

174  
201



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

**PROTEINAS OSEAS MORFOGENETICAS  
COLOCADAS SOBRE DENTINA EN TRATAMIENTO DE  
PULPOTOMIAS**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A :

Hernández Sánchez Elsa

ASESOR: DR.. JAVIER HERNANDEZ PALMA



México

1998

**TESIS CON**

269428



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.

## CONTENIDO TEMATICO

Agradecimientos.	
Introducción.	
Objetivo general.	
1. Histología.	1
1.1 Tejido pulpar.	1
1.2 Dentina.	2
2. Qué es la técnica de pulpotomía?	4
3. Técnica de regeneración con hidróxido de calcio.	6
4. Pulpotomía con proteína ósea morfogenética (BMP).	9
4.1 Qué es una proteína ósea morfogenética (BMP). ?	9
4.2 Utilización del BMP en el tratamiento de pulpotomía.	13
4.3 Reporte de tres casos de investigación.	19
Conclusiones.	29
Bibliografía.	30

## AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Que al darme la vida, me dio sabiduría para poder culminar una de mis mayores metas. Y también por todo el amor que me ha dado.

A mis padres:

Que gracias a su confianza y amor, pude lograr uno de sus mayores anhelos, dándome también su apoyo incondicional.

A mis hermanos:

Por su comprensión y ayuda, que me ayudaron a vivir este momento precioso de mi vida.

## INTRODUCCION

Como ya sabemos, existen diferentes formas de tratamiento en la terapia pulpar de dientes primarios, principalmente en pulpotomías. Siempre se ha querido utilizar medicamentos que brinden mayor beneficio a la pulpa y menos desventajas.

Dentro de los medicamentos que se han utilizado, podemos encontrar al: hidróxido de calcio, formocresol, óxido de zinc y eugenol, glutaraldehído, sulfato férrico; algunos de los cuales ya no se utilizan

Es el deseo de los odontopediatras encontrar algún medicamento o material que no tan sólo nos de un resultado curativo, sino regenerativo del tejido pulpar radicular; esto se piensa que puede llevarse a través de las proteínas óseas morfogenéticas.

Tiempo atrás se descubrió que cierta matriz de hueso inducía a formar nuevo hueso, por lo que se estudió esta posibilidad en la inducción de la formación de dentina en dientes primarios; sería algo formidable que las proteínas óseas morfogenéticas aplicadas en el tratamiento de pulpotomías, tuviera un gran éxito, pues no solo se aliviaría la molestia de un tratamiento más largo y menos conveniente para la pieza dental, sino también provocaría un gran beneficio al diente primario, como el de dejar vital la pulpa radicular y que ésta pueda cumplir sus funciones.

Se comenzó ha estudiar la formación de dentina con la recombinación de proteínas dentinogeneticas similares a las proteínas del cuerpo.

Este estudio se fundamentó en dos observaciones hechas tiempo atrás por:

Huggins. Notó que el epitelio implantado en la región urinaria dentro de la pared abdominal de perros provocó la formación de huesos.

Urist. Años después, observó que la matriz de huesos desmineralizados estimuló la formación de nuevo hueso, cuando este se encontraba en sitios ectópico alrededor del musculo; concluyó que la matriz de hueso contiene un factor capaz de la autoinducción y llamó a este factor *proteína ósea morfogenética*

Desde ese tiempo se ha intentado depurar este factor, pero existen cantidad de afinidades en la matriz del hueso, por lo que el progreso ha sido muy lento. Aun que recientemente con las técnicas utilizadas en biología molecular, se han hecho progresos significativos.

## OBJETIVO GENERAL

Poder aplicar una nueva terapéutica en el tratamiento de pulpotomías en dientes primarios con las proteínas óseas morfogenéticas.

## 1. Histología.

### 1.1 Tejido pulpar

La pulpa dental puede decir que es de origen mesenquimatoso y ocupa el espacio cameral coronario y los conductos radiculares.

Se pueden distinguir cuatro zonas diferentes que comprenden el tejido pulpar:

1. Zona odontoblástica en la periferia pulpar.
2. Zona acelular (zona de Weil o capa basal de Weil) por debajo de los odontoblastos la cual es muy visible en la pulpa coronaria.
3. Zona celular, un área de tejido pulpar donde la densidad celular es alta, que se ve fácilmente en la pulpa coronaria adyacente a la zona acelular.
4. El corazón, o zona central de la pulpa, que se ve caracterizada por la presencia de los vasos y los nervios de la pulpa. <sup>1</sup>

Esta formado por células como fibroblastos, que son los que se encargan de formar y mantener la matriz de la pulpa (que es colágeno y sustancia fundamental) y material intercelular, extracelular y cantidades pequeñas de otras células como: linfocitos, macrófagos y células plasmáticas, también contiene abundancia de nervios y vasos sanguíneos y linfáticos.

