

185

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Universidad Nacional Autónoma De México

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

“FUNCIÓN DE LA PROTEÍNA OSTEOGÉNICA-1
EN LA REGENERACIÓN Y CRECIMIENTO
DEL TEJIDO ÓSEO”

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA:

JESÚS QUIROZ ZÁRATE

DIRECTOR DE TESINA:

C.D. MAURICIO VELASCO TIZCAREÑO

México, D.F., 2000



[Firma manuscrita]

274092

[Firma manuscrita]



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.

Dedicado con cariño a todas las personas y especialmente a aquéllas más necesitadas quienes tienen puesta en nosotros su esperanza por volver a recuperar el don más apreciado, la salud.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo para algunos será poco y para otros mucho, al margen de esto considero que es un gran logro y tiene un valor muy grande. Es un triunfo que no tiene que ver mucho con el aspecto personal de quien lo ha realizado, es decir yo no hubiera llegado hasta estas alturas si no fuese por alguien que cree en mí y me tiene preparado un destino que aún desconozco, sin embargo mi deseo es forjarlo de la mejor manera, te doy las gracias a tí, Dios por permitir que esté escribiendo semejante discurso hasta este momento.

Desde que nací no he parado de recibir empujones para poder seguir adelante y alcanzar las metas que me he planeado, han confiado en mí, me han soportado, y son el mejor ejemplo de personas que puedo tener. Mi admiración es muy grande para ustedes por siempre dibujar una sonrisa en su rostro aún en las situaciones difíciles, estoy hablando de mis queridos padres Jesús Quiroz Mora y María de los Ángeles Zárate Aquino.

Agradecimiento por separado me merece una mujer como pocas quien pese a su edad ha demostrado tener la capacidad y sobre todo el deseo por no quedarse con lo que conoce y siempre ser mejor cada día. Alguien cuyos pensamientos y fortaleza la caracterizan como una persona muy querida y es pilar en esta familia, por todo esto y considerarme siempre como a un hijo más te estoy eternamente agradecido abuzlita Virginia Aquino Cruz.

Mi vida en familia estaría muy lejos de ser tranquila, interesante y peculiar sin las vivencias y gracias de mis dos hermanos Rodrigo y Alejandro cuya amistad y comprensión aprecio mucho.

La vida da muchas vueltas a veces parece que nos da la espalda y sufrimos, otras nos recibe con los brazos abiertos y es entonces nuestro deber conservar y valorar la fortuna de estar unidos como una familia, muchas gracias a mis tías y tíos: María del Carmen, Araceli, Guadalupe, María Reyna, Roberto y Manuel quienes de una manera muy sincera me han ayudado para poder llevar a ben fin este tan llamado último esfuerzo en mi carrera.

Agradezco a quien me ha brindado algo más que una hermosa amistad, alguien que me ha dado la oportunidad de formar parte de su vida. Gracias Norma por estar siempre cuando te necesito.

Lejos de mis añoradas y apreciables amistades de la infancia y sin saber si algún día nos volveremos a encontrar en este mundo, agradezco a mis amigos y amigas de Mérida, Yucatán la oportunidad que me han brindado de poder exprimir al máximo y disfrutar de esa etapa de la vida de la cual no quisiera salir.

Aún más lejos del alcance que fija mi mirada, más allá del océano existen amistades que nunca olvidaré y a quienes van dirigidos mis recuerdos y agradecimientos por haber hecho de mi estancia en ese lugar algo que me cambió completamente la forma de ver la vida, ahora sé que no existe frontera alguna entre seres humanos no importando su procedencia y es que el lenguaje de la amistad es el mismo en todos lados, es por eso perdura por siempre.

Agradezco la labor de mis maestros que han dedicado su completa atención a la realización por buen camino de este trabajo, Dr. Mauricio Velasco Tizcareño y Dra. Rocío Fernández L. Quienes en conjunto con los doctores Germán Malanche Abdalá, Gustavo Durón Araujo y Gabriel Loranca Fragoso son el prototipo de cirujanos que todos quisieran ser.

Agradezco la atención a mis peticiones por parte del señor Dawn Smith quien contribuyó de manera importante al proporcionar referencias bibliográficas que cimentaron la realización del presente trabajo.

PLANTEAMIENTO.

La satisfacción de poder devolver la alegría y salud, en la medida de lo posible a pacientes con deformidades y/o deficiencias del tejido óseo sea cual sea la causa es inmensurable. Ésta es la gran retribución a la que se hacen acreedores los servidores en al área de la salud.

Si contamos con la oportunidad de conocer los nuevos materiales quirúrgicos, que son el producto de la valiosa contribución de los científicos e investigadores, aplicables a la reconstrucción ósea, y si además contamos con la curiosidad de aplicarlos en beneficio de los pacientes, entonces estaremos en el camino correcto.

JUSTIFICACIÓN.

Este trabajo no es el producto de una investigación experimental, solamente es una recopilación bibliográfica basada en la consulta de publicaciones de libros, revistas y consultas de la internet. Pero cuenta con la intención de dar a conocer un avance en el campo de la Cirugía Maxilofacial Reconstructiva y Ortognática, quedando al juicio y al saber de cada cirujano por aplicarlo en diversas situaciones clínicas.

OBJETIVOS GENERALES.

Ésta es una investigación bibliográfica acerca de la **proteína osteogénica-1** también conocida bajo el nombre de **bone morphogenetic protein-7** detallando su gran potencial regenerativo sobre el tejido óseo, cualidad que lo hace ideal para aplicarlo sobre matrices óseas desmineralizadas, que funcionarán como transportadores de dicha proteína, convirtiéndose de esta manera, en un material osteoinductor.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Para ello se reunirá toda la información posible y disponible sobre el tema, seleccionando y estudiando la que es de utilidad para ayudar a cumplir nuestros propósitos. Utilizaremos los acervos publicados existentes como también la red electrónica.

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I, Generalidades	4
I.I Embriología del tejido óseo	4
I.II Histología	7
I.III Medios de osificación	
intramembranosa	10
endocondral	16
I.IV Células óseas	26
I.V Matriz ósea	31
I.VI Estructura macroscópica	33
I.VII Estructura microscópica	37
I.VIII Enzimas del hueso	40
I.IX Reparación del hueso	44
CAPÍTULO II	46
II.I Comentarios acerca de las situaciones en las cuales podemos emplear un injerto óseo	46-51
II.II Qué es una proteína osteogénica?	51
II.III Origen	51-53
II.IV Localización	53-55
II.V Funciones	53-57
II.VI Métodos de obtención, aislamiento y cultivo para poder contar con grandes cantidades de OP-1	52-62
II.VII Qué es un mecanismo inductor?	59
II.VIII Receptores celulares para OP-1	60-62
II.IX Resultados obtenidos	64-78
II.X Expectativas	64-86

CONCLUSIONES

86

BIBLIOGRAFÍA

88

Función de la Proteína Osteogénica-1 (OP-1)(BMP7) en la regeneración y crecimiento del tejido óseo.

INTRODUCCIÓN

La preocupación por obtener un material de injerto óseo que nos asegure la calidad y cantidad del tejido neoformado, ha sido el objetivo de los investigadores relacionados en este campo en los últimos años. Es así como tenemos el estudio de una familia de proteínas comúnmente encontradas en la matriz ósea extracelular^{1,2,3} y son las Proteínas Osteogénicas.

En la actualidad en el área de cirugía reconstructiva y ortognática contamos con opciones terapéuticas basadas en injertos óseos que han mostrado ser útiles, sin embargo todavía se puede hacer algo más por obtener un mejor material el cual nos asegure un descenso considerable del riesgo de transmisión de infecciones como la hepatitis-C y el virus de inmunodeficiencia humana, hecho que incluso ya ha sido reportado mediante el uso de aloinjertos.^{4,5,1}

El dolor, molestias y parestesia referidos por una intervención quirúrgica adicional, sin embargo necesaria para obtener un autoinjerto de hueso a partir de cresta ilíaca práctica que también puede ser sustituida mediante el uso de los injertos osteoinductivos.^{1,5,4,6,2,8}

Por otra parte los aloinjertos tienen un potencial regenerativo disminuido lo que significa un mayor tiempo de recuperación que no en todos los casos es sinónimo de calidad y cantidad del tejido óseo neoformado.^{6,5,1,4,2,8}

Continuamente se realizan esfuerzos por encontrar materiales con las características adecuadas para la restauración o sustitución del tejido óseo en seres humanos. Esta necesidad ha determinado no sólo el interés de encontrar tales materiales, sino que se elaboren constantemente nuevas tecnologías para perfeccionarlos y dotar a los cirujanos de biomateriales ideales que cumplan con las exigencias más modernas en este campo⁹

Hoy en día existen en el mercado y en fase de investigación diversos materiales destinados a la sustitución del tejido vivo.

El resultado de esta continua línea de investigación ha sido la detección, descripción y aislamiento de todas las proteínas que componen la matriz ósea una vez hecho esto se procede a extraer la proteína osteogénica de nuestro interés y por último la obtención en grandes cantidades, por medio de tecnología genética de DNA recombinante, de una de las proteínas pertenecientes al grupo de las proteínas óseas morfogenéticas (BMP), que a su vez forman el grupo más numeroso de la superfamilia de los factores de crecimiento transformantes beta (TFG- β), estamos hablando de la **proteína osteogénica-1 (OP-1)**.^{10,11,12,13,14,15,16,17,18,19}

Dentro de las quince proteínas osteogénicas hasta el momento conocidas es precisamente la OP-1 que cuenta con el mayor potencial para inducir la formación de hueso y aún más, se ha encontrado el medio para poder ser considerado en un futuro cercano como una muy buena opción terapéutica en pacientes con defectos y/o deficiencias del tejido óseo²⁰. Hecho que es lo que todo servidor en el área de la salud ha estado buscando, disminuir cada día más la brecha existente entre las necesidades del paciente por incorporarse a una vida más normal y los conocimientos, curiosidad y medios con los que contamos para poder conducirlos a su deseo más apreciado.

Este trabajo se realiza con la intención, por medio de una investigación bibliográfica, de dar a conocer los hallazgos preclínicos experimentales que han sido realizados en primates, caninos, bovinos y roedores empleando injertos a base de hOP-1, resultados en los cuales no cabe la menor duda han sido bastante alentadores. Sin embargo también nos permitirá conocer y juzgar con cierta precaución las propiedades de un nuevo biomaterial de injerto óseo.

Actualmente los injertos a base de rhOP-1 están siendo sometidos a proceso de evaluación por la Food and Drug Administration (F.D.A), en los Estados

Unidos. Por lo cual si este resulta ser aprobado, su aplicación terapéutica en seres humanos estaría próxima a suceder.⁴

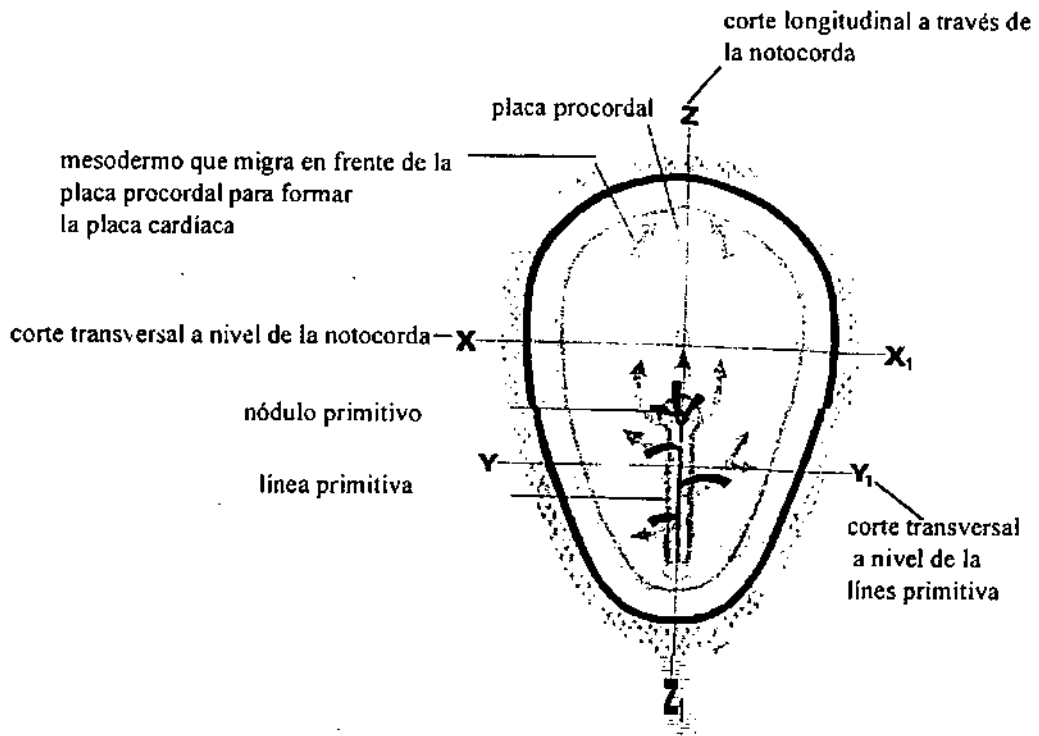
CAPÍTULO I.

Embriología del tejido óseo.

De dónde proviene el hueso?

Iniciaremos nuestro viaje a partir de la tercera semana del desarrollo embriológico, en la cual el disco embrionario bilaminar se convierte en trilaminar. En el ectodermo se desarrolla una estructura llamada línea primitiva²¹ que forma el piso de la cavidad amniótica. Esta estructura es un estrecho surco que posee zonas ligeramente sobreelevadas a cada lado.

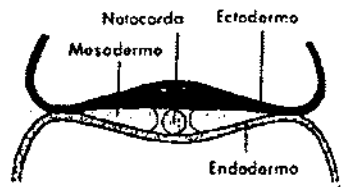
Fig. 1²¹



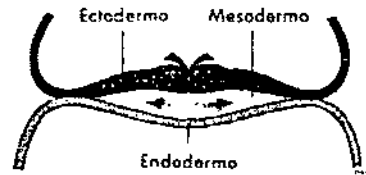
Conversión de un embrión bilaminar en uno trilaminar, aquí se muestra el piso de la cavidad amniótica, formada por la capa ectodérmica del embrión bilaminar.

El extremo cefálico de la línea termina en una pequeña depresión llamada nódulo o fosita primitiva. Aquí, las células de la capa ectodérmica se dividen y migran entre el ectodermo y el endodermo para formar una columna celular rígida que empuja hacia adelante la línea media dirigiéndola a la placa procordal. A través de la canalización de esta cuerda celular se forma la notocorda para poder sostener al embrión primitivo.²¹

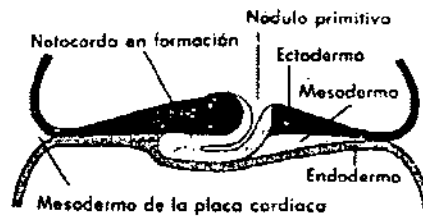
Fig. 2²¹



corte transversal del embrión a través del eje X-X1



corte transversal del embrión a través del eje Y-Y1



corte longitudinal del embrión a través del eje Z-Z1

En otra parte, a lo largo de la línea primitiva, las células de la capa ectodérmica también se dividen y migran hacia la línea, donde se invaginan y esparcen lateralmente entre las hojas ectodérmica y endodérmica, para formar una tercera capa celular que recibe el nombre de mesodermo.²¹

Del mesodermo derivarán las células formadoras de varios tejidos entre ellos las del hueso.²¹

Tabla I

DISPOSICIÓN DEL MESODERMO, CRESTA NEURAL Y SUS
DERIVADOS. ²¹

MESODERMO	CRESTA NEURAL
1. Tejidos conectivos, incluyendo el cartilago y el hueso, fuera de aquéllos derivados de la cresta neural.	1. Ganglios y las fibras asociadas de los nervios craneales y espinales
2. Todos los músculos lisos y esqueléticos, excepto los del iris	2. Ganglios simpáticos.
3. Corazón y todos los vasos sanguíneos y linfáticos, incluyendo su revestimiento y las células sanguíneas.	3. La médula adrenal.
4. Sistema urogenital, excepto el derivado endodérmico(epitelio de la vejiga urinaria y gran parte de la uretra, y epitelio secretor de la próstata)	4. Melanocitos del sistema pigmentario.
5. Membranas serosas (pleura, pericardio y peritoneo)	5. Cartílagos de los arcos branquiales.
6. Corteza de la glándula suprarrenal.	6. Tejidos del diente excepto el esmalte
	7. Células satélite de Schwann
	8. Meninges.

El hueso es un tejido de sostén mineralizado, se considera una forma muy especializada de tejido conectivo^{22,23} Embriológicamente todo este grupo

deriva de células mesenquimatosas, por lo cual, en base al hecho de provenir de una misma célula ancestral, un tipo de tejido conectivo puede ser convertido o reemplazado por otro, propiedad que algunos autores han denominado como *plasticidad*.²⁴

A pesar de las diferencias estructurales, mecánicas y fisiológicas que el hueso tiene con su contraparte, el tejido conectivo propio, ambos comparten el mismo componente proteico básico, estamos hablando de las fibras de colágena²⁴

Histogénesis

En el adulto se reconocen de acuerdo a la disposición de sus fibras, varios tipos de tejido conectivo. Sin embargo el más abundante es el tipo fibro-elástico, compuesto de fibras colágenas y elásticas rígidamente entrelazadas que le proporcionan una gran adaptabilidad y resiliencia a los cambios posicionales y es precisamente el tipo de tejido que da lugar al periostio y al pericondrio.²⁴ Con una mayor cantidad de fibras elásticas, dicho tejido recibirá el nombre de perimisio y epimisio. Y si el componente de fibras elásticas es aún mas grande, estaremos hablando del tejido que mantiene a los nervios, vasos sanguíneos y a la capa celular adiposa subcutánea unidos a sus respectivos músculos.²⁴

En párrafos anteriores ya hemos visto que la formación del mesodermo tiene lugar en un tiempo cercano al primer mes del desarrollo. Ahora veremos en detalle la organización de estas células. Y es así como las células mesenquimatosas hacia el primer mes de desarrollo permanecen sin contacto, pero alrededor de la sexta semana comenzarán a unirse formando una estructura semejante a una red es entonces cuando delicadas fibrillas aparecerán en el citoplasma de estas células, las cuales se harán cada vez más abundantes y próximo al fin del segundo mes del desarrollo serán transportadas al espacio extracelular.²⁴

De manera esquemática se muestran las tres primeras etapas en la formación del tejido conectivo.



