



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**PAPEL DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA
REGENERACIÓN TISULAR**

T E S I S A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

YAZMÍN JASSO IBAÑEZ

**DIRECTORA: MTRA. MARIA GUADALUPE ROSA MARÍN
GONZÁLEZ**

ASESOR: DR. FILIBERTO ENRIQUEZ HABIB

MÉXICO D. F.

2007



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.



PAPAS:

Gracias por hacer de mi lo que soy, por que han sido mi ejemplo y mi fuerza, gracias por su confianza, su cariño, y su apoyo en todo momento.

Son mi inspiración.

Los adoro

NENA, ARTURO E ISRA:

Mil gracias por ayudarme en todo momento, por su complicidad, su confianza, por los buenos consejos y por siempre estar ahí.

Sin ustedes nada seria igual los quiero muchisimo.

DRA. GUADALUPE MARIN Y DR. FILIBERTO ENRIQUEZ

Gracias por su confianza, apoyo, por sus grandes enseñanzas y por su pasión ala UNAM.

DRA. ALEJANDRA CABRERA:

Gracias por su apoyo y confianza

DRA. SANTA PONCE BRAVO:

Gracias por la oportunidad, es un gran ejemplo a seguir.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO:

Gracias a por darme la oportunidad de ser una profesionista y una mejor persona.

TIA ALE Y TIA CLAUDIA:

Gracias por su apoyo y por creer en mí.

ITZEL Y LETY:

Mil gracias por ser incondicionales conmigo. Las quiero.

AMIGOS:

Gracias por cada momento compartido, sus palabras de apoyo, por estar siempre conmigo.

Los quiero.



Índice

I.	INTRODUCCIÓN	5
1.	PLAQUETAS	
1.1	Origen	7
1.2	Morfología	9
1.3	Función	11
2.	HEMOSTASIA	13
2.1	Conversión de la protrombina en trombina	15
2.2	Conversión de fibrinógeno en fibrina	16
2.3	Vía extrínseca de la coagulación	17
2.4	Vía intrínseca de la coagulación	18
3.	FACTORES DE CRECIMIENTO	21
3.1	Factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP).	24
3.2	Factor de crecimiento transformador β (FCT- β)	28
3.3	Proteínas morfogenéticas óseas (PMO)	32
3.4	Factor de crecimiento epidermal (FCE) y factor de crecimiento transformador α (FCT- α)	36
3.5	Factor de crecimiento insulínico (FCI)	37
3.6	Factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV)	40
3.7	Factor de crecimiento fibroblástico (FCF)	41



4.	PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)	45
4.1	¿Qué es el PRP?	45
4.2	El mecanismo del PRP asociado a factores de crecimiento	46
4.3	Obtención del PRP	47
4.3.1	Desarrollo del plasma rico en plaquetas y su importancia clínica.	47
4.3.2	Principios de Separación y Concentración Plaquetaria	47
4.3.3	Almacenamiento y Activación de PRP	49
4.4	Mecanismos de las plaquetas y PRP en la regeneración ósea.	50
4.5	Efecto del PRP sobre la cicatrización de tejidos blandos	55
4.6	Efectos del PRP sobre la regeneración ósea usando injertos óseos	60
II.	CONCLUSIONES	63
III.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65



I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal representa una de las causas principales de pérdida dental a nivel mundial. Caracterizada por defectos periodontales formados como resultado de un proceso infeccioso que es iniciado por la presencia de microorganismos subgingivales, las toxinas de estos microorganismos producen un estado constante de inflamación que gradualmente rompe el epitelio de unión y conduce a la reabsorción de hueso alveolar, clínicamente se caracteriza por migración, pérdida de la arquitectura gingival, movilidad y migración dental y finalmente la pérdida de los dientes.

En un intento por restablecer la salud y función de los tejidos periodontales han surgido investigaciones para identificar modalidades de tratamiento que permitan promover la regeneración de dichos tejidos. Dentro de las terapias regenerativas que se han utilizado con diversos grados de éxito se incluyen la colocación de autoinjertos, aloinjertos y substitutos óseos, la utilización de barreras físicas como es el caso de las membranas que buscan guiar la proliferación de los tejidos periodontales Otra modalidad autorizada recientemente por la FDA (Federal Drugs Administration) para promover la regeneración de los tejidos periodontales es la colocación de un factor de crecimiento recombinante (factor de crecimiento derivado de las plaquetas mezclado con fosfato β tricálcico) que son una clase de mediadores que tienen un papel importante en la estimulación y regulación de dicho proceso.

El plasma rico en plaquetas es una forma de obtener y concentrar los factores de crecimiento que el organismo utiliza en forma natural para que de esta manera se estimulen las vías naturales de la cicatrización.



Como es bien sabido que las plaquetas tienen muchas funciones más allá de la simple hemostasia. Las plaquetas contienen los ya mencionados importantes factores de crecimiento, que cuando son secretados, son responsables de los eventos celulares importantes para la cicatrización.

La importancia de hacer esta revisión es entender porque los factores de crecimiento son utilizados como un procedimiento terapéutico importante en la regeneración periodontal, dándonos una alternativa para devolver la salud y función de los tejidos periodontales.



1. PLAQUETAS

1.1 ORIGEN DE LAS PLAQUETAS

Ciclo vital de las células sanguíneas

Es necesaria la constante producción de células nuevas para mantener la cantidad original. La hemopoyesis es la formación de células sanguíneas y tiene lugar en los tejidos u órganos hematopoyéticos, de los cuales el más importante es la médula ósea. Allí se forman todos los eritrocitos, trombocitos, leucocitos granulares y monocitos. Parte de los linfocitos también se forman en la médula ósea, pero el resto se originan en los tejidos y órganos linfoides (timo, nódulos linfáticos y bazo). La formación de células sanguíneas en la médula ósea se denomina mielopoyesis.

Las células sanguíneas maduras son liberadas al torrente sanguíneo y circulan por los vasos a partir de ese momento. A la vez que forman células sanguíneas, los tejidos hemopoyéticos también las degradan¹.

Ciclo vital de los trombocitos

Se forman en la médula ósea a partir de los megacariocitos, células extremadamente grandes de las series hematopoyéticas de la médula ósea, que se fragmentan y forman diminutas plaquetas en la médula ósea o poco después de entrar en la sangre. La concentración normal de plaquetas en la sangre oscila entre 150 000 y 300 000 por microlitro².

Los megacariocitos son células grandes redondeadas, de 50-100 μm de diámetro. El núcleo también es grande con numerosos lóbulos de tamaño variable. El abundante citoplasma es apenas eosinófilo en los preparados de extendidos sanguíneos y contiene numerosos gránulos azurófilos pequeños.



La célula madre unipotente específica de la línea de los megacariocitos y, por lo tanto de los trombocitos, CFU-Meg, da origen al megacarioblasto, que es la primera célula identificable por su morfología en la serie trombocítica, es decir, los estadios celulares desde el megacarioblasto es una célula muy grande, de 30-100 μm de diámetro, con un gran núcleo oval y citoplasma basófilo. En el megacariocito formador de plaquetas los gránulos forman pequeños grupos en el citoplasma, en especial en la periferia, donde también se distinguen invaginaciones similares a pseudópodos. Las plaquetas se forman cuando los pseudópodos se extienden por entre las células endoteliales de los pequeños vasos sanguíneos de la médula ósea, donde se separan y son arrastrados por el torrente sanguíneo. Solo después adoptan la forma característica de gajo, de 3 μm de diámetro. Cuando el citoplasma se transformó en plaquetas degenera la célula, y el núcleo, con los restos de citoplasma, es fagocitado por los macrófagos¹.

El periodo de maduración en la médula ósea, desde la aparición del megacarioblasto hasta la liberación de las plaquetas, dura unos 10 días. Los trombocitos circulantes tienen una vida media adicional en el torrente sanguíneo que dura otros 10 días. Después se elimina de la circulación principalmente por el sistema de macrófagos tisulares.

En condiciones normales se mantiene constante, dentro de los límites estrechos, el número de plaquetas circulantes, pero si disminuye en cantidad, aumenta la producción por estimulación de la producción de megacarioblastos, de la maduración de los megacariocitos y se refuerza la producción de trombocitos. Este efecto es ejercido por el factor de crecimiento trombopoyetina (TPO), una glucoproteína, que se produce de manera constitutiva en el hígado y los riñones, y hay receptores para trombopoyetina en las plaquetas^{1, 2, 3}.



1.2 MORFOLOGÍA DE LAS PLAQUETAS

Los trombocitos (plaquetas) son elementos con forma de gajo, con un diámetro de unos 3-4 μm .

Las plaquetas sanguíneas tienen una zona central, el **granulómero**, que contiene gránulos que se tiñen de púrpura a azul, rodeado por una zona más clara, el **hialómero** que no contiene granulos⁴.

Desde el punto de vista estructural las plaquetas pueden dividirse en cuatro zonas según su organización y función.

- Zona periférica. Esta zona consiste en la membrana celular cubierta por una gruesa capa superficial de glucocáliz, esta compuesto por glucoproteínas, glucosaminoglucanos y varios factores de la coagulación adsorbidos desde el plasma sanguíneo. Las glucoproteínas integrales de la membrana actúan como receptores para la función plaquetaria.
- Zona estructural. Esta zona está compuesta por microtúbulos, filamentos de actina, miosina (la mayor parte se encuentra en forma de monómero) y proteínas fijadoras de actina que forman una red de sostén para la membrana plasmática. Los microtúbulos se disponen en forma circunferencial y tienen la función como un citoesqueleto, mantener la forma de gajo (o forma de disco) de la plaqueta.
- Zona de organelos. Esta zona ocupa el centro de la plaqueta y contiene mitocondrias, peroxisomas, partículas de colágeno y por lo menos tres tipos de gránulos dispersos en el citoplasma: lisosomales, densos (o delta) y alfa. Los más abundantes son los gránulos alfa de unos 0.2 μm de diámetro, que contienen principalmente fibrinógeno, que interviene en el proceso de coagulación, factores de la coagulación, como el factor de von Willebrand (que favorece la adhesión de los trombocitos a la pared de los vasos sanguíneos), plasminógeno, inhibidor del

activador del plasminógeno y factores de crecimiento. Los gránulos densos, menos abundantes, más pequeños y de mayor densidad, contienen principalmente adenosina difosfato (ADP), adenosina trifosfato (ATP), serotonina (captada por endocitosis del plasma sanguíneo circulante) e histamina que facilitan la adhesión plaquetaria y la vasoconstricción en el sitio de la lesión vascular. Los gránulos densos son similares a los lisosomas que se hallan en otras células y contienen varias enzimas hidrolíticas. El contenido de los gránulos densos actúa en la reabsorción del coágulo durante las etapas avanzadas de la reparación vascular. También se distinguen unos pocos túbulos de REL^{1, 5, 6}.

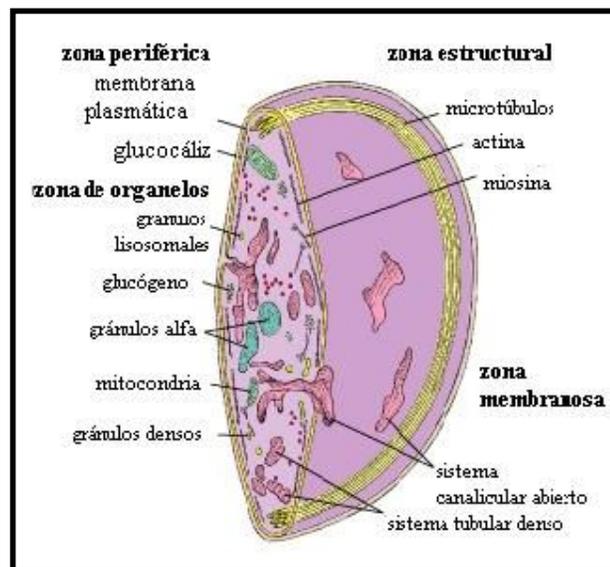


Fig. 1 Dibujo esquemático de una plaqueta donde se muestran sus estructuras⁶.

- Zona membranosa. Esta zona se compone de dos tipos de canales membranosos. El sistema canalicular abierto (OCS), que son invaginaciones de la membrana plasmática hacia el interior del citoplasma y el sistema tubular denso (DTS) sirve como sitio de depósito para iones de calcio⁶. Sus membranas contienen receptores para colágena, difosfato de adenosin (ADP), el factor de von Willebrand de la pared vascular y fibrinógeno⁴.



Las plaquetas sanguíneas no contienen componentes nucleares en los mamíferos^{1,5} (Fig. 1).

1.3 FUNCIÓN DE LAS PLAQUETAS

Las plaquetas desempeñan un papel central en la hemostasia, es decir, detención de la hemorragia, pero también parece tener importancia para el mantenimiento del endotelio de los vasos sanguíneos por la liberación de factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), que estimula los procesos de reparación tisulares¹.

Las plaquetas poseen muchas características funcionales de las células completas, aunque no tienen núcleos ni se reproducen. Su citoplasma contiene factores activos, tales como:

1) moléculas de actina y de miosina, así como otra proteína contráctil, la trombostenina, que determina una contracción de las plaquetas; 2) restos del retículo endoplásmico y del aparato de Golgi que sintetizan diversas enzimas y especialmente almacenan grandes cantidades de iones calcio; 3) mitocondrias y sistemas enzimáticos capaces de formar adenosin trifosfato (ATP) y adenosin difosfato (ADP); 4) sistemas enzimáticos que sintetizan prostaglandinas, que son hormonas locales que producen muchos tipos de reacciones vasculares y tisulares locales; 5) una proteína importante llamada factor estabilizador de la fibrina, y 6) factores de crecimiento que determina la multiplicación y crecimiento de las células endoteliales vasculares, las células musculares vasculares lisas y los fibroblastos².