Las células que revisten la superficie de la cavidad de la pulpa son los odontoblastos, los cuales, durante los años de formación de los dientes, depositan la dentina pero al mismo tiempo



estrechan cada vez más la cavidad de la pulpa, con lo que la hacen más pequeña. Durante la vida ulterior la dentina deja de crecer y la cavidad de la pulpa se conserva de tamaño constante. Sin embargo los odontoblastos son aún viables y envían proyecciones hacia pequeños túbulos dentinarios que penetran todo el espesor de la dentina y tienen importancia para la nutrición del diente. <sup>2</sup>

Las funciones clásicas de la pulpa:

1. Formativa, porque produce la dentina que la rodea.
2. Nutritiva, porque nutre a la dentina, que es avascular.
3. Protectora, porque lleva nervios que le dan a la dentina sensibilidad, y
4. Reparadora, porque es capaz de producir nueva dentina cuando sea requerido. <sup>1</sup>

## 1.2 Dentina.

La dentina es un tejido clasificado semejante al hueso que forma la mayor parte del diente. El 80% de sus componentes son sales de calcio en forma de cristales de hidroxiapatita y el 20% son fibras de colágeno y glucosaminoglucanos (sintetizadas por odontoblastos).

La dentina no tiene células, sólo las prolongaciones largas de los odontoblastos que se encuentra dentro de los túbulos dentinarios, llamadas fibras terminales de Tomes.

La presencia de los túbulos dentinarios da a la dentina una estriación radiada y en la periferia los túbulos son más refringentes, por lo que se les llama vaina de Neumann.

La dentina joven o inmadura forma una capa con relación a las bases de las prolongaciones odontoblásticas que se llama predentina, ésta es una capa no mineralizada. La mineralización tiene lugar en la unión entre la predentina y la dentina, la formación de dentina es cíclica e irregular.

La dentina es sensible a estímulos como calor, frío, etc., los cuales son recibidos por las fibras dentinales y transmitidos a las fibras nerviosas de la pulpa.

Los odontoblastos persisten toda la vida, y si se les dan estímulos de más, se forma dentina reparadora, que contiene conductos dentinales llenos de matriz calcificada que es más homogénea y menos sensible.<sup>3</sup>

Las sales de calcio de la dentina la hacen bastante resistente a las fuerzas de compresión, las fibras de colágeno la hacen resistente a las fuerzas de tensión que podrían producirse cuando los dientes chocan contra objetos sólidos.

## 2. Qué es la técnica de pulpotomía?

La terapia pulpar vital o pulpotomía puede ser definida como un tratamiento dental restaurativo cuya finalidad es mantener al diente en la cavidad oral y disminuir la afección al tejido pulpar radicular remanente de los efectos tóxicos de los materiales dentales. <sup>4</sup>

La alteración del tejido pulpar, puede ser por exposiciones pulpares y caries. Este tratamiento solo se realizara en dientes de la primera dentición.

Se han hecho estudios que determinan que un 33% de casos con pulpas expuestas han presentado microabscesos y que 46 de 53 lesiones múltiples y profundas permanecieron vitales. <sup>5</sup>

### Indicaciones del tratamiento.

- Cuando no está afectado el tejido pulpar radicular.
- Cuando el dolor, en caso de haberlo, no es espontáneo ni persistente.
- Cuando el diente se puede restaurar.
- Cuando la longitud de la raíz es por lo menos dos terceras partes.
- Cuando no existe o se cree que hay resorción interna.
- En ausencia de abscesos, ni signos de reabsorción externa radicular patológica.

- Cuando el sangrado que ocasione el corte de la pulpa sea de color rojo oscuro.<sup>6</sup>

#### Procedimiento

- Se inicia anestesiando la zona a trabajar y aislando con dique de goma,
- Se elimina el tejido careado,
- Se elimina el techo pulpar,
- Con una fresa de bola o una cucharilla, se elimina la pulpa cameral hasta la entrada de los conductos
- Se cohibe la hemorragia,
- Se limpia la cavidad con agua destilada o suero fisiológico, utilizando una jeringa,
- Se seca con torundas de algodón estéril,
- Se coloca el medicamento de elección encima de los conductos radiculares,
- Se coloca un cemento protector (ZOE, IRM) y,
- Por último se coloca una corona de acero cromo.<sup>7</sup>

### 3. Técnica de regeneración.

La terapia pulpar en el caso de pulpotomía, se ha ido desarrollando en las diferentes modalidades:

- Desvitalización. En esta modalidad se intento no destruir el tejido pulpar vital, y en el se utiliza el formocresol, electrocauterio y láser.
- Preservación. En este se intentó preservar al máximo el tejido pulpar vital y en el cual no hay inducción de dentina reparativa y el tratamiento se realizó con glutaraldehido y sulfato férrico.
- Regeneración. En esta se busca la formación de un puente dentinario y el medicamento utilizado ha sido el hidróxido de calcio. Ahora en la actualidad se ha estado estudiando a las proteínas óseas morfogenéticas (BMP).