A. cuatro semanas



B. sexta semana



C. séptima semana

Fig. 3 ²⁴

Conforme transcurre el tiempo las fibras se van condensando y empiezan a formar parte del nuevo tejido conectivo, momento en el cual se puede ya optar por designar a estas células con el nombre de fibroblastos.²⁴

Al llegar al quinto mes las fibras ya transformadas a colágeno propiamente dicho, se disponen a manera de haces plenamente distinguibles localizados en el espacio extracelular y son las que proporcionan resistencia al tejido conectivo.^{25,24} Es en el espacio extracelular donde toma lugar la verdadera formación de fibras bajo la acción de enzimas y mecanismos oxidativos.²⁵



D. décima semana



E. Quinto mes

Esquemas que muestran las dos últimas etapas en el desarrollo del tejido conectivo.

Fig. 4 ²⁴

Dependiendo de la composición química de las cadenas α de cada molécula de colágeno, se reconocen 11 tipos de dichas fibras proteínicas, cada uno de ellos característico del tejido del que deriva. El colágeno que se distribuye y se encuentra en el hueso es el tipo I.²⁵

Tabla II

**TIPOS DE COLÁGENO INVOLUCRADOS CON EL HUESO Y
CARTÍLAGO.**²⁵

TIPO	CADENAS	CARACTERÍSTICAS	DISTRIBUCIÓN
I	$\alpha 1(I), \alpha 2(I)$	Haces de fibras con perioricidad de gran fuerza tensil	Piel(80%), hueso(90%), tendones y la mayoría de los órganos.
II	$\alpha 1(II)$	Fibras finas, proteínas estructurales	cartílago 50%, humor vítreo.
IX	$\alpha 1(IX), \alpha 2(IX), \alpha 3(IX)$	Probable papel en la maduración del cartílago	cartílago

Cabe señalar que la formación de los huesos comienza en áreas previamente ocupadas por tejido conectivo,^{26,24} cuya formación acabamos de detallar. Es así, que de acuerdo a la naturaleza del tejido conectivo, tendremos huesos de origen intramembranoso y endocondral, sin embargo es importante recordar que éstos términos únicamente se refieren al mecanismo de desarrollo y osificación; ya que una vez formado no existe diferencia alguna en la estructura histológica.²⁴

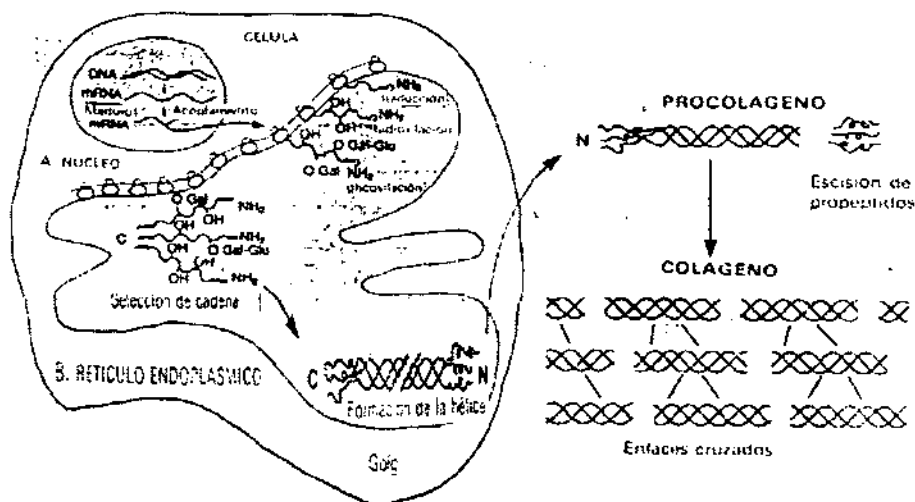


Fig. 5 ²⁵

Síntesis de colágena.

De esta manera las células del mesénquima comienzan a formar los modelos de los huesos, unos a partir de membranas fibrilares de tejido conectivo y otros a partir de modelos cartilagosos. ²⁷

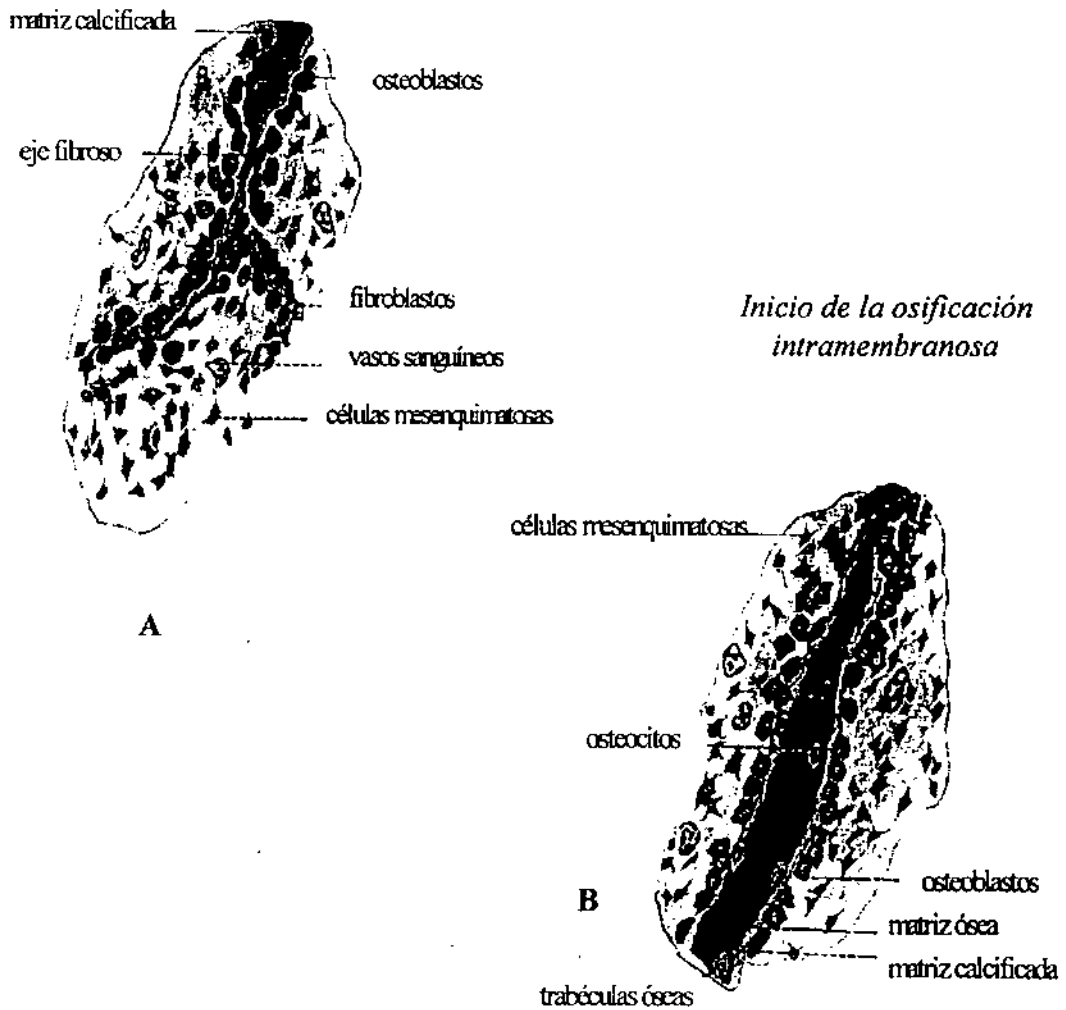
Formación ósea intramembranosa.

Los ejemplos más típicos de este tipo de osificación se encuentran en la formación y crecimiento de los huesos de la bóveda craneal: como son: el h.frontal, h.parietal, h.temporal, el maxilar, la mandíbula y la parte superior del occipital ^{23,26}

En las regiones donde tomará lugar la formación de hueso intramembranoso encontraremos una abundante congregación de células mesenquimatosas como también de vasos sanguíneos. De éstas células únicamente las que han alcanzado la madurez y se han diferenciado a fibroblastos se organizarán formando estructuras a manera de ejes en donde comenzarán a depositar fibras colágenas muy finas ²⁴, las cuales integran el 90% de la matriz orgánica ²⁶. Durante la octava semana del desarrollo la diferenciación de células fibroblásticas a osteoblásticas tiene como resultado la secreción

de osteomucoide,²⁶ una sustancia químicamente similar al colágeno, compuesta de proteínas, glucoproteínas y polisacáridos que en conjunto con las fibras constituyen una red preliminar no calcificada llamada *osteóide* (*parecido al hueso*) o *pre-hueso*,²⁷ responsable de proporcionar al hueso resiliencia y fuerza cohesiva (mantener a las células juntas).²⁴

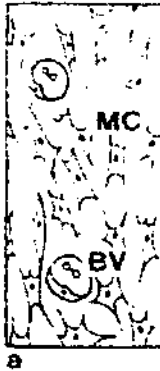
Fig. 6²⁴



Con la vascularización de esta hoja mesenquimatosa, las células del tejido conectivo cambian y adoptan una forma más o menos cúbica, y su citoplasma toma una coloración más basófila que las caracteriza como células formadoras de hueso u osteoblastos.²³

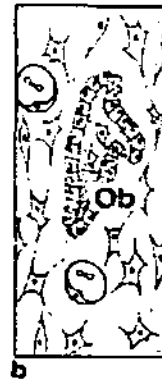
Fig. 7²⁶

Diagramas que muestran la secuencia de eventos en la osificación intramembranosa



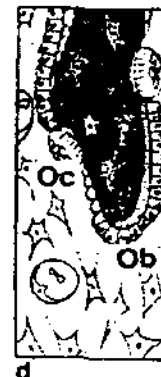
El mesénquima (MC), es el precursor de la membrana ósea. También se distinguen los vasos sanguíneos los cuales están presentes en gran número.

El paso inicial es la diferenciación de las células mesenquimatosas hacia osteoblastos (Ob) que iniciarán la secreción de osteoide (puntilleo).



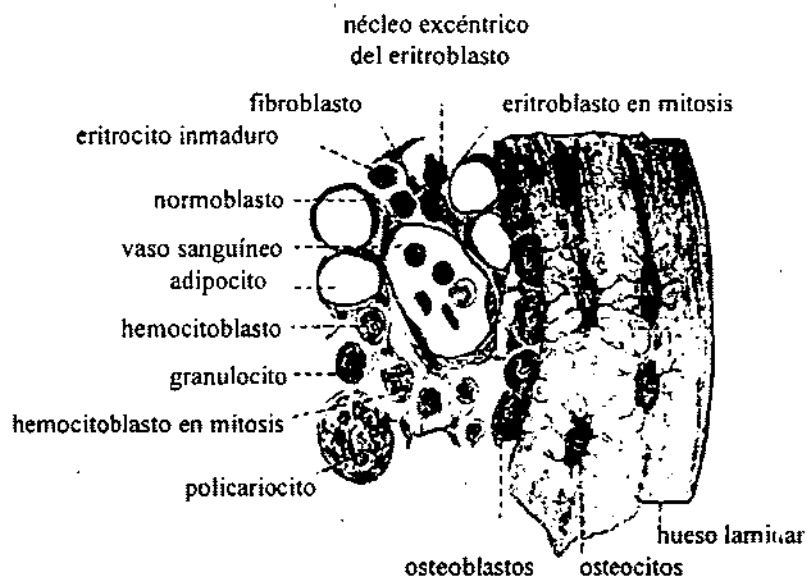
A medida que la secreción y calcificación del osteoide (puntilleo) algunos osteoblastos quedan atrapados adquiriendo la denominación de osteocitos.

Continúa la síntesis y calcificación del osteoide por parte de los osteoblastos (Ob) y se forman las trabéculas que son características del hueso esponjoso.



Pero la matriz ósea recién formada no se acomoda de manera uniforme. Se asemeja a los anillos de crecimiento de los árboles y esto es debido a que aparentemente los osteoblastos trabajan ha manera de ciclos depositando capas o laminillas delgadas de matriz ósea.²⁴

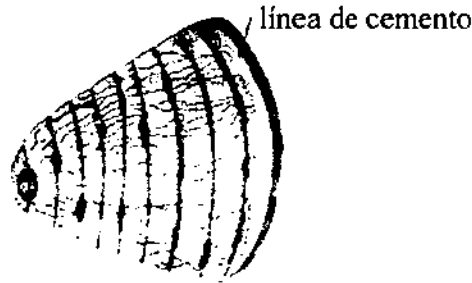
Fig. 8²³



Esquema de un área pequeña de hueso cercano a la médula ósea

Al mismo tiempo que sintetizan y secretan, los osteoblastos van desplazándose hacia la periferia, pero no todos se pueden liberar de su propia secreción y son completamente enterrados o quedan sumergidos, y ahora cambian de nombre, se llamarán *osteocitos* y el espacio que ocupan en la matriz se denominará *lácuna* o *laguna*. Los osteocitos han perdido la capacidad de formar hueso, pero aún así siguen tomando parte en el metabolismo del mismo. Poseen procesos citoplasmáticos muy delgados que irradian hacia la matriz y se encuentran dentro de canaliculos

microscópicos, los cuales entran en comunicación con procesos citoplasmáticos provenientes de las células vecinas como también de los osteoblastos, de esta manera las células óseas que se encuentran en proximidad con los vasos sanguíneos absorben y mandan nutrientes a sus parientes más lejanas, quienes los utilizarán para mantener al hueso en condición saludable.^{24,23}



Esquema de un segmento de un sistema de Havers en corte transversal que ilustra la disposición de los osteocitos, los conductillos y las laminillas.

Fig. 9²⁵

A medida que la trama o red membranosa se va calcificando se forman las trabéculas, las cuales durante el proceso de desarrollo continuamente van aumentando de tamaño hasta que inevitablemente confluyen y entran en contacto o dicho de otra manera se fusionan.²⁴

Osificación intramembranosa

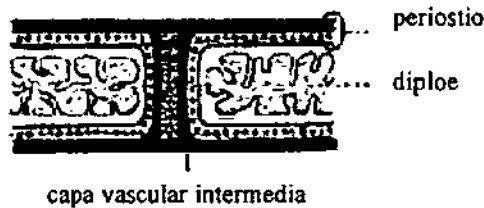


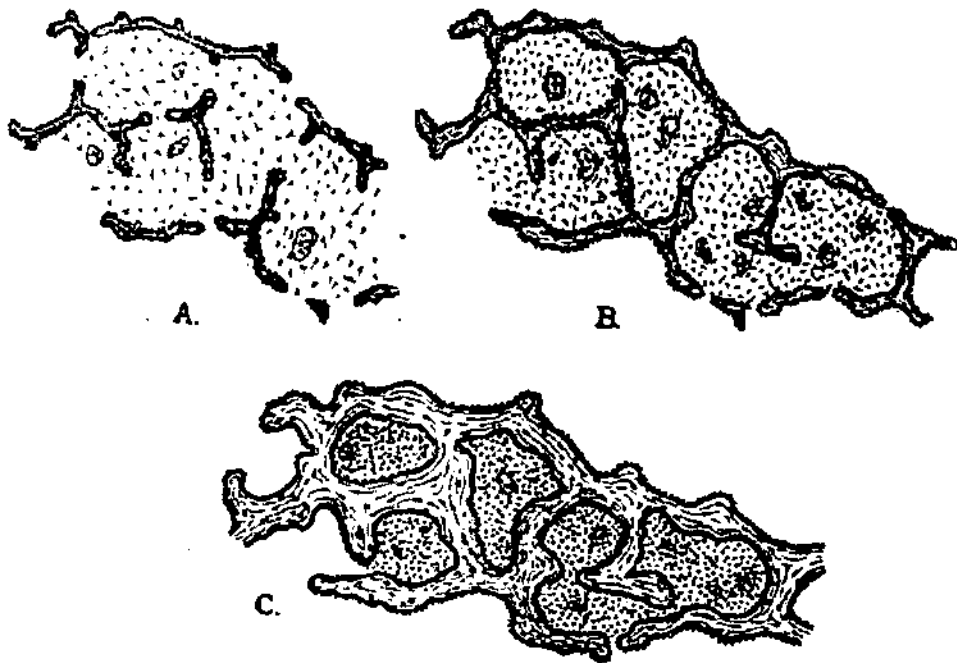
Fig. 10²⁸

Éstas trabéculas son delgadas y suaves con extensos espacios entre ellas, a ésta condición se le ha llamado hueso primario reticular, poroso o esponjoso. Y los espacios entre las trabéculas son conocidos como espacios medulares²⁴ que contienen tejido mieloide o hemopoyético.²³ Más tarde, a

medida que las áreas entre las trabéculas se llenan de hueso laminar concéntrico, parte de este hueso esponjoso es sustituido por hueso compacto creando así las tablas interna y externa, entre las cuales persiste el hueso esponjoso que forma el *piploe* o *diploe* del alemán *diplöe* - doble²³

Fig.11²⁴

Diagramas que muestran las diferentes etapas por las cuales las trabéculas en un principio aisladas aumentan en extensión hasta coincidir una con otra.



FORMACIÓN ÓSEA ENDOCONDRALE.

