo definido soportó la migración selectiva y el crecimiento de las células epiteliales de las muestras de encía en el cemento mineralizado. La capacidad de las células epiteliales para migrar y crecer sobre el cemento estuvo reducido extensamente cuando el cemento fue parcialmente desmineralizado, sugiriendo que la matriz de colágena desmineralizada del cemento no fué un sustrato hospitalario para la migración y crecimiento de las células epiteliales de la encía y ya que se uso un medio definido, la superficie mineralizada del cemento pudo haber tenido ciertos componentes que pudieron ser removidos por el proceso de desmineralización parcial y parece que éstos son reconocidos por las células epiteliales de la encía.

En otras palabras, esos componentes serán esenciales para la migración y crecimiento de las células epiteliales.

El tratamiento con fibronectina no afectó la migración celular epitelial y el crecimiento sobre el cemento mineralizado pero en el cemento parcialmente desmineralizado disminuyó el grado de la migración de las células

epiteliales, su crecimiento y su inhibición en un 57 a 43 % respectivamente. Estos resultados indican que:

a) el cemento mineralizado puede contener componentes que son reconocidos por las células epiteliales gingivales y soportan su migración y crecimiento in vitro, b) éstos componentes pueden ser removidos por la desmineralización y c) la fibronectina parcialmente restaura la migración de las células epiteliales y el crecimiento sobre el cemento parcialmente desmineralizado in vitro.

Sin embargo, la extrapolación de los resultados en modelos in vitro a sistemas in vivo debe ser llevado con precaución.

Los resultados sugieren que la desmineralización parcial de las superficies expuestas tiene un efecto limitado ya que, se sabe que la fibronectina puede unirse a la colágena de las superficies expuestas desmineralizadas y parcialmente restaurar la capacidad de las células epiteliales a adherirse y migrar sobre la superficie dental desmineraizada. Esto puede ofrecer una explicación para varios estudios clínicos experimentales que se verán mas adelante donde se ha reportado que la desmineralización parcial de las superficies dentales expuesta y el agregamiento de la fibronectina no resulta en un aumento en la cantidad de nueva inserción del tejido conjuntivo.

En cuanto a la aplicación de la fibronectina exógena, Pearson, Klebe y cols (1988), examinaron la cantidad de adsorción de fibronectina en los fragmentos mineralizados y desmineralizados con ácido cítrico de dentina humana y de bovinos así como también de hueso de ratas, monos y de humanos.

Sus resultados presentados indican que aproximadamente 1mg de fibronectina satura 1 mg de polvo de tejido mineralizado, mientras que la desmineralización aumentó la unión de fibronectina. El efecto de la desmineralización no fue más que el doble de la capacidad de unión de la fibronectina. Por lo que el aumento en la unión de fibronectina notada después de la desmineralización se debe probablemente a un aumento en el área de superficie del tejido desmineralizado que a la simple exposición a la colágena.

Este reporte confirma las observaciones de otros autores (29,35) de que la desmineralización aumenta la unión de la fibronectina a las superficies radiculares aproximadamente a un factor de dos.

Los datos de Pearson también indican que una pequeña cantidad de fibronectina se requiere para saturar

completamente la superficie radicular. Ya que el plasma contiene 300 mgs de fibronectina por mililitro, se puede esperar que las cantidades más pequeñas de sangrado durante la cirugía bucal saturen las superficies radiculares con fibronectina, por lo tanto, la fibronectina exógena parece ser de poco beneficio clínico.

También se ha estudiado las condiciones que favorecen la adsorción y retención de la fibronectina en las superficies radiculares in vitro. Los estudios kinéticos de Mendieta y cols. 1990 demostraron que la adsorción era rápida con el 77 % de adsorción máxima de fibronectina durante un minuto, la adsorción se redujo cuando se le agregó suero y fue inhibida por iones monovalentes (tales como el sodio), pero aumentada por la presencia de cationes divalentes (tales como el calcio).

La aplicación de suero al cemento parcialmente bloqueó la adsorción de la fibronectina, mientras que la irrigación con suero lavó la unión de la fibronectina al cemento. El tratamiento del cemento con ácido cítrico ph 1 por 4 minutos seguido por el lavado con hipoclorito de sodio por 5 minutos causó un aumento importante en la adsorción de fibronectina con una retención máxima a la exposición subsecuente al suero.

La adsorción de fibronectina al cemento fué rápida, electrostática en naturaleza, competitiva, reversible, facilitada por los cationes de calcio y maximizada por el condicionamiento previo de la raíz con ácido cítrico e hipoclorito de sodio.