Esta última es la que se supone se ha ido desarrollando rápidamente en los últimos años.

#### A) Hidróxido de calcio.

Dentro de la regeneración está implicada la inducción de dentina secundaria o reparativa como consecuencia del medicamento utilizado en el tratamiento.

El hidróxido de calcio fue el primer medicamento utilizado en el tratamiento de pulpotomías, que demostró la capacidad para inducir la regeneración dentinaria, pero se observó que el

procedimiento no siempre tiene éxito, aunque en retrospectiva se visualizó que fue completamente efectivo.

Desafortunadamente el estímulo producido por este compuesto no solo induce una reparación dentinaria o formación de dentina reparativa, sino también una resección, y esto lo demostró Mangueen en un estudio realizado, el cual demostró que el estímulo producido se inclinaba más hacia la destrucción que a la formación.

En algunos estudios sugieren que los resultados de la pulpotomía con hidróxido de calcio pueden ser afectado según la variedad de la técnica y la calidad de los materiales utilizados, así también como la restauración final.<sup>8</sup>

En la técnica de la pulpotomía con hidróxido de calcio, se siguen los mismos procedimientos como en la técnica convencional, se utiliza una mezcla con hidróxido de calcio con agua o solución salina estéril y se presiona fuertemente, después se remueven los excedentes con una cucharilla o pequeñas torundas de algodón, se coloca una capa de cemento protector, como ionómero de vidrio, y se restaura con una corona de acero cromo.<sup>9</sup>

En un estudio realizado en pulpotomías con hidróxido de calcio se reportó que solo el 30% los tratamientos tuvieron resultado y el 70% se presentaron signos de resorción interna, sin embargo en un estudio reciente se reportó que el 70-80 % tuvo éxito, con la variedad que el hidróxido de calcio se renovó durante tres meses.

Existe una concordancia entre ambos estudios, ésta fue, que el material que recubre toda la cavidad influye mucho en el éxito de este tratamiento y se sugirió que se utilizara ionómero de vidrio en lugar de óxido de zinc y eugenol. También la restauración definitiva demostró mejores resultados utilizando una corona de acero cromo.<sup>7,9</sup>

#### 4. Pulpotomía con Proteína ósea morfogenética (BMP).

En la actualidad contamos con un material de tipo biológico denominado **Proteína ósea morfogenética (BMP)**.

##### 4.1 Qué es una proteína ósea morfogenética (BMP)?

En 1930 Huggins notó que el epitelio implantado en la región urinaria dentro de la pared abdominal provocó la formación de hueso (este estudio se realizó en perros).

En 1970, Urist en estudios realizados, observó que el polvo de dentina desmineralizada induce a la formación de hueso ectópico.

También se encontró que la matriz orgánica contiene otras moléculas biológicamente activas, capaz de la autoinducción y se le llamó factor proteína ósea morfogenética.

Las proteínas ortogenéticas (OP) o hueso morfogenético (BMP) comprenden un subgrupo de una familia importante de proteínas estructuralmente relacionadas en diversas actividades biológicas llamadas la superfamilia TGF-, que implican cierta diferenciación, la morfogénesis regeneración y reparación del tejido.

En BMP podemos encontrar ocho miembros o clasificaciones como:

BMP -2, -3, -4, -5, -6,



OP -1, -2 y -3.

La OP -1 Y-2 son conocidas también como BMP -7 y -8.  
Las BMPs son sintetizados y reservados como los precursores de los cuales un gran péptido está subsecuentemente adherido a la forma del carboxilo terminal maduro, llamado molécula.

También podemos encontrar dentro de esta familia a la (DVR)  
**Decampentaplegica Vg Relacionada:**

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

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

---

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

---

Ahora nosotros sabemos que hay una familia de proteínas que tienen propiedades inductivas de hueso.

Mencionaremos algunas proteínas y su utilidad y también en combinación con otras proteínas:

BMP-4      Está asociado con interacciones epiteliales / mesénquima durante el desarrollo de los dientes.

OP-1 mRNA      Se expresa principalmente en el riñón o en la vejiga.

OP-1      Util para obtener dentina reparativa en pulpas expuestas en dientes de mono.

BMP-2 y OP-1      Inducen cartilago y hueso en lugares ectópicos.

BMP-2 y -4      Formación de dentina sobre pulpa.

BMP-2, -4, -5 y OP-1      Inducen la formación de hueso esquelético.

En la tabla 2, se enumeran las características y tipos de BMPs y sus acciones, cuando son implantadas dentro del tejido muscular receptivo.