Los huesos de la base del cráneo, la columna vertebral, la pelvis y las extremidades se desarrollan por osificación endocondral, éstos huesos en un principio estuvieron formados a partir de cartilago hialino.^{26,27} Este tipo de osificación que comprende la sustitución de un modelo de cartilago a hueso, se observa mejor en los huesos largos; sin embargo el cartilago es reemplazado por hueso excepto en las superficies articulares del mismo, proceso que sin duda es lento y no se logra hasta que el hueso ha alcanzado su tamaño definitivo y ha cesado el crecimiento.²³

El cartilago crecerá por mecanismos intersticiales y aposicionales. Se habla de crecimiento intersticial cuando el modelo óseo aumenta en longitud debido a la continua división condrocítica que se hace acompañar por secreción de matriz cartilaginosa por cada una de las células hijas. Mientras que el aumento en ancho o grosor se debe a la continua aposición periférica de cartilago como resultado de la acción de los nuevos condroblastos originados a partir del pericondrio.²⁸

Con el continuo crecimiento del modelo, los condrocitos existentes en su parte media se hipertrofian y maduran. Sin embargo cuando las células alcanzan este estadio, sales insolubles de calcio se depositarán en la matriz donde han estado sumergidos impidiendo el paso de nutrientes y de oxígeno hacia estas células las cuales eventualmente morirán. Mientras tanto en el pericondrio se observa una elevada formación de vasos sanguíneos lo que originará la diferenciación de estas células hacia osteoblastos. Dichas células comenzarán a secretar una capa delgada de hueso alrededor de la parte media del modelo cartilaginoso.²⁸

Una vez que el pericondrio ha cambiado el giro de su función y comenzado a iniciar la diferenciación e condroblastos hacia y además en conjunto con la angiogénesis, esta capa celular será transformada a periostio.²⁸

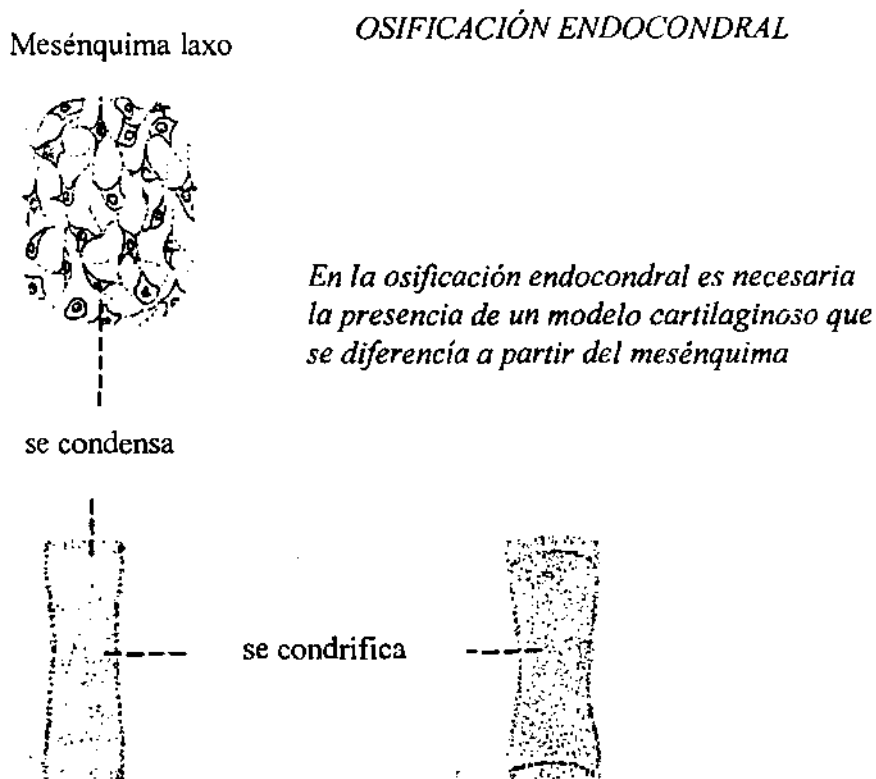


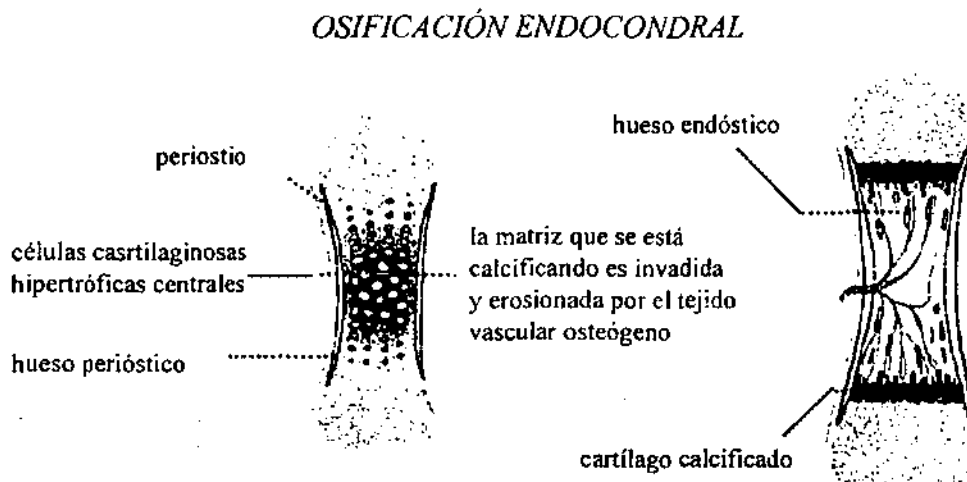
Fig. 12²⁹

El modelo de cartilago está rodeado de pericondrio funcional. La osificación endocondral, cuyo inicio hemos detallado, comienza cuando el pericondrio adquiere una gran vascularización y se transforma en periostio productor de hueso, asumiendo una función osteogénica con la acumulación de osteoblastos en la superficie interna del periostio.²³

Éste rodeará al hueso formando un anillo óseo perióstico constituido por hueso compacto depositado sobre las células del periostio hecho que se llevará a cabo por medio de osificación intramembranosa. El periostio continúa haciéndose cada vez más vascular.²³

Mientras tanto la zona central interior del cartilago toma un aspecto semejante a un panal de abejas provocado por la eliminación de parte de tejido cartilaginoso^{28,23}

Fig.13²⁹



Así mismo, las células y fibras de la capa osteógena del periostio, acompañadas de una intensa invasión de vasos sanguíneos, se organizan^{28,23} para formar un **botón perióstico**, que comenzará a crecer en la zona del cartilago que se está desintegrando²⁸ y formará un conducto a través del collar óseo y el cartilago con el propósito de transportar sangre al interior del modelo²⁸. Del tejido del botón perióstico se derivan las células y los componentes de la **médula ósea primaria** destinados a ocupar los espacios medulares primarios los cuales también son producidos por el botón perióstico.²³

Cuando el botón perióstico invade el hueso y el cartilago lleva con él a las células potenciales formadoras de hueso u osteoblastos.²³ Son

precisamente éstos capilares quienes iniciarán el desarrollo de un **centro de osificación primario**, el cual recibe este nombre ya que el tejido óseo que a partir de él se derivará, está destinado a reemplazar el cartílago constituyente del modelo óseo.²⁸ El hueso se depositará en el centro de la diáfisis constituyendo **el centro de osificación primario**.²³

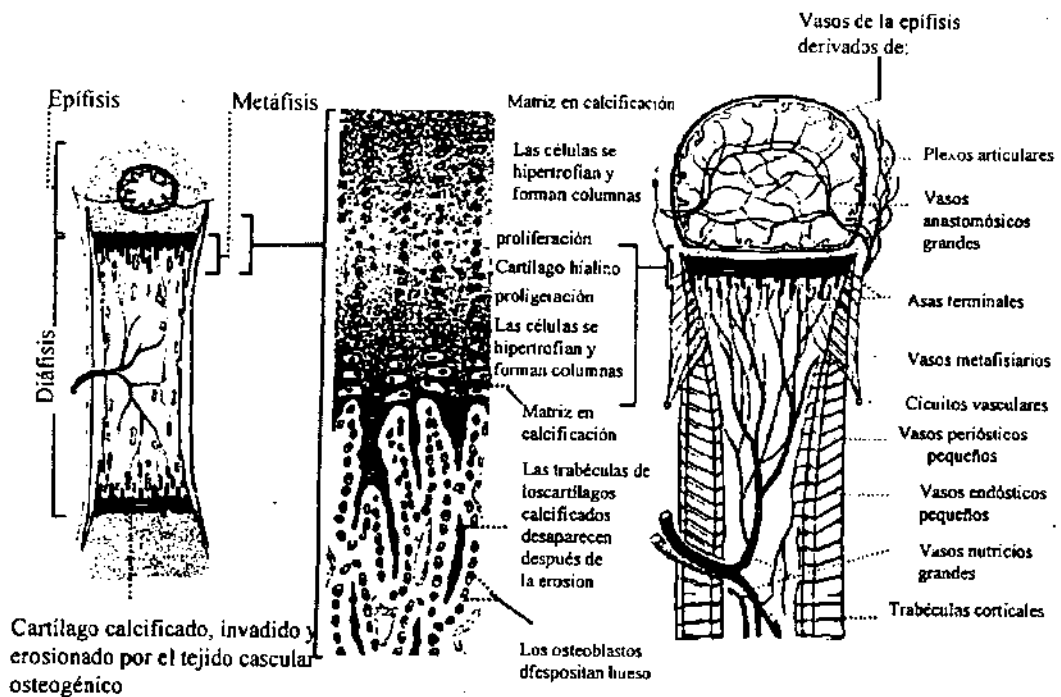


Fig. 14²⁹

El botón perióstico es la cuna que da origen a los osteoblastos que depositarán su secreción sobre los remanentes del cartílago calcificado originando la formación de **hueso trabecular** y los espacios existentes entre ellos estarán ocupados por tejido mieloide²⁸

A grandes rasgos el tercio medio de lo que una vez fué el modelo cartilaginoso del futuro hueso, ha sido reemplazado por tejido óseo en continua formación y la parte central ha sido ocupada por tejido medular.

Sin embargo los dos extremos del hueso largo en formación permanecen completamente constituidos por cartilago²⁸

El hueso en desarrollo continúa aumentando en longitud gracias al mecanismo de crecimiento intersticial excepto en las epifisis²⁸

El desarrollo de los centros primarios de osificación localizados en la diáfisis inician su formación durante las últimas fases de la vida embrionaria y principios de la vida fetal; pero existen **los centros de osificación secundarios** los cuales se desarrollan después del nacimiento²⁸ y poseen un desarrollo muy similar a los centros de osificación primarios, es decir, los condrocitos localizados en el centro de las epifisis se hipertrofian y maduran, mientras que los espacios de matriz entre ellos se calcifica y desintegra

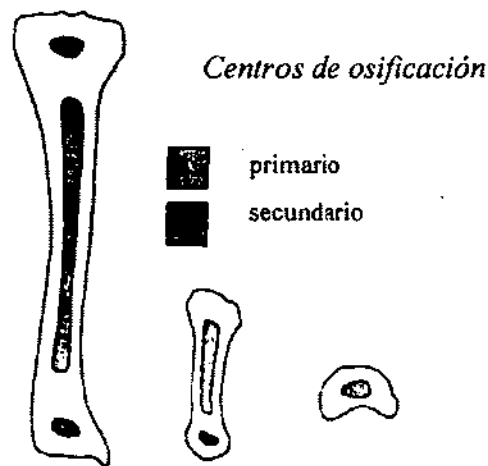


Fig. 14²⁸

Es entonces cuando los capilares penetran y depositan las células osteogénicas que comenzarán a elaborar matriz ósea sobre los remanentes cartilaginosos.²⁸

No obstante el cartilago no será sustituido en su totalidad ya que éste permanecerá en la superficie externa de las epifisis contribuyendo a conformar la superficie articular y además existirá en la forma de **placa**

epifisaria a manera de un disco de cartilago hialino localizado en el cuerpo de la metáfisis y entre la diáfisis y epífisis.²⁸

La mayoría de los huesos largos poseen dos centros de osificación secundarios y uno primario, mientras que los huesos cortos se osifican sólo con un centro de osificación.²⁸

Los osteoblastos se disponen a lo largo de los modelos cartilaginosos y depositan hueso sobre ellos de la misma manera que se depositó hueso en la osificación intramembranosa.²³

La invasión del cartilago por vasos sanguíneos definitivamente anuncia la desintegración del cartilago y al mismo tiempo es el primer paso para la futura formación ósea.²⁴

Tanto el centro de osificación primario como el collar óseo se extienden para abarcar la totalidad del hueso. Este collar óseo se hace cada vez más grueso y se ensancha hacia las epífisis, lo que ayuda a conservar la resistencia de la diáfisis, que de otra manera se debilitaría por la eliminación del cartilago dentro de ella.²³

En los huesos largos las epífisis continúan aumentando de tamaño y los centros de osificación primarios se van extendiendo. El cartilago epifisario es ahora el lugar importante para el continuo crecimiento longitudinal del hueso.^{28,23}

Empezando en los extremos del cartilago y pasando hacia el centro de osificación se pueden reconocer las siguientes zonas que ilustran el proceso continuo de la osificación endocondral postnatal.^{28,23}

- La *zona de reposo o de reserva* está compuesta de cartilago hialino primitivo y es la que se encuentra más próxima a los extremos del hueso, o epífisis^{28,23} compuesta por células que sufren repetidas mitosis orientadas al azar²³. Su función es unir a las epífisis con las diáfisis, suplir de nutrientes no sólo al tejido óseo si no también a los condrocitos²⁸. Es una zona de reposo ya que los condrocitos no se encuentran de manera activa contribuyendo al crecimiento del hueso.²⁸

Zonas de osificación endocondral epifisiaria

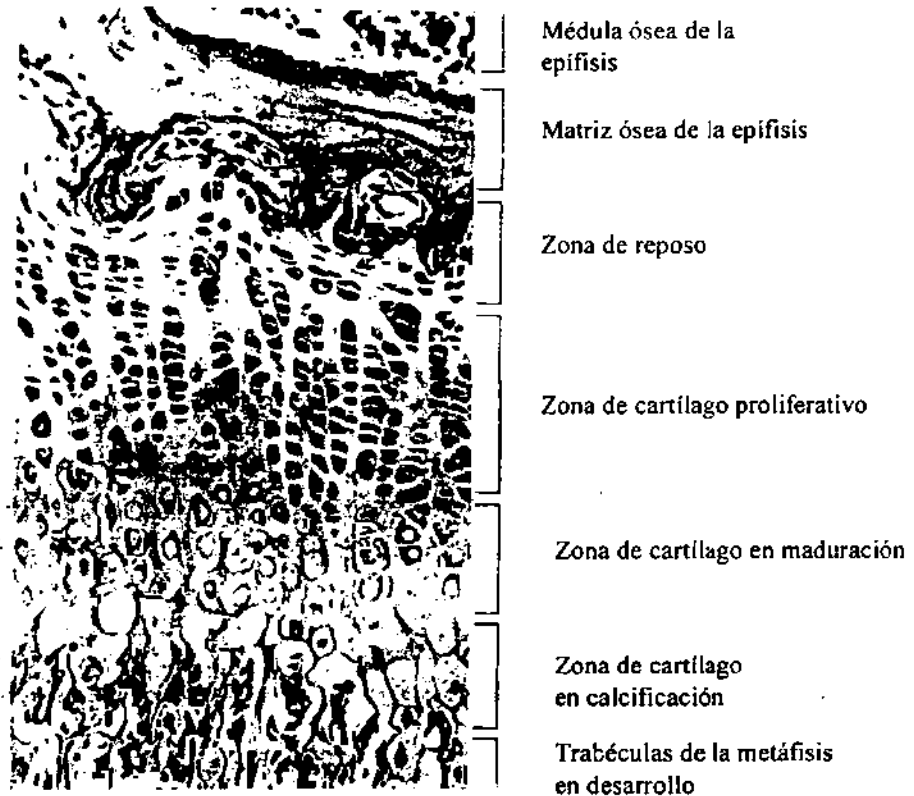


Fig. 15²⁸

- La *zona de proliferación* es una zona activa que muestra muchas mitosis²³ de células condrocíticas,²⁸ bajo el propósito de ser un proveedor de nuevos condrocitos para reemplazar a los que han muerto como consecuencia o resultado de la calcificación que sucede en el extremo diafisiario del disco o placa epifisiaria.²⁸ Las células se acomodan a manera de columnas longitudinales a lo largo de las cuales se podrán encontrar algunas figuras o formas mitóticas.²⁸ Produciendo un aumento efectivo de la longitud del cartilago.²³
- La *zona de maduración* es una zona de hipertrofia celular como resultado de la acumulación de glucógeno en su citoplasma; éstas células

cartilagosas ya no sufren más ciclos de división mitótica²³. La zona se presenta en forma de columnas longitudinales,²⁸ en donde llegarán los osteoclastos y se disponen por debajo de las células hipertrofiadas su función es erosionar el cartílago en forma de túneles para semejar una estructura de apariencia semejante a un panal de abejas.²² Ésta es una zona de intensa actividad metabólica sujeta a la influencia de varios factores biológicos que actuarán sobre el cartílago y hueso entre ellos tenemos a las hormonas y vitaminas.²²

Las células hipertrofiadas también producen fosfatasa alcalina, enzima relacionada con la calcificación de la matriz intercelular.²⁸

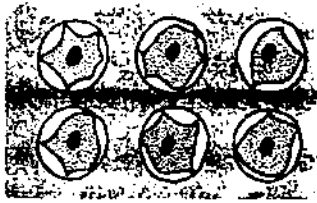
- La *zona de calcificación* es aquella en que la matriz entre las columnas longitudinales adyacentes se impregnan de sales minerales insolubles y toma una coloración intensamente basófila.^{26,23} Sin embargo es la calcificación quien pondrá fin a la vida de los condrocitos ya que elimina las vías por las cuales se difundían hacia ellos el oxígeno y los nutrientes. Los condrocitos mueren y se desintegran dejando una área o laguna vacía. Es por la acción de los vasos sanguíneos que los osteoblastos serán transportados hacia esta región localizada en la diáfisis.²⁸

La irrigación sanguínea provee de osteoblastos secretores de material osteoide que cubrirá las espículas cartilagosas remanentes.²²

Al mismo tiempo que el cartílago epifisario aumenta en tamaño, el collar perióstico crece de longitud y diámetro. El incremento en la extensión del collar perióstico compensa la pérdida por resorción del hueso endocondral en la parte central. Al avanzar la osificación hacia los extremos del cartílago, la cavidad medular aumenta de tamaño debido a la resorción del hueso en el centro de la diáfisis, así la cavidad medular se hace más amplia.²³

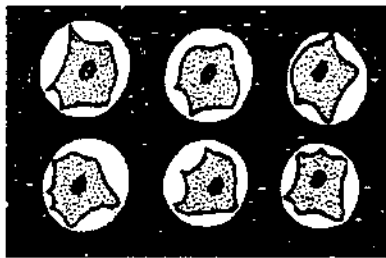
Fig.16²⁶

Diagrama de las primeras fases de la osificación endocondral²⁶



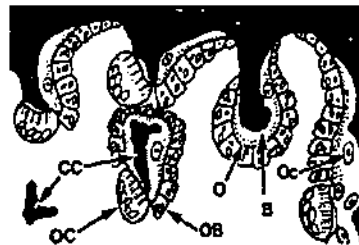
Hipertrofia de condrocitos y formación de sus respectivas lagunas

Inicia la mineralización de la matriz cartilaginosa. (la matriz cartilaginosa calcificada se muestra en negro)



Los condrocitos mueren y comienza la reabsorción dejando estructuras en forma de espículas verticales

Inicia la invasión de vasos sanguíneos, comotambién la secreción de osteoide(O)por parte de los osteoblastos sobre los fragmentos del cartilago calcificado(CC)de tal manera que se forman los primeros indicios de las trabéculas. Estas trabéculas están formadas por hueso primario cubiertas por cartilago calcificado y una película delgada de osteoide, osteoclastos(OC) y osteocitos(Oc).