Los autores concluyen que la adsorción de la fibronectina al cemento se puede lograr para una mayor ganancia de inserción clínica, sin embargo, las condiciones de la aplicación pueden estar influenciadas importantemente por la cantidad de acumulación y la subsecuente liberación del material adsorbido por la raíz. (22)

IX.- EVALUACION CLINICA DEL USO DE FIBRONECTINA EN LA CICATRIZACION DE LA CIRUGIA PERIODONTAL

La fibronectina está muy involucrada en la formación y adhesión del coágulo de fibrina en los estadíos tempranos de la cicatrización de la herida. Estas propiedades biológicas han sido explotadas para ayudar en la reparación de la herida en procedimientos de herida cerrada en cirugía plástica y reconstructiva, en cirugía maxilofacial, en cirugía periodontal y en la reparación del tronco nervioso. (20) (7)

Terranova & Martin (1986) demostraron una adherencia aumentada fibroblástica a las superficies radiculares desmineralizadas con ácido en cultivos de tejido cuando se le agregaba fibronectina al medio, y se generó un interés relacionado con los efectos de la fibronectina durante los nuevos procedimientos de inserción periodontal.

La publicación de Caffesse y cols (1985) reporta que los perros beagle con enfermedad periodontal mostraban un aumento importante en la inserción de tejido conjuntivo en secciones histológicas cuando se realizaba la cirugía por colgajo de Widman modificado después de que el área había sido desmineralizada con ácido cítrico y bañada con fibronectina humana disponible comercialmente.

Ellos demuestran que la fibronectina por sí sola produce un poco más de nueva inserción que el obtenido en dientes control tratados sin fibronectina o ácido cítrico. Cuando la fibronectina se combinó con el ácido cítrico, la nueva inserción fue mucho mayor que la encontrada con sólo el ácido cítrico. Estos hallazgos fueron atribuidos a la inserción realizada entre las fibras de colágena del colgajo y las fibras a lo largo de la superficie radicular desmineralizada.

Nuevamente Smith, Caffesse y cols, (1987) examinaron el efecto del ácido cítrico y varias concentraciones de fibronectina exógena en la nueva inserción del tejido conjuntivo después de la cirugía por colgajo en perros mongrel.

Los resultados del estudio demostraron un aumento importante en la nueva inserción de tejido conjuntivo en todos los sitios quirúrgicos cuando se había adicionado fibronectina exógena obtenida de la propia sangre de los perros experimentales. La concentración de la fibronectina fué de 1.5 mg/ml. La fibronectina fué > del 95% puro apreciado por el gel de electroforésis, pero no se encontró ninguna ventaja el aumentar la concentración por encima de los niveles plasmáticos (0.38 mg/ml).

Lo que significa que la concentración aumentada de fibronectina no demostró tener un aumento importante ya que en los niveles coronales de inserción fueron similares en las concentraciones de fibronectina de 0.38, 0.75 y 1.5 mg/ml.

Otra vez Caffesse y Smith y cols (1987) evaluaron los efectos de la desmineralización con ácido cítrico y la aplicación de fibronectina autóloga en la proliferación celular después de la cirugía mucoperiosteal por colgajo ahora en monos rhesus.

Sus resultados claramente indican que el uso de la fibronectina, significativamente aumentó la proliferación de las células del tejido conjuntivo desde el área supracrestal y desde el ligamento periodontal coronal y les fué imposible diferenciar en este estudio cuál de esas dos áreas fueron las responsables de la repoblación en la superficie radicular. Dentro del límite del tiempo de ése proyecto no se observó resorción radicular, pero enfatizan que quizás se pudiera desarrollar después. En esencia, sus resultados muestran una cicatrización más rápida, por el uso del ácido cítrico y la fibronectina, ya que aumenta la proliferación celular y promueve la cicatrización más rápida después de la cirugía por colgajo.

Desde 1988, un estudio clínico longitudinal fue iniciado por Caffese y cols en personas para evaluar los efectos del uso del ácido cítrico y la fibronectina en asociación con la cirugía por colgajo de Widman modificado, con respecto a la reducción en la profundidad de la bolsa y la ganancia de los niveles de inserción clínica.

En 1988 se evaluaron los efectos de ese estudio en 29 pacientes bajo tratamiento de periodontitis moderada a avanzada quienes cumplieron la evaluación pos-quirúrgica de un año. Después del raspado y alisado radicular, el diseño se dividió usando dos cuadrantes tratados sólo con colgajo de Widman modificado y los otros dos cuadrantes aleatoriamente asignados fueron tratados con colgajo de Widman modificado combinado con la desmineralización con ácido cítrico y la aplicación de fibronectina.

La fibronectina la cual había sido previamente aislada del plasma del propio paciente, fué aplicada con una jeringa para tuberculosis sobre la superficies de las raíces desmineralizadas con ácido cítrico y en el interior del colgajo. Después de la sutura, dando una buena adaptación al colgajo, se aplicó una vez más bajo el colgajo y se aplicó una presión externa. Los pacientes fueron clínicamente evaluados desde el inicio del tratamiento y al año.

El colgajo de Widman modificado sólo o en combinación con el ácido cítrico y fibronectina, redujo significativamente la profundidad de la bolsa y aumentó la inserción clínica. Los cambios logrados con el ácido cítrico y fibronectina fueron estadísticamente mayores que los obtenidos con cirugía sólomente ya que se demostró una reducción de la profundidad de la bolsa de 0.22 mm mayor que cuando se realizó únicamente cirugía, y aumentó significativamente el número de sitios donde se ganó 2 mm o más de inserción clínica.