La membrana celular de las plaquetas también resulta esencial. Cuenta en su superficie con una cubierta de glucoproteínas que evita su adherencia al endotelio normal, pero no a las áreas lesionadas de la pared vascular, especialmente de las células endoteliales lesionadas. La membrana de las plaquetas contiene grandes cantidades de fosfolípidos que desempeñan varias funciones en la activación de múltiples puntos del proceso de coagulación de la sangre².



Como ya se mencionó anteriormente, las plaquetas Tienen numerosas extensiones pseudopodiales, invaginaciones en su membrana celular y vesículas internas (gránulos de almacenamiento).

Las vesículas están compuestas por tres tipos de gránulos: lisosomal, densos y alfa.

- Los gránulos lisosomales parecen funcionar como almacenamiento de enzimas digestivas.
- Los gránulos densos principalmente almacenan y secretan adenosin difosfato (ADP), que es un potente reclutador y activador de otras plaquetas.
- Los gránulos alfa son los gránulos de almacenamiento de los factores de crecimiento, los cuales se encuentran en forma bioinactiva.

Los factores de crecimiento que prueban estar contenidos en esos gránulos alfa son:

- Los tres isómeros de factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDPaa, FCDPbb y CDPFab).
- Los dos isómeros de factor de crecimiento beta transformador (FCT β_1 y FCT β_2).
- Factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV)
- Factor de crecimiento epidermal (FCE).

La plaqueta, en particular, sintetizan enérgicamente factores de crecimiento a lo largo de su periodo de vida y los secreta en respuesta a la coagulación⁷.



2. HEMOSTASIA

La hemostasia es el proceso de formación de coágulos en las paredes de los vasos sanguíneos dañados y la prevención de la pérdida sanguínea al mismo tiempo, que mantiene la sangre en estado líquido dentro del sistema vascular⁴.

El fenómeno inicial es la constricción del vaso y esta se debe a la serotonina y el vasoconstrictor tromboxano A_2 liberados de las plaquetas así como de reflejos nerviosos que inician por impulsos dolorosos, originados en el vaso traumatizado o en los tejidos vecinos.

Cuando las plaquetas entran en contacto con una superficie vascular dañada, como las fibras de colágeno de la pared vascular, modifican sus propias características. Empiezan a hincharse adoptando formas irregulares. Se tornan muy pegajosas y se adhieren al colágeno de los tejidos y a una proteína denominada factor de von Willebrand que se propaga por todo el plasma; secretan grandes cantidades de ADP, que actúa sobre los receptores específicos para éste en la membrana plaquetaria para producir la acumulación de más plaquetas (agregación plaquetaria). Por lo menos hay tres tipos diferentes de receptores de ADP en las plaquetas de los humanos: $P2Y_1$, $P2Y_2$ y $P2X_1$.

El ADP y el tromboxano actúan, a su vez, sobre las plaquetas cercanas para activarlas, y la adhesividad de estas nuevas plaquetas facilita su adherencia a las plaquetas activadas originalmente^{2,4}.

El factor activador de las plaquetas (FAP) también fomenta la agregación; este factor es una citosina secretada por los neutrófilos y los monocitos, además de las plaquetas, y presenta también actividad inflamatoria. A partir de los fosfolípidos plaquetarios, se libera ácido araquidónico que, por la acción de la ciclooxigenasa, se transformará en prostaglandina G_2 (PGG_2) y prostaglandina H_2 (PGH_2). La PGH_2 se transformará en tromboxano A_2 por la acción de la tromboxano-sintetasa⁸.



La pared vascular dañada o los tejidos extravasculares activan un número sucesivamente mayor de plaquetas, que a su vez, atraen cada vez más plaquetas, formando así un tapón plaquetario.

El tercer mecanismo de hemostasia consiste en la formación del coágulo de sangre. El coágulo empieza a formarse en 15 a 20 segundos ante un traumatismo intenso de la pared vascular. Las sustancias activadoras de la pared vascular traumatizada, de las plaquetas y de las proteínas sanguíneas que se adhieren a la pared vascular traumatizada inician el proceso de coagulación².

La coagulación tiene lugar en tres etapas esenciales:

1. Tras la ruptura del vaso o una lesión de la propia sangre, se desencadena una cascada compleja de reacciones químicas en la sangre en la que intervienen factores de la coagulación. El resultado neto es la formación de un complejo de sustancias activadas denominadas en conjunto **activador de la protrombina**.
2. El activador de la protrombina cataliza la conversión de protrombina en trombina.
3. La trombina actúa como una enzima y convierte el fibrinógeno en fibras de fibrina, que atrapan en su red plaquetas, células sanguíneas y plasma para formar el coágulo.

Primero se expondrán los procesos de conversión de la protrombina en trombina y del fibrinógeno en fibrina para entender su intervención en la cascada de coagulación que expondremos más adelante².



2.1 Conversión de la protrombina en trombina

La formación de trombina a partir de protrombina es el penúltimo paso en el proceso de coagulación⁹.

Después de formarse el activador de la protrombina, en cantidades suficientes de Ca^{++} iónico, provoca la conversión de protrombina en trombina. La trombina produce a su vez, la polimerización de las moléculas de fibrinógeno en fibras de fibrina².

Diversos factores de la coagulación son activados por la acción de la trombina; estos incluyen la trombina por si mismo y los factores XIII, V, VII y XI. La trombina también se adhiere a la proteína C, que es un anticoagulante⁹.

Las plaquetas también desempeñan un papel importante en la conversión de la protrombina en trombina, porque gran parte de la protrombina se une primero a los receptores de la protrombina en las plaquetas que ya se han adherido al tejido dañado, esta unión acelera la formación de más cantidad de trombina a partir de la protrombina, esta vez en el tejido específico donde se necesita el coágulo².

La protrombina es una glucoproteína plasmática, una alfa₂-globulina, que está presente en el plasma normal. Es una proteína inestable que puede fragmentarse fácilmente en compuestos más pequeños, uno de los cuales es la trombina^{2, 9}.

La protrombina se sintetiza continuamente en el hígado, y se utiliza de forma constante en todo el organismo para la coagulación de la sangre.

La trombina es una proteasa de serina que juega un papel importante en la coagulación al convertir fibrinógeno en monómeros de fibrina, también es un importante mediador de la función de las plaquetas en la hemostasis y se dice que participa durante la inflamación y en etapas tempranas de la cicatrización de las heridas⁹.



2.2 Conversión de fibrinógeno en fibrina.

El fibrinógeno es una larga glucoproteína fabricada y secretada por el hígado. La trombina actúa sobre el fibrinógeno y elimina cuatro péptidos de bajo peso molecular de cada molécula de fibrinógeno, creando una molécula de monómero de fibrina con capacidad automática para polimerizar con otras moléculas de monómero de fibrina; de este modo se forma la fibrina. Muchas moléculas de monómero de fibrina polimerizan en segundos en fibras largas de fibrina que componen el retículo del coágulo. Para fortalecer el retículo de fibrina interviene una sustancia llamada factor estabilizador de la fibrina, normalmente está presente en las globulinas plasmáticas, pero también se libera de las plaquetas atrapadas en el coágulo. Éste debe activarse para ejercer su efecto sobre las fibras de fibrina^{2, 10}.

Al iniciarse la coagulación, se forma el activador de la protrombina a través de dos mecanismos básicos, aunque las dos vías interactúan constantemente: 1) la vía extrínseca, que comienza con el traumatismo de la pared vascular y del tejido circundante, y 2) por la vía intrínseca que se inicia en la propia sangre.

En ambas vías interviene una serie de proteínas plasmáticas denominadas factores de la coagulación, son enzimas proteolíticas inactivas en su mayoría. Cuando se activan sus acciones enzimáticas provocan las sucesivas reacciones en cascada del proceso de la coagulación^{2, 4, 11}.

Los factores de la coagulación circulan de forma inactiva en la sangre y son activados durante el proceso de formación del coágulo¹².



2.3 Vía extrínseca de la coagulación

La vía extrínseca que inicia la formación del activador de la protrombina comienza cuando una pared vascular o un tejido extravascular sufre un traumatismo y entra en contacto con la sangre. Se conoce como vía extrínseca ya que el factor tisular es extrínseco a la circulación de la sangre. Se establecen entonces los siguientes pasos:

1. Liberación del factor tisular. El tejido lesionado libera un complejo de varios factores llamado factor tisular o tromboplastina tisular, que se compone de fosfolípidos de las membranas tisulares y de un complejo lipoproteico que actúa como una enzima proteolítica.
2. Activación del factor X: importancia del factor VII y del factor tisular. El complejo lipoproteico del factor tisular se une en un complejo con el factor VII de la coagulación y, en presencia de iones de calcio, actúa enzimáticamente sobre el factor X para dar el factor X activado (Xa).
3. Efecto del factor X activado (Xa) para formar el activador de la protrombina. El factor Xa se combina con los fosfolípidos tisulares que integran el factor tisular, o con los fosfolípidos adicionales liberados de las plaquetas, así como con el factor V para dar el complejo llamado activador de la protrombina, y en presencia de iones Ca^{++} el factor Xa cataliza la conversión de protrombina en trombina.

Al principio, el factor V del complejo activador de protrombina está inactivo, pero una vez que comienza la coagulación y se empieza a producir trombina, la acción proteolítica de ésta activa el factor V.

El factor Xa es la proteasa verdadera que cataliza la conversión de protrombina en trombina, el factor Va acelera enormemente esta actividad proteasa, y los fosfolípidos plaquetarios actúan como un vehículo que acelera aún más el proceso^{2, 4, 11}.



2.4 Vía intrínseca de la coagulación

El segundo mecanismo para iniciar la formación del activador de la protrombina, comienza con el traumatismo de la propia sangre o con la exposición de la sangre al colágeno presentes en la pared de un vaso sanguíneo lesionado:

1. El traumatismo sanguíneo produce: activación del factor XII, y la liberación de fosfolípidos plaquetarios. La exposición de la sangre al colágeno de la pared vascular altera dos factores importantes de la coagulación: el factor XII y las plaquetas. Cuando se altera el factor XII lo convierte en una enzima proteolítica llamada factor XII activado, al mismo tiempo se liberan fosfolípidos plaquetarios que contienen la lipoproteína llamada factor plaquetario 3.
2. Activación del factor XI. El factor XII activado actúa enzimáticamente sobre el factor XI para activarlo, lo que constituye el segundo paso de la vía intrínseca. Esta reacción también precisa cininógeno HMW (de peso molecular elevado) y se acelera por la precalicreína.
3. El factor XI activado actúa entonces sobre el factor IX de forma enzimática para activarlo.
4. El factor IX activado, junto al factor VIII activado y con los fosfolípidos plaquetarios y el factor 3 de las plaquetas lesionadas, activa el factor X.
5. El factor Xa se combina con el factor V y los fosfolípidos plaquetarios o titulares para formar el complejo llamado activador de la protrombina. Este paso de la vía intrínseca coincide con el último de la vía extrínseca^{2, 4, 11}.

Se precisan iones calcio para favorecer o acelerar todas las reacciones de coagulación excepto los dos primeros pasos de la vía intrínseca. Por lo tanto, en ausencia de iones calcio, la sangre no se coagulará por ninguna de las dos vías^{2, 9}.



Dos características importantes de la regulación de la hemostasis son las habilidades para restringir la formación del coágulo al sitio de la lesión y la otra es poder detener el proceso de coagulación una vez que el tapón hemostático ha sido formado. Tal regulación es importante por diversas causas.

Si el crecimiento del tapón hemostático fuera ilimitado este podría bloquear la arteria y obstruir el flujo de sangre.

Un mecanismo para restringir la formación del coágulo solo al sitio de la lesión es la habilidad de la trombina para activar a los cofactores del factor V y VIII solo en este sitio. La activación de estas dos proteínas se realiza en la superficie de las plaquetas del tapón hemostático pero no sobre las plaquetas circulantes

El inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) es un regulador de la hemostasis. Después de la generación suficiente del factor Xa por medio del factor VIIa, el TFPI genera un complejo TFPI- factor Xa-factor tisular- factor VIIa, que inhibe la función del factor VIIa. Este mecanismo inhibidor detiene la cascada de coagulación.

Otro importante inhibidor es la antitrombina, que inhibe a la trombina y al factor Xa¹².

La heparina natural inhibe las formas activas de los factores IX, X, XI y XII.

El endotelio vascular también juega una función activa en la prevención de la extensión de los coágulos en los vasos sanguíneos. Todas las células endoteliales (excepto las de la microcirculación cerebral) producen trombomodulina, una proteína inhibidora de la trombina, que se expresa en su superficie. La trombina es un procoagulante que activa los factores V y VIII, pero cuando se une con la trombomodulina se convierte en un anticoagulante, ya que el complejo trombina-trombomodulina activa la proteína C. La proteína C activada junto con su cofactor, la proteína S, desactiva los factores V y VIII, así como al inhibidor del activador del plasminógeno tisular, lo cual intensifica la formación de plasmita².

La plasmita (fibrinolisisina) es el componente activo del sistema del plasminógeno (fibrinolítico). Esta enzima destruye la fibrina y el fibrinógeno, por lo que se obtienen productos de la degradación del fibrinógeno que inhiben la trombina.



La plasmita se forma a partir de su precursor inactivo, el plasminógeno, por acción de la trombina y el activador del plasminógeno de tipo tisular (t-PA). También se activa por efecto del activador del plasminógeno de tipo urocinasa (u-PA).

Los receptores para plasminógeno se localizan en la superficie de muchos diferentes tipos de células y son muy abundantes en las células endoteliales.

Cuando el plasminógeno se une con sus receptores, se activa, por lo cual las paredes vasculares intactas cuentan con un mecanismo que previene la formación de coágulos^{2, 10}.



3. FACTORES DE CRECIMIENTO

El término factores de crecimiento denomina a un grupo de polipéptidos que están involucrados en la proliferación celular, diferenciación y morfogénesis de tejidos u órganos durante la embriogénesis, crecimiento postnatal y en edad madura. Los factores de crecimiento pueden actuar como mitógenos ya que incrementan la proliferación de ciertos tipos de células¹³.