El cartílago persiste en el extremo libre como cartílago articular y también a manera de lámina entre la epífisis y la diáfisis, estructura que recibe el nombre de *lámina o disco epifisario*. Como la osificación de la diáfisis y las epífisis tiene lugar antes que los huesos hayan alcanzado su estado adulto,

se asegura la continuación de su crecimiento en longitud por el disco epifisiario que persiste entre ellas. El crecimiento continuo en longitud del hueso se logra por la formación de las columnas cartilaginosas, la calcificación del cartílago y el depósito continuo de hueso en éste como sucedió antes en la diáfisis.^{23,26} Cuando cesa el crecimiento ya no hay más proliferación de cartílago y el disco epifisiario se osifica. La posición de este disco cartilaginoso se observa en la superficie del hueso como una línea en la cual el tejido es más denso, llamada *línea epifisiaria* y se encuentra entre la epífisis y la diáfisis.²³

A medida que aumenta el grosor del hueso perióstico alrededor de la diáfisis por osificación intramembranosa, se activa el proceso de resorción en su superficie endóstica con el subsiguiente aumento del diámetro de la cavidad medular. El grosor del hueso no aumenta a la misma velocidad, ya que conforme se deposita hueso en forma progresiva en la superficie perióstica, se resorbe hueso en cantidades menores en la superficie endóstica. Este proceso de crecimiento y resorción de hueso alrededor de la diáfisis continúa hasta que éste ha alcanzado su tamaño y estado adulto o maduro.²³

CÉLULAS ÓSEAS.

Se reconocen cuatro tipos celulares elementales en el hueso: *células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos*²³ y un quinto tipo: *células de recubrimiento óseo*²⁶

Celulas osteoprogenitoras.

Constituyen una población de células madre derivadas del mesénquima.²³

Éstas células en forma de huso constituyen tanto la capa interna del periostio, el endostio que recubre a los espacios medulares, los sistemas Haversianos o conductos vasculares del hueso compacto y otros espacios de tejido blando.^{26,28,23}

Son células con continuos ciclos metódicos y con capacidad de diferenciación y especialización hacia células óseas maduras.^{26,23} Contienen núcleos ovales o alargados y escaso citoplasma^{26,28,23}

Las células osteogénicas son capaces de producir hueso y cartílago. La facilidad para expresar cualquiera de éstas dos potencialidades nos puede ayudar a entender por qué el cartilago está involucrado en el desarrollo, crecimiento y reparación de huesos largos.²⁸

Por medio de la microscopía electrónica se pueden identificar dos tipos de células osteoprogenitoras; una de ellas son los ***preosteoblastos*** que dan lugar a los osteoblastos y el otro tipo son los ***preosteoclastos*** que dan lugar a los osteoclastos.^{26,23} Se piensa que los preosteoclastos son *fagocitos mononucleares* de origen hematopoyético,²⁶ derivados directamente de los monocitos o vía macrófagos²⁸

Osteoblastos.

Son células formadoras de hueso, que sintetizan y secretan matriz ósea sin mineralizar, llamada también *osteóide*. Es una célula totalmente diferenciada por lo cual ya no puede entrar de nuevo en el ciclo mitótico de división celular.²²

Se les encuentra en las superficies óseas de crecimiento, se distinguen de las células osteogénicas por ser de mayor tamaño y de contorno redondo, además de poseer un núcleo excéntrico²⁸

El citoplasma de los osteocitos es extremadamente basófilo,²⁸ debido a la presencia de *nucleoproteína de ribosa*, que se relaciona probablemente con la síntesis de componentes orgánicos de la matriz ósea (colágena y glucoproteínas).²³

Contienen abundante fosfatasa alcalina que se encuentra involucrada en el proceso inicial de calcificación,²² los niveles séricos de fosfatasa alcalina reflejan el nivel de neo-osteogénesis independientemente del tipo de estímulo.²⁵ Sintetizan y secretan procolágeno²⁸ que posteriormente será transformado en colágeno Tipo I, proteínas no-colágenas de la matriz; también osteocalcina, osteonectina, proteoglicano específico del hueso, factores de crecimiento específicos, prostaglandinas E₁, E₂, I₂, colagenasa y activador del plasminógeno.²⁶

Los osteoblastos tienen receptores para las siguientes hormonas: PTH y 1,25(OH)₂ vitamina D₃,²⁶ otros componentes biológicos que se tiene noticia afectan a los osteoblastos son: la calcitonina, estrógenos, vitamina A, vitamina C,²² glucocorticoides, insulina y prostaglandinas.²⁶

Osteocitos.

Son las células del hueso totalmente formado.²⁶ Dicho en otras palabras son osteoblastos que no pudieron escapar de quedar sumergidos en su propia matriz, de esta manera se encuentran aprisionados en la misma.²⁴ Algunos de ellos se encuentran dentro de una delgada capa desmineralizada llamada laguna.^{28,24} Se piensa que éstas lagunas son el producto de la función metabólica del osteocito para mantener la homeostasis normal del calcio sérico. Acción desencadenada al recibir el estímulo adecuado, por ejemplo: hormona paratiroidea.²² El hecho de que contengan fosfatasa ácida, aminopeptidasa y enzimas nos sugiere que los osteocitos pueden tener cierta función osteoblástica.²²

Representan la etapa final de maduración celular del linaje óseo. Son menos basófilos y generalmente de menor tamaño que los osteoblastos,²⁸ aunque también se acepta el hecho de que poseen gran variación en tamaño y forma.²²

No tienen la capacidad de dividirse o de secretar matriz ósea en cantidades apreciables.²³

Los osteocitos poseen numerosas prolongaciones celulares^{28,23} que se extienden por distancias considerables en el espesor de la matriz a través de conductillos que irradian a partir de sus lagunas. Los puntos de contacto entre los conductillos establecerán uniones comunicantes,²³ que se unirán con prolongaciones provenientes de otros osteocitos y de células osteoblásticas.²⁶ Esto explica cómo los osteocitos pueden sobrevivir en un medio ambiente tan aislado.^{26,23} Es por medio de estas estructuras que los osteocitos reciben iones y nutrientes aportados por el torrente sanguíneo; los productos de desecho también viajan por estas prolongaciones para ser drenados hacia la sangre.²³

Osteoclastos.

La típica estructura de un osteoclasto es una célula grande multinucleada localizada cerca o sobre las superficies óseas en proceso de reabsorción,^{22,26,28,23} son también considerados un tipo de macrófago.²³ El contorno irregular de los osteoclastos probablemente se debe a su movilidad, se pueden encontrar en íntima relación con la laguna de Howship o un poco separados de la superficie mineralizada dentro de la zona medular,²² por lo cual pueden ser confundidos como megacariocitos, sin embargo estos últimos cuentan con un sólo núcleo celular multilobulado en contraste con los múltiples núcleos presentes en los osteoclastos.²⁸

El citoplasma de estas células generalmente tiene una apariencia espumosa, es ligeramente basófilo y granuloso.^{26,23}

La microscopia electrónica nos muestra que la superficie del osteoclasto que mira hacia la matriz tiene muchas prolongaciones semejjando un borde rizado constituido por delgadas fibras colágenas,^{26,28,23} que se encuentran rodeando los cristales o microfragmentos de hueso, formando vesículas intracitoplasmáticas en las que se completa la osteólisis.²⁵ El borde rizado está rodeado por una zona de filamentos de actina que parece ser el lugar de adherencia de la célula a la superficie ósea.²³

La estructura de los osteoclastos nos indica que son células secretoras, ya que en su citoplasma contiene vesículas que vacían su contenido *vía* exocitosis al espacio extracelular a través de las hendiduras localizadas a lo largo del borde rizado. Una vez ahí estas enzimas hidrolíticas atacarán el componente orgánico de la matriz extracelular exponiendo las fibras de colágena.²⁸ Cuando se completa el proceso de resorción, los osteoclastos desaparecen, probablemente por degeneración o regresión al tipo de célula que le dió origen.²³

Los osteoclastos no solamente son necesarios para el remodelamiento de los huesos durante su crecimiento y reparación, también participan en la

remoción del hueso debilitado para que pueda ser reemplazado por hueso nuevo.²⁸

Éstas células poseen las siguientes enzimas: fosfatasa ácida resistente, grupos específicos de deshidrogenasas, anhidrasas carbónicas, aminopeptidasas leucínicas y glucoronidasas,^{22,25,26} también cuentan con receptores para calcitonina, responden a la acción de la hormona paratiroidea, 1,25(OH)₂vitamina D y calcitonina.²⁶

Los osteoclastos representan una extensión de la línea celular de diferenciación *monocito-macrófago* y como los demás macrófagos se originan en el tejido hematopoyético de la médula ósea.^{25,28,23}

Algunos autores²⁶ aceptan la existencia de células aplanadas y alargadas con núcleos en forma de huso llamadas *células de recubrimiento óseo*. Sin embargo con este mismo nombre han sido designados otros tipos de células como lo son: osteoblastos, osteoclastos y células cercanas a la superficie ósea. No obstante éstas tienen otra función, servir como barrera para evitar la pérdida de fluidos por percolación provenientes de los sistemas canaliculares de los osteocitos, y probablemente de esta manera, regulan la homeostasis del calcio y fosfato. Existe evidencia de que las células de recubrimiento óseo son transductores para el efecto de reabsorción ósea, ya que elaboran colagenasa preparando, bajo la acción de estas enzimas, la superficie para la acción de los osteoclastos. Incluso se ha postulado que la comunicación entre los osteocitos y las células de recubrimiento óseo está involucrada en dar forma al hueso, como también participar en la reacción de soporte óseo a las fuerzas de tensión y presión, transmitiendo estas percepciones en forma de señales químicas hacia la superficie del hueso donde de acuerdo al estímulo se llevará a cabo la reabsorción o en su defecto la formación de hueso.²⁶

De dónde derivan estas células? Se piensa que derivan de los precursores osteoblásticos y osteoclásticos que han cesado su actividad diferenciadora por lo cual se han aplanado y dirigido hacia la superficie del hueso.²⁶

Matriz ósea.

Aunque en apariencia la sustancia intercelular del hueso es homogénea, tiene una estructura bien ordenada. Sus dos componentes principales son la **matriz orgánica** y las **sales inorgánicas**.²³ Esta matriz tiene que ser capaz de soportar las fuerzas de flexión, de compresión, rotatorias e inclusive de elongación. No sólo es el componente rígido debido a la impregnación de sales minerales, principalmente de sales insolubles de calcio; si no también es altamente resistente a las fuerzas de tensión gracias al alto contenido de fibras de colágena que refuerzan esta estructura.²⁸ Si comparamos la matriz del cartílago hialino con la matriz orgánico del hueso, esta contiene casi el doble de colágeno, propiedad que hace que su coloración sea acidofílica al momento de tñirlo con E&H.^{28,23}

El componente amorfo intercelular representa una intrincada mezcla de complejas moléculas orgánicas, que incluyen glucosaminoglicanos, proteoglicanos, glucoproteínas y proteínas;^{26,28,23} que en su conjunto conforman la matriz orgánica. La podemos encontrar predominantemente en forma de fibras de colágena constituyendo el 90% de esta matriz orgánica.²⁶ La colágena ósea está formada por colágeno tipo I^{25,26,23} y es semejante al que se encuentra en tendones, piel y fascias.²³

Las fibras de colágeno se encuentran rodeadas de una sustancia fundamental compuesta de glucosaminoglicanos, y unidas a algunas proteínas no colágenas, principalmente osteocalcina y osteonectina, las cuales son carboxiproteínas cuya función principal es unir iones calcio, y son dependientes de la vitamina K.²⁵

Para el colágeno es particularmente importante la prolina; la hidroxilación (que requiere de vitamina C), proporciona los enlaces y puentes intramoleculares e intermoleculares que confieren estabilidad a las fibras de colágeno.²⁵

Las moléculas de colágena se disponen de manera escalonada, produciendo un poro o hendidura de 400A entre ellas. En estos poros se deposita alrededor de 50% de los cristales de hidroxiapatita.²³

El componente inorgánico sólo se localiza en el cemento que hay entre las fibras osteocolágenas y explica 65%²³ o 75%²⁶ del peso total del hueso en los adultos. Los minerales se depositan en forma de partículas densas en las hendiduras de las fibras. La sustancia fundamental amorfa establece acciones recíprocas con los cristales de hidroxiapatita, los estabiliza y produce la dureza y rigidez tan características del hueso.^{26,23}

Estos cristales óseos son principalmente fosfato de calcio en forma de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Los cristales óseos no son puros^{26,23} por lo cual pueden contener carbonato, citrato, sodio, magnesio, iones hidroxilo²⁶ y cantidades variables de oligoelementos.²³

El contenido de fluoruro es variable,²⁶ pero es captado e incorporado al esmalte de los dientes,³⁰ además que favorece la cristalización y endurece al hueso;²⁵ también se ha reportado la presencia de hierro, zinc, cobre, plomo, manganeso, estaño, aluminio, estroncio, boro y silicón como integrantes del componente mineral del hueso²⁶. Pero por qué plomo?, el plomo y otros elementos tóxicos son captados y liberados por los huesos de manera semejante al calcio. La rápida captación ósea de estos elementos se designa a veces con el nombre de "**mecanismo destoxificante**", porque sirve para eliminar dichas sustancias de los líquidos corporales, disminuyendo sus manifestaciones tóxicas. Los elementos radiactivos como lo son el radio, el plutonio y el isótopo radiactivo del estroncio, que es un subproducto de las explosiones de bombas atómicas, también son captadas por los huesos. En estas condiciones, la captación es definitivamente dañina, porque la radiación de éstos elementos puede ocasionar la degeneración maligna de las células óseas y la formación de sarcomas osteógenos.³⁰

Los cristales de hidroxiapatita de 15 a 30A en grosor y 100A de longitud están compuestos por tres capas:

- *cristal interior*
- *cristal superficial*
- *cubierta hidratante* ²⁶

La capa de hidratación facilita el intercambio de iones con el líquido corporal. ^{26,23}

La matriz ósea se dispone en capas o laminillas de 3 a 7 μm de grueso. En éstas, las fibras que las integran se disponen de manera radiada. ²³

Se considera necesario mencionar la diferencia entre **calcificación**, que significa el depósito de sales de calcio insolubles en un tejido (cualquier tejido), y **osificación**, proceso por el cual el tejido óseo es formado, lo que incluye la secreción como también la calcificación de la matriz ósea. ²⁸

ESTRUCTURA MACROSCÓPICA DEL HUESO.