**Proteína ósea morfogenética**

	<b>BMP-2</b>	<b>BMP-3</b>	<b>BMP-4</b>	<b>BMP-5</b>	<b>BMP-6</b>
Nombres alternativos	(BMP-2A)	Osteogen	(BMP-2B)		(VgR-1)
Implantación ectópica	Hueso	Hueso	Hueso	Hueso	
Revestimiento pulpar	Hueso y Dentina Tubular*	Hueso- Dentina Tubular			
Sujetos para experimentación +	Bovino rH	Bovino rH	rH	rH	rH

<b>BMP-7</b>	<b>OP-2</b>
(OP-1) Hueso	Presumed
(OP-1) Osteodentina? (BMP-7) Hueso y dentina tubular*	
Bovino rH	rH

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

+ rH = Recombinante humano.

A pesar de que a duras penas, asociado con la matriz de colágena, el BMP es clasificado como proteínas no colagenasas. Para la odontología es importantísimo que estas proteínas osteogénicas sean prometedoras para la terapia pulpar. Claramente la aproximación regenerativa de la terapia pulpar ha alcanzado otras modalidades, sin embargo, ahora nosotros entramos en una era donde la disponibilidad comercial de la combinación de proteínas óseas morfogénicas estará al alcance de la experimentación y pruebas clínicas.<sup>8</sup>

#### 4.2 Utilización de la BMP en el tratamiento de pulpotomía.

Los diversos estudios realizados han tenido el objetivo de preservar la vitalidad de la pulpa dental radicular y la estimulación directa de formación de dentina reparativa.

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

También en 1989, Nakashima observó que la actividad de la dentina asociada, puede ser parcialmente removida por la extracción con 4-M Guanidina-HCL, sugiere que las matrices de dentina poseen una actividad dentinogénica extractable.

Tziafas y Kolowris en 1990, colocaron cantidades pequeñas de dentina autóloga desmineralizada implantadas experimentalmente en las pulpas dentales de perros y observaron que se formó una

capa de matriz atubular, seguida de una capa tubular como preentina y asociada con células odontoblasticas.

Se hicieron varias observaciones de las BMPs, pueden ser aisladas de la matriz de dentina, pueden estar implicadas en el desarrollo de dientes y la dentinogénesis, sin que estas estén en combinación con otras.

Recientemente la investigación se ha enfocado en el BMP-2 y -4, OP-1, TGF- $\beta$  y anti-TGF- $\beta$  2.

Nakashima en 1994, en el seguimiento de un estudio para su trabajo previo, reporto que la combinación de BMP-2 y -4 humano induce a la dentinogénesis reparativa en perros cuando lo colocó en pulpas dentales parcialmente amputadas.

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

Wang en 1990 había hecho observaciones que difieren de lo observado por Rutherford, diciendo que OP-1(BMP-7) puede ser sustancialmente más potente que BMP-2.

Posteriormente el estudio realizado de OP-1, demostró que:

1. OP-1, con una mezcla insoluble libera vehículo (CM) predecible y confiable, induce a la dentinogénesis reparativa en primates.
2. La respuesta inicial, es una formación fibroblastica y angiogénica de la OP-1 / CM, resultando en la

mineralización masiva de nuevo tejido muscular de la pulpa.

3. La cantidad de dentina reparativa formada, fue proporcionada al total de masa de OP-1 / CM, colocada sobre la pulpa recién amputada.
4. La formación de dentina reparativa OP-1 / CM pareció ser independiente de la cantidad de pulpa coronal o pulpa radicular removida.
5. La matriz mineralizada constituye el 95% de dentina reparativa por seis meses.
6. La dentina reparativa inducida OP-1/CM es inicialmente atubular, con odontoblastos como células asociadas.

Estudios sugieren que una o más de las conocidas moléculas BMP, pueden inducir a la dentinogénesis reparativa en humanos y estimular bases para el desarrollo de enfoques de la terapia pulpar, basados en actividad biológica.

Esto posiblemente induce a la formación de más dentina reparativa, terapéuticamente como única utilidad, en contraste a la pulpa que responde al hidróxido de calcio, BMPs estimula la formación de masa de dentina reparativa amplia, superficial y no ha expensas del tejido muscular de la pulpa.

Este tejido muscular aparece primero como fibra altamente vascular que conecta al tejido vascular, quizá parecido a la pulpa que mineraliza en un periodo de tiempo. La medida y forma de la dentina reparativa, esta controlado desde que es reemplazada la

OP-1 portador complejo, esto es, la dentina reparativa puede inducir a llenar una dentina defectuosa a una medida y forma extendida del BMP portador complejo superficial y lateral.

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

Cuando se implantó en la pulpa dental la dentina desmineralizada y la matriz de hueso, habían sido considerados para inducir la formación de hueso endocondral en otros tejidos musculares.