Estos resultados sugieren que el uso del ácido cítrico y fibronectina tienen efectos benéficos en los humanos, ya que su uso sostiene la promesa de un aumento en la inserción después de la terapia periodontal. (8)

9.1 EVALUACION CLINICA DEL USO DEL LA FIBRONECTINA Y

LAMININA EN LA CICATRIZACION DE LA CIRUGIA PERIODONTAL

Además del interés relacionado con los efectos de la fibronectina durante los nuevos procedimientos de inserción, también se ha estudiado el efecto de otras glucoproteínas como la Laminina.

Smith y Caffesse y cols (1987), determinaron la nueva inserción de tejido conjuntivo a la superficie radicular acondicionada con ácido cítrico, fibronectina y laminina

aplicada in situ en casos de periodontitis de presencia natural en perros beagle, utilizando dos modalidades de tratamiento y se analizaron comparativamente para establecer diferencias en la respuesta cicatrizal histológica a los 120 días posquirúrgicos.

Los tratamientos fueron: a) cirugía por colgajo periostico más ácido cítrico, b) cirugía más ácido cítrico seguido de la aplicación de fibronectina y laminina.

Después del raspado y el alisado, se establecieron marcas de referencia radiculares con el propósito de utilizar mediciones histométricas.

Los hallazgos de las secciones histológicas demostraron que cuando la laminina fué usada en adición al ácido cítrico y fibronectina, no hubo una mejoría más allá de los resultados obtenidos sólo con el ácido cítrico. Aunque la laminina fue aplicada con un pincel en el área de la unión cemento-esmalte, fue imposible evitar su escurrimiento bajo el colgajo dentro del área previamente cubierta con fibronectina. Como consecuencia, el resultado fué un epitelio de unión largo alcanzando el borde coronal de la muestra. También enfatizan que deberá tomarse en cuenta que la laminina fué aplicada después de la fibronectina lo que

podría suponer que la aplicación de la laminina anuló los efectos benéficos de la fibronectina en el aumento de la nueva inserción de tejido conjuntivo.

Los hallazgos antes mencionados no apoyan el objetivo de detener la migración del epitelio de unión durante la cicatrización por la aplicación de la laminina en el área cervical de la raíz, además la evidencia parece indicar que la laminina puede tener un papel mucho más importante en la patogénesis de la enfermedad que en el tratamiento (Boekeloo, Smith y cols 1986). Sin embargo, el efecto en la cicatrización de la laminina sola o con el ácido cítrico pero sin la fibronectina debe de ser investigado.

Ellos concluyen que el uso de la combinación de fibronectina y la laminina en los procedimientos de nueva inserción no parece estar justificado.

9.2 EVALUACION CLINICA DEL USO DE LA FIBRONECTINA EN SUPERFICIES RADICULARES DESMINERALIZADAS CON TETRACICLINA

Los estudios in vitro sobre los efectos del clorhidrato de tetraciclina en la dentina han revelado varias propiedades de la tetraciclina el cual sugiere un potencial útil en los procedimientos de regeneración periodontal (Terranova y Wikesjo 1987). Ya que la tetraciclina es adsorbida y posteriormente removida de la dentina manteniendo su actividad antimicrobiana. Otros estudios sugieren que la tetraciclina inhibe la producción de colagenasa tisular y la resorción del hueso alveolar. (Wikesjo y cols 1988).

La superficie desmineralizada con tetraciclina es comparable a la observada con el ácido cítrico (Wikesjo y cols 1986). La superficie desmineralizada con tetraciclina o ácido cítrico ha mostrado que aumenta la unión de la fibronectina a la matriz extracelular a la dentina. Este aumento en la unión se cree que aumenta la adhesión y el crecimiento de los fibroblastos gingivales hacia la superficie dentinaria (Terranova y cols 1986).

Además, en las pruebas de quimiotaxis se demostró una migración de las células del ligamento periodontal a la

superficie de la dentina cuando fueron acondicionadas con tetraciclina y fibronectina (36).

En un estudio realizado por Wikesjo y cols (1988) examinaron los efectos de la desmineralización radicular y de la aplicación tópica de fibronectina asociada a la cirugía periodontal reconstructiva en 14 perros beagle con defectos horizontales periodontales que fueron quirúrgicamente creados rodeando los premolares inferiores seguidos por un período de 6 semanas sin control de placa. La cirugía reconstructiva de los defectos subsecuentemente se llevó a cabo. Las superficies radiculares fueron debridadas y desmineralizadas superficialmente con ácido cítrico o clorhidrato de tetraciclina con o sin la subsecuente aplicación de fibronectina.

Dentro de los límites de éste estudio ellos concluyeron que: a) el acondicionamiento de la superficie radicular con ácido cítrico frecuentemente tuvo como resultado una reparación completa del tejido conjuntivo en los defectos de la furcación, b) la resorción radicular y la anquilosis fueron características comunes en la respuesta cicatrizal, c) el tratamiento con ácido cítrico y tetraciclina demostró una capacidad similar para inducir reparación del tejido conjuntivo y resultó en incidencias similares de resorción y anquilosis radicular, y d) la aplicación de fibronectina a

las superficies radiculares desmineralizadas no aumentó la cantidad de tejido conjuntivo reparado y no alteró el patrón de resorción y anquilosis radicular.