Se considera como una diferencia estructural mas que histológica la apariencia o aspecto entre el hueso esponjoso y el hueso compacto. Ya que la composición fundamental de la matriz ósea, la manera en que ésta se acomoda en forma de laminillas y las interacciones entre las células óseas y la matriz son las mismas en ambos casos. Lo que los distingue es solamente la forma en que la matriz ósea se encuentra distribuída. ²⁴ Abordando este aspecto desde otro punto de vista las dos estructuras óseas difieren radicalmente en el contenido de médula ósea y tejido blando, el contenido de tejido blando existente en el hueso compacto es menor al 10% mientras que en el hueso trabecular llega a ser de 75%. ²⁶

Por lo cual podemos distinguir en forma macroscópica dos tipos de estructura ósea:

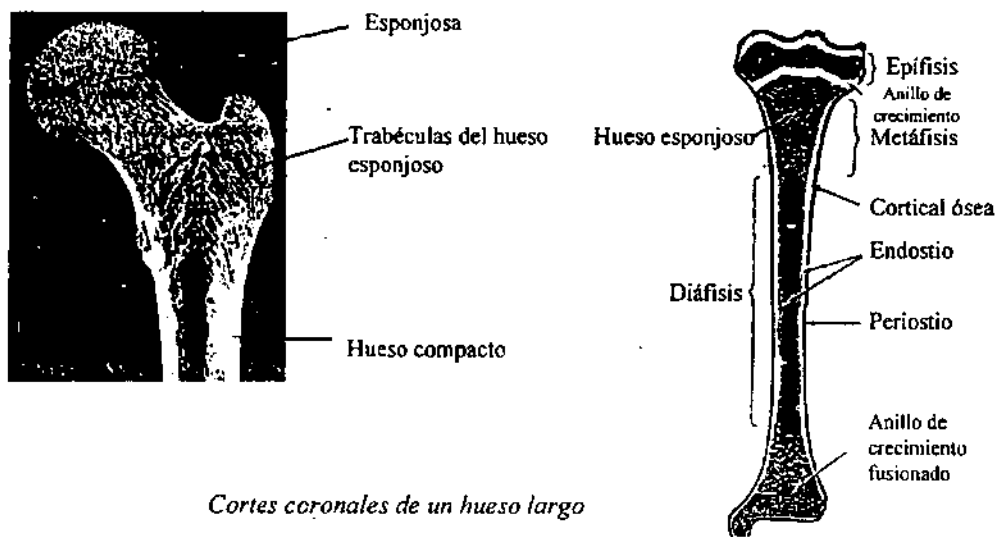
- **hueso cortical compacto**, ²² los huesos largos (húmero, fémur y tibia) son un excelente ejemplo para describir macroscópicamente las estructuras del hueso, ²⁶ éstos huesos poseen un cuerpo largo o diáfisis formado por

hueso compacto que rodea una cavidad medular^{22,23} cuyo contenido puede ser médula ósea roja o grasa.²² En los huesos planos del cráneo se aplican términos especiales, las dos capas paralelas de hueso compacto son las tablas externas e internas,^{23,24} el hueso interno en ellas se llama *diploe*^{23,24} el cual es tejido mesenquimatoso que permanece en los espacios medulares y se desarrolla médula ósea roja.²⁴ Los huesos mas irregulares (vértebras) constan de hueso esponjoso cubierto por una delgada capa de hueso compacto²³

- **hueso esponjoso o trabecular**^{22,26,23,24} es elaborado por una red intercalada llamada trabécula, entre cada trabécula se encuentra alojada la médula ósea roja y en otros casos la médula ósea grasa.²² Constituyen la membrana de tejido conectivo que ha sido invadida y calcificada por la matriz ósea, a medida que van creciendo entran en contacto una con la otra estableciendo una estructura semejante a una red.²⁴ El hueso esponjoso se encuentra en la mayoría de los huesos planos y en las epifisis de los huesos largos.²² La médula ósea se encuentra formada de células hematopoyéticas, células reticulares y células adiposas.⁵³

Fig.17²⁸

Estructura macroscópica del hueso



La estructura de las trabéculas o láminas del hueso esponjoso es semejante a la del hueso compacto. Las pequeñas trabéculas carecen de sistemas de laminillas, pues no son penetradas por los vasos sanguíneos, sino que están rodeadas por espacios medulares vasculares. Las trabéculas más grandes están elaboradas por laminillas y contienen lagunas con osteocitos y un sistema de conductillos intercomunicantes.²³

La mayoría de las trabéculas en el hueso adulto tienen un grosor más o menos de 0.2mm y como se ha dicho no contienen vasos sanguíneos, entonces ¿Cómo se nutren los osteocitos?, lo hacen mediante difusión de nutrientes a partir de la superficie trabecular. Cada trabécula está compuesta por un mosaico de segmentos angulares, cada segmento está formado por hojas paralelas llamadas *paquetes trabeculares* que funcionalmente son muy parecidos a los **osteones** y pueden ser considerados como *la unidad estructural* de las trabéculas óseas.²⁶

La superficie exterior de la mayoría de los huesos,²⁶ excepto las superficies articulares^{26,23} donde los ligamentos y tendones se insertan al hueso, la superficie de los huesos sesamoideos o en las áreas subcapsulares y el cuello del fémur,²⁶ están cubiertas por una capa de tejido conectivo llamada *periostio*^{26,23}

Consta de haces de fibras colágenas entremezclados con muchas fibras elásticas. Su íntima relación con el hueso depende de la presencia de las fibras de Sharpey. El periostio está formado por dos capas que no están claramente definidas. Las fibras de la capa externa forman un tejido conectivo denso que se mezcla con el tejido conectivo circundante y dan sostén a los abundantes vasos sanguíneos y linfáticos. La capa interna está formada por tejido conectivo más laxo, algunas de cuyas fibras colágenas penetran en el hueso como fibras de Sharpey.²³ Durante el crecimiento o durante una fractura el periostio y tiene el potencial de formar hueso.^{26,23}

En condiciones normales las células de esta capa permanecen inactivas(células osteoprogenitoras) y se ven como células fusiformes del tejido conectivo.²³

La médula ósea de la diáfisis de los huesos largos y las cavidades del hueso trabecular se encuentran cubiertas por una delgada capa celular llamada *endostio*.²⁶ Tiene una cantidad muy pequeña de tejido conectivo reticular, es mucho más delgado que el periostio y posee potencialidades tanto osteógena como hemopoyética²³ ya que contiene osteoclastos, osteoblastos, células de recubrimiento óseo y fibroblastos.²⁶

Como ya hemos visto los huesos están compuestos básicamente de dos estructuras: hueso cortical y hueso esponjoso²⁶

Fig.18²³



Esquema de las fibras de Sharpey que se extienden dentro del hueso compacto como continuación directa de las fibras del periostio

La masa de un hueso adulto está constituida primordialmente por hueso compacto, se estima que un 80% de toda la masa esquelética es hueso compacto. Un hueso largo típicamente está compuesto por un **cuerpo cilíndrico central o diáfisis** y dos extremos, que con cierta cautela son considerados esféricos, **las epífisis**, Pero éstos dos elementos no pueden

estar aislados así que se encuentran unidos mediante las *metáfisis*. Por lo general las diáfisis constan de hueso compacto, mientras que las epífisis y metáfisis están principalmente constituidas por un interior de hueso trabecular con el exterior constituido por hueso compacto. Cuando el organismo se encuentra en etapa de crecimiento, puede ser observado en los huesos largos que las epífisis se encuentran separadas de la diáfisis por medio de una capa gruesa de cartilago hialino conocida bajo el nombre de **placa de crecimiento**. El hueso metafisiario próximo a la placa de crecimiento constituye una región donde el hueso trabecular podrá proliferar además de sufrir elongación. En los huesos de un adulto esta placa cartilaginosa será reemplazada por hueso trabecular ya sea en las metáfisis y epífisis.²⁶

ESTRUCTURA MICROSCÓPICA

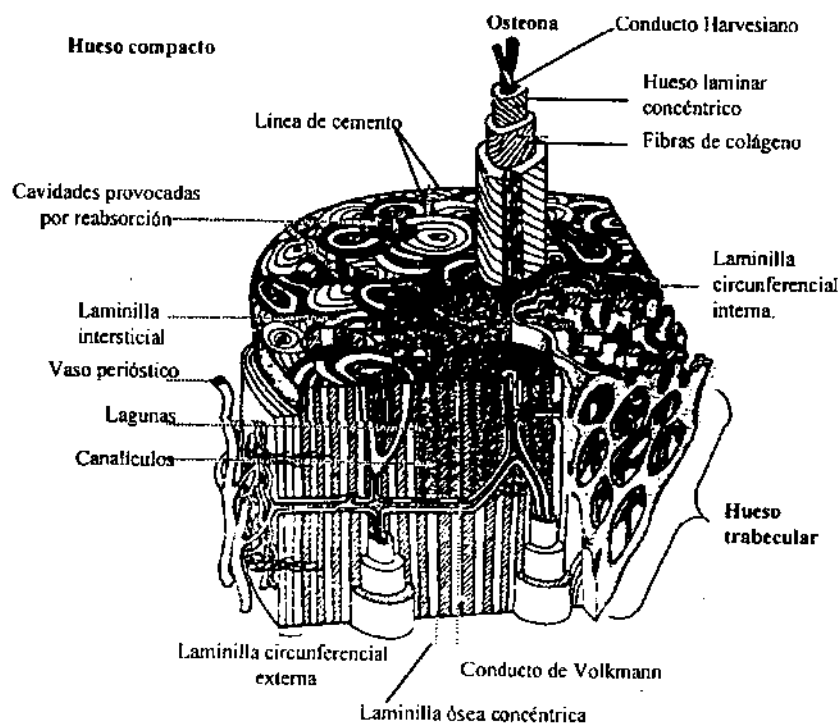
Los huesos adultos de los mamíferos ya sean compactos o esponjosos están constituidos por pequeñas laminillas óseas que semejan las líneas de crecimiento de los árboles. Cada laminilla consta de 3 a 7 μm de grosor y está compuesta por fibras de colágena orientadas paralelamente una de la otra. Y tanto en el hueso compacto como esponjoso se encuentran de manera regularmente dispersa pequeñas lagunas interconectadas por pequeños canaliculos que contienen a los osteocitos²⁶

Los anillos circulares compuestos por laminillas pueden agruparse a lo largo y alrededor de vasos sanguíneos,²⁶ formando unidades estructurales cilíndricas²³ que varían en tamaño pudiendo tener de cuatro a 20 capas.²⁶ Son la unidad estructural básica del hueso compacto y son llamados **conductos o sistemas de Havers**^{26,28,23} también llamados **osteones** (*del alemán, hueso*),²⁸ estos sistemas llevan el nombre del hombre que los descubrió.²⁴

Los vasos sanguíneos que nutren al hueso corren a lo largo de los conductos Haversianos,²² donde también encontramos terminaciones nerviosas y tejido conectivo,²⁶ osteoblastos y osteoclastos recubriendo las superficies del conducto.²² Éstos conductos a su vez se encuentran rodeados por numerosos osteocitos que se comunican por medio de sus canaliculos.²² Alrededor de cada osteón²⁶ y marcando los límites²³ se encuentran las líneas de cemento o membranas de cemento^{22,26,28,23} por las cuales los canaliculos no pueden comunicarse.²² Se encuentran constituidas por una delgada capa de matriz modificada refringente²³ deficiente en fibras de colágeno,²⁶ aunque algunos autores manifiestan que en realidad es una gruesa capa con un grosor de 1 a 2 μm .²⁶

Fig.19²⁸

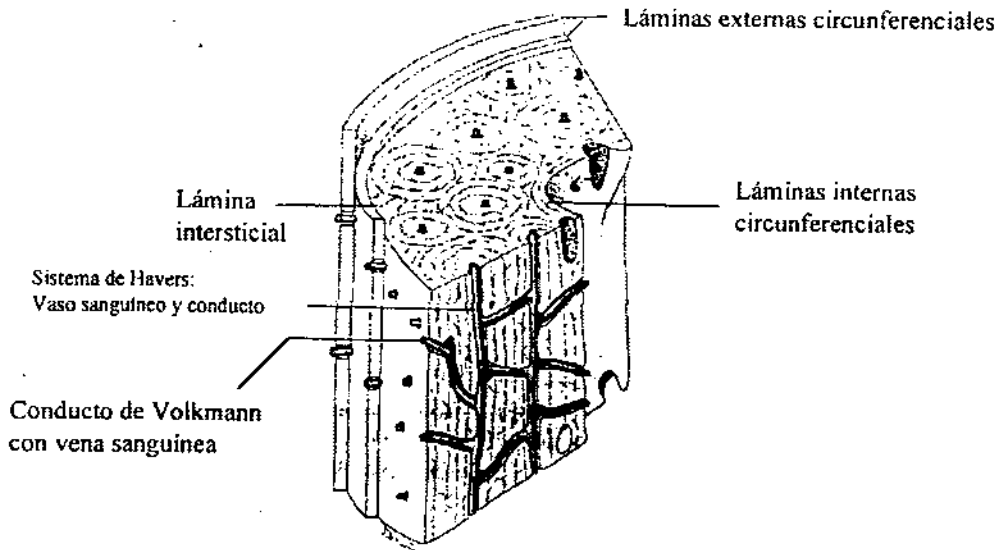
Esquema piramidal de hueso cortical y trabecular.



Los conductos Haversianos se comunican con el periostio, con la médula ósea y también uno con otro por medio de los *canales de Volkmann* o *conductos nutricios*,^{26,23} por donde atraviesan los vasos sanguíneos provenientes de la médula y periostio.²⁸ Los conductos de Volkmann pueden distinguirse de los conductos Haversianos ya que los primeros se encuentran dispuestos de manera oblicua o formando ángulos rectos con los conductos de Havers^{28,23} dicho de otra manera no están dispuestos de manera longitudinal en comparación con los conductos de Haversianos,²⁸ además de que estos canales carecen de laminillas concéntricas.^{26,28}

Fig.20²⁸

Representación esquemática de la organización histológica en la diáfisis de un hueso compacto maduro.



Corte seccional que muestra la osteona del hueso femoral humano

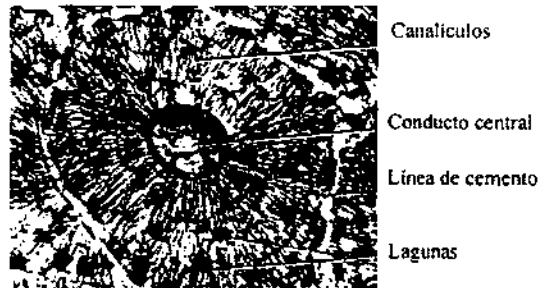


Fig.21²⁸

ENZIMAS DEL HUESO.

Características generales de las enzimas del hueso.

El ciclo de ácido-cítrico se encuentra presente en todas las células osteogénicas lo que es comprobado al examinar la función de las enzimas dentro de este ciclo, ej. deshidrogenasas succinasas, malasas e isocítrica.²²

Por su parte la acción de las deshidrogenasa alfa glicerofosfato y deshidrogenasa láctica demuestran que estas células tienen capacidad glucolítica. Los cambios funcionales de la pentosa se deben a la actividad de la glucosa-6-fosfato y deshidrogenasa-6-fosfoglucógena. La presencia de la deshidrogenasa beta-hidroxi-butírica demuestra que en particular los osteoclastos tienen la capacidad de metabolizar a los ácidos grasos.²²

La actividad enzimática presente en cada uno de los tipos celulares puede evidenciarse mediante los tiempos de tinción por el método de formazan.²²

Por ejemplo, los osteoclastos se tiñen más rápidamente para las muestras de deshidrogenasas, fosfatasa ácida, aminopeptidasa, y esterases no específicas que cualquiera de las otras células examinadas. Sin embargo de manera muy esporádica muestran actividad de fosfatasa alcalina. En un mismo tipo celular la actividad enzimática es puesta en evidencia acorde con la variación de la tinción, la cual se encuentra relacionada con la actividad celular llevada a cabo en el preciso momento de la tinción.²²

Los osteocitos presentes en las trabéculas recién formadas componentes de la metáfisis del fémur muestran una mayor actividad de deshidrogenasa succínica que los osteocitos de la corteza dentro del mismo fémur.²² Los osteoclastos se caracterizan por tener un mayor contenido de hidrolasas ácidas.²²

Hidrolasas ácidas

Cuando menos se han encontrado ocho hidrolasas contenidas en los lisosomas preferentemente de los osteoclastos, tales enzimas se desempeñan mejor bajo un pH ácido. El nivel de ésta enzima en los osteoclastos se incrementa por la acción de la hormona paratiroidea y descende con la presencia de calcitonina. Dichas enzimas también se encuentran en los osteoblastos y en los osteocitos pero en cantidades muy pequeñas. Se observó que en similitud con los otros tipos de células óseas los osteoclastos también contienen la enzima ATPasa tanto en los gránulos de sus lisosomas, en su membrana celular y en el borde estriado. Sólo aquella ATPasa presente en la membrana celular es dependiente del magnesio, mientras que la presente en los lisosomas pueden ser activas aún en la ausencia de magnesio. Debido a este hecho la actividad ATPasa de la membrana es inhibida por acción de la hormona paratiroidea.²²

Colagenasa

Puesto que es una enzima que digiere al colágeno se encuentra presente o potencialmente presente en los osteoclastos. En algunos experimentos se ha demostrado que la actividad de esta enzima se incrementa con la presencia de la hormona paratiroidea.²² De igual manera que las hidrolasas ácidas se piensa que también están presentes en los lisosomas osteoclásticos sin embargo surgió una controversia ya que Gross y cols. descubrieron que esta enzima es activa cuando se encuentra en un pH neutro, lo que no concuerda si ésta fuese de origen lisosómico.²²

Fosfatasa alcalina

Dicha enzima ha sido de manera característica asociada con los sitios en donde se lleva a cabo la calcificación de la matriz ósea. De esta manera generalmente su presencia es mayor en los osteoblastos que en cualquier otra célula. Se le conoce también por su acción similar a una pirofosfatasa. De manera normal se encuentra presente en el plasma en niveles que varían de acuerdo a la actividad osteoblástica que es gobernada por el hígado. En la niñez, etapa de la vida en la encontramos un activo crecimiento óseo podemos hallar de 5 a 15 unidades Armstrong King por cada 100 ml, mientras que los adultos demuestran niveles de 3 a 4 unidades Armstrong King por cada 100 ml. Dichos niveles se pueden encontrar elevados en el *raquitismo* por deficiencias nutricionales. En la *osteítis deformante (Enfermedad de Paget)* podemos tener niveles de 15 a 125 unidades; por su parte en el hiperparatiroidismo se obtendrán niveles que varían entre 20 a 40 unidades por cada 100 ml.²²

Fosfatasa ácida

Esta enzima es característica de los osteoclastos pero también se encuentra en el plasma en niveles que varían entre 1 a 5 unidades Armstrong King por cada 100 ml. Sus niveles se encuentran elevados en *enfermedades malignas de la próstata* especialmente cuando hay metástasis localizadas en el hueso. En la Enfermedad de Paget los niveles se encuentran ligeramente elevados.²²

Pirofosfatasa

Previamente hemos hecho mención que la fosfatasa alcalina actúa de manera semejante a una pirofosfatasa y que además se encuentra

preferentemente en los osteoblastos. Sin embargo se ha postulado que solo una pirofosfatasa extracelular se encuentra en el tejido óseo, una que actúa bajo un pH de 6.8 y en presencia de magnesio. Se considera a esta enzima muy sensible a los cambios en las concentraciones de magnesio y calcio.²²

Adenil ciclasa

La actividad de esta enzima es gobernada primordialmente por la hormona paratiroidea en células renales y células óseas. También se acepta que la calcitonina pueda tener un efecto modulador de la acción de esta enzima. La membrana celular de las células óseas contiene adenil ciclasa²²

Fosfodiesterasa nucleótida cíclica.