La proteína ósea morfogenética conocida como un factor osteoinductivo, ha sido aislada de la dentina y el hueso.

En un estudio previo, la inducción dentina reparativa fue mostrada por BMP crudo implantado en la cavidad de la pulpa y su factor de diferenciación en osteodentinocitos o/y odontoblastos.

En este estudio se examinó los efectos mitogénicos y odontogénicos del BMP crudo en células de pulpas adultas in vitro, con el uso de marcadores fenotípicos, síntesis de proteoglicanos, actividad de la fosfatasa alcalina y síntesis de osteocalcina.

El cultivo de células pulpares primarias fue obtenido de pulpas permanentes de bovino. Dividieron el proceso de desarrollo de cultivos en cuatro etapas:

1. Estado de proliferación, que fue caracterizado predominantemente por la proliferación de células estrelladas por el día trece.
2. Estado estacionario, las células alcanzaron confluencia entre el día catorce y el día veinte.
3. Estado de multicapas, las células se volvieron en multicapas y los nódulos fueron formados entre los veintiuno y treinta y nueve días.
4. Estado inicial de calcificación, ocurrió alrededor de preodontoblastos como células en los nódulos después del día cuarenta.

Los efectos de la proteína ósea morfogenética cruda (BMP), derivados de hueso y de la matriz de dentina en proliferación de matriz extracelular y función biológica de células pulpares, fueron examinados en cultivos celulares de la pulpa dental permanente. La BMP y la matriz de dentina estimularon iodina-125 desoxiridina asociadas en el 10% de suero de becerro.

Ellos incrementaron sulfuro-35-sulfato asociado en estado de proliferación, estacionarios y de multicapas.

La síntesis de osteocalcina fue incrementada en cultivos tratados con BMP del día dos al día diez, esto sugiere que BMP crudo puede tener actividad mitogénica y algún papel en la regularización de células odontoblásticas de la pulpa.

La dentina reparativa es formada localmente, incluso después de la completa formación de la raíz, en respuesta al estímulo



como: desgaste, caries, etc. En estas instancias severamente dañadas el odontoblasto se degenera y es reemplazado por células indiferenciadas que migran a la superficie dentinal de las regiones más bajas de la pulpa.

En las pulpotomías, las células pulpares adyacentes para el sitio de la amputación, después de generación de mitosis, se diferencian los odontoblastos, los cuales son responsables de la formación de dentina reparativa.

La alta producción metabólica de componentes de la matriz celular como proteoglucanos y glucosaminoglucanos reflejan alteraciones en el desarrollo del tejido muscular de la pulpa, por lo tanto un agente debe tener propiedades para estimular la proliferación de células pulpares y la síntesis de la matriz extracelular e inducir la diferenciación de las células pulpares en odontoblastos.

BMP crudo tiene propiedades convenientes, como un agente que cubra la pulpa in vivo, la completa absorción de BMP no lleva a la formación de capas necróticas en el sitio del contacto, como se vio en la aplicación del comúnmente utilizado, hidróxido de calcio.

Por eso llevaron a cabo este estudio para demostrar los efectos directos de bBMP y dBMP en el desarrollo y la diferenciación celular de pulpas adultas in vitro, para examinar su efectividad como agente que de protección.

De estos resultados podemos especular sobre el papel que juega BMP en los procesos de cicatrización de la herida de la

pulpa; bajo la influencia de BMP, las células pulpares mesenquimatosas pueden migrar y proliferar.

La pulpa puede ser regenerada por síntesis de varias proteínas matrices, incluyendo proteoglicanos por células pulpares.

La diferenciación de células pulpares en odontoblastos puede ser inducida. Las propiedades de BMP son convenientes como un agente que cubra al tejido pulpar remanente.

#### **4.3 Primer reporte de investigación.**

Las células de la pulpa dental tienen la capacidad de diferenciarse hacia odontoblastos para sintetizar dentina reparativa. Las señales locales y sistémicas que inducen a la curación de la pulpa herida se desconocen.

La expresión espacial y temporal del gen de las proteínas de matriz extracelular define la secuencia precisa y el tiempo de los eventos de la matriz celular y extracelular que conduce al crecimiento de las células pulpares y a su desarrollo.

Los extractos de matriz de dentina desmineralizada tienen actividad de proteína ósea morfogenética, la cual es responsable de la inducción ósea y tiene actividad condrogenética.

Nakashima, en 1993 realizó otro estudio acerca de la diferenciación celular de la pulpa.

Se mostró previamente que las células primarias del cultivo de la pulpa adulta, forma nódulos ligeramente mineralizados y

presentan características ultraestructurales que se asemejan a los preodontoblastos que secretan matriz dentinaria.

Este sistema de cultivo es útil como modelo in vitro para la proliferación de células pulpares y hacia preodontoblastos durante la cicatrización de la pulpa injuriada.