Los factores de crecimiento y las citocinas son polipéptidos que se producen tanto en tejido normal como lesionado y que estimulan la migración, la proliferación y funciones celulares^{14, 15}, y tienen un importante papel en la regulación de crecimiento y desarrollo de una gran variedad de tejidos¹⁶, así como también juega un papel crítico en la estimulación y regulación del proceso de cicatrización. Los factores de crecimiento involucrados en la reparación y regeneración regulan diversos procesos celulares clave tales como mitogénesis, quimiotaxis, diferenciación y metabolismo¹⁷.

Muchos factores de crecimiento son depositados en la matriz extracelular donde ellos son liberados durante la degradación de la matriz y actúan como parte de una red compleja de señales con efectos durante la remodelación y regeneración tisular¹³.

A nivel bioquímico los procesos que intervienen en la cicatrización de una herida se conocen tan sólo superficialmente, aunque es evidente que, sobre el componente celular, al menos *in vitro*, ejercen efectos los factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento transformador β , factor de crecimiento derivado de las plaquetas, factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento fibroblástico, entre otros⁷.

En las dos últimas décadas los usos terapéuticos de los factores de crecimiento se han ido incrementando, actualmente usados en tratamiento de enfermedades



hematológicas y oncológicas. También se han aplicado en el campo de la ingeniería tisular y en la regeneración de tejidos. La ingeniería tisular es la reconstrucción de tejidos vivos para ser usados como reemplazo de tejidos u órganos dañados o perdidos.

Mecanismos de señalización en el crecimiento celular

Los factores de crecimiento son responsables del incremento de la mitosis celular, el incremento en la producción de colágena, el reclutamiento de otras células al sitio de la lesión, iniciación de la nueva formación de vasos e induce la diferenciación celular¹⁸. Actúan uniéndose a receptores celulares situados en la membrana celular que transmiten la señal del exterior al interior de la célula. Todos los factores de crecimiento funcionan al unirse a receptores específicos, que desencadenan señales en las células diana¹⁷. Estas señales tienen dos efectos generales: 1) estimulan la transcripción de diversos genes que pueden estar silentes en las células en reposo, y 2) muchos de estos genes regulan la entrada de las células en el ciclo celular y su paso a través de los diversos estadios de este ciclo²⁰.

La proliferación celular es un proceso estrechamente regulado que implica un amplio número de moléculas y de patrones interrelacionados. El primer suceso que inicia la proliferación celular es, generalmente, la unión de la molécula de señalización, el ligando, al receptor celular específico^{14,20}.

Basándose en la fuente del ligando y la localización de sus receptores (en la propia célula, en adyacente o en las células distantes) se han distinguido tres tipos generales de señalización, denominados autócrina, parácrina y endocrina^{13, 14, 20}.

- **Señalización autócrina:** las células responden a las moléculas de señalización secretadas por ellas mismas, estableciendo así un lazo autocrino²⁰. Diversos factores de crecimiento polipéptidos y citocinas actúan de esta manera. La regulación autócrina del crecimiento desempeña



un papel en la regeneración hepática, la proliferación de linfocitos estimulados por antígenos, y el crecimiento de ciertos tumores²⁰.

- **Señalización parácrina:** un tipo celular produce el ligando que, a su vez actúa en células diana adyacentes que expresan los receptores apropiados. Las células respondedoras están en estrecha proximidad a la célula productora del ligando y suelen ser de un tipo celular diferente^{14, 20}. La estimulación parácrina es frecuente en la reparación del tejido conectivo de la curación de heridas, en el cual un factor está producido por un tipo celular y tiene su efecto de crecimiento sobre células adyacentes. Un tipo especial de señalización parácrina, denominada yuxtácrina, se produce cuando la molécula de señalización está anclada en la membrana celular y se une a un receptor de la membrana plasmática de otra célula. En este tipo de señalización, la interacción receptor-ligando es dependiente de y favorece la adhesión célula-célula²⁰.
- **Señalización endocrina:** las hormonas son sintetizadas por células de órganos endocrinos y actúan en células diana distantes de su lugar de síntesis, siendo transportadas por la sangre. Los factores de crecimiento también pueden circular y actuar en lugares distantes. Diversas citocinas, como las asociadas con los elementos sistémicos de la inflamación, también actúan como agentes endocrinos²⁰.

El momento de la liberación puede ser tan importante como la concentración para determinar la efectividad de los factores de crecimiento. Como estos polipéptidos ejercen sus efectos al unirse con receptores de superficie celular, para que el efecto biológico ocurra, el receptor apropiado debe estar presente en las células que responden en el momento en que se liberan¹⁹.

Los factores de crecimiento tienen acciones divergentes en distintas células; pueden ser quimioatrayentes de un tipo de célula en tanto que estimulan la replicación de un tipo celular diferente¹⁴.



Los factores de crecimiento son el estímulo necesario para iniciar una cadena de eventos celulares que tiene como resultado las funciones anteriormente mencionadas. El proceso está mediado por un sistema de segundos mensajeros en el que interviene una proteína tirosín cinasa. Debido a éste mecanismo, la acción de los factores de crecimiento en el lugar de la lesión continúa aunque hayan desaparecido los mismos del medio, ya que han activado el sistema de segundos mensajeros²¹.

3.1 Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP)

Es nombrado así porque primero fue encontrado en las plaquetas, donde este es almacenado en los gránulos α ^{16,22}.

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas también puede ser encontrado en otras células, tales como macrófagos, monocitos, fibroblastos, células del músculo liso y células endoteliales^{16,21,22}.

La forma biológicamente activa del FCDP es un dímero formado por dos cadenas polipeptídicas, unidas por puentes disulfuro. Puede estar combinado en una forma homo o heterodímero. Las cadenas son productos de distintos pero relacionados genes, FCDP-A y FCDP-B, por consiguiente el FCDP puede existir como cualquiera de los dos, un FCDP AA o FCDP BB homodímero o como un FCDP AB heterodímero³². El FCDP es el producto de cuatro diferentes genes que son ensamblados en cinco isoformas distintas conocidas como: AA, AB, BB, CC y DD, siendo las cadenas C y D las más recientemente identificadas.

Las tres isoformas de FCDPs (FCDPaa, FCDPbb y FCDPab) son isómeros de una proteína que miden aproximadamente 25000 daltones cada uno. Cada isómero tiene una acción ligeramente diferente y muchas de estas acciones coinciden⁷.



La isoformas del factor de crecimiento derivado de las plaquetas ejercen sus efectos sobre células diana por la unión de 2 proteínas estructuralmente relacionadas con receptores tirosín cinasa²².

Las isoformas del FCDP realizan sus efectos al unirse a dos receptores de la superficie celular denominados $R\alpha$ FCDP y $R\beta$ FCDP²⁰.

El receptor α se une tanto a la cadena A como B del factor de crecimiento derivado de plaquetas, mientras que el receptor β se une solamente a la cadena B. Ambos receptores inducen respuesta mitogénica; el receptor β , es mediador de la quimiotaxis^{22, 23}.

FCDP estimula a células específicas diana por unión a receptores de superficie celular con actividad tirosín cinasa. El FCDP-BB se une al receptor β y activa al regulador de señal extracelular cinasa 1 y 2. Éste activa una cascada de eventos que conducen a la proliferación celular al acelerar el reciclo celular e induciendo a células inactivas dentro la porción de proliferación del ciclo celular. Éste efecto es aparentemente mediado por proteína cinasa B, una proteína serina-treonina cinasa, que es un regulador crítico del crecimiento normal celular y la progresión del ciclo celular¹³.

Funciones

- El factor de crecimiento derivado de plaquetas juega un papel importante en el desarrollo de muchos tejidos y órganos en el crecimiento embrionario¹⁶.
- Son los factores de crecimiento más universales en la cicatrización. Esencialmente mitógenos, inducen la replicación de células que poseen receptores de membrana específicos para ellos⁷.



- Estimula la producción de ácido hialurónico y fibronectina, una molécula de adhesión celular utilizada durante la proliferación y migración celular en la cicatrización.
- Es abundante en la matriz ósea y es liberado por células osteoblásticas humanas, por lo que parece tener efectos pleiotrópicos sobre la formación ósea tanto in vitro como in vivo²⁴.
- Es un importante mediador para la cicatrización ósea durante un trauma o infección. Éste puede incrementar la regeneración ósea en conjunción con otros factores de crecimiento pero es poco probable que aporte todas las propiedades osteogénicas por si solo¹³.
- El FCDP-AA y FCDP-BB incrementan la proliferación de múltiples tipos de células óseas, incluyendo osteoblastos y osteoclastos¹³.
- El FCDP-BB también interrumpe e inhibe la formación de matriz ósea e incrementa la degradación de colágena ósea por la inducción de colagenasa intersticial¹³.
- Constantemente estimula la resorción ósea in vitro a través de la unión al receptor β sobre la superficie del osteoclasto¹³.
- La quimiotáxis de precursores osteoblásticos, es uno de los eventos celulares involucrados en la formación ósea. Esos factores son conocidos por favorecer la angiogénesis a través de la activación de macrófagos que secretan factores, induciendo a las células endoteliales para la formación de nuevos brotes capilares²².



- Estimula la replicación de las células mesenquimales, replicación de osteoblastos y produce osteoide, replicación de células endoteliales, producción de lámina basal para nuevos vasos sanguíneos, replicación de fibroblastos y producción de colágena^{7, 16}.
- También participa en la activación de las células estrelladas hepáticas en los pasos iniciales de la fibrosis hepática²⁰.
- Se ha involucrado en el desarrollo de agrandamientos gingivales tras la toma de fenitoína. La fenitoína aumenta la producción de FCDP por los macrófagos y la excesiva producción de este factor en la encía provoca su hipertrofia.
- Aplicado en numerosos estudios para regeneración periodontal en humanos, monos, perros y ratas, se encontró que existen mejoras significativas después de la terapia periodontal^{13, 16, 22}.
- En combinación con el factor de crecimiento insulínico incrementa la regeneración ósea significativamente después del tratamiento periodontal¹³.
- Induce la regeneración ósea más rápido que la regeneración tisular guiada.
- Su efecto es dependiente de la presencia de otros factores de crecimiento¹⁶.

El mecanismo por medio del cual esta combinación de factores de crecimiento mejora la regeneración ósea y periodontal debe ser probado todavía en estudios in vivo, así como las cantidades específicas de los factores de crecimiento que pueden ser útiles para este fin.



3.2 Factor de crecimiento transformador β (FCT- β)

Este factor recibe su designación porque primero fue aislado de tejidos transformados (sarcomas). Existen dos tipos alfa y beta. El factor de crecimiento transformador β tiene un dímero como estructura formada por dos subunidades de 112 aminoácidos. Éste tiene un peso total de 25 000 daltones, formados por dos subunidades de 12 500 daltones unidos por puentes disulfuro²².

El factor de crecimiento transformador β está entre los más extensos y versátiles citosinas y juegan un papel importante en la formación y desarrollo de muchos tipos de tejidos¹³. Pertenecen a una familia de polipéptidos homólogos que incluyen tres isoformas de FCT- β (FCT- β 1, FCT- β 2 y TCTF- β 3)^{14, 20} el FCT β 1 es encontrado abundantemente en plaquetas, linfocitos y neutrófilos, mientras el FCT β 2 es encontrado principalmente en el extracto óseo, plaquetas, linfocitos y neutrófilos. Es un heterodímero formado de una cadena simple de FCT β 1 y una cadena simple de FCT β 2²², es también llamada superfamilia de FCT- β s, que contienen al menos 47 factores de crecimiento conocidos (las proteínas morfogenéticas óseas también están dentro de ésta superfamilia así como las activinas) son factores de crecimiento proteínicos que como los FCDPs^{7, 13}.

Se han descrito tres tipos de receptores para que el factor de crecimiento transformador β lleve a cabo su señalización FCT- β RI, RII y RIII. Se presentan algunas diferencias entre los receptores tipo I y II que se basan en la conservación de los dominios con actividad cinasa y la presencia de un dominio serina/treonina que se encuentra anclado a la membrana en el receptor tipo I y el cual es crítico para su activación. Por otro lado, el receptor tipo III, también llamado β -glicano, no tiene dominio de señalización intracelular y puede ser anclado a la membrana o secretado en forma soluble.

Algunos sitios de fosforilación en los receptores RI y RII se identificaron utilizando receptores quiméricos y silvestres, encontrándose ciertas regiones en el T β RII que son importantes en la regulación de la señalización.



Existe una afinidad diferencial entre T β RI y T β RII, sin embargo, no hay relación directa entre la afinidad de unión y el efecto biológico. Los efectos de las isoformas del TGF- β están asociados a su disponibilidad, a la combinación de los tipos de receptores y a la vía de señalización intracelular que inducen, por ejemplo, los T β RI y II se unen al FCT- β_1 y al FCT- β_3 con mayor afinidad que al FCT- β_2 . El receptor tipo III, se puede unir a todas las isoformas del FCT- β , pero puede jugar un papel selectivo al facilitar la interacción del FCT- β_2 con T β RIII. Todas las células normales y la mayoría de las células neoplásicas tienen receptores en su superficie para el FCT- β_1 . Los receptores I y II son los responsables de los efectos biológicos del TGF- β_1 en las células de mamífero²⁰.

Las proteínas smad han sido identificadas como las principales transductoras de la señalización del factor de crecimiento transformador β , median la señalización del receptor en la superficie celular a los genes blanco en el núcleo. Existen ocho proteínas smad (Smad₁- Smad₈) en vertebrados que han sido descritas con tres distintas funcionalidades: smad activadas por el receptor o R-Smad (Smad 1, 2, 3, 5 y 8), smad mediadora común o C-Smad (Smad₄) y, finalmente, las smad inhibitorias o I-Smad (Smad 6 y 7)¹³.