Esta enzima tiene la misión de degradar a uno de los segundos mensajeros el cAMP, cuya síntesis es muy importante en la respuesta celular a las hormonas paratiroidea y calcitonina. Sin embargo es inhibida por la teofilina.²² El efecto de elevar los niveles de calcio sérico son imitados por la teofilina, hecho que ha sido visto en ratas paratiroidectomizadas. Los imidazoles tienen el efecto opuesto, es decir activan a las fosfodiesterasas disminuyendo los niveles de calcio sérico. Todo lo anterior es un indicio que esta enzima puede a bien encontrarse en hueso.²²

Nucleotidasas

A pesar que no se hace mención sobre su función, Gibson y Fullmer han encontrado niveles elevados de esta enzima solamente en los osteocitos.²²

REPARACIÓN DEL HUESO.

Qué es lo que pasa después de una fractura?, primero hay una hemorragia provocada por la rotura de vasos sanguíneos que es seguida por la formación de un coágulo²³ que llena el defecto y rodea el área de lesión ósea.²⁵ La coagulación de esta sangre da lugar a la formación de una malla de fibrina laxa que cierra de manera más o menos completa el foco de fractura.²⁵ La cual a su vez sirve de entramado para el crecimiento de fibroblastos y capilares neoformados.^{25,23} El coágulo se organiza, produciéndose finalmente un callo blando que proporciona cierto anclaje a los fragmentos óseos, aunque sin rigidez estructural.^{25,28} A partir de este punto, la curación de una lesión ósea difiere de la encontrada en los tejidos blandos.²⁵ Tras los primeros días, en la respuesta fibrovascular aparecen cartilago y matriz ósea neoformados. En los días siguientes, la neoformación ósea da lugar a un callo provisional o precallo, considerado como tejido de granulación.^{25,23} Que constituye una estructura temporal²³ a manera de férula fusiforme bastante eficaz.²⁵ Posteriormente las células del periostio y endostio comienzan a proliferar, el medio ambiente que rodea a la lesión todavía es bastante vascularizado por lo cual existe la diferenciación hacia osteoblastos que depositan hueso esponjoso que sustituye progresivamente al cartilago del callo temporal de manera semejante a la osificación endocondral.^{28,23} Por último el exceso de hueso es remodelado en parte o por completo²³ por la actividad osteoblástica y osteoclástica²⁵ lográndose la unión de la fractura.²³

Fig.22²⁸

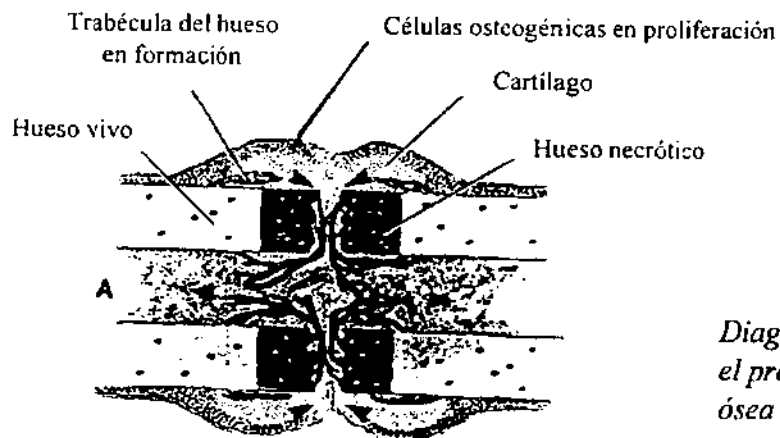
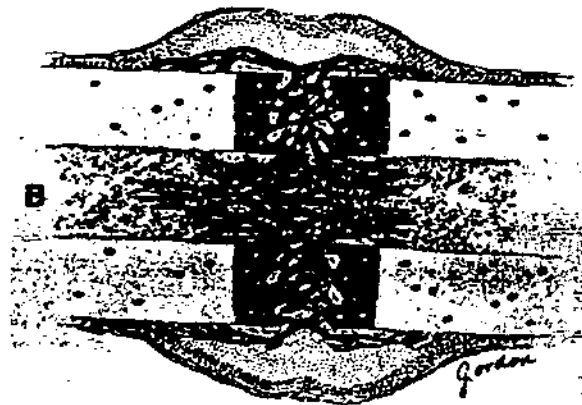


Diagrama que nos muestra el proceso de cicatrización ósea



CAPÍTULO II.

El hueso difiere de otros tejidos no sólo por su estructura fisicoquímica sino también por su extraordinaria capacidad de crecimiento, por mostrar un continuo remodelamiento y regeneración hechos que se hacen evidentes después del nacimiento. Pero, ¿qué tanto de esta capacidad se debe a la proliferación de células osteoprogenitoras prediferenciadas y qué tanto a la diferenciación de células mesenquimatosas?; sin duda esta pregunta ha representado un gran reto. Sin embargo podemos decir que la regeneración ocurre por una combinación de ambos procesos.³

En los seres humanos, la formación ósea comienza durante las primeras 6 a 8 semanas de desarrollo. Después del nacimiento las lesiones óseas son reparadas imitando el proceso de formación ósea endocondral que toma lugar durante la vida embrionaria: las células progenitoras del mesénquima provenientes de la médula ósea, periostio y músculo migran hacia el sitio de la fractura, donde se acumulan, proliferan y diferencian hacia cartílago, el cual posteriormente será reemplazado por hueso.³

Este es el proceso natural que sucede también durante la cicatrización ósea^{25,28,23} pero ¿qué es lo que sucede con los defectos óseos mayores?, por ejemplo: traumatismos, enfermedades, deformidades del desarrollo, resecciones tumorales o quísticas^{31,30} o reposición ósea durante cirugías reconstructivas u ortognáticas.³² ¿Cuáles son las alternativas de tratamiento con las que contamos para ofrecer a los pacientes?.

Desde hace más de un siglo se realizan esfuerzos por encontrar materiales con las características adecuadas para la restauración o sustitución del tejido óseo en seres humanos. Esta necesidad ha determinado no sólo el interés de encontrar tales materiales, sino que se elaboren constantemente nuevas tecnologías para perfeccionarlos y dotar a los cirujanos de biomateriales ideales que cumplan con las exigencias más modernas en este campo.⁹

Algunos años atrás el hecho de perder hueso era considerado un problema significativo, sin embargo hoy contamos con diversos materiales que nos permitirán "*hacer crecer el hueso*" en los lugares deseados o donde se necesita, esto nos da la oportunidad de restaurar el defecto, la función y la estética.⁴

Hemos considerado importante revisar ciertos términos que nos podrán ayudar en el desarrollo del trabajo y al mismo tiempo evitarán confusiones.

Un ***injerto*** siempre proviene de tejidos vivos. Un ***implante*** es elaborado a partir de materiales que han mostrado biocompatibilidad con los tejidos del cuerpo humano, ej. acero inoxidable, titanio, silicón, hidroxiapatita.³³

Un material ***osteconductivo*** proporcionará, un molde o un enrejado y servirá como "puente" entre los dos extremos del defecto óseo, facilitará el anclaje y atrapamiento de células para la formación de un coágulo, el cual se calcificará y dará lugar a la formación de *hueso conductivo*, ej. del material, hidroxiapatita. Éste favorece la aposición e incorporación de hueso nuevo sobre su propia superficie debido a que cuenta con numerosos poros, los cuales facilitan esta tarea.^{33,6,32}

Un material ***osteinductor*** tendrá la capacidad de diferenciar a las células pluripotenciales mesenquimatosas hacia células productoras de cartilago y hueso, gracias al efecto e influencia inductiva de la proteínas óseas morfogenéticas (Bone Morphogenetic Proteins, BMP) por medio de mecanismos endocondrales.^{33,12,3}

Se han hecho experimentos *in vitro* e *in vivo* usando muestras de proteínas osteogénicas y han mostrado ser eficaces como material de injerto en cirugías de aumentación del reborde alveolar, en cirugías reconstructivas faciales y ortopédicas y además promueven la osteointegración alrededor de implantes metálicos para procedimientos protésicos dentales.³

Éstos materiales desencadenan el fenómeno de *osteogénesis*, el cual puede ser subdividido en tres diferentes fases que han sido demostradas experimentalmente. La primera *osteocoñducción*, es decir la migración de

células osteogénicas diferenciadas hacia un enrejado temporal de tejido conectivo. El segundo, la formación de hueso nuevo, lo que resulta en la mineralización de la matriz, y un tercero es el remodelado óseo (aposición y reabsorción específica) completando e integrando el hueso nuevo.³⁴

Con lo que respecta al material de injerto óseo, tenemos que diferenciar entre varias opciones. Estos materiales pueden ser clasificados de la siguiente manera:

Autoinjertos, se consideran como ideales. Se definen como el tejido transplantado de un sitio a otro dentro del mismo individuo. Es básicamente tomar tu hueso de un *sitio donador* y colocarlo en un *sitio receptor* en cualquier parte de tu cuerpo. Los mejores resultados en injertos óseos se han obtenido a partir de autoinjertos, ya que éstos son tejidos vivos con sus células intactas. No existe respuesta inmune. La única desventaja es que debe ser tomado a partir de un sitio donante secundario, lo que significa mayor *morbilidad* y cirugías más complicadas. Generalmente se toma hueso de la tibia o de la cresta ilíaca. Además síntomas como dolor, hipersensibilidad o anestesia de los lugares donantes, se atribuyen a la cirugía adicional para obtener el material.^{4,33}

En un estudio realizado por el Doctor Stephen D. Cook demostró que 25% de los pacientes que fueron sometidos a tomas de autoinjertos de cresta iliaca refirieron sensibilidad dolorosa en ese sitio aún cinco años después de la cirugía.^{5,33}

Un **aloinjerto** es un tejido que se toma de individuos de la misma especie (ej., humanos), pero no poseen la misma composición genética. Generalmente se obtienen de cadáveres, lo que nos asegura contar con cantidades suficientes del material. Sin embargo, éstas muestras tienen que ser sometidas a varios procesos para asegurar su neutralidad a respuestas inmunes y evitar las infecciones cruzadas, éstos procesos incluyen irradiación, congelamiento, lavado con ácidos y otros tratamientos químicos.^{4,33}

Se debe tomar en cuenta que este tipo de material posee un bajo potencial osteogénico, mayor reabsorción y menor poder de revascularización en comparación con los autoinjertos.^{7,5}

Se tiene conocimiento de un gran inconveniente: la infección del virus causante del SIDA y Hepatitis C hacia individuos receptores por medio del empleo de aloinjertos, hecho que sin duda pone en discusión la eficacia de los medios de esterilización de este material y algo más, la consideración de usar este material como opción terapéutica.^{6,2,1}

Xenoinjerto se obtiene a partir de diferentes especies animales (ej. hueso de origen bovino para uso en humanos). Los bancos de tejidos generalmente se inclinan por éstos materiales para injerto ya que es posible extraer grandes cantidades de hueso con una microestructura específica similar al hueso de origen humano, este es un factor importante para el crecimiento óseo.^{4,33}

En los materiales **aloplásticos** se encuentran incluidos aquellos dispositivos de origen sintético, es decir, que no proceden de animales (humanos, bovinos) ej. del material, hidroxiapatita.^{4,33}

Los **factores de crecimiento** son proteínas que se elaboran y secretan de manera ordinaria por las células que componen a los organismos vivientes que estimulan el crecimiento de ciertos tejidos.⁴

Con lo que respecta al hueso, los ingenieros en genética han sido capaces de aislar y clonar las proteínas óseas morfogenéticas (BMPs), las cuales en estudios preclínicos y recientemente en humanos, han mostrado inducir la formación de grandes cantidades de hueso.⁴

Éstas se difunden desde su transportador (matriz ósea desmineralizada) hacia la periferia del lugar receptor e inducen la diferenciación celular para formar tejido óseo nuevo.³¹

El principal propósito de los últimos cuatro materiales antes descritos es el evitar realizar una cirugía adicional, sin embargo necesaria, cuando se

considera realizar un autoinjerto y de la misma manera evitar el riesgo existente de infecciones cruzadas mediante el empleo de aloinjertos.⁴

Cuáles son las situaciones clínicas en base a las cuales podremos tomar en cuenta el uso de injertos?:

- Aumentación del seno paranasal
- Aumentación del reborde alveolar
- Reposición del nervio
- Reconstrucción cráneo facial
- Cirugía ortognática
- Deformaciones del desarrollo
- Resecciones tumorales y quísticas
- Atrofias
- Secuelas de traumatismo.⁴

El potencial regenerativo que tiene el hueso es bastante notable, propiedad que le permite remodelarse bajo la influencia de las demandas físicas y desencadenar únicamente los procesos de cicatrización y reparación después de haber sufrido algún tipo de lesión.¹² Cuando se han hecho injertos de matriz ósea **desmineralizada** en sitios o zonas que no corresponden al hueso, por ejemplo, en el músculo, a estos lugares se les llama sitios ectópicos, ésta tiene la capacidad de inducir la síntesis de cartílago, hueso y médula ósea,¹² es decir el producto final es la formación de tejido óseo totalmente funcional.^{35,15}

La secuencia de eventos inducidos en los sitios antes mencionados por la presencia de la matriz ósea desmineralizada imitan tanto al proceso embriológico de formación de hueso endocondral como también la cicatrización y reparación que sucede después de una fractura.^{12,35}

Se ha elaborado la hipótesis que esta actividad morfogenética del hueso reside en un componente único y característico de naturaleza proteínica

presente en la matriz ósea (proteínas óseas morfogenéticas o BMPs) capaz de promover el crecimiento y diferenciación de las células mesenquimatosas hacia células formadoras de hueso.¹²

El reciente descubrimiento de la proteína inductiva Op-1 también conocida como BMP-7 y de su función en el proceso inductivo que inicia con la formación de cartílago y finaliza con el depósito de hueso ha despertado el interés y curiosidad por desarrollar un material de injerto óseo de mayor efectividad y confiabilidad.¹²

Y es que en los últimos años los procesos dirigidos por obtener un sustituto aceptable de los autoinjertos⁷ y de los aloinjertos⁵ ha desatado una explosión científica por la investigación de proteínas formadoras de hueso *in vivo*.⁷ Ésto a partir del conocimiento que los extractos proteicos obtenidos del tejido óseo con capaces de inducir la formación de hueso por medio de osificación endocondral y además mantienen el crecimiento y reparación normal del hueso^{35,15,36}

De manera específica dentro de los componentes de la fracción no colágena de la matriz ósea tenemos al grupo de las glucoproteínas al cual pertenecen las proteínas osteoinductivas.^{22,19,14} Dichas proteínas fueron detectadas por vez primera gracias a los trabajos pioneros realizados por el Dr. Marshall R. Urist en el año de 1965 y las nombró **como proteínas ósteogénicas (OPs) que también son conocidas como proteínas óseas morfogenéticas (BMPs)** inherentes a la cortical ósea.^{37,38,1,5,39,40,2} -Cabe señalar que dicho trabajo ha sido tomado como base para todas las investigaciones que a partir de esta se han llevado a cabo y que además se relacionan con el tema-. Él mismo, en el año de 1979 logró la extracción y solubilización de dichas proteínas⁵ y posteriormente por medio de técnicas de cromatografía logró aislar el factor osteoinductivo al que denominó proteína morfogenética.¹

Cómo logró obtener estas proteínas? El proceso para poder separar las proteínas óseas morfogenéticas del hueso inicia con al pulverización de

hueso diafisiario deshidratado,^{17,16,14} después se coloca la muestra de tejido óseo en bolsas para diálisis,¹⁴ posteriormente se procede a la desmineralización del hueso mediante una solución 0.5 M HCl, agua, etanol y éter;¹⁶ de esta manera las proteínas o minerales solubles podrán difundirse hacia la solución ácida.¹⁴ La matriz ósea desmineralizada junto con las BMPs permanecen en la bolsa para diálisis, este contenido será sometido varios lavados¹⁶ y a procesos de filtración para remover restos celulares, algunas partículas sólidas y neutralizar al HCl.¹⁴

La matriz ósea previamente desmineralizada ahora ha cambiado su consistencia, de ser sólida ha pasado a ser gelatinosa, y por último bajo condiciones húmedas la matriz es tratada con agentes solubilizantes o extractores de BMPs que se encuentran en combinación con una sal neutra.^{16,14} Estos agentes derivan del grupo de las ureas y guanidinas,¹⁴ y son los siguientes 4M Gdn·HCl/50mM Tris, con pH 7.4; 8M urea /1M NaCl/50mM Tris, con pH de 7.4; 1% NaDodSO₄/50mM Tris, con un pH 7.4.^{16,17,41}

Todas las soluciones contienen inhibidores de proteasas: enzimas que de otra manera afectarían la integridad de la proteína, estos inhibidores son: 5mM benzamidina/ 0.1M 6-ácido aminohexanoico / 0.5mM fluoruro fenilmetilsulfunilo / 5mM n-etilmaleimida.^{16,17}

De esta manera las BMPs se depositan en la solución solubilizante. Dichas proteínas al combinarse con una sal cálcica como es el fosfato de calcio son precipitadas en la forma de un coprecipitado el cual después de ser sometido a varios lavados y ha procesos de centrifugación deberá ser evaluado para conocer su potencial osteogénico, y por último estar listo para usarse.^{14,16}

Este coprecipitado de BMPs y fosfato de calcio es usado en cirugías para corregir defectos óseos provocados por lesión traumática, tumoral, quística, infecciones y ausencia congénita de hueso.¹⁴