Alger y cols (1990), evaluaron histológicamente la nueva inserción en raíces humanas periodontalmente enfermas tratadas con clorhidrato de tetraciclina y fibronectina humana por medio de cirugía mucoperiosteal, utilizaron 22 dientes con enfermedad periodontal dividiéndolos en tres grupos: 1) cirugía con degranulación y alisamiento radicular, 2) cirugía con tratamiento de las raíces con clorhidrato de tetraciclina y 3) cirugía con tratamiento de las raíces con clorhidrato de tetraciclina y fibronectina.

A los 90 días se evaluaron histológicamente los dientes, la encía, el hueso alveolar y el ligamento periodontal; sus resultados fueron:

El grupo 1) control, cicatrizó con una adhesión del epitelio de unión largo; los grupos 2) y 3) mostraron algo de re-inserción pero sólo en la muesca hecha en la raíz en el nivel original del hueso.

Existió una tendencia mayor de inserción del tejido conjuntivo después del tratamiento con clorhidrato de tetraciclina en la superficie radicular. La aplicación adicional de fibronectina a las superficies tratadas con

clorhidrato de tetraciclina parece parcialmente negar un aumento en la inserción del tejido conjuntivo, esto se observó únicamente con el tratamiento de la tetraciclina.

Por lo tanto, los resultados de ésta investigación junto con la de otros investigadores (39), indican que el tratamiento de las superficies radiculares de humanos con clorhidrato de tetraciclina, o con clorhidrato de tetraciclina más fibronectina humana, durante la cirugía periodontal no resultan en un aumento en la nueva inserción.

9.3 EVALUACION CLINICA DEL USO DE LA FIBRONECTINA EN SUPERFICIES RADICULARES EN LESIONES DE FURACION

Yeung y cols (1990), evaluaron en cuatro sujetos con lesiones de furca clase III bilaterales mandibulares, los beneficios clínicos relacionados con el uso asociado de fibronectina autóloga en la regeneración de estas lesiones en términos de ganancia de inserción después de la debridación quirúrgica, el alisamiento radicular, la desmineralización con ácido cítrico y la aplicación de fibronectina autóloga.

Este estudio fracasó para demostrar alguna ganancia adicional de inserción en sitios de furcaciones en raíces humanas después de la aplicación de fibronectina autóloga y

ácido cítrico. Así como tampoco existió evidencia de regeneración de hueso en las furcas tratadas quirúrgicamente cuando se evaluó radiográficamente.

9.4 CICATRIZACION PERIODONTAL DESPUES DE LA REGENERACION DE LA REGENERACION TISULAR GUIADA CON LA APLICACION DE ACIDO CITRICO Y FIBRONECTINA

El objetivo final de la terapia periodontal no incluye sólo la detención de la enfermedad periodontal progresiva, sino también la capacidad de predecir la regeneración del periodonto en el sitio previo al colapso periodontal, por ejemplo, la formación de nuevo cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. La evidencia disponible a la fecha indica que la forma más subsecuente de cicatrización de una herida siguiendo la terapia quirúrgica es el desarrollo de un epitelio de unión largo y la adhesión tejido conjuntivo, el cual puede dar un resultado clínico bueno pero fracasa para satisfacer el objetivo de la regeneración. A fin de que ocurra regeneración, las fibras del ligamento periodontal deben estar embebidas en el cemento que se ha formado sobre la superficie radicular previamente expuesta.

Recientemente en perros beagle, el material periodontal Gore-Tex fue efectivo para bloquear la migración apical del epitelio de unión y la proliferación del tejido conjuntivo promoviendo nuevo enlace de acuerdo al principio de regeneración de tejido guiada. En humanos los resultados mostraron que la inserción de tejido conjuntivo estuvo considerablemente favorecido por la colocación de membranas de Gore-Tex, las cuales evitan que el epitelio gingival y el tejido conjuntivo gingival interfieran en la cicatrización.

Las mediciones clínicas demostraron una disminución en la profundidad al sondeo, una ganancia en los niveles de inserción para furcaciones tratadas y defectos verticales. Las biopsias de los sitios tratados revelaron nuevo cemento con inserción de fibras del tejido conjuntivo del ligamento periodontal y cantidades variables de hueso (Gottlow J. Nyman, S, Lindhe J., Karring T., y Wenstrom, 1986).

Caffese, Nasjleti y cols (1971) determinaron los efectos de la regeneración tisular guiada (GTR) con y sin el acondicionamiento del ácido cítrico y la aplicación de la fibronectina autóloga. Los sujetos fueron cuatro perros beagle hembras con periodontitis espontánea a las cuales se les dió un completo debridamiento radicular y a las 4 semanas después se levantaron colgajos, se les aplicó ácido cítrico en las raíces, tanto las superficies radiculares como la superficie interna del colgajo fueron bañadas con

fibronectina autóloga en solución salina. Después de ésto, el material Gore-Tex se adaptó a las raíces y se suturó a cada diente. Todas las membranas fueron removidas un mes después de la cirugía y los perros fueron sacrificados a los tres meses.