En el espacio extracelular, el FCT β se une al T β RIII, el cual recluta al T β RII y se autofosforila, o el TGF- β se puede unir directamente al T β RII anclado a membrana e inducir la atracción del T β RI y su consecuente fosforilación. Esta fosforilación en el receptor tipo I activa a la cinasa en residuos de tirosina que fosforilan a los factores de transcripción Smad₂ y Smad₃; una vez fosforilados, forman un complejo con Smad₄ para trasladarse del citoplasma hacia el núcleo, donde interactúan de una manera específica con otros factores de transcripción como AP-1, regulando la transcripción de genes de respuesta al FCT- β para llevar a cabo sus funciones biológicas de diferenciación, control del crecimiento, apoptosis celular y síntesis de matriz extracelular, entre otras¹³.



Funciones

- El TGF β s son indispensables para el desarrollo embrionario normal. Es importante para el desarrollo del sistema nervioso y juega un papel destacado en la regulación de precursores neuronales y diferenciación neuronal.
- Durante la embriogénesis, diferentes efectos morfogénicos son mediados por este factor a través del establecimiento de un gradiente de concentración con activación de diferentes genes, de ese modo proporciona información de posición en el desarrollo del embrión¹³.
- Las activinas y proteínas morfogenéticas óseas, otros miembros de la superfamilia, inducen la formación temprana del mesodermo dorsal y ventral en la embriogénesis temprana, el FCT- β por si solo probablemente juega un papel importante como un morfogen en etapas más tardías de desarrollo tales como la fusión de las suturas craneales¹³.
- Posee efectos múltiples y, a veces, opuestos dependiendo del tejido y el tipo de daño. Los agentes que poseen múltiples efectos se denominan pleiotrópicos, por lo que es considerado pleiotrópico con una fuerza inusual²⁰.
- Estimula la replicación celular, también estimulan la producción de matriz y guía la diferenciación hacia cartílago y hueso¹³.
- Ejerce sus efectos sobre células adyacentes, incluyendo fibroblastos, células endoteliales, y preosteoblastos. Estimula la angiogénesis y la producción de fibronectina, glucosaminoglucanos y colágeno en tejido conectivo¹⁶.



- Una de las funciones más importantes es la quimiotáxis y la mitogénesis de precursores de osteoblastos. Además, inhibe la formación de osteoclastos y resorción, favoreciendo la formación ósea¹⁶.
- La naturaleza de acción del factor de crecimiento puede depender de que existan otras sustancias presentes. Por ejemplo, TGF β estimula el crecimiento de ciertos fibroblastos in vitro en presencia de FCDP pero inhibe su crecimiento si el factor de crecimiento epidermal esta presente. In vivo, el FCT β incrementa la proliferación y migración de macrófagos, fibroblastos y células endoteliales mientras inhibe la proliferación de células endoteliales vasculares in vitro¹⁶.
- Es un inhibidor del crecimiento de la mayoría de las células epiteliales y de leucocitos. Con frecuencia, en los tumores humanos se produce una pérdida de receptores FCT- β , proporcionando una ventaja proliferativa a las células tumorales²⁰.
- Desempeña un potente agente fibrogénico que estimula la quimiotáxis de fibroblastos, y aumenta la producción de colágeno al disminuir las proteasas de la matriz y aumentar las actividades inhibitoras de proteasa²⁰.
- También está implicado en el desarrollo de fibrosis en una diversidad de situaciones inflamatorias crónicas, en concreto en los pulmones, los riñones y el hígado²⁰.
- El TGF- β posee un potente efecto antiinflamatorio²⁰.
- Su isoforma β_3 inhibe la formación de cicatriz¹⁴.



3.3 Proteínas morfogenéticas óseas (PMO)

En 1965, Marshall Urist da a conocer en la Revista Science, el descubrimiento de una familia de proteínas aisladas de la matriz de hueso desmineralizado con capacidad osteoinductiva, que denominaron proteína morfogenética ósea²⁵.

Las proteínas morfogenéticas óseas son un grupo de péptidos, producidas por las células de la estroma de la médula ósea¹. Pertenecen a la gran familia de los factores de crecimiento transformante β (FCT- β), con excepción de la PMO₁^{13, 17}. Sin embargo el FCT- β , es una citocina cuya acción es únicamente mitogénica, puede inducir a la células mesenquimales a convertirse en fibroblastos, importante para la reparación de los tejidos blandos, pero no es capaz de formar hueso, pues su función primaria es la de inducir las células mesenquimales a mitosis no a cambios morfogenéticos^{13, 17}.

La familia de los FCT β , dentro de la cual se encuentran las proteínas morfogenéticas óseas, se caracterizan por tener una secuencia de aminoácidos terminal hidrofóbico y dominios de variable tamaño. La secuencia terminal es la que se cree que guía al precursor hacia un patrón secretorio, el predominio asiste en envolver dimerización y regulación de la actividad. El dominio maduro, colocado en el extremo carboxi terminal, contiene 110 a 140 aminoácidos con seis residuos de cisterna, que forman tres uniones disulfuro con cada unión monomérica, que es la característica invariable de la superfamilia del factor de crecimiento transformador β .

El bajo pH del medio o la proteólisis, activa e influencia las distintas actividades de las PMO, lo que se denomina pleiotropía y significa que estas citocinas pueden ser afectadas o influenciadas por distintos estímulos, pudiendo actuar de muy diversas maneras, por la concentración y el pH, lo cual hace todavía muy incierta la utilización clínica y segura de ellas.



En la actualidad, mediante técnicas de clonación se han conseguido 6 proteínas morfogenéticas óseas denominadas PMO-2 a PMO-7²⁵.

- La PMO-2 actúa en la diferenciación de osteoblastos para producir proteína de la matriz ósea, adipositos²⁵, condrocitos, puede influenciar la actividad osteoclástica, diferenciación neuronal, influye en la reparación de los huesos largos, el paladar hendido, la fusión de espina bífida, la elevación de seno maxilar. Está localizada en el hueso, el hígado, el bazo, el cerebro, el riñón, el corazón y la placenta.
- La PMO-3 llamada también osteogenina, estimula preferentemente la formación de cartílago antes que la formación ósea²⁵, es osteoinductiva, es promotora del fenotipo condrogénico y está localizada en el pulmón, el riñón, el intestino y el cerebro.
- La PMO-4, se ha encontrado que influyen en la embriogénesis: gastrulación y formación de mesodermo sobre todo en ratones. Localizada en las meninges, el pulmón, el riñón e hígado.
- Las PMO-5, 6 y 7 actúan sobre la PMO-2 potenciando la formación ósea in vivo, aunque de forma individual poseen escasa capacidad para inducir la formación ósea²⁵.
- La PMO-5 también es osteoinductiva, actúa en la embriogénesis, localizada en el pulmón e hígado.
- La PMO-7 llamada también proteína osteogénica-I, es osteoinductiva, actúa en reparación de huesos largos, el hueso alveolar, la fusión de espina bífida, la diferenciación de osteoblastos, los condroblastos y los adipositos,



está localizada en la glándula adrenal, la vejiga, el cerebro, el ojo, el corazón, el riñón, el pulmón, la placenta, el bazo y el músculo esquelético.

- PMO2, PMO4 y PMO7 (proteína osteogénica 1) son considerados ser osteogénicos y han sido probadas en un enfoque experimental y clínico¹³.
- Juegan un rol primordial en el desarrollo embriológico. Las proteínas morfogenéticas son importantes para el desarrollo de riñón, ojos, neuronas y cerebro, piel, corazón y dientes¹³.

Como con el factor de crecimiento transformador β , los efectos morfogenéticos de las proteínas morfogenéticas óseas son mediados a través de un gradiente de concentración. Ese gradiente es esencial para la formación articular durante el desarrollo limbico fetal. El gradiente para PMOs es establecido por proteínas antagonistas o supresoras que son polipéptidos extracelulares que compiten con los receptores de las PMO modulando su actividad tales son: noggin, chordin y miembros de la familia DAN (cerberus, kremlin, caronte, DAN) e indirectamente por metaloproteasas que activan esa unión a proteínas¹³.

Algunas de esas proteínas son liberadas de células en un campo morfogenético particular junto con una región del modelo específico de genes homebox (hox), que juegan un papel esencial en comandar las señales que armonizan la expresión fenotípica, formación tisular y localización de un tejido específico¹³.

Es por eso, que en el desarrollo embrionario, las proteínas morfogenéticas óseas afectan la dirección de diferenciación celular y también actúan como señales de posición, proporcionando la información necesaria para formar un patrón de crecimiento que culmina en la forma adulta²⁶.

Las acciones biológicas de las PMO, son mediadas por receptores complejos heterodiméricos transmembrana específicos en la membrana celular, que son del tipo serina/treonina cinasas, las cuales fosforilan proteínas intracitosólicas llamadas Smads, activándolas y así enviando las señales hacia el núcleo a los



genes que responden a las PMO, éstos son idénticos al del factor de crecimiento transformador β^{13} .

La diferenciación en la vía de señalización es caracterizada por las proteínas SMAD que son activadas por PMO.

Se ha demostrado diversas aplicaciones para las rhPMO, la mayoría en modelos animales y muy pocos en humanos.

Se sabe que la proteínas morfogenéticas óseas, deben ser administradas por medio de biomateriales o vehículos. Estos tienen la función de mantenerlas fijas en el sitio, donde se necesita producir la regeneración y además como un sistema de liberación controlada.

La proteína morfogénica ósea recombinante (rhPMO-2) es capaz de acelerar e incrementar la neoformación ósea, actúa de manera diferente a como actúan otros factores de crecimiento como el FCT- β , el FCI y el FCF, cuya acción sobre las células presentes en el hueso hace que aumenten la mitosis y la secreción de proteínas o moléculas de la matriz extracelular, lo cual confiere a las células óseas una capacidad limitada de regeneración. En cambio, la implantación de una sola proteína de PMO-2 recombinante es capaz de regenerar una cantidad ilimitada de hueso, dependiendo de la forma variable de la dosis administrada debido a que actuaría sobre las células precursoras²⁵.

Las proteínas morfogenéticas óseas, se han convertido en una probable opción de tratamiento, dada su acción en regeneración y remodelación de las lesiones óseas, aumentando la respuesta del hueso alrededor de materiales aloplásticos y es factible que en el futuro sustituyan los injertos de hueso autólogo y alogénico.



3.4 Factor de crecimiento epidermal (FCE) y factor de crecimiento transformador α (FCT- α)

Estos dos factores pertenecen a la familia FCE y comparten un mismo receptor. El FCE es mitógeno para una diversidad de células epiteliales, hepatocitos y fibroblastos. Se encuentra ampliamente distribuido en las secreciones tisulares y en los fluidos, como el sudor, la saliva, la orina y los contenidos intestinales. En la cicatrización de heridas en piel, está producido por los queratinocitos, plaquetas, macrófagos y otras células inflamatorias que migran hacia la zona^{14, 20}.

El FCT- α es originado por queratinocitos, plaquetas y macrófagos¹⁴. Fue extraído, originalmente, a partir de células transformadas por el virus del sarcoma y está implicado en la proliferación de células epiteliales en embriones y adultos, y en la transformación maligna de células normales hacia cancerígenas. Tiene homología con el FCE, se une al receptor FCER y produce la mayoría de las actividades biológicas del FCE²⁰.

El factor de crecimiento epidermal fue descubierto por Cohen en 1962. Son proteínas que contienen 6 cisteínas. Está compuesto por 45-50 aminoácidos con tres puentes disulfuro. Este estimula la regeneración epidermal, promueve la cicatrización por estimulación de la proliferación de queratinocitos y fibroblastos, e incrementa los efectos y producción de otros factores de crecimiento¹⁶.

Promueve la proliferación de las células mesenquimatosas y células epiteliales, así como también la angiogénesis y tiene efecto en la disminución de la secreción de los ácidos gástricos.



3.5 Factor de Crecimiento Insulínico (FCI)

El factor de crecimiento insulínico es una cadena simple polipeptídica, con un peso molecular de 7500 daltons, estructural y funcionalmente relacionados a la insulina^{13, 16, 24}.

Existe en dos isoformas:

FCI-I (70 aminoácidos)

FCI-II (67 aminoácidos)¹³.

Las fuentes del factor de crecimiento insulínico (FCI) son: plaquetas, plasma, osteoblastos y fibroblastos.

Tiene aproximadamente 40-50% de homología entre ambas isoformas con insulina¹³.

La actividad biológica del FCIs es mediada a través de una familia de receptores transmembrana, que incluye al receptor FCI-I¹³.

Los osteoblastos expresan los dos tipos de receptores: FCI-R1 e FCI-R2 y se ha sugerido que los receptores tipo 1 median el efecto de FCI en la formación ósea, es probablemente uno de los reguladores de masa ósea más importantes ya que es sintetizado por las células óseas y está presente en concentraciones substanciales en el hueso²⁷.

Las proteínas de unión modulan los efectos de FCI en los osteoblastos, estas proteínas de unión secretadas pueden ser divididas en compartimentos separados:

1) proteínas que son secretadas en el fluido intersticial, 2) proteínas que permanecen asociadas a células y 3) proteínas adhesivas de la matriz.

Estas proteínas actúan de muchas maneras:

- Previniendo la unión de FCI a sus receptores
- Presentando al factor de crecimiento con su receptor y
- Reteniendo FCI en la matriz pericelular²³.



El hígado es la mayor fuente de FCI-I circulante y es el tejido blanco para hormona de crecimiento que regula su producción²⁸, así como el estradiol, mientras que su producción es inhibida por el cortisol.

En el tejido conectivo el factor de crecimiento más abundantemente presente y es sintetizados por muchos tipos celulares presentes en el tejido esquelético incluyendo los fibroblastos y los osteoblastos.

La matriz ósea es una fuente abundante de FCI-I e FCI-II, y ambos son producidos por osteoblastos. FCI-I estimula la formación ósea por inducción de la proliferación celular, diferenciación y biosíntesis de colágena tipo I³¹. Ambos parecen regular células óseas de manera autócrina o parácrina por elevación de síntesis de DNA, síntesis de osteocalcina y actividad de fosfatasa alcalina^{16, 24}.