La matriz ósea está compuesta principalmente por colágena la cual ocupa el 90% de su constitución. El método empleado de urea o guanidina para

extraer las BMPs es efectivo pero lo hace en cantidades muy pequeñas, estamos hablando de menos de 1%. Sin embargo el Dr. Marshall Urist ha demostrado que las BMPs pueden ser extraídas más fácilmente si la consistencia de la matriz ósea se vuelve gelatinosa, procedimiento que ya ha sido descrito. Y es así que el 100% de las proteínas óseas morfogenéticas disponibles han sido removidas de la matriz previamente transformada en una estructura gelatinosa. La función que tales proteínas tienen en la formación del hueso queda demostrada, ya que la matriz ósea remanente al tratamiento pierde toda capacidad osteoinductiva.¹⁴

Se considera que dichas proteínas responsables del crecimiento y reparación normal del hueso se encuentran presentes tanto en la matriz como en la cortical del hueso y en condiciones normales están firmemente unidas a la colágena y a la matriz ósea.^{14,3,37}

Las **proteínas óseas morfogenéticas/proteínas osteogénicas(BMP/OPs)**, son factores de crecimiento y diferenciación que de acuerdo a la secuencia de aminoácidos constituyen un subgrupo perteneciente a la **superfamilia de los factores de crecimiento transformantes- β (TGF- β)**.^{25,3,40,42,20,43,8,35,44,15}

Ésta es una familia de factores de crecimiento y diferenciación⁴² involucrados en el desarrollo de tejidos y órganos.³ Tales eventos incluyen la proliferación, citodiferenciación, morfogénesis y organogénesis; dicho en otras palabras, se ha demostrado su expresión en el desarrollo embrionario de los tejidos esqueléticos y no esqueléticos lo que nos sugiere que tienen un papel importante durante la morfogénesis tisular de todo el organismo.. Entre estos tejidos se encuentran: las células germinativas, cabello, sistema urogenital, intestino, corazón y cerebro, dicha expresión permanece aún cuando el individuo alcanza la madurez.^{20,35,45,46,44,13} Algunas de sus funciones relacionadas con la síntesis de hueso son estimular la actividad de fosfatasa alcalina y síntesis de colágeno por los osteoblastos, síntesis de proteoglicanos por los condroblastos; además de ser un agente quimiotáctico para monocitos y promover la diferenciación de células neurales.⁴⁷

De manera particular se ha detectado que la **proteína osteogénica-1 (OP-1/BMP-7)** también se encuentra presente en tejidos embrionarios, entre los cuales se encuentran los tejidos esqueléticos, el epitelio de la corteza suprarrenal, túbulo renales, páncreas, el intestino y el cerebro en desarrollo,⁴⁴ además se ha demostrado que la Op-1 tiene función regeneradora y reparadora del tejido urogenital, neuronal y cardiovascular.¹³ Recientemente se ha reportado que la OP-1 es producida también por el epitelio mandibular en desarrollo y además induce la formación del cartilago de Meckel en roedores.⁴⁴

Solursh y cols han demostrado que la OP-1 no sólo es esencial para la formación del hueso y los tejidos antes mencionados, simplemente no se puede prescindir de su presencia en el desarrollo del globo ocular en los roedores, ya que dicho órgano no se formará en ausencia de OP-1.⁴⁴

Para poder detectar las fuentes de mRNA que codifica la OP-1 se realizan los exámenes de laboratorio Northern blot.^{36,18} De esta manera se ha podido identificar los sitios de síntesis de OP-1 durante la vida post-fetal, y se han encontrado los niveles más elevados de mRNA para OP-1 en el riñón; mientras que los tejidos que mostraron niveles considerables pero en menor cantidad que en este órgano son la vesícula, glándulas suprarrenales³ y el cerebro.⁴⁶ También se detectaron niveles de mRNA en la calvaria, pulmón, hígado y en el corazón,³ esta última información difiere con los hallazgos que Özkaynak y cols habían reportado tres años antes, en cuyo estudio demostraron la inexistencia de mRNA para OP-1 en el hígado y corazón.⁴⁶ Al margen de esto es evidente que en el riñón es donde predominan los niveles más elevados de OP-1.³

Es posible que la síntesis local de OP-1 en los tejidos óseos se encuentre por debajo de los límites detectables por los análisis de Northern blot. Sin embargo, debido al hecho de una mayor síntesis de mRNA para OP-1 detectada en los riñones pone a consideración el postular a este órgano como modulador del metabolismo del hueso, respondiendo de manera

endócrina³ a la necesidad de neoformación ósea mediante la regulación de la síntesis y/o secreción de OP-1, es así como por medio de la sangre la OP-1 será transportada hacia los sitios requeridos donde ejercerá su acción inductora sobre el hueso.³ Por otra parte podemos pensar que la síntesis renal de OP-1 obedece a funciones aún desconocidas que dicha proteína pudiera tener aparte de su participación en el metabolismo del tejido óseo.⁴⁶ Relacionado a este último aspecto tenemos la contribución de Griffith y cols. quienes nos dicen que debido al hallazgo de la presencia de OP-1 en el riñón y en la sangre dicha proteína pudiera tener un efecto terapéutico de la osteoporosis y otras enfermedades metabólicas del hueso.¹³

Es de particular interés considerar que en el año de 1931 Huggins haya demostrado el potencial osteogénico que tiene el epitelio del tracto urinario, pero dejemos que Huggins lo describa con sus propias palabras: "*he observado que al aproximar o colocar de manera quirúrgica epitelio de la vejiga urinaria sobre las fascias de miembros pertenecientes al tronco o cadera y extremidades, se lleva a cabo la formación de cantidades considerables de tejido óseo en un término de 10 ó 12 días, fenómeno que he denominado **osteogénesis epitelial** ."*⁴⁶

De manera reciente se cuenta con la evidencia que la inducción hacia tejido óseo no sólo está relacionada con el epitelio de la vejiga urinaria si no también con el epitelio placentario, por lo cual la OP-1 pudiera tener algún efecto regulador en la diferenciación celular en general, es decir, en todo el organismo.^{45,48}

La hipótesis acerca de funciones adicionales que pudiera tener la OP-1 a parte de la formación ósea, toma sentido al detectar niveles considerables de mRNA que codifica a OP-1 en riñón, glándulas suprarrenales, vejiga urinaria en la placenta humana y cerebro.⁴⁸

Por medios inmunohistoquímicos empleando anticuerpos de conejo policlonales se ha detectado la presencia de OP-1 en el cartílago, hueso, riñón, glándulas suprarrenales y en las membranas basales, reforzando aún

mas el hecho que además de inducir la formación de hueso esta proteína tiene un papel importante en la embriogénesis humana. La OP-1 mostró una gran afinidad para unirse al colágeno tipo IV predominante en las membranas basales.⁴⁸

Otro método para poder detectar la presencia de Op-1 es la inmunohistoquímica. Los experimentos realizados por Vukicevic y cols.⁴⁸ demostraron que la matriz y células mesenquimatosas fueron negativas inmunohistoquímicamente para OP-1 durante la fase de condensación de mesénquima que da lugar a la formación del precartilago. Sin embargo cuando se inició la formación de hueso endocondral los condrocitos hipertrofiados demostraron positividad para OP-1, la tinción presente en los osteoblastos y periostio fué intensa sobre todo cuando éstos se encontraban en la zonas de reabsorción de cartilago y formación de matriz ósea. Los mismos hallazgos fueron detectados en las regiones donde la osificación se llevó a cabo por mecanismos intramembranosos, sin embargo aquí la matriz ósea no mostró tinción alguna. En base a lo anterior podemos pensar que la Op-1 tiene un papel fundamental en las primeras etapas de formación de hueso por mecanismos endocondrales e intramembranosos.⁴⁸

Durante la 12a semana de desarrollo la OP-1 se encuentra presente también en la "corteza provisional" de la glándula suprarrenal. El epitelio de los túbulos proximales y distales del glomérulo renal muestran positividad para OP-1 durante la 8a y 14a semana de gestación. Los hallazgos obtenidos al examinar embriones de ratones de 13 días de nacidos por medio de los análisis de Northern blot en busca de mRNA para OP-1 demostraron que los niveles más elevados fueron encontrados en el riñón y glándulas suprarrenales lo que ha obligado a pensar o suponer que estos órganos pueden ser una fuente sistémica de OP-1 durante el desarrollo.⁴⁸

Con lo que respecta a las membranas basales, la tinción inmunihistoquímica para OP-1 fué intensa entre el epitelio y el mesénquima subyacente de varios órganos, por ejemplo, en el páncreas la OP-1 se localizó

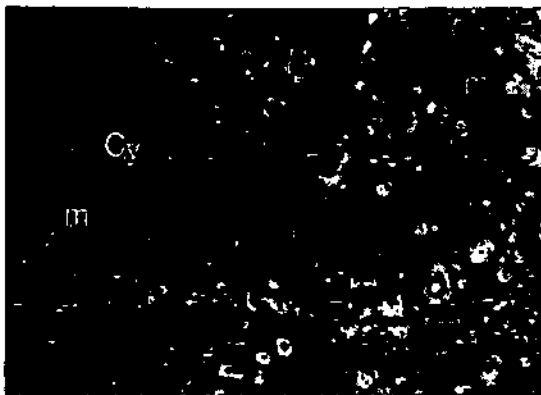
principalmente alrededor de los túbulos pancreáticos; en los pulmones la OP-1 se detectó en el epitelio de recubrimiento de los tallos y ramas bronquiales; en etapas tempranas del desarrollo la membrana basal localizada entre la epidermis y la dermis fué positiva para OP-1 . La hipótesis que postula a la membrana basal como un reservorio para las proteínas pertenecientes a la superfamilia de TGF- β permitiendo su liberación continua y sostenida además de protegerlas de la actividad proteolítica, como también que la OP-1 es fundamental en las primeras etapas del desarrollo embrionario humano está basada en la gran afinidad que dicha proteína tiene con el colágeno Tipo IV.⁴⁸

Las BMPs son proteínas *osteoinductivas* que en forma directa no pueden elaborar tejido óseo, si no más bien sirven como poderosas señales químicas capaces de atraer no sólo a células formadoras de hueso si no también a células progenitoras (células mesenquimatosas) hacia una matriz localizada en un defecto óseo además de inducir las para que lleven a cabo la síntesis de hueso nuevo mediante osificación endocondral lo que difiere de un proceso *osteoconduccion* en el cual no existe la fase condroblástica.^{37,1,5}

A parte de servir como agente quimiotáctico para células formadoras de hueso, la OP-1 también lo es *in vitro* para neutrófilos, monocitos y fibroblastos. Esto puede explicar el hecho que sucede al implantar muestras de esta proteína de manera subcutánea en el epitelio de las ratas, es decir, dentro de las primeras 24 horas se observa la acumulación de neutrófilos, monocitos y posteriormente la acumulación de fibroblastos de origen mesenquimatoso.^{15,41} Esto pone en evidencia que las primeras células en llegar debido al quimiotactismo producido por la OP-1 son los neutrófilos y monocitos, seguidos por los fibroblastos, sin embargo la OP-1 no es capaz de estimular las funciones fibrogénicas de los fibroblastos, esta última función será llevada a cabo por el TGF- β .^{22,15}

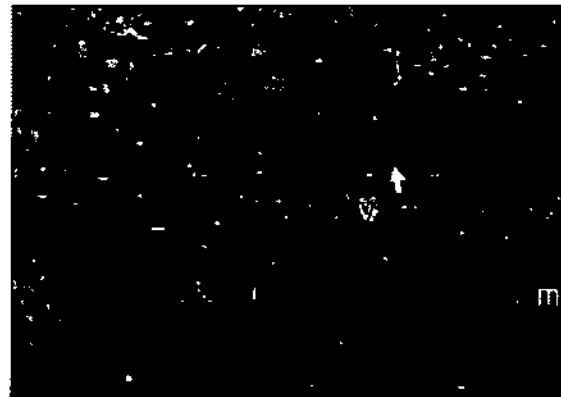
Pero también se ha demostrado que la rhOP-1 en combinación con un transportador que puede ser matriz ósea desmineralizada es capaz de inducir la actividad de la cascada de eventos celulares que culminará con la formación de hueso nuevo.¹⁵

Fig.23³



Microfotografía que muestra un dispositivo a base de 125 ng de rhOP-1 siete días después de haber sido implantado de manera subcutánea en roedores. Se puede observar una condrogénesis intensa, donde los condroblastos y condrocitos (Cy) están en íntimo contacto con la matriz (m) transportadora

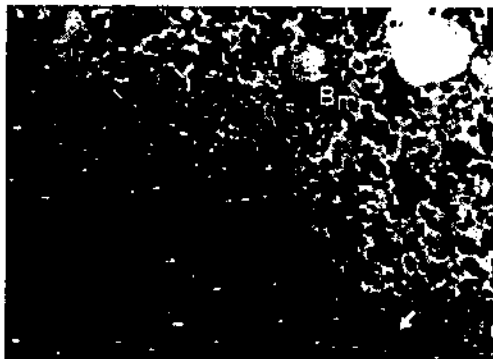
En un injerto con 50ng de rhOP-1 nueve días después de haber sido implantado, presenta calcificación del modelo cartilagosohipertrofia de condrocitos, invasión vascular (v) y el inicio de la formación de hueso nuevo





Pasados nueve días de haber colocado un injerto con 125ng de rhOP-1, se puede apreciar los osteoblastos basofílicos (indicados por las flechas) crecans a los vasos sanguíneos(v). Se puede observar células multinucleadas lo que sugiere el inicio de eventos de remodelación ósea.

Se muestra una gran formación y remodelación ósea a los 12 días después de haber colocado un injerto de 125ng de rhOP-1. Los osteoclastos (Oc) se encargan de remodelar la nueva matriz ósea. Se aprecian los primeros estadios de formación de médula ósea(Bm)



Después de haber permanecido 22 días implantdo el injerto con 500ng de rhOP1 muestra signos de diferenciación hematopoyética en la médula ósea (Bm) además que la mayor parte de la matriz transportadora ha sido reemplazada por pequeñas estructuras óseas que contienen precursores de eritrocitos, granulocitos y megacariocitos

Qué implica el mecanismo de inducción? Se conoce como inducción a la diferenciación celular atribuida al efecto físico-químico que tiene un tejido que está sobre y/o en contacto con otro. Un tejido es osteoinductivo cuando transmite proteínas de inducción ósea. Al hacer esto se produce la diferenciación de células mesenquimatosas hacia osteoblastos, procedimiento que en síntesis recibe el nombre de inducción ósea.¹⁴

La presencia de proteínas osteogénicas induce las secuencias de eventos celulares cuyo objetivo es la neo-formación de hueso,³ activando la cascada de osificación endocondral que involucra los siguientes eventos: quimiotaxis de células mesenquimatosas, proliferación celular, diferenciación e hipertrofia de condrocitos, invasión de vasos sanguíneos, calcificación de la matriz cartilaginosa, formación y remodelación del hueso, finalmente la diferenciación de la médula ósea hematopoyética en el nuevo núcleo osificante.^{16,3,35,45,41,17} A partir del nacimiento y durante toda la vida del individuo si existiese una lesión ósea el mecanismo de reparación del organismo será por medio de la formación de hueso endocondral.^{3,16} Se ha demostrado que la OP-1 actúa directamente sobre las células pre-osteoblásticas para modular su proliferación y diferenciación.³¹

Como parte del fenómeno de remodelación debe existir la diferenciación osteoclástica, Hentunen y cols. demostraron que la OP-1 incrementó de manera significativa la capacidad de la 1,25(OH)₂D₃ para inducir la formación de células pre-osteoclásticas y así la actividad de reabsorción ósea, además de postular que dicha combinación de factores pueda también participar en el reclutamiento de osteoclastos.⁴⁵ Sin embargo la presencia de calcitonina inhibió de manera notable la función de OP-1+vitamina D₃.⁴⁵ Para que estos efectos biológicos tomen lugar se entiende que es necesaria la interacción entre las proteínas osteogénicas y receptores de superficie localizados en la membrana celular. Existen dos tipos de receptores para la BMPs y son Tipo I y Tipo II, que estructuralmente son similares y poseen una actividad intrínseca serina/treonina.^{20,13}