Los cultivos primarios de células pulpares progresivamente se diferencian hacia células odontoblasticas durante cinco semanas de cultivo.

Se examinó la expresión temporal del desarrollo de los genes del estadio específico. En el cultivo primario, en el día siete del estadio de proliferación, la expresión RNAm colágena  $\alpha$  1 (III) decrecio significativamente y el RNAm de fibronectina también decrecio ligeramente, mientras el RNAm de colágena  $\alpha$  1 (I) se incremento. En el día catorce, cuando la proliferación se redujo y la formación de matriz se incrementó, los niveles de expresión de  $\alpha$  1(III) colágeno,  $\alpha$  1(I) colágeno y RNAm5 de fibronectina se incrementó el doble.

A diferencia de los resultados de los cultivos primarios, en cultivos secundarios las proteínas de matriz extracelulares tales como colágeno  $\alpha$  1(III), colágeno  $\alpha$  1(I) y RNAm5 de fibronectina, gradualmente sé incrementarán desde el principio del cultivo y alcanzaron los niveles máximos en el día veintiocho. La expresión fosfatasa alcalina siempre se incrementó. Los niveles de expresión de RNAm de fosfatasa alcalina en el día veintiocho en

los cultivos secundarios y terciarios se incrementaron cinco veces más comparados con el primer cultivo.

La expresión de RNAm de osteocalcina un marcador para preodontoblastos se detectó desde el principio del tercer cultivo, se incrementó en el día veintiuno y entonces decreció ligeramente en el día veintiocho. Los niveles de RNAm en el día veintiocho en el segundo y tercer cultivo fueron aproximadamente cuatro y tres veces más en relación con el primer cultivo.

TGF- $\beta$  1 se expresó al máximo en el periodo de proliferación activa y se reguló el día catorce cuando la proliferación se redujo, mientras la expresión de BMP-4 fue detectable en el día catorce y BMP-2 en el día veintiocho.

#### Los efectos de las BMPs sobre las células pulpares.

Los efectos de BMPs -2, -3 y -4 y TGF- $\beta$  1 sobre la actividad de la fosfatasa alcalina, fueron examinados en el estadio de proliferación y en el de la formación de matriz. Cuando las células fueron estimuladas continuamente durante 72 hrs. , tanto BMP-2 como BMP-4 estimularon significativamente la actividad de la fosfatasa alcalina a concentraciones de 25 a 50 ng / ml. TGF- $\beta$  1 (50 ng / ml ) tuvo un efecto de inhibición en la actividad de la fosfatasa alcalina y BMP-3 no tuvo efecto.

Durante el estadio de formación de la matriz BMP-2, BMP-3 y BMP-4 estimularon significativamente la actividad de la fosfatasa alcalina a 50 ng / ml por 72 hrs. Sin embargo TGF- $\beta$  1 se inhibió,

no hubo efecto en la incorporación de [<sup>3</sup>H] timidina en BMP-2,-3 y -4 y TGF-β 1 a una concentración de 50 ng / ml.

BMP-2 y BMP-3 tuvieron un efecto estimulante en la síntesis de osteocalcina cuando las células fueron estimuladas en el estadio de multiestialificación, BMP-4 estimuló la expresión de RNAm del colágeno α 1 (I).

Se explica en la tabla 3.

TABLA 3

EFFECTOS DE BMPs Y TGF- $\beta$  1 EN LA ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA, [ $^3$ H] INCORPORACION DE TIMIDINA Y SINTESIS DE OSTEOCALCINA EN CULTIVOS DE CELULAS PULPARES.

	Actividad de la fosfatasa alcalina ( $\mu$ mole / mg de proteina / hr)			
	Estado de Proliferación	Estado de formación de matriz	[ $^3$ H] Incorporación de timidina (dpm / well)	
			Síntesis de osteocalcina (pg / well)	
Control	2.21 $\pm$ 0.09	9.13 $\pm$ 0.40	378.4 $\pm$ 27.4	No detectable
BMP-2 (50 ng / ml)	4.89 $\pm$ 0.43 a	15.13 $\pm$ 1.69 a	431.2 $\pm$ 55.8	55.0 $\pm$ 7.4
BMP-3 (50 ng / ml)	1.78 $\pm$ 0.08	11.64 $\pm$ 0.51 a	361.8 $\pm$ 29.3	53.8 $\pm$ 9.3
BMP-4 (50 ng / ml)	5.47 $\pm$ 0.26 a	11.54 $\pm$ 0.96 a	353.4 $\pm$ 33.3	No detectable
TGF- $\beta$ 1 (50 ng / ml)	1.16 $\pm$ 0.06 a	2.77 $\pm$ 0.31 a	325.2 $\pm$ 37.5	No detectable

a Diferencia del significado para la valuación del control.