Funciones

- Existe evidencia experimental que es responsable para el crecimiento fetal y postnatal y desarrollo en general. FCI-I es importante tanto para desarrollo prenatal como postnatal, mientras que FCI-II parece ser necesario principalmente en la etapa prenatal.
- Están involucrados en el desarrollo prenatal y postnatal de órganos tales como la glándula prostática, glándula mamaria, bazo, células β pancreáticas, riñón, pulmón, cerebro y dientes. Ellos también son factores importantes para el desarrollo muscular y crecimiento esquelético. Los niveles locales de la actividad de FCI en el desarrollo postnatal y crecimiento parece ser específico de órganos y afectados por factores externos tales como nutrición¹³.
- En hueso, niveles elevados de FCI-I son sintetizados y secretados por osteoblastos, por lo tanto puede regular la formación ósea en una manera



autócrina y también aumenta el número de células multinucleadas osteoclasticas¹⁷.

- Promueven directamente la migración de células osteoblásticas en una dosis de manera dependiente. FCI-I incrementa la síntesis de colágena ósea, y disminuye la degradación de colágena en cultivos de fetos de rata calvaria²⁴.
- Se ha demostrado que el activo a nivel de crecimiento óseo es el FCI-I, que parece ser el principal regulador de crecimiento de hueso y cartílago, debido a que: 1) promueve la aposición de matriz ósea in vitro; 2) tiene efectos sobre la mitogénesis de osteoblastos, fibroblastos y síntesis de proteínas in vitro y 3) es quimiotáctico para células derivadas del ligamento periodontal tales como fibroblastos, osteoblastos y células progenitoras de osteoclastos^{17,24}.
- Diversos estudios sugieren que combinado con otros factores de crecimiento pueden aumentar la velocidad y calidad del proceso de cicatrización ósea^{16,17}.
- La combinación de FCI-I más FCT- β o FCI-I más FCDP incrementa la aposición de matriz ósea más que FCT- β , FCDP o FCI-I individualmente^{16,20}.
- Las evidencias sugieren que FCI-I puede mediar la capacidad de la hormona paratiroidea para estimular la proliferación y la diferenciación de las células osteoprogenitoras en el hueso²⁸.

La aplicación de FCI-I en la superficie radicular de dientes de ratas promueve cementogénesis dentro de 8 días después en molares tratados. Sin embargo, cuando fue aplicado en lesiones periodontales en perros, fue encontrado solo un ligero incremento en nuevo cemento y formación ósea¹⁷.



3.6 Factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV)

El factor de crecimiento endotelial vascular es una citocina sintetizada por diferentes tipos de células. También es conocido como factor de permeabilidad vascular (FPV), y vasculotropina (VAS). Es una proteína dimérica, que tiene homología en un 20% de su estructura con otro factor de crecimiento, el factor de crecimiento derivado de plaquetas.

Es otro factor de crecimiento proteínico. Originado por macrófagos, fibroblastos y queratinocitos²⁰. Sus efectos son limitados a células endoteliales, la estimulación de síntesis de lámina basal y el reclutamiento de pericitos que ayudan al desarrollo de nuevos vasos sanguíneos^{7, 16, 20}.

Cuatro especies homodiméricas de FCEV han sido identificadas; cada monómero posee 121, 165, 189 y 206 aminoácidos respectivamente, siendo su actividad similar pero diferentes sus perfiles de secreción.

Houcek y colaboradores han propuesto que las distintas isoformas de FCEV, son resultado de activar la cascada proteolítica del plasminógeno (un paso clave durante la angiogénesis), de esta manera se liberaría siempre un FCEV₁₂₁ soluble, mediador final común del angiogénesis in vivo.

Su acción es ejercida a través de su unión a receptores tipo tirosin cinasa, siendo la célula endotelial su principal célula diana. Está considerado como uno de los más potentes reguladores de la angiogénesis, tanto normal como patológica, así como un inductor de la permeabilidad vascular.

Los miembros de la familia FCEV realizan sus señales a través de tres receptores tirosin cinasa: FCEVR-1, FCEVR-2 y FCEVR-3. El FCEVR-2 se localiza en las células endoteliales y es el principal receptor de los efectos vasculogénicos y angiogénicos del FCEV²⁰.



Su vida media es de menos de tres minutos, resalta la importancia de la vía autócrina que proporcionará un suplemento endógeno de FCEV para conseguir (en varios días) el desarrollo de la circulación colateral.

A pesar de la diversidad de factores que pueden participar en los diversos pasos de la angiogénesis, el FCEV representa el factor de crecimiento más importante en los tejidos adultos donde se produce una angiogénesis fisiológica, así como en la angiogénesis patológica observada en la inflamación crónica, la curación de heridas, los tumores y la retinopatía diabética²⁰.

El factor de crecimiento endotelial vascular es altamente expresado por la inducción de hipoxia¹⁶.

3.7 Factor de crecimiento fibroblástico (FCF)

Recibe este nombre debido a que tiene efectos como promotor de crecimiento sobre los tipos celulares fibroblásticos²⁸.

Son pequeñas cadenas de polipéptidos que tienen una acción específica sobre la función celular (angiogénesis y en la mitogénesis de las células mesenquimatosas)²⁷.

Hay 19 tipos diferentes de FGF, los más conocidos son:

- FCF-1 (FCF ácido)
- FCF-2 (FCF básico)
- K-FCF proto-oncogenes: Sarcoma de Kaposi

Actúan sobre cuatro diferentes receptores de superficie: FCF-R1-FCF-R4.

Los receptores de estos factores de crecimiento tienen una actividad intrínseca tirosin-cinasa.

Los receptores de FGF se activan mandando numerosas proteínas de señalización, en las cuales mandan las señales hacia el núcleo para la formación de diferentes tejidos.



El receptor de factor de crecimiento fibroblástico 1 (FCFR₁) se ha mostrado que permite la entrada de virus herpes a las células. Los receptores son expresados en el desarrollo óseo y en desordenes autosómicos dominantes de crecimiento óseo que son resultado de mutaciones de los genes de FCFR²⁷.

En tejidos normales adultos, los más abundantes son el FGF-1 y FGF-2. FGF-2 es expresado por los osteoblastos y es más potente que el FGF-1. Las señales de estos factores de crecimiento se han visto implicados en el desarrollo del hueso. Estudios in vitro estimulan la proliferación de osteoblastos pero no incrementan la producción de colágena o de fosfatasa alcalina en osteoblastos diferenciados por lo tanto inhibe la diferenciación osteoblástica y dramáticamente incrementa la apoptosis cuando las células son expuestas en condiciones de diferenciación²⁷.

Funciones

- Ambas formas estimulan la replicación de células óseas, pero también pueden inhibir la síntesis de matriz por células óseas bajo algunas condiciones, por lo tanto tienen un efecto no estimulatorio sobre los osteoblastos maduros^{17, 28}.
- Son encontrados en la matriz ósea e in vitro ambas formas estimulan la síntesis de DNA y la replicación celular. Sin embargo, disminuye la actividad de la fosfatasa alcalina¹⁷.
- FCFb reduce los niveles de mRNA para colágena tipo I y osteocalcina¹⁷.
- Influye en la proliferación y la producción de matriz extracelular de células del ligamento periodontal²⁶.
- Es un potente mitógeno para una amplia variedad de células derivadas del neuroectodermo y mesodermo, y han estado mostrando ser producidas por el cerebro, glándula pituitaria, riñón y cuerpo lúteo²⁶.



- Actúa en la angiogénesis, neurogénesis y desarrollo embrionario. Indicando su amplio rango de importancia biológica²⁶.
- Investigaciones han mostrado que el factor de crecimiento fibroblástico básico es un potente quimiotáctico y factor mitogénico para fibroblastos del ligamento periodontal.
- Promueve la migración y proliferación de células endoteliales. La unión a FCFb es incrementada por la exposición a colágena tipo I sobre la superficie dentinal¹⁷.
- Estudios in vitro han demostrado que su aplicación exógena eleva el proceso de cicatrización de úlceras duodenales y fracturas óseas.
- Juega un papel importante en el proceso de regeneración tisular periodontal y este también puede influenciar o regular las funciones de células del epitelio gingival, que son importantes componentes del tejido periodontal²⁶.

Estudios in vitro sugieren que los factores de crecimiento fibroblásticos pueden estimular la proliferación y diferenciación de las células del ligamento periodontal y células endoteliales. Pero tiene muy poco efecto positivo en estudios in vivo sobre la regeneración ósea en aplicaciones craneofacial y ortopedia²⁸.



4. PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

El plasma rico en plaquetas primero fue introducido en la cirugía oral por Whitman en 1997 en su artículo titulado “Gel plaquetario: una alternativa autóloga con aplicación en cirugía oral y maxilofacial”²⁹.

El plasma rico en plaquetas goza un incremento en popularidad en la cirugía oral y maxilofacial, después de la publicación de un artículo escrito por Marx en 1998. Marx en su estudio mostró que la combinación de PRP con hueso autólogo en defectos mandibulares, daba como resultado una maduración rápida y significativa en el estudio radiográfico y un hueso denso regenerado en el estudio histomorfológico^{29, 31}.

El uso de plasma rico en plaquetas para incrementar la regeneración ósea y maduración de tejidos blandos ha incrementado dramáticamente en los campos de ortopedia, cirugía maxilofacial, cirugía periodontal, urología, cirugía plástica y cirugía cardiovascular^{31, 32}.

4.1 ¿Qué es el PRP?

PRP es una concentración autóloga de plaquetas en un pequeño volumen de plasma.^{7, 16, 32, 33, 34} Siendo sangre del mismo paciente, éste es libre de enfermedades transmisibles y no puede causar reacción hipersensible.

El mínimo recuento de plaquetas requerido para un coágulo sanguíneo clasificado como PRP puede ser discutible, pero una concentración de aproximadamente un millón de plaquetas/ μL , o aproximadamente 4 o 7 veces la línea usual de recuento plaquetaria (200 000 plaquetas/ / μL), ha mostrado que proporciona beneficios clínicos⁷.

Un coágulo normal tal como el que encontramos en una herida resultante de el sitio de una osteotomía para implante o un injerto óseo contiene 94% células rojas de la sangre, 6% plaquetas y algo menos que el 1% células blancas de la sangre.

En contraste, un coágulo de sangre PRP contiene 94% plaquetas, sólo 5% de células rojas de la sangre y 1% células blancas de la sangre⁷.

Esta alteración de la proporción celular en el coágulo sanguíneo en la herida, por el cual células que no estimulan la cicatrización (células rojas de la sangre) son remplazadas por células que estimulan todas las fases de cicatrización (plaquetas), explicando su habilidad para elevar la cicatrización⁷.

Esto también realza la estrategia simple y beneficio de PRP, que está acrecentando las acciones de factores de crecimiento sobre la cicatrización y regeneración ósea por incremento del número de plaquetas^{7, 16,31, 32, 34}.

4.2 El mecanismo del PRP asociado a factores de crecimiento

Los factores de crecimiento secretados por las plaquetas (PDGF_{aa}, PDGF_{bb}, PDGF_{ab}) usualmente tienen dos sitios activos G₁ son llamados dímeros, que se acoplan solo a células que tienen receptores específicos para ellos. Esos receptores están sobre la membrana superficial de las células blanco.

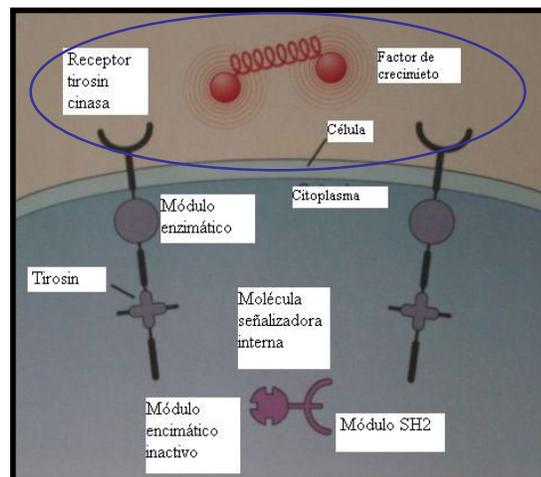


Fig. 2 Los factores de crecimiento se unen a sitios de receptores de membrana en células blanco⁷.

El factor de crecimiento nunca entra a la célula, más bien éste activa el receptor de membrana, que tiene una porción intracitoplasmática y por lo tanto con frecuencia es considerado un receptor transmembrana (Fig. 1). Dos receptores transmembrana adyacentes son entonces atraídos dentro de una distancia crítica el uno al otro, activando las proteínas transductoras de señales intracitoplasmáticas latentes^{26, 4} (fig. 2). Una proteína transductora de señales entonces se separa del receptor transmembrana y flota en el citoplasma hacia el núcleo. En el núcleo, la proteína transductora abre una secuencia de gen específica para regular la función celular, tales como mitosis, síntesis de colágeno, producción osteoide, etc⁷.

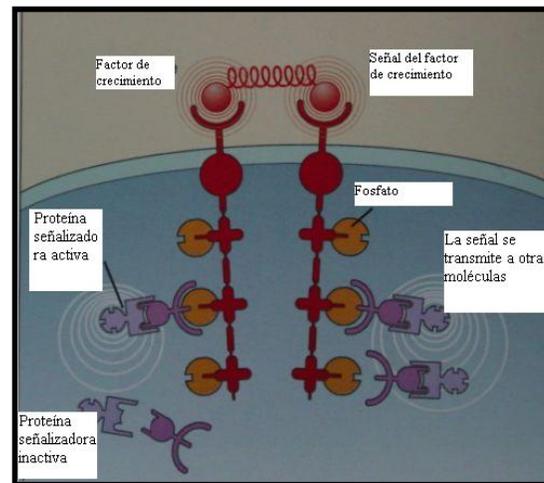


Fig. 3 La activación del extremo del sitio del receptor causa una elevada activación de fosfato óse de una proteína transductora intracitoplasmática⁷.