Los resultados del estudio demostraron que: 1) la cicatrización periodontal siguiendo el uso de procedimientos de regeneración tisular guiada resultaron en un aumento en el tejido conjuntivo y en la regeneración del hueso alveolar y 2) el acondicionamiento con ácido cítrico a la raíz más la aplicación de la fibronectina autóloga produjo ligeramente mejores resultados, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Los investigadores enfatizan que la falta de importancia en los resultados podría deberse a varios factores. Puede ser que hubo pocos estudios en animales y pequeñas diferencias para ser de importancia. O quizás también sea, que las diferencias generadas son tan mínimas que la significancia nunca será alcanzada, también puede ser que la regeneración tisular guiada podría beneficiarse con una terapia adicional pero el ácido cítrico y la fibronectina no representan la elección ideal.

Pitaru y cols (1988) en un intento para mejorar los valores clinicos de la técnica de regeneración tisular guiada usaron barreras reabsorbibles de colágena y encontraron que ellas poseen la capacidad de prevenir parcialmente la migración apical del epitelio durante el estadio inicial de cicatrización de la herida periodontal en perros. Ellos encontraron una regeneración periodontal con una nueva insercion de tejido conjuntivo, pero además ellos observaron la formación de bolsas periodontales y la cicatrización por medio de un epitelio de unión largo en la dimensión ocluso-apical coronal en un 30% a 40 % de los defectos periodontales producidos en la cirugía.

Así es que ellos sugieren dos posibles propuestas para superar esta deficiencia , 1) el retardamiento en la degradación de las barreras de colágena y/o 2) el aumento de la colonización de las superficies alisadas por células de tejido conjuntivo usando factores quimiotácticos y de adhesión para este tipo de células, tales como la fibronectina y el sulfato de heparan.

Pitaru y cols (1991), nuevamente utilizaron las barreras de colágena en bicapas enriquecidas con sulfato de heparan y fibronectina.

Se crearon defectos óseos en la cara labial de los caninos superiores en perros mogrel. Los sitios experimentales fueron tratados con barreras de colágena enriquecidas con fibronectina y sulfato de heparan, ó con barreras de colágena no enriquecidas usando la técnica de regeneración tisular guiada. Las pruebas histológicas e histomorfométricas de las muestras obtenidas 20 días después de la cirugía indican la formación de un epitelio de unión corto en los sitios experimentales tratados con barreras de colágena enriquecidas. En este grupo, el 95% de la longitud ocluso-apical de los defectos fué repoblada por células del tejido conjuntivo. En los otros dos grupos se desarrolló un epitelio de unión largo y sólo el 65% de los defectos óseos apico-oclusal fueron repoblados con células de tejido conjuntivo. Estos hallazgos sugieren que el enriquecimiento de las barreras de colágena con fibronectina y sulfato de heparan pueden ser importantes para realzar la repoblación de células de tejido conectivo a las superficies radiculares expuestas, y prevenir la migración apical del epitelio durante la etapa inicial de la cicatrización de la herida periodontal.

Ellos sugieren, que el enriquecimiento de las barreras de colágena con fibronectina y sulfato de heparan fué la factor principal que mejoró sus propiedades biológicas. Se usó la fibronectina para unir el sulfato de heparan a la membrana de

colágena y se demostró que actuó como un factor quimiotáctico para los fibroblastos. El sulfato de heparan demostró que una factores de crecimiento que son mitógenos para las células del tejido conjuntivo.

X.- FIBRONECTINA EN EL TISSUCOL

Desde 1940, se han realizado numerosos intentos para usar sustancias coagulantes como adhesivos sellantes en la cirugía general. Desafortunadamente, las experiencias resultaron en fracasos debido a la poca fuerza adhesiva, a la inadecuada concentración del fibrinógeno y a la pobre estabilidad del coágulo. Los fracasos están relacionados con la ausencia de una sustancia antifibrinolítica en el sistema. (3)

Recientemente, el desarrollo de un proceso especial crioprecipitado, ha hecho posible la producción de una solución altamente concentrada de fibrinógeno que también contiene una mayor cantidad del factor XIII junto con la fibronectina (Tissucol). La reacción de coagulación es iniciada con una solución de trombina y cloruro de calcio, mientras que la fibrinolisis intrínseca es suprimida por la adición de aprotinina al sistema. La aprotinina es una antiproteasa natural aislada del páncreas bovino. El desarrollo de este sistema sellante hizo posible en 1975 el primer éxito de anastomosis del nervio periférico. Desde entonces, el Tissucol ha sido usado exitosamente en muchos campos quirúrgicos.

En un estudio piloto Bartolucci y cols (1982) investigaron clínicamente las cualidades bio-adhesivas del Tissucol en la cirugía periodontal.

Para este propósito, fueron seleccionados un colgajo pediculado lateral y un injerto gingival libre en humanos. Se aplicaron una solución de Tissucol-Aprotinina y una solución de trombina-cloruro de calcio a las heridas con un aplicador especial y no se usó apósito quirúrgico.