## **Segundo reporte de investigación.**

La combinación de las proteínas óseas morfogenéticas BMP-2 y BMP-4 humanas, y el factor de crecimiento cambiante TGF- $\beta$  1 y matriz de colágeno como vehículo, fueron examinados por sus efectos en la regeneración pulpar y la formación de dentina. Setenta días después de la colocación de 2  $\mu$ g de BMP-2 y osteodentina mineralizada como tejido que contiene osteodentinocitos incluidos, fue observado que en la cavidad se encontró tejido fibroso no mineralizado y tejido tipo pulpar con tejido conectivo mineralizado. En la misma cavidad se colocaron 660  $\eta$ g de BMP-2 y solo se encontraron fibras mineralizadas y tejidos pulpares.

En dientes con 220  $\eta$ g de BMP-2 de colágeno, solamente fue encontrado tejido pulpar, sin embargo, es probable que la cavidad llena con tejido pulpar y que los usos delgados de las células elaboren matriz extracelular que se mineralice para formar osteodentina de una manera dependiente.

En forma similar fue hallada osteodentina en dientes implantados con 4  $\eta$ g de BMP-4 y colágena. La dentina tubular que se formó no fue diferente, aun cuando un experimento anterior al utilizar BMP-2 y BMP-4, dio como resultado una dentina inactiva.

Estas observaciones sugieren que BMP-2 y BMP-4 inducen a la formación de osteodentina. Si se combina con matriz de colágeno, algunos otros componentes de la matriz presentes en la matriz de

dentina inactiva, puede ser esencial para la futura diferenciación de los odontoblastos.

En el diente implantado con TGF- $\beta$  1 el remanente de colágeno utilizado como vehículo en la cavidad y en la pequeña proliferación de tejido pulpar fue vista, sugiriendo esto un posible efecto inhibitorio de TGF- $\beta$  1 en la regeneración pulpar.

Es probable que la respuesta de crecimiento y los factores de diferenciación, dependan del estado de diferenciación de las células pulpares.

### **Tercer reporte de investigación.**

Las células de la pulpa dental tienen el potencial para diferenciarse en odontoblastos. Los mecanismos moleculares de diferenciación subyacentes no son claros.

La matriz de dentina desmineralizada es osteoinductiva y contiene proteínas óseas morfogenéticas activas (BMP).

BMPs ha sido implicado en la diferenciación odontogénica embrionaria y por lo tanto pueden jugar un papel en la diferenciación celular de pulpas adultas a odontoblastos durante la terapia pulpar (pulpotomía).

Se examinó la hipótesis en la que BMPs induce la formación de dentina inactivada sobre la pulpa amputada. Por dos meses, la pulpa amputada fue llenada con dentina tubular en la parte más baja de la cavidad y osteodentina en la parte más alta.



La cantidad de dentina formada fue marcadamente disminuida cuando solamente fue implantada la matriz de dentina, esos hallazgos implican que el recombinante humano BMP-2 y BMP-4 inducen la diferenciación de células pulpares adultas en odontoblastos.

#### Resultado en observaciones histológicas.

Dos meses después de la implantación de BMP-2 con portador, existe un índice de respuesta de la cavidad del fondo de la cavidad sobre la pulpa amputada (hasta la corona, parte más alta). La cavidad de la pulpa amputada fue dividida en cuatro partes, designándolas baja, media, alta y superior. En la parte superior de la cavidad, la red de células sanguíneas, monocitos y células mesenquimatosas en forma de bastón fueron observados procesos ligeros que contienen barras extensas en forma de núcleo.

La parte superior fue llenada de tejido muscular de la pulpa y consistió en un conector ligero de tejido muscular que contiene capilares en forma de vástagos celulares y células grandes ovales o poligonales, cuyo núcleo fue teñido débilmente.

Algunas de las células grandes colocadas a la matriz de dentina amputada y algunas de las células en forma de vástago, formaron matriz alrededor de ellas.

En la parte media de la cavidad reguló la colocación de odontoblastos, células polarizadas con un largo proceso citoplasmático que había formado dentina tubular irregular.

El osteodentinocito teñido de color oscuro, como las células con núcleo redondo, fueron fijados en lagunas, síntesis de matriz extracelular y osteodentina.

La parte baja de la cavidad fue llenada principalmente con dentina tubular, un poco de odontoblastos, osteodentinocitos y capilares que permanecieron en la matriz mineralizada.

Alguna de la dentina implantada fue reabsorbida.

Los dientes que fueron cubiertos con BMP-4 portador plus, mostraron resultados histológicos similares a los de BMP-2 portador plus. Como ya se describió cantidades considerables de osteodentina rodeadas de osteodentinocitos como células ocasionales, la dentina tubular fue vista adyacente a la osteodentina.

En la parte superior de la cavidad, las células en forma de vástago, depositaron matriz extracelular alrededor de las mismas.