La importancia de este proceso es que explica porque una aplicación exógena de factores de crecimiento, incluso en las concentraciones más elevadas posibles, no puede producir un padecimiento de hiperreacción, tales como hiperplasia, un tumor benigno, o maligno. Los factores de crecimiento no son mutagénicos. Ellos son proteínas naturales que actúan a través de la regulación de genes normales y control de mecanismos de cicatrización y regeneración⁷.



4.3 Obtención del PRP

4.3.1 Desarrollo del plasma rico en plaquetas y su importancia clínica.

PRP ha estado disponible por menos de una década. A principios de los 90 s, PRP sólo podía ser desarrollado por medio de un separador o máquina para plasmaferesis.

Ese dispositivo era tan largo como una estufa de cocina, caro y costoso hacerla funcionar. Ellos fueron sin embargo efectivos separando la sangre autóloga dentro de sus tres básicos componentes: células rojas de la sangre, combinación células blancas de la sangre y capa de plaquetas y plasma⁷.

4.3.2 Principios de Separación y Concentración Plaquetaria

La separación y concentración de plaquetas comienza con una técnica aséptica y minimamente traumática de flebotomía para la extracción apropiada de un pequeño volumen de sangre especial para el dispositivo que será empleado.

Una vena importante tal como la vena de la muñeca por encima del radio (el principio de la vena cefálica) o una vena anticubital deberá ser elegida (Fig 4). Para que la sangre no se coagule, la jeringa debe contener anticoagulante como citrato dextrosa A (ACD-A). El ácido Etilenodiaminotetraacético (EDTA), que es usado en laboratorios de diagnóstico de sangre, no es recomendado para ese propósito porque este es perjudicial para la membrana plaquetaria⁷.

El Citrato Fosfato Dextrosa (CPD) que es usado para almacenar células rojas de la sangre, tampoco es recomendado para este propósito porque este no mantiene el metabolismo plaquetario como lo hace ACD-A. En los bancos de sangre solo usan ACD-A como una solución de preservación de plaquetas para transfusión plaquetaria.

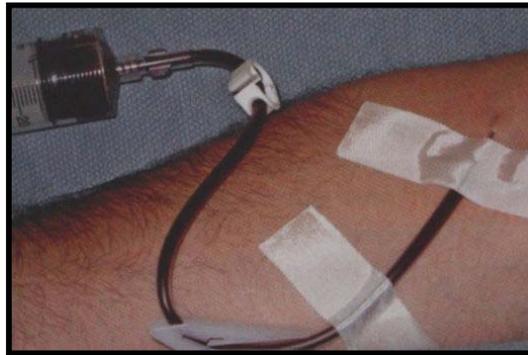


Fig. 4 La vena anticubital representa el sitio ideal y más comúnmente usado para la febotomía⁷.

La efectiva separación y concentración de plaquetas son producto de fuerzas gravitacionales, usualmente medido en minutos (minutos g). Para separar y concentrar plaquetas el dispositivo usa dos distintas centrifugaciones, denominados spins. La primera centrifugación, separa las células rojas de la sangre del resto de la sangre (células blancas, plaquetas y plasma). Este es seguido por una segunda centrifugación, que separa y compacta las plaquetas, células blancas de la sangre, y una pequeña cantidad de residuos de células rojas del plasma después de que el 95% o más de las células rojas de la sangre han sido separadas y extraídas dentro de otro contenedor⁷.

Las máquinas de una sola centrifugación son incapaces de separar y concentrar plaquetas a niveles terapéuticos. A causa de la forma cóncava-convexa de las células rojas de la sangre y el tamaño relativamente pequeño de las plaquetas, las plaquetas más pequeñas quedan atrapadas en la concavidad de las células rojas más grandes y llegan a ser compactadas con ellas antes de ser concentradas separadamente.

Para el desarrollo de PRP la fuerza y los tiempos de centrifugación dependerán de la centrífuga utilizada.



Cada una de las dos centrifugaciones son exactamente cronometradas ganando separación y concentración consistente plaquetaria, éste es el más competente por un dispositivo detalladamente automatizado que evita la manipulación manual que pueda afectar la separación plaquetaria.

Al final de la segunda centrifugación, algunos residuos de células rojas de la sangre junto con todas las células blancas y plaquetas, serán compactados en el fondo del compartimiento de PRP y revestido por un volumen de plasma. Juntos, parecerán como una pequeña capa de células rojas sanguíneas rodeada de una pequeña línea blanca (el también llamado Buffy coat) encima un gran volumen de líquido color amarillento pero normalmente claro que es el plasma.

Comúnmente descrito como un botón de células rojas. Las plaquetas más jóvenes, que contienen más factores de crecimiento, son más grandes y están en la capa superior en la fracción de células rojas.

El botón de células rojas indica la presencia de esas jóvenes y más completas plaquetas.

Después las plaquetas son separadas y concentradas en el contenedor, y el contenedor es removido de la máquina, el PRP no es todavía desarrollado completamente. Una cantidad específica de la capa del plasma es extraída, y es entonces cuando se le puede llamar PRP⁷.

4.3.3 Almacenamiento y Activación de PRP

Una vez desarrollado el PRP está anticoagulado y permanecerá en ese estado hasta que un proceso de coagulación sea iniciado. Se ha encontrado que el PRP permanece estéril y sus plaquetas permanecen viables y bioactivas por más de 8 horas. Sin embargo es recomendable que el PRP permanezca anticoagulado hasta que vaya a ser empleado en los tejidos.

El ACD-A que es usado como anticoagulante en el desarrollo de PRP inhibe la coagulación por uniones de calcio. Sin embargo, la activación del PRP requiere reemplazar el calcio e iniciación de la cascada de coagulación sanguínea. Esto



puede ser realizado al añadir solución de clorhidrato de calcio al 10% a trombina bovina tónica. Cuando es usado en muy pequeño volumen, esta solución coagulará el PRP en el que es generalmente denominado un coágulo rápido para aplicación clínica PRP, la solución anticoagulada de PRP es colocada dentro de una jeringa de 10ml y el clorhidrato de calcio-solución trombina es colocada dentro de una jeringa de 1ml, la coagulación ocurre entre 6 a 10 segundos.

Un gran volumen de solución e clorhidrato de calcio-tromina no acelera el proceso de coagulación, sino lo retardará o inhibirá completamente por disolución del fibrinógeno, que es un factor limitante en la formación del coágulo.

4.4 Mecanismos de las plaquetas y PRP en la regeneración ósea.

Los gránulos alfa contenidos en las plaquetas, ya sea en un coágulo sanguíneo normal o en uno de PRP, comienzan su degranulación en menos de 10 minutos de desarrollarse el coágulo y secreta más del 90% de sus factores de crecimiento almacenados en menos de una hora. Los factores de crecimiento se unen inmediatamente a los receptores transmembrana de células osteoprogenitoras, células endoteliales y células mesenquimales.

La fibrina y fibronectina contenidos dentro de la porción acelular del coágulo y la vitronectina surgen de los gránulos alfa y envuelven el injerto en una matriz inicial. Los tres isómeros del FCDP actúan como mitógenos para osteoblastos, células endoteliales y proliferación de células mesenquimales.

Los dos isómeros de FCT- β llevan a cabo una mitogénesis y angiogénesis similar pero también promueven la diferenciación osteoblástica de las células mesenquimales.

El FCVE promueve específicamente el crecimiento vascular (Fig. 5).

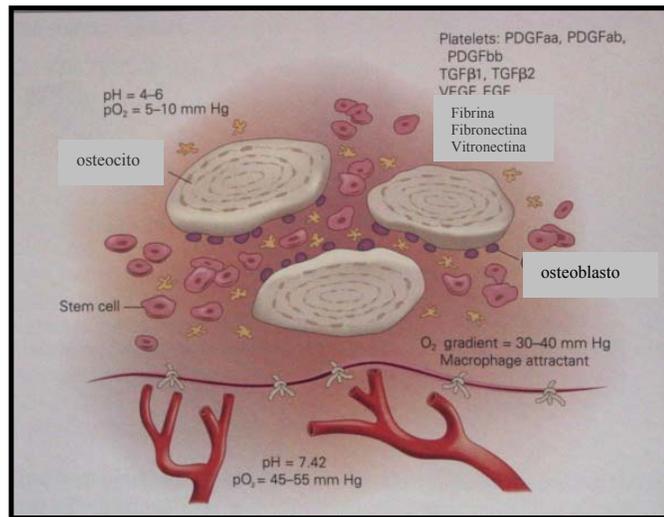


Fig. 5 El medio bioquímico de un injerto óseo autólogo⁷.

A causa de su concentración aumentada de plaquetas, el PRP de esta manera inicia una respuesta celular más intensa y rápida en el injerto óseo que el coágulo sanguíneo normal. Tres días después de la colocación del injerto se puede identificar mitosis de células osteoprogenitoras y brotes capilares (Fig. 6).

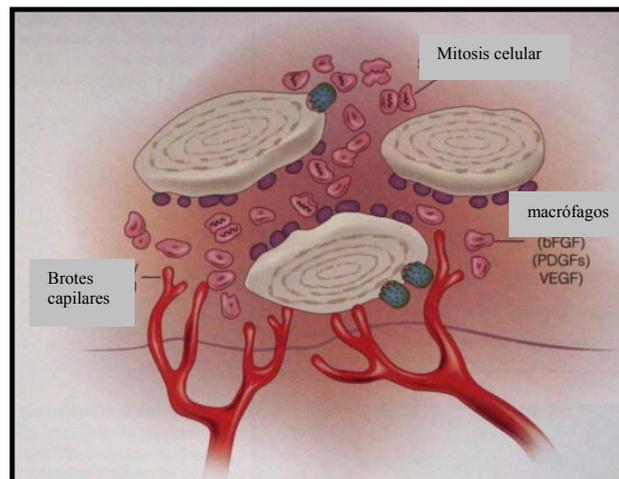


Fig. 6 Tres días después de la colocación del injerto, se puede observar división celular significativa y penetración de brotes capilares⁷.

Por el 17 y 21 días, la penetración capilar del injerto es completada y las células osteoprogenitoras han incrementado enormemente en número (Fig. 7). Por consiguiente, la primera fase de la cicatrización del injerto óseo ocurre durante las tres primeras semanas y es caracterizada por crecimiento capilar y rápido metabolismo, proliferación y actividad celular. Es durante esa primera fase que el injerto es más vulnerable a infección e inestabilidad, cualquiera de las dos puede impedir o destruir las células delicadas y funciones celulares que ocurran durante este tiempo.

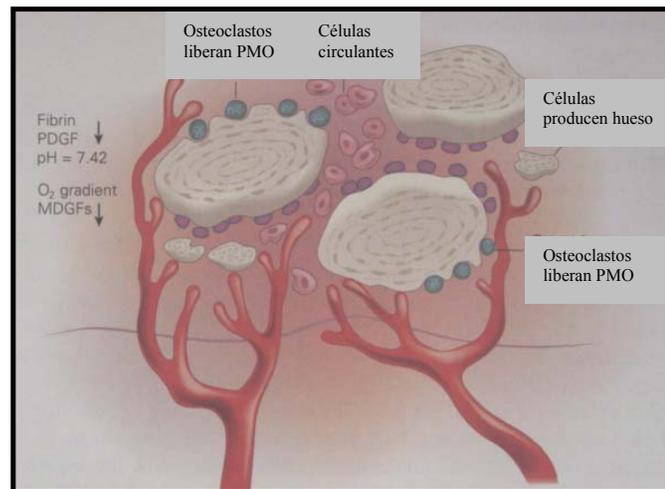


Fig. 7 Por el día 7 a 21, se completa la penetración capilar y la profusión del injerto toma lugar, y la producción osteoide ha sido iniciado⁷.

Aunque la función de las plaquetas disminuye dentro de 7 a 10 días, sus efectos sobre el desarrollo del injerto han sido establecidos. Para ese tiempo las plaquetas han dictado la velocidad y el grado de regeneración ósea. El macrófago y el monocito, que llega a ser un macrófago en la herida, son atraídos al medio de la herida principalmente por su hipoxia natural y en menor grado por lactato y acidez. Los macrófagos poseen receptores de membrana que perciben áreas de baja concentración de oxígeno. La inherente hipoxia de un injerto óseo mantiene una fuerte atracción por los macrófagos, que llegan a la herida y secretan factores de crecimiento adicionales para regular y continuar la regeneración ósea. La malla del coaguló contiene fibrina, fibronectina, y vitronectina. Esas moléculas de

adhesión actúan como una matriz superficial para el crecimiento vascular, proliferación celular y migración celular ocurridas durante esa fase. Esta matriz también actuará como el andamio inicial para producción osteoide que señalará la transición a la siguiente fase⁷.

Entre 3 y 6 semanas, la célula osteoprogenitora ha proliferado y diferenciado suficientemente en producto una matriz osteoide. Su producción de osteoide consolida el injerto y forma una unión al hueso adyacente (Fig. 8). Con frecuencia esta también es descrita como la segunda fase de la regeneración ósea. Durante este tiempo el crecimiento total capilar madura por desarrollo adventicio manteniendo células alrededor de los vasos, haciéndolos capaces de resistir la inestabilidad y la función leve. El oxígeno que esos vasos suministran al injerto invierte la hipoxia y por consiguiente suprime al macrófago para que no se forme en la herida una cicatriz o hiperplasia.

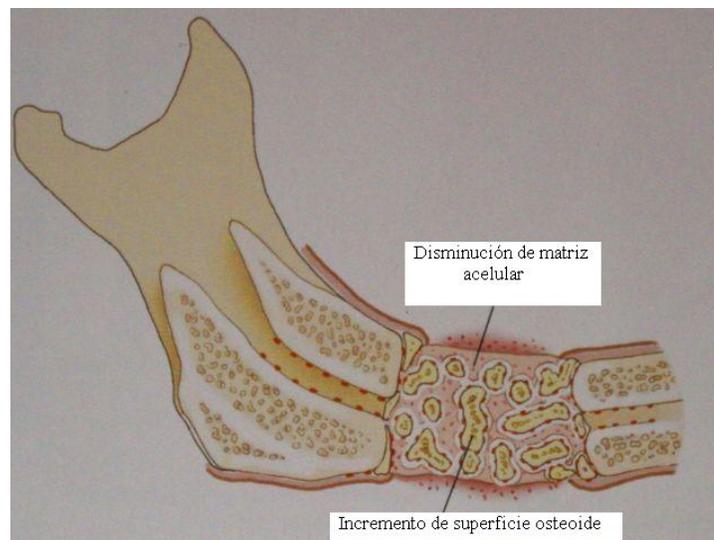


Fig. 8 A la sexta semana su producción osteoide consolida el injerto formando una unión al hueso receptor⁷.