El sellante biológico se colocó en un punto por 20-30 seg. y se notó que ganó fuerza en el curso de las siguientes dos horas. Los tejidos sellados mostraron una inflamación local insignificante a la semana, a las dos semanas y al mes de la cirugía. El proceso de cicatrización pareció ser más rápido que cuando se utilizaron suturas.

Ellos concluyen:

- a) El sellado con un adhesivo biológico es un procedimiento fácil y facilita la cirugía periodontal.
- b) El sistema adhesivo biológico que incluye sustancias fisiológicas parece aumentar el mecanismos de coagulación normal, y por lo tanto, tiene una ventaja indudable sobre las suturas y los sellantes sintéticos.
- c) Para la cicatrización de heridas, la fibrina, la trombina, el factor XIII y la fibronectina juegan un

papel capital, por lo tanto, el Tissucol puede también promover la cicatrización de la herida.(3)

La aplicación de Tissucol sobre las raíces alisadas y desmineralizadas en un modelo de reimplantación en monos (Ripamonti 1989) evaluó histomorfométricamente los diferentes patrones de cicatrización en la interfase radicular y el potencial de regeneración de la adhesión de tejido conjuntivo usando AFFP (allogeneic fibrin-fibronectin protein concentrate) en un modelo de reimplantación por medio del cual los incisivos quirúrgicamente desprovistos de sus aparatos de inserción fueron reimplantados dentro de un periodonto normal.

Las pruebas se realizaron en dos monos machos después de la extracción de los incisivos, las dos terceras partes de la corona de las raíces expuestas fueron raspadas para remover el resto del ligamento periodontal y el cemento; las superficies dentinales expuestas fueron desmineralizadas con ácido cítrico ph 1- 3, se realizó una muesca en la unión de las superficies alisadas y no alisadas, y los alveolos fueron cubiertos con el AFFP, preparado a partir del plasma del mono. Los animales fueron sacrificados 55 días después de la operación y los análisis histométricos fueron llevados a cabo. El análisis de varianza demostró diferencias significativas entre los dos tratamientos con respecto a la

magnitud de la anquilosis (fué mayor en las superficies desmineralizadas con el ácido cítrico que con el AFFF) . Exitieron variaciones en la magnitud de los diferentes patrones de cicatrización, tanto en las superficies experimentales como en los de control.

Dentro de los límites de este estudio de reimplantación en primates, el tratamiento bioquímico de superficies radiculares quirúrgicamente expuestas y desmineralizadas con AFFF no aumentó la regeneración de inserción del tejido conjuntivo , ni evitó la anquilosis dento-alveolar, ni la resorción radicular. (31)

Existe otro sellador de tejido llamado Tisseel. Se han reportado estudios de la efectividad del Tisseel (Warrer y Karring, 1992a, Warrer y Karring 1992b). No se incluyen en esta revisión, debido a que no especifican si éste producto contiene fibronectina ya que sólo se menciona a la fibrina como su principal componente.

C O N C L U S I O N :

La fibronectina es una glucoproteína de alto peso molecular que se encuentra ampliamente distribuida en todo el organismo, fundamentalmente en el plasma, tejido conjuntivo, epitelio embrionarios, saliva y fluido crevicular. Su concentración y distribución varía con la condición local o sistémica del huésped.

La fibronectina interviene principalmente en el proceso de cicatrización de las heridas, ya que favorece la migración, diferenciación y adhesión de los fibroblastos, células endoteliales y de los macrófagos. La fibronectina, la laminina, las plaquetas y los leucocitos, forman la matriz provisional (gel adhesivo) que llenará el espacio de la herida; posteriormente el epitelio migrará sobre ésta capa de fibrina-fibronectina. La concentración de fibronectina endotelial y de colágena aumentarán convirtiéndose en los principales componentes de la matriz recién formada.

La fibronectina actúa como una opsonina no específica y se adhiere a la actina y al DNA, promoviendo la remoción de restos tisulares y celulares por los macrófagos. Se considera que regula las interacciones de la matriz celular, la cual juega un papel importante en la organización y mantenimiento de los tejidos normales.

En investigaciones periodontales, se ha observado que la fibronectina se encuentra en el fluido gingival, algunos autores mencionan que está presente en cantidades similares a la del plasma (37), y otros que su concentración es más baja de 1/3 de los niveles del plasma (19), en la superficie de la bacteria; en los tejidos gingivales inflamados como algunos reportes nos indican, que se encuentra aumentada en las crestas papilares gingivales (11) por la salida de fibronectina plasmática; otros comentan, que se encuentra disminuida debido al agotamiento por su consumo (19).

Adicionalmente, se han realizado diferentes estudios usando fibronectina exógena en varias concentraciones en un intento por crear una nueva regeneración de los tejidos periodontales, en el cual las fibras del ligamento periodontal se insertan en nuevo cemento, previamente desmineralizado o no, con ácido cítrico y/o tetraciclina.

Aún cuando existen investigaciones que consideran que la fibronectina no cuenta con propiedades que ayuden a la cicatrización de heridas en la cirugía periodontal, se encontró en la revisión efectuada; que es mayor el número de autores que obtuvieron resultados alentadores en este sentido, es decir que la fibronectina participa en el proceso de adhesión del tejido conectivo a la superficie radicular así como en la reparación del tejido.