En el diente que fue cubierto con portador solo, todas las partes de la cavidad fueron llenadas con tejido muscular de la pulpa. La formación de dentina tubular fue menor comparada con BMP-2 y BMP-4 enriquecida con portador.

En todos los dientes implantados, no hubo señales de inflamación o mineralización distrófica en el tejido pulpar remanente. Alguna de la dentina inducida apareció en zonas discontinuas.

#### Resultados radiográficos.

La observación radiográfica mostró que la mineralización óptima ha ocurrido en las cavidades donde se colocó BMP-2 y

BMP-4. Cuando el portador solo, fue implantado hubo una significativa y amplia área radiolúcida comparada, cuando fue cubierta con BMP-2 y BMP-4.

#### Análisis cuantitativo.

Desde que no hubo señales de inflamación en el área, no contando el tejido muscular de la pulpa y la matriz de dentina implantada, fue considerada como una nueva forma de dentina, por lo tanto el tejido muscular de la pulpa y la matriz de dentina implantada fue marcada un área definitiva de las partes más bajas y media de la cavidad de la pulpa amputada y las áreas relativas de la reciente formación de dentina.

El porcentaje de área relativa de BMP-2 y BMP-4 enriquecida con portador fue del 80% comparada con 42% en portador solo. <sup>13</sup>

## CONCLUSIONES.

Con todas la investigaciones que se han realizado, podemos concluir que la **Proteína Ósea Morfogénica (BMP)** es muy prometedora para la realización de pulpotomías con gran éxito. Tomando en cuenta que no es un elemento totalmente ajeno al organismo, sino es un elemento mismo del cuerpo.

Se ha demostrado además, que los recombinantes humanos de BMP, inducen a la formación de dentina y con ello obtenemos gran beneficio no tan solo a la pulpa radicular remanente, sino también a la pieza dental y por ende a todo el aparato estomatognático.

Por lo tanto se observó que las proteínas que más han contribuido a la regeneración dentinaria remanente son la BMP-2 y la BMP-4, contando también a la BMP-3 y a la OP-1.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## BIBLIOGRAFIA

1. Ten Cate. "Histología Oral." 2ª. ed. Ed. Panamericana. Argentina, 1986. Pag. 69, 203.
2. Tuttle. "Fisiología." 16 ed. Ed. Interamericana. México, 1969. Pag. 616-617.
3. Leeson. "Texto / Atlas de Histología." 1ª ed. Ed. Interamericana / McGraw Hill. México, 1990. Pag. 402-403, 407 y 409.
4. Rutherford, et-al. "A New Biological Approach to Vital Pulp Therapy." Crit. Rev. Oral Biol. Med. 1995. Vol. 6. No. 3. Pag. 218-229.
5. Eidelman, et-al. Histopathology of the Pulp in Primary Incisors with Deep Dentinal Caries." Pediatric Dentistry. Nov. / Dec. 1992. Vol. 14. No. 6. Pag. 372-375.
6. Castillo mercado, Ramón. "Manual de Odontología Pediátrica." 1ª ed. Ed. Actualidades Médico Odontológicas, Latinoamericana, A.. C. Colombia, 1996. Pag. 165.
7. McDonal. "Odontología Pediátrica y del adolescente." 6ª ed. Ed. Mosby / Doyma Libros. Madrid, 1995. Pag. 418.

8. Ranly. "Pulpotomy Therapy in Primary Teeth: New Modalities for old Rationales." *Pediatric Dentistry*. Nov. / Dec. 1994. Vol. 16. No. 6. Pag. 403-409.
9. Gruythuysen, Weeheijm. "Calcium Hidroxide Pulpotomy with a Light-Cured Cavity-sealing Material After two Years." *Journal of Dentistry for Children*. Jul. / Aug. 1997. 251-253.
10. Nakashima. "Mitogenic and Dentin-Inductive Effects of Crude Bone Morphogenetic Protein from Bone and Primary Adult Pulp Cell Culture." *Oral Surgery Medical Oral Pathology*. April. 1992. Vol. 73. Pag. 484-489.
11. Nakashima, et-al. "Regulatory Role of Transforming Growth Factor- $\beta$ , Bone Morphogenetic Protein-2 and Protein -4 on Gene Expression of Extracellular Matrix Protein and Differentiation of Dental Pulp Cell." *Developmental Biolology*. Agosto. 1994. Vol. 162. Pag. 18-28.
12. Nakashima. "Induction of Dentine in Amputated Pulp of Dogs by Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein -2 y -4 with Collagen Matrix." *Arch. Oral Biol*. 1994. Vol. 39. No. 12. Pag. 1085-1089.
13. Nakashima. "Induction of Dentin Formation on Canine Amputated Pulp by Recombinant Human Bone Morphogenetic