Al comienzo de la sexta semana, el osteoide sufre un ciclo obligatorio de reabsorción-remodelación. El frágil y elástico osteoide es reabsorbido por osteoclastos, que liberan proteínas morfogenéticas óseas, ILG¹ y ILG² y estos sucesivamente inducen osteoblastos adyacentes y células mesenquimales para diferenciarse y producir un reemplazo de hueso mas maduro que contiene arquitectura laminar y sistemas Haversianos no presentes en el osteoide. Esa tercera fase de regeneración ósea continua a través del tiempo de vida del injerto cuando éste establece una velocidad de recambio normal de reabsorción-remodelación de el resto del esqueleto (aproximadamente 0.7% por día), esto es visto clínica y radiográficamente por la formación del hueso denso mineralizado (Fig. 9)⁷.

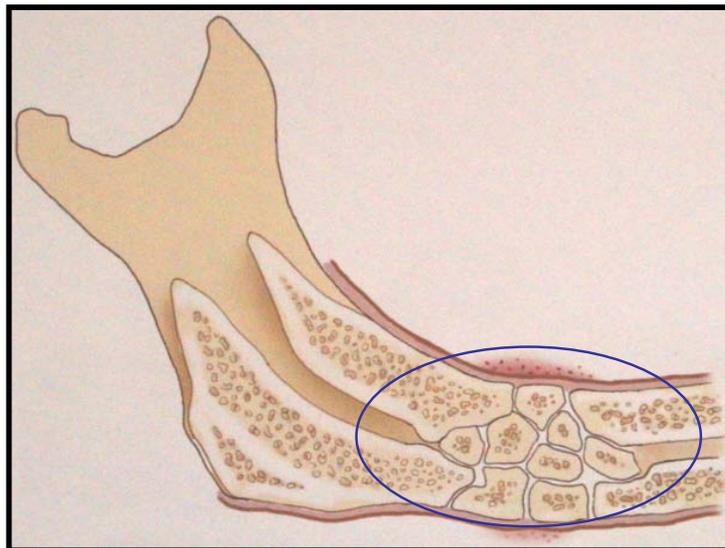


Fig. 9 Después de la sexta semana, el injerto será consolidado y fusionado a el hueso receptor⁷.

Por consiguiente las plaquetas y el PRP actúan en la primera fase bioquímica de una secuencia de tres fases de regeneración ósea, cuando la velocidad y cantidad de regeneración ósea toma lugar⁷.

4.5 Efecto del PRP sobre la cicatrización de tejidos blandos

Los efectos del PRP sobre la cicatrización de tejidos blandos es paralela a la regeneración ósea, pero con frecuencia parece ser incluso más dramática porque el incremento de cicatrización es más prontamente observable. El mejor modelo de PRP para la demostración del incremento en la cicatrización sobre tejidos blandos es una herida de un sitio donador de un injerto de piel de espesor parcial. El estudio fue realizado sobre las heridas de sitios donadores del injerto de piel, que fueron de un tamaño estándar de 4 x 7 cm y de un grosor estándar de 0.42 mm. Una herida fue tratada solo con trombina bovina tópica como un agente hemostático y la otra con PRP activado con trombina bovina tópica. El sitio tratado con PRP mostró una diferencia clínica e histológica dramática, demostrando una cicatrización incrementada por el PRP.

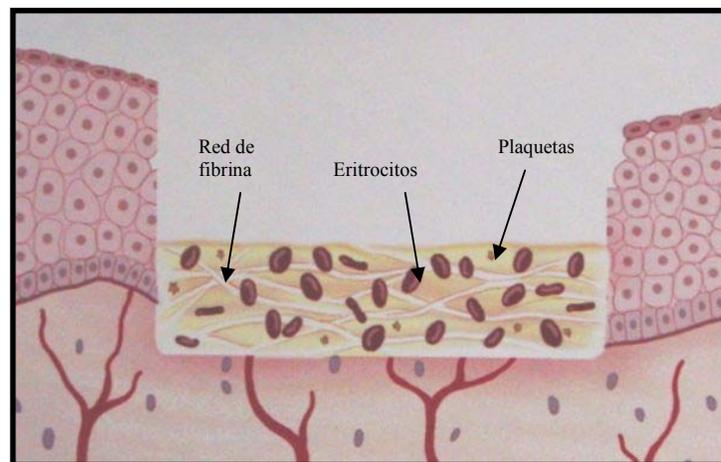


Fig. 10 El sitio donador del injerto de piel sin PRP forma un coágulo que contiene 5% plaquetas y 95% células rojas de la sangre dentro de una red de fibrina.



Una herida de un sitio donador de injerto de piel de espesor parcial es extraído a bajo del nivel de la membrana basal, cicatrizando por lo tanto por brotes capilares desde la base del tejido conectivo y migración epitelial a través del soporte nutricional de la perfusión capilar, principalmente de los brotes de la piel y en menor grado del epitelio del folículo piloso. Una vez que el injerto de piel es removido, se forma un coágulo de sangre sobre la base del tejido conectivo (Fig. 10). Las plaquetas dentro del coágulo de sangre degranulan y secretan sus diversos factores de crecimiento, mientras que las moléculas de adhesión, fibrina, fibronectina y vitronectina cubren las superficie como una matriz para migración celular. El factor de crecimiento endotelial vascular y los tres isómeros del factor de crecimiento derivado de plaquetas induce a una proliferación capilar rápida para producir un suministro nutricional a la herida.

Los isómeros del factor de crecimiento transformador β estimulan la fibroplasia y la síntesis de colágeno a la base de la herida. Lo más importante, sin embargo, el factor de crecimiento epitelial actúa sobre las células basales en el borde de la herida promoviendo una proliferación epitelial que migrará dentro del tejido de granulación rico en nutrientes sobre la superficie de las moléculas de adhesión celular en el coágulo.

El reemplazamiento del coágulo normal que se desarrolla dentro de la herida en este tejido blando con un coágulo de PRP, incrementa los factores de crecimiento disponibles (fig. 11)⁷.

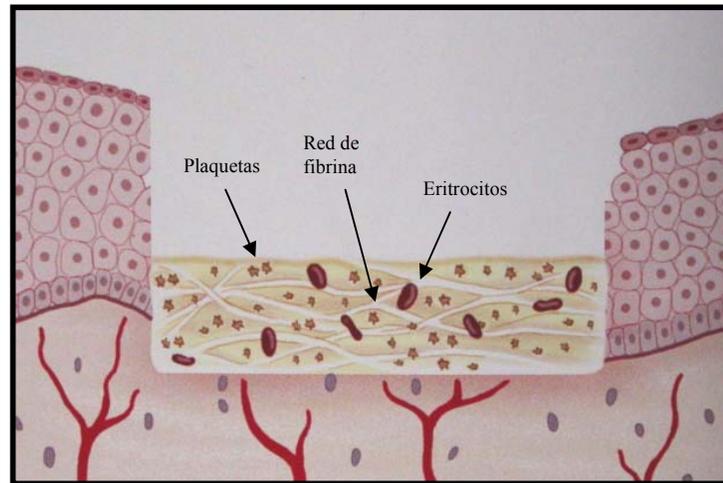


Fig. 11 El sitio donador del injerto de piel con PRP forma un coágulo que contiene 95% plaquetas y 5% células rojas de la sangre dentro de una red de fibrina⁷.

Para el día seis, la apariencia clínica del sitio del coágulo contra el sitio del coágulo de PRP mostró una aceleración significativa del proceso de cicatrización en el sitio con PRP a pesar del poco tiempo que había pasado. El sitio del coágulo de sangre retiene una zona periférica eritematosa y obviamente tejido de granulación exuberante con solo el comienzo de una migración epitelial de la periferia. El sitio con el coágulo de PRP no muestra tal círculo de eritema y solo restos de tejido de granulación que ya han sido reemplazados. La falta de brillo de su superficie representa una capa delgada de epitelio que ya había migrado a través de toda la herida (Fig. 12-b). El sitio tratado con un coágulo normal mostró un rodete de fibroblastos y macrófagos jóvenes con numerosos vasos pequeños típicos de una herida inmadura. Se toma una muestra del borde epitelial y no muestra evidencia de migración (Fig. 12-a). En contraste, el sitio de coágulo de PRP mostró una evidencia de promover el epitelio sobre una dermis madura, ya que mostró más fibroblastos en forma de huso y haces de colágena. El sitio del

coágulo de PRP fue superior significativamente en su velocidad y maduración comparado con el sitio del coágulo sanguíneo.

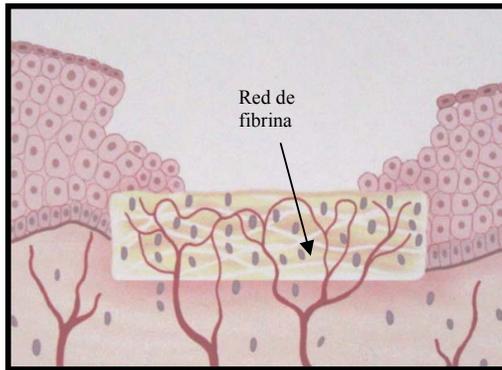


Fig. 12-a Al sexto día el sitio donador sin PRP no muestra migración epitelial⁷.

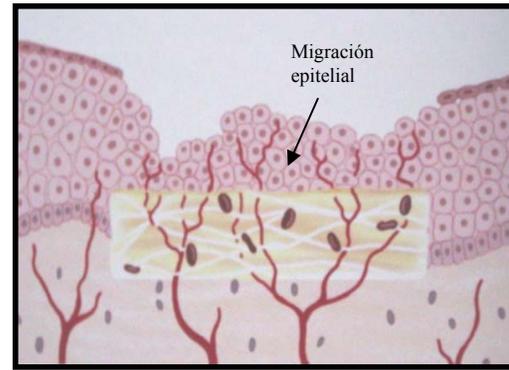


Fig. 12-b Al sexto día el sitio donador con PRP muestra evidente migración epitelial⁷.

Cuando el sitio donador de piel madura, la dermis desarrollará una vascularidad reducida, una celularidad fibroblástica reducida, un espesor normal de epitelio con queratina y un retorno de melanocitos productores de pigmento. Desde una perspectiva clínica, el sitio donador progresará a través de una fase de coloración violácea indicativa de una delgada capa epitelial sobre una abundante vascularidad, y palidecerá por 2 a 6 meses, el color se unifica, cuando el epitelio engrosa y la hipervascularidad de la fase de cicatrización regresa a niveles normales.

En 45 días el sitio del coágulo continuará rojo y numerosos vasos sanguíneos pequeños podrán ser vistos justamente por debajo de la superficie (Fig. 13-a). En contraste, en 45 días el sitio tratado con coágulo de PRP fue ciertamente tomando un color uniforme al de la piel y la hipervascularidad ha sufrido un retroceso, indicativo de madurez avanzada (Fig. 13-b)⁷.

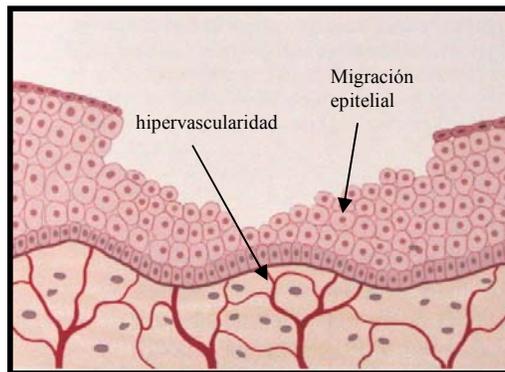


Fig. 13-a En 45 días el sitio donador sin PRP está constituido por una delgada capa de epitelio sobre tejido conectivo hipervascularizado indicativo de una cicatrización inmadura

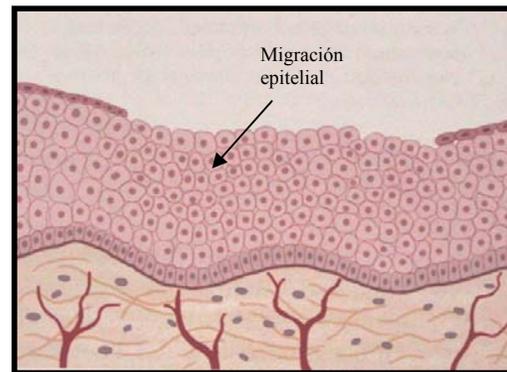


Fig. 13-b En 45 días el sitio donador con PRP tiene un coloración más uniforme, indicando una cubierta epitelial más gruesa y regresión de la fase hipervascular indicativo de una cicatrización madura.

Finalmente, todos los sitios donadores de injertos de piel cicatrizan y adquieren un nivel seguro de madurez; las ventajas de usar PRP incluyen:

- Reducción de dolor durante la primera semana (pacientes reportaron una disminución del dolor de un 40%)
- Reducción de la cicatriz final.

En seis meses, el sitio donador tratado con PRP mostró una reducción significativa en la contracción de la herida, y la cicatriz y mejoró el pigmento, la regeneración fue evidente comparada con el sitio adyacente que sano bajo el original coágulo sanguíneo⁷.