Otros investigadores, reportaron el uso de fibronectina exógena plasmática aplicada en úlceras corneales no cicatrizadas, en contractura de heridas por quemadura y en infecciones de úlceras de piel en diabéticos; señalando que la fibronectina exógena plasmática aplicada, causaba una modesta pero importante aceleración de la migración de las células epiteliales en la córnea rasgada en un conejo.

La fibronectina no tiene un efecto detectable en el índice de migración de las células epiteliales de córnea in vitro. Sería interesante e importante que su capacidad terapéutica en la cicatrización de heridas defectuosas siguiera en estudio.

A la fecha, existen sustancias comerciales como el Tissuocol que tienen como principal componente la fibronectina, que pueden ser usados como un medio para suministrar fibronectina adicional exógena; que como nos menciona Bertolucci (3) en cirugías periodontales, ha mostrado tener altos índices de efectividad.

Por lo anterior, se concluye que es muy grande el beneficio que las glucoproteínas de la matriz extracelular tienen en la reparación de tejidos dañados; por lo cual, es deseable que se realicen futuras investigaciones en este sentido.-

1. Aleo, J.J., DeRenzir F.A. and Farber P.A.. (1973)
In vitro attachment of human gingival fibroblast
to root surfaces
J. Periodontology, 46: 639-645
2. Alger, F.A., Slot C.W., Vuddhanok S., and Miles K. (1990)
The histologic evaluation of new attachment
in periodontally diseased human roots treated with
tetracycline and fibronectin
J Periodontol, 61: 447-455
3. Bartolucci G.E. and Pini Prato G. (1982)
Preliminary observations on the use a biologic
sealing system (Tissucol) in periodontal surgery
J Periodontol, 53: 731-735
4. Babu J.P. and Dabbous M.K. (1986)
Interaction of salivary fibronectin with oral streptococci
J Dent Res 65:1094-1100
5. Boekeloo, S., Amith B., and Syed S. (1985)
Basament membrane laminina: putative role in
pathophysiology of periodontal disease
J. Dent Research 65: 353 # 1654
6. Caffesse, R.G., Smith B.A., Nasjleti C.E. and Lopatin D.E. (1985)
The effect of citric acid and fibronectin
application of healing following surgical
treatment of naturally occurring periodontal
disease in beagle dogs
J Clin Periodontol 12:578

13. Cole, R.T., Crigger M., Bogle G., Egelberg J.,
and Selving K.A. (1980)
Connective tissue regeneration to periodontally
diseased teeth
J Periodont Res 15: 1
14. Fine D.H., Morris M.L., Tobak L., and Cole J. (1980)
Preliminary characterization of material eluted
from the roots of periodontally diseased teeth
J Periodontal Res. 15: 10-19
15. Garret J.S., Crigger M., Egelberg R. (1978)
Effects of citric acid on diseased root surfaces
J Periodontal Res 13: 155-163
16. Genco, Golman, Cohen (1993)
Periodoncia, 2: 46
Interamericana
17. Gottlow J., Nyman S., Lindhe J., Karreng T., (1986)
and Wennstrom J.
New attachment formation in the human periodontium by guided
tissue regeneration: Case reports
J Clin Periodontol 13: 604-616
18. Lamberts B.L., Pederson E.P., Bial J.J. and (1989)
Tombasco P.K.
Fibronectin levels of unstimulated saliva from naval
recruits with and without chronic inflammatory
periodontal disease
J Clin Periodontol, 16: 342-346

7. Caffesse R.G., Smith B.A., Nasjleti C.E., Lopatin D.E. (1987)
Cell proliferation after flap surgery, root conditioning and fibronectin application
J periodontol 58:661-666
8. Caffesse, R.G. Kerry G.J., Chaves E.S., McLean T.N., Morrison, E.C., Lopatin D.E., Caffesse E.R., and Stults D. (1988)
Clinical evaluation of the use of citric acid and autologous fibronectin in periodontal surgery
J Periodontol 59: 565-569
9. Caffesse, R.G., Nasjleti C.E., Anderson G.B., Lopatin D.E., Smith B.A. and Morrison E. (1991)
Periodontal healing following guided tissue regeneration with citric acid and fibronectin application
J Periodontol, 62: 21-29
10. Cho M., Lee Y., and Garant P.R. (1985)
Localization of fibronectin in gingival connective tissue of the beagle dog
J Periodontol, 56: 677-685
11. Cho M., Lee Y., and Garant P.R. (1986)
Localization of fibronectin in gingival connective tissue of the beagle dog
J Periodontol, 57: 413-421
12. Cho M., Garant P.R., Lee Y. (1988)
Immunocytochemical in vivo localization of fibronectin-rich contact sites on fibroblasts of normal periodontal ligament and inflamed gingiva
J Periodontal Res, 23: 230-238

19. Lopatin D.E., Caffesse E.R., Bye F.L. and Caffesse R.G. (1989)
Concentrations of fibronectin in the sera and crevicular fluid in various stages of periodontal disease
J Clin Periodontol; 16:359-364
20. Mosher D.F. y cols. (1989)
Fibronectin
Academic Press, Inc.
21. Naito and Gibbons R.J. (1988)
Attachment of bacteroides gingivalis to collagenous substrata
J Den Res 67, 1075-1080
22. Pearson B.S., Klebe R.J., Boyan B. D. and Moskowicz D. (1988)
Comments on the clinical application of fibronectin in dentistry
J Dent Res 67: 515-517
23. Pini Prato G.P., Cortellini P., and Clauser C. (1988)
Fibrin and fibronectin sealing system in a guided tissue regeneration procedure
J Periodontol, 59: 679-683
24. Pitaru S., Gray A; Aubin J.E., and Melcher A.H. (1984)
The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment and orientation of human gingival fibroblast in vitro
J Periodont Res 19: 408-418

25. Pitaru S. Aubin J.E., Bhargava U and Melcher.A.H. (1987)
Immunoelectron microscopic studies on the distributions
of fibronectin and actin in a cellular dense connective
tissue: the periodontal ligament of the rat
J Periodontal Res 22: 64-74
26. Pitaru S., Herkmati M., Geiger S., and Savion N. (1988)
The effects of partial demineralization and fibrinectin on
migration and growth of gingival epithelial cells on
cementum in vitro
J Dent Res 67: 1386-1391
27. Pitaru S., Noff M., Grosskopf A., Moses O.,
Tal H., and Savion N. (1991)
Heparan sulfate and fibronectin improve the capacity of
collagen barriers to prevent apical migration of the
juntional epithelium
J Periodontol, 62: 598-601
28. Karp Gerald (1987)
Biología celular: 6:234
Interamericana
29. Karp W., Sodek J., Aubin J. and Melcher A.H. (1986)
A comparation of fibronectin and laminin binding to
undemineralized and demineralized tooth root surfaces
J Periodontal Res, 21: 30-38
30. Register A., Burcick F. A. (1976)
Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin
desmineralized in situ. II defect repair
J Periodontol 47: 497

31. Ripamonti U. Petit J-C., (1989)
Patterns of healing on replanted baboon incisors coated
with an allogeneic fibrin-fibronectin protein concentrate
J Periodont Res, 24: 335-342
32. Singer Irwin I (1982)
Fibronexus formation is an early event during
fibronectin-induced restoration of more normal morphology
and substrate adhesion patterns in transformed hamster
fibroblast
J CellSci. 56: 1-20
33. Smith B., Caffesse R., Nasjletu C., Kon S. and Castelli W.
Effects of citric acid and fibronectin (1987)
and laminin application in treating periodontitis
J Clin Periodontol, 14: 396-402
34. Smith B.A., Smith J.S., Caffesse R.G., Nasjleti C.E. (1987)
Lopatin D.E., and Kowalski C.J.
Effect of citric acid and various concentrations of fibronectin
on healing following periodontal flap surgery in dogs
J Periodontol, 58: 667-673
35. Terranova V.P. and Martin F.R. (1982)
Molecular factors determining tissue interaction with
tooth structure
J Periodontal Res. , 17: 530-533
36. Terranova V.P., Franzetti L.C., Hic S. DiFlorio R., (1986)
Raymond M.L., Wikesjo U.M.E., Baker P.J., Christersson L.A.,
Genco Robert J.
A biochemical approach to periodontal regeneration:
tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion
and growth
J Periodontal Res, 21: 330-337

37. Tynelius-Bratthal G., Erikson D. and Araujo H.M. (1986)
Fibronectin in saliva and gingival crevices
J Periodontal Res. 21: 563-568
38. Wikesjo U.M.E., Baker J.P., Christersson L.A., (1986)
Genco R.J., Lyall R.M., Hic S.DiFlorio R.M.,
terranova V.P.
A biochemical approach to periodontal regeneration:
tetracycline treatment conditions dentin surfaces
J Periodontal Res 21: 322-329
39. Wikesjo EME., Claffey N., Christerssoon L.A., (1988)
Franzetti LC., Genco R.J., Terranova V.P.,
Egelberg J.
Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs
following reconstructive surgery including root surface
demineralization with tetracycline hydrochloride and topical
fibronectin application
J Clin Periodontol, 15: 73-80
40. Yeung S., and Boyatzis S. (1990)
The use of autologous fibronectin in the
surgical repair of through-and-through furcation lesions
in man
J Clin Periodontol, 17: 321-323
41. Mendieta C., Caravana C., Fine D.H. (1990)
Sorpton of fibronectina to human root surfaces
in vitro
J Periodontol 61: 254-259

42. Terranova V.P., and Wikesjo UME. (1987)
A biochemical approach to periodontal regeneration
J Periodontology, 58: 371-380

43. Vercelloti G.M., McCarthy J., Furch L.T. (1983)
Inflamec fibronectin: An altered fibronectin
enhances neutrophil adhesion
Blood 62: 1063

44. Warrer K and Karring T. a-(1992)
Guided tissue regeneration combined with
osseous grafting in suprabony periodontal lesions
J Clin Periodontol, 19-373-380

45. Warrer K, Karring T. b-(1992)
Effect of Tisseel on healing after periodontal
flap surgery
J Clin Periodontol, 19: 449-454