4.6 Efectos del PRP sobre la regeneración ósea usando injertos óseos

Porque la introducción de PRP conlleva estudios que documentan el incremento de hueso autógeno y regeneración de tejidos blandos, sus beneficios fueron asumidos a depender de la presencia de células de injerto autógeno y por lo tanto esta limitado a injertos autógenos. Sin embargo, recientes estudios de PRP también han mostrado un incremento de casi todos los materiales utilizados como substitutos óseos. La razón es que células autólogas son responsables de la formación de nuevo hueso incluso cuando un substituto ósea es usado. Las células autógenas migran dentro del área del injerto de substituto óseo para ocupar espacios entre y alrededor de las partículas. En otras palabras, un injerto de substituto óseo forma nuevo hueso vía osteoconducción de células osteoprogenitoras adyacentes, mientras el injerto autógeno forma nuevo hueso vía transplatación de células osteoprogenitoras de un sitio distante. Desde luego un injerto óseo autógeno deposita muchas más células osteoprogenitoras en el sitio del injerto y es considerado el estándar de oro clínico. Ya que menos células osteoprogenitoras están contenidas en tales injertos en comparación con injertos autógenos, y ya que se requiere una migración significativa para cubrir el volumen del injerto, alta regulación de esas células osteoprogenitoras y formación de matriz para osteoconducción por PRP es incluso más valioso.

A pesar de los que reclaman lo contrario, ningún tipo hueso alogénico o substituto óseo es osteoinductivo en el humano. Incluso hueso alogénico, mineralizado o desmineralizado no contiene una concentración suficiente de proteínas morfogenéticas óseas bioactivas para inducir nuevo hueso en humanos. Sin embargo, hoy todos los substitutos óseos dependen de osteoconducción de células osteoprogenitoras en el sitio receptor para formar nuevo hueso. El mecanismo por el que esto ocurre puede ser ilustrado en la colocación del injerto de substitutos óseos en la elevación de seno. En esta situación, las partículas colocadas dentro del espacio del seno bajo una elevación de la membrana. Las partículas llegan a confundirse en el coágulo sanguíneo que contiene fibrina, fibronectina, vitronectina, células rojas, células blancas, y las plaquetas (Fig. 14). Si este fue un

coágulo de PRP las numerosas plaquetas estarán incrementadas de 4 a 7 veces. En menos de 10 minutos de coagulación, las plaquetas degranulan y secretan sus siete factores de crecimiento. Algunos de esos factores de crecimiento actúan sobre los vasos sanguíneos rotos de las paredes óseas y bajo la superficie de la membrana del seno induce un incremento capilar en relación con el volumen del injerto, mientras otros actúan sobre las paredes medias y laterales óseas además del piso del seno para iniciar la secuencia de migración, diferenciación y producción ósea⁷.

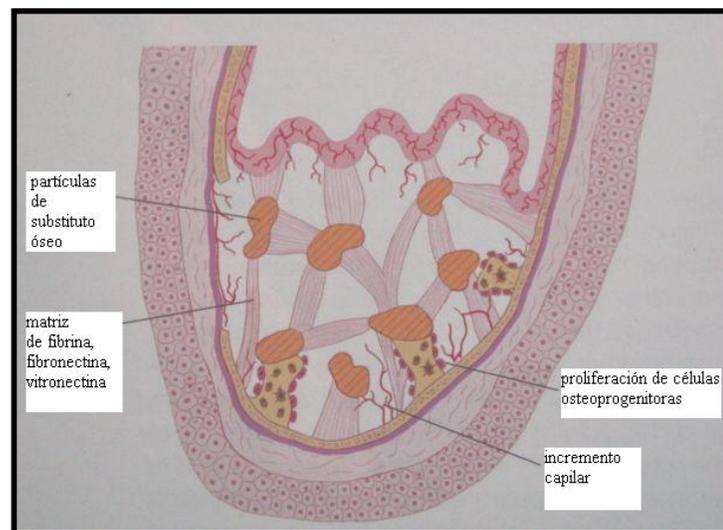


Fig. 14 Regeneración ósea en un injerto de sustituto óseo requiere crecimiento capilar dentro de los espacios del injerto, proliferación de células osteoprogenitoras, y migración de hueso de las paredes circundantes por lo tanto, formación ósea alrededor de las partículas de sustituto óseo⁷.

Las células osteoprogenitoras migran a lo largo de la red de fibrina que llena los huecos entre el hueso y las partículas del sustituto óseo y entre una partícula y otra. Al adherirse la fibrina a las partículas del sustituto óseo; las células osteoprogenitoras migran a lo largo de la superficie de fibrina para formar una sustancia pegajosa y producir hueso.

La red de hueso forma esas partículas alrededor e interconecta a por lo menos una pared ósea para formar un injerto estable. Por consiguiente los pasos principales para la formación ósea incluye el reclutamiento de factores de crecimiento y estimulación de células, su migración y diferenciación antes que el hueso este realmente formado.

El PRP tiene la capacidad de estimular más formación ósea en un menor tiempo cuando es usado en conjunción con un sustituto óseo⁷.

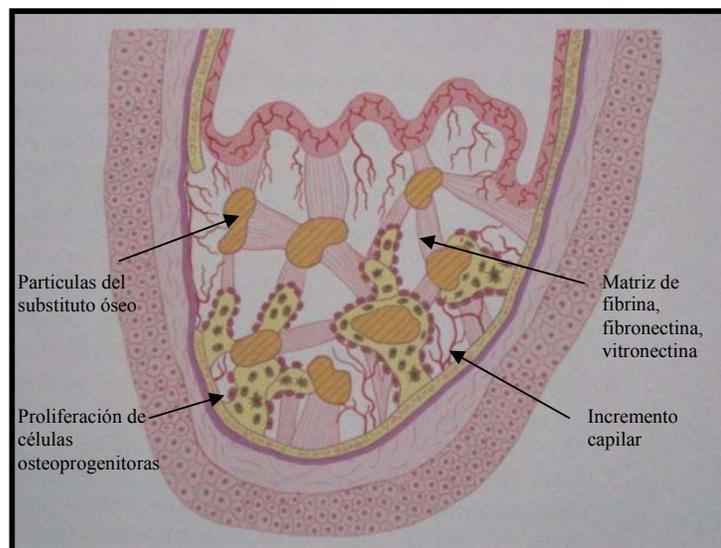


Fig. 14 El injerto de sustituto óseo requiere de la liberación de factores de crecimiento para recluir células osteoprogenitoras, su migración, formación final de hueso y entonces hueso maduro. Este requerirá un periodo largo de tiempo antes de que se forme un hueso denso estable.



II. CONCLUSIONES

En las dos últimas décadas la ingeniería tisular nos ha dado opciones viables para promover la regeneración de los tejidos.

La literatura muestra que un procedimiento eficaz y considerado como un ejemplo claro de la ingeniería tisular es el plasma rico en plaquetas ya que combina los tres elementos claves de la ingeniería tisular que son:

- Matrices (estructuras porosas), que pueden servir como andamio para la migración y proliferación celular.
- Células (osteoblastos, fibroblastos, condrocitos)
- Moléculas de señalización (factores de crecimiento)

Éstos tres elementos expuestos a un medio y tiempo apropiado, dará como resultado la regeneración de los tejidos.

De acuerdo a las referencias consultadas, los factores de crecimiento juegan un papel importante para promover la regeneración de los tejidos periodontales, ya sea a través de ser secretados por los gránulos alfa de las plaquetas como es el caso de PRP o al ser aplicados localmente, ya sea de forma individual o por la combinación de varios de ellos, esto es posible ya que se ha encontrado por ejemplo:

- Factores como FCDP, FCT- β , FCE y FCF estimulan la duplicación de células mesenquimales, células endoteliales y fibroblastos, también estimulan la quimiotaxis y la mitogénesis de precursores de osteoblastos favoreciendo la formación ósea, que en combinación con FCI, PMO 2, 5, 6 y 7 potencializa sus efectos, aumentando la velocidad y calidad del proceso.



- Así mismo, los autores mencionan que la estimulación de la angiogénesis es llevada a cabo por FCDP, FCT- β Y FCE.
- Por último algunos estudios realizados en ratas sugieren que el FCI aplicado a la superficie radicular, promueve la cementogénesis, aunque todavía no se han mostrado resultados eficaces en humanos.

Debido a todos estos hallazgos clínicos en la actualidad se considera importante estudiar ampliamente esta posibilidad para contar con un procedimiento más dentro de la terapia periodontal regenerativa.



III. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Geneser F. Histología sobre las bases moleculares, 3^a edición, Ed. Medica Panamericana, 2000.
2. Guyton MD, Arthur C. Tratado de Fisiología Médica. 10^a edición, Ed. McGraw-Hill Interamericana, 2000.
3. Deitcher SR, Chiang TM. Platelets, Encyclopedia of life Sciences, Nature Publishing Group, 2001.
4. Ganong WF. Fisiología Médica, 19^a edición en español (21^a en inglés) Ed. Manual Moderno, 2004.
5. Junqueira LC, Carneiro J. Histología Básica, texto y atlas, 5^a edición, Ed. Masson, 2000.
6. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histología Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular, 4^a edición, Ed. Medica Panamericana, 2005.
7. Marx RE, Garg AK. Dental and Craniofacial Applications of Platelet-Rich Plasma. Ed. Quintessence Publishing Co, Inc. 2005.
8. Kruger GO. Tratado de Cirugía Bucal. 4^a edición. México: Ed. Interamericana; 1994.
9. Narayanan AS, Thiagarajan P. Thrombin. Encyclopedia of life Sciences, Nature Publishing Group, 2001.
10. Doolittle RF. Fibrinogen and Fibrin. Encyclopedia of life Sciences, Nature Publishing Group, 2001.
11. Fox SI. Fisiología Humana. 7^a edición, Ed. McGraw-Hill Interamericana, 2003.
12. Berkner KL. Blood Clotting: General Pathway. Encyclopedia of life Sciences, Nature Publishing Group, 2001.
13. Schliephke H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. Vol. 31, pág. 469-484, 2002.
14. Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE. Schwartz, Principios de Cirugía, 8^a edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana, 2005.



15. Paniagua R, Nistal M, Sesma P. *Biología Celular*, 2ª edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana, 2003.
16. Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is Platelet-rich Plasma the Perfect Enhancement Factor? A Current Review. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. Vol. 18, pág. 93-103, 2003.
17. Position Paper. The Potential Role of Growth and Differentiation Factors in Periodontal Regeneration. *Journal Periodontol* Vol. 67, pág. 545-553, 1996.
18. Casiti MZ, Vasconcelos B.C, Goncalves P:F:, Pimentel S.P., da Rocha Nogueira G. Platelet-rich plasma does not improve bone regeneration peri-implant bone defects- A pilot study in dogs. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*. Vol. 36, pág. 132-136, 2007.
19. Sarment DP, Cooke JW, Miller SE, Jin Q, McGuire MK, Kao RT, McClain PK, McAllister BS. Effect of rhPDGF-BB on bone turnover during periodontal repair. *Journal of Clinical Periodontology*. Vol. 33, pág. 135-140, 2006.
20. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins y Cotran *Patología Estructural y Funcional*, 7ª edición, Ed. Saunders Elsevier, 2005.
21. García VG, Corral I, Bascones AM, Plasma Rico en Plaquetas y su utilización en implantología dental, *Avances en Periodoncia e Implantología*. Vol. 16, pág. 81-92, 2004.
22. Anitua E. Plasma Rich in Growth Factors: Preliminary Results of Use in the Preparation of Future Sites for Implants. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. Vol. 14, pág. 529-525, 1999.
23. Bilezikian J, Raisz L, Rodan G. *Principles of Bone Biology*. Ed. Academic Press, USA, 1996.
24. Linch S, Genco R, Marx R. *Tissue Engineering Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Ed. Quintessence, Chicago, 1999.
25. Peñarrocha MD, *Implantología Oral*. Ed. Ars Médica. Barcelona, 2001.
26. Takayama S, Yoshida J, Hirano H, Okuda H, Murakami G. Effects of Basic Fibroblast Growth Factor on Human Gingival Epithelial Cells. *Journal Periodontol*. Vol. 73, pág. 1467-1473, 2002.
27. Hughes FJ. Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontology 2000*, Vol. 41, pág. 43-72, 2006.
28. Garg AK. *Bone Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants: Rationale and Clinical Application*. Ed. Quintessence Books. USA, 2004.



29. Freymiller EG, Aghallo TL. Platelet-Rich Plasma: Ready or Not? *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*. Vol. 62, pág. 484-488, 2004.
30. Saygin NE, Tokiyasu Y, Giannobile WV, Somerman MJ. Growth Factors Regulate Expression of Mineral Associated Genes in Cementoblasts. *Journal Periodontol*. Vol 71, No. 10, pág. 1591-1600, 2000.
31. Fréchtte JP, Martineau I, Gagnon G. Platelet-rich Plasmas: Growth Factor Content and Roles in Wound Healing. *Journal Dental Research*. Vol. 84 (5), pág. 434-439, 2005.
32. Fikret TT, Demairalp B. Platelet-Rich Plasma: A Promising Innovation in Dentistry. *Journal of the Canadian Dental Association*, Vol. 69, No. 10, pág. 664-664h, 2003.
33. Marx RE. Platelet-Rich Plasma: Evidence to Support Its Use. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*. Vol. 62, pág. 489-496, 2004.
34. Marx RE, Carlson ER, Eichstaest RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff R. Platelet-rich plasma, Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, Vol. 85, pág. 638-646, 1998.
35. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet Gel: An Autologous Alternative to Fibrin Glue With Applications in Oral and Maxillofacial Surgery. *Journal Oral Maxillofacial Surgery*. Vol. 55, pág. 1294-1299, 1997.
36. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar Ridge and Sinus Augmentation Utilizing Platelet-Rich Plasma in Combination With Freeze-Dried Bone. *Journal of Periodontol*. Vol. 71 No. 10 pág. 1654-1660, 2000.
37. Annunziata M, Oliva A, Buonaiuto C, Di Feo A, Di Pasquale R, Passaro I, Guida L. In vitro cell-type specific biological response of human periodontally related cells to platelet-rich plasma. *Journal of Periodontal Research*. Vol. 40, pág. 489-495.
38. Aukhil I, Biology of wound healing. *Periodontology 2000*, Vol. 22, pág. 44-50, 2000.