*Esquema de un sistema de inducción
(OP-1)*

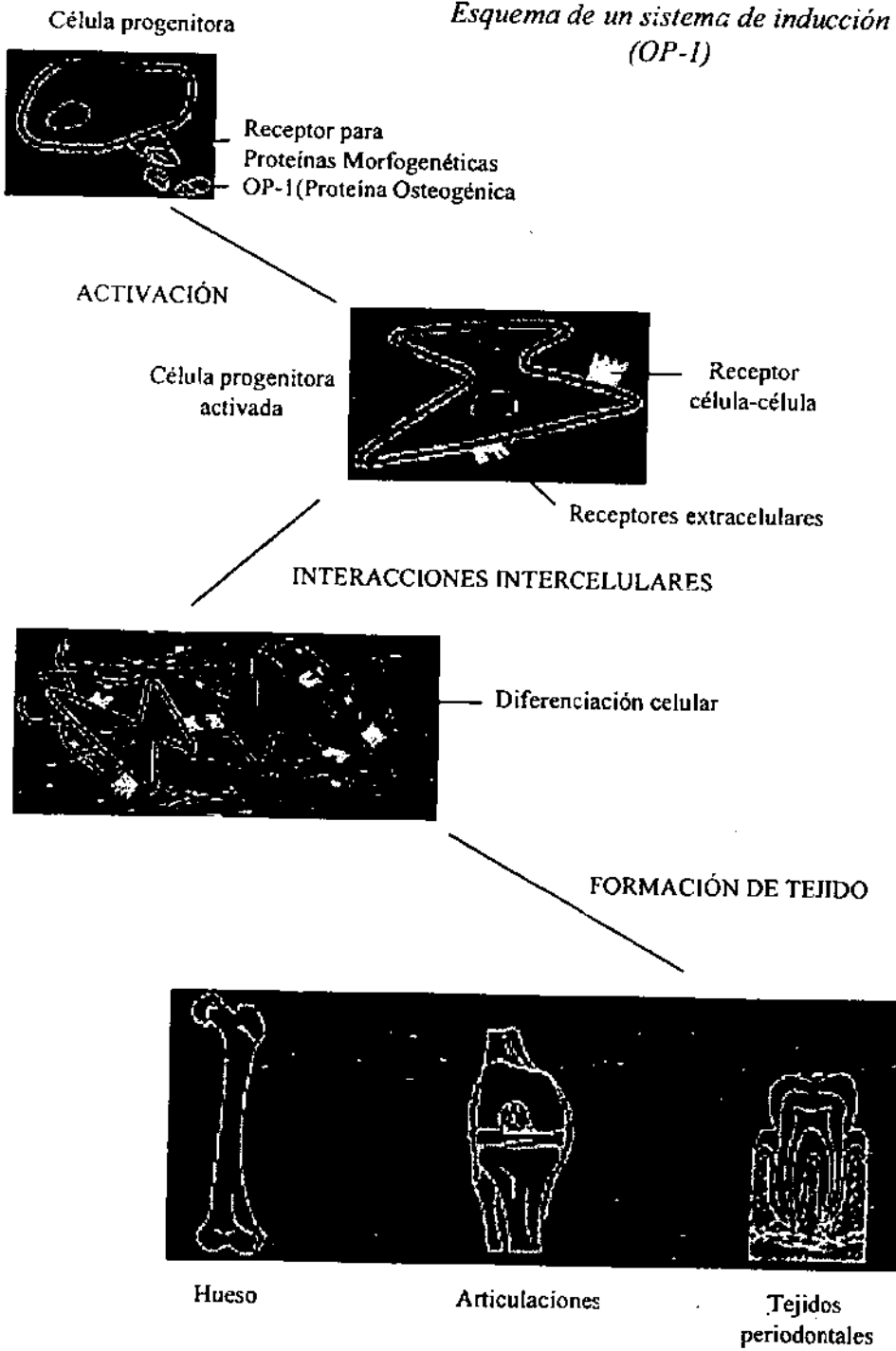


Fig.24⁵⁴

Existen dos subtipos de receptores Tipo I para las BMPs, designados como BMPR-IA (o ALK-3) y BMPR-IB (o ALK-6). Por otra parte solamente existe un subtipo de receptor tipo II y es BMPR-II.^{20,47} Una vez que se ha formado el ligando proteína-receptor la transducción de la señal requiere de la formación de complejos heteroméricos.^{20,15} Bajo la presencia del complejo BMPR-ligando, el receptor tipo II, que tiene actividad quinasa, fosforila y activa al receptor tipo I el cual desencadenará la cascada de eventos consecuentes a la interacción con las BMPs.²⁰ En estudios anteriores se ha reportado que la OP-1 comparte el receptor ALK-2 con la activina y que la unión con el receptor ALK-3 no es muy específica por lo tanto poco eficiente.⁴⁷ Hasta el año de 1994 se habían descubierto siete proteínas osteogénicas de las cuales sólo cuatro, al ser aplicadas en animales, han mostrado tener la capacidad de formar hueso en sitios ectópicos,² tales proteínas son: BMP-5, BMP-6, BMP-7 y BMP-2,^{18,37,1,5} sin embargo en el año en curso (1999) el número de éstas proteínas ha aumentado a 15 gracias a las numerosas investigaciones enfocadas en esta área.²⁰

Recientemente se han producido BMPs por medio de ingeniería genética utilizando la técnica de DNA recombinante.^{37,18,1,5,50,43,2,8,51,3,40} Las proteínas obtenidas por este método se pueden identificar por medio del siguiente símbolo rhBMP.⁵¹

Para poder realizar esta técnica requerimos del componente principal del *extracto de la matriz ósea*,⁵¹ el cual está formado por proteínas osteogénicas. En un estudio realizado por Wozney y cols. dichas proteínas derivaron de bovinos, que después de ser expuestas a procesos de purificación¹¹ y contar con grandes cantidades del extracto² es posible conocer la secuencia de aminoácidos que componen a la proteína.¹¹

Esta secuencia es utilizada para diseñar y sintetizar sondas oligonucleótidas³⁵ usadas para descubrir el genoma de las BMPs de bovinos. Estas sondas son clonadas y posteriormente usadas para con el objetivo de encontrar los equivalentes humanos para esta secuencia de

BMPs de bovinos, una vez que dichos equivalentes han sido establecidos las sondas son de nuevo clonadas y lo que obtenemos son cadenas de DNA complementario (cDNA) correspondientes a los polipéptidos integrantes de las BMPs,^{11,19,16,14,3,46,45,35} es por medio de esta técnica que podemos obtener grandes cantidades de BMPs.³⁵

Fig.25³

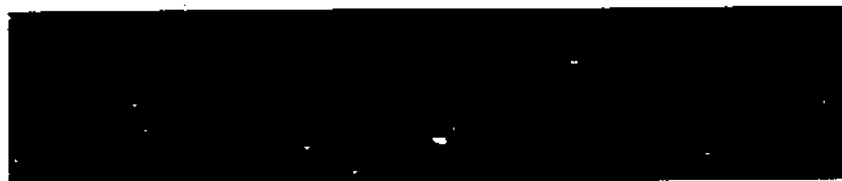
Regeneración de tejido óseo por medio de OP-1 en un defecto creado en la tibia de un primate



Radiografía tomada inmediatamente después de la cirugía en la que se muestra un defceto de 2.0cm de longitud en la tibia de un mono. Se colocó un poste intramedular para proveer de soporte



Después de 20 semanas éste es el aspecto de la completa restauración del defecto por medio de un injerto a base de rhOP-1.



Tibia de mono sin tratar (control)

Otro método para obtener cantidades considerables de esta proteína es introducir las cadena de DNA complementario en el núcleo de células que

preferentemente cuenten con numerosos ciclos mitóticos, por ejemplo: células ováricas de Hámster chino^{2,52,5,1} De esta manera se asegurará una producción elevada y estable de la proteína y. Por medio de la técnica de DNA recombinante se puede obtener cantidades ilimitadas de BMPs/OPs para su aplicación en la reparación, regeneración y reparación del hueso.³

Las proteínas obtenidas por este método poseen 95% de homogeneidad o de similitud en contraste con la forma natural de la proteína.^{1,5} Es alentador conocer que ninguna proteína osteogénica recombinante ha perdido la capacidad de reproducir la misma actividad biológica en términos cualitativos en comparación con sus homólogos naturales.^{1,5,51}

Existe una variante que es la BMP purificada (phBMP) obtenida a través de muestras óseas tomadas directamente de pacientes humanos, por el posible riesgo que esto implica, Bessho K. y cols. recomiendan el empleo de las proteínas recombinantes lo que nos asegura la calidad y seguridad del tratamiento.⁵¹

La forma en que la rhOP-1 induce la formación de hueso in vivo es dependiente de la dosis. Esto ha sido evaluado por medio de exámenes histológicos los cuales muestran que la formación de hueso por mecanismos endocondrales sucede en un lapso de 12 días empleando una dosis tan pequeña como 5-10 ng de hOP-1 contenidos en 25 mg de matriz ósea desmineralizada como transportador.⁵⁵ En los casos en los cuales se implantó la matriz de colágena en ausencia de OP-1 la única formación tisular observada fué la de tejido fibroso que eventualmente fué absorbido.⁵⁵

En aquéllos implantes que contenían cantidades mayores de hOP-1 (más de 1 μ de hOP-1/25 mg de matriz transportadora) la formación y desarrollo del hueso, remodelado y hematopoyesis tuvo lugar 3 - 5 días antes que la misma respuesta inducida por la matriz descalcificada.⁸ Incluso los injertos con cantidades mayores de OP-1 mostraron completa absorción de la matriz de colágena a los doce días después de haber sido colocado, mientras que

en los especímenes tratados con matriz en ausencia de OP-1, ésta fué absorbida de 18-21 días.⁵⁵

Para que el fenómeno de formación de hueso endocondral se lleve a cabo de manera apropiada la sola presencia de la proteína osteogénica-1 no es suficiente, se requiere de una matriz ósea desmineralizada en donde tales efectos tomen lugar.³

La matriz de colágena derivada del hueso actúa como una trama o un enrejado, para otros es considerado como un substrato que permite el anclaje y posterior proliferación de células mesenquimatosas,³ las cuales bajo influencia de la OP-1 se diferencian y elaboran hueso en el sitio receptor. Se ha observado que la matriz ósea desprovista de OP-1 es lentamente absorbida y la formación de hueso es nula.³

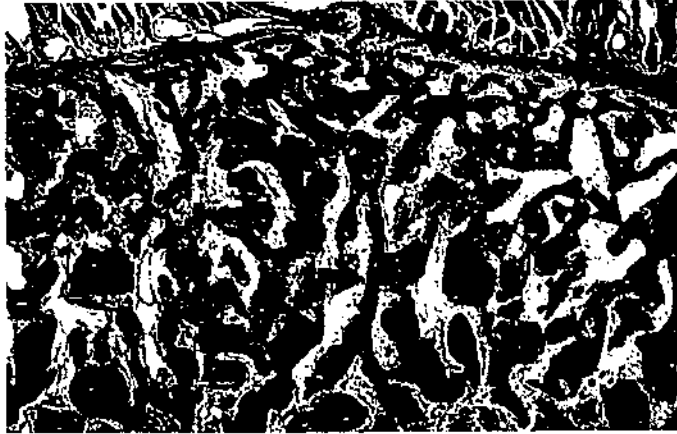
Con lo que respecta a las características de la matriz es importante señalar que una geometría relacionada con poros de diámetro uniforme que además nos permita contar con un tamaño de superficie adecuado será un substrato adecuado que permitirá albergar a las células mesenquimatosas.⁴¹

Los implantes elaborados con proteína osteogénica -1 actúan reclutando a las células mesenquimatosas cercanas a la zona del implante y de acuerdo a la dosis, durante los primeros 5 a 7 días inducen su diferenciación a condrocitos. Como resultado de la invasión de vasos sanguíneos los condrocitos se calcifican e hipertrofian y durante los primeros 9 a 12 días son reemplazados por hueso de nueva formación. Durante los días 14 a 21 el hueso mineralizado es sometido a remodelación y aparecen espacios medulares ocupados ya por tejido medular.³

Se han realizado estudios con cultivos celulares primarios de osteoblastos en los que se ha demostrado que la rhOP-1 induce un aumento en la proliferación celular y de igual manera en la síntesis de colágena. De manera específica la OP-1 estimula la síntesis y secreción de fosfatasa alcalina, y en respuesta a la acción de la hormona paratiroidea también la síntesis de

Fig.26⁸

Microfotografías de especímenes de Papión (*Papio ursinus*) tratados con 0.1mg de hOP-1.



Se aprecia la inducción hacia la diferenciación ósea mediante la formación de trabéculas óseas mineralizadas y cubiertas por capas de osteoide.



Una toma de mayor aumento en donde se aprecia las capas gruesas de osteoide cubiertas por osteoblastos (flechas negras) y además la aparición de células hematopoyéticas adyacentes a un seno cavernoso (flechas blancas).

adenosin monofosfato cíclico (cAMP), osteocalcina y la mineralización de la matriz ósea.^{3,55}

De acuerdo a los efectos sobre las células óseas se piensa que la OP- 1 estimulan la actividad y síntesis de receptores para los Factores de Crecimiento Derivados de Insulina (IGF), BP3 y BP5 y los inhibidores BP4. Por lo cual, mediante la estimulación de la síntesis de otros factores de crecimiento, las OPs/BMPs adquieren un papel significativo manteniendo la actividad local de las células óseas.³

Ya que las hormonas circulantes reguladoras del calcio también mantienen la síntesis y acción de los factores de crecimiento derivados del hueso, hemos evaluado la influencia que tienen la 1,25 dihidroxivitamina D, PTH (hormona paratiroidea) y dexamentasona al encontrarse en presencia o ausencia de OP-1. Se encontró que estas hormonas entre ellas incluimos a la hormona del crecimiento,⁵⁵ modulan en las células óseas la actividad de OP-1 y en algunas circunstancias se observó que en cultivos celulares la OP-1 modula la acción de dichas hormonas sistémicas.³

Se ha inyectado una suspensión coloidal de OP-1 sobre el periostio y endostio (como una sola aplicación de 2 ó 20µg de OP-1 en 100µl de una solución de fosfato salino por cada sitio de aplicación) lo que ha resultado en una nueva formación de hueso dentro de los primeros 4 a 7 días en el sitio de la aplicación la cual posteriormente mediante los mecanismos de remodelación incrementó su masa ósea.³

Puesto que la OP-1 ha demostrado inducir la formación in vivo de hueso nuevo, ha promovido el crecimiento de osteoblastos y mantenido su fenotipo in vitro, se postula que la OP-1 está involucrada en la homeostasis sistémica del hueso.³

Podemos decir que la proteína osteogénica-1 recombinante derivada de humanos cuando se encuentra en combinación con una matriz transportadora absorbible inicia el reclutamiento, anclaje, proliferación y

diferenciación de células mesenquimatosas. Además el hueso neo-formado contiene componentes medulares totalmente funcionales. Estos dispositivos a base de OP-1 pueden acelerar la reparación de fracturas, promover la osteointegración alrededor de implantes dentales metálicos, son un buen sustituto de autoinjertos para los tratamientos de la pérdida ósea masiva debido a trauma o neoplasias.³

Al evaluar todos los efectos de OP-1 se puede decir que posee el potencial terapéutico para ser considerado una opción de tratamiento en pacientes con enfermedades y/o defectos óseos.³

En estudios preclínicos realizados por Cook y cols. se ha evaluado la actividad de la proteína osteogénica-1 recombinante derivada de humanos para reparar defectos óseos en primates. Además de postular a este injerto como opción alternativa de los autoinjertos. Lo que puede reducir la hipersensibilidad, dolor y parestesia del sitio donante para hueso autógeno. El uso de autoinjertos de hueso puede verse limitado por la baja cantidad d que de éste puede ser obtenida especialmente en niños y en pacientes con historia previa de haber sido sometidos a este tipo de procedimientos quirúrgicos.¹ En este caso podríamos emplear los aloinjertos, sin embargo su uso es limitado ya que poseen ciertos inconvenientes como son un potencial osteogénico relativamente reducido además de mayor reabsorción en comparación con los autoinjertos y ser potenciales transmisores de infecciones, por ejemplo, se ha reportado la transmisión por medio de los aloinjertos del virus de inmunodeficiencia humana^{1,5} y de la hepatitis-C.¹ En este estudio se examinó el hueso neo-formado por medios radiográficos e histológicos mostrándose como hueso maduro, con una composición interna estable y haber mostrado una buena integración dentro de los límites originales de la corteza ósea.¹ El tiempo transcurrido para la formación y remodelado del hueso fué menor en comparación con los especímenes tratados con autoinjertos. El defecto ósea fué reparado por tejido mucho más estable y resistente a las fuerzas mecánicas en los especímenes tratados

con OP-1 en comparación con aquéllos que recibieron autoinjertos.¹ Por los resultados obtenidos Cook y cols. concluyeron que la proteína osteogénica-1 recombinante derivada de humanos puede ser un agente importante para el tratamiento por falta de unión entre segmentos óseos como también por la pérdida de segmentos de hueso.¹

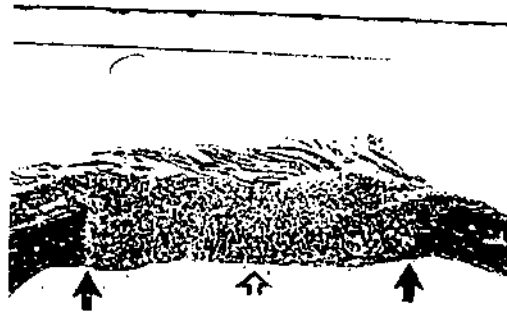
Otro aspecto abordado por Cook y cols. ha sido la falta o falla de unión que puede ocurrir en una cirugía reconstructiva o después de una fractura. En este estudio reportó que el uso de autoinjertos de esponjosa y cortical ósea son exitosos en un porcentaje variable entre 80 y 90%, pero es requerida una cirugía adicional, principalmente de cresta iliaca, para obtener el injerto.⁵ Lo que representa síntomas de dolor, hipersensibilidad o parestesia⁵ que ocurre en un 6 a 20% de los pacientes, un porcentaje entre el 3 a 9% presenta mayores complicaciones. En un estudio el 25% de los pacientes quienes fueron sometidos a cirugía de cresta iliaca para obtención de autoinjertos reportaron haber padecido dolor considerable durante un aproximado de cinco años posteriores a la cirugía.⁵ Por su parte los aloinjertos tienen un disminuido potencial de revascularización. La respuesta inmunológica del huésped puede comprometer el éxito del aloinjerto. Por lo que la congelación y el secado en frío son métodos que han sido empleados para disminuir dicho riesgo. En consecuencia también se reduce el poder de reclutamiento y diferenciación celular.⁵ En su estudio Cook y cols. crearon defectos de 2,5 cm de longitud en la ulna de conejos blancos neozelandeses en los cuales fueron colocados implantes de OP-1 (cuyas concentraciones variaron entre 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 300 y 400 microgramos de OP-1) en combinación con matriz ósea desmineralizada y libre de BMPs/OPs que funcionará como agente transportador.⁵ El estudio demostró que la proteína osteogénica-1 recombinante derivada de humanos es capaz de estimular cicatrización en defectos óseos de animales por medio de osteoinducción con propiedades físicas y mecánicas muy similares en comparación con el tejido formado bajo el estímulo de los extractos de matriz

ósea. El uso de la proteína osteogénica-1 recombinante derivada de humanos eliminará el riesgo de transmisión de infecciones y también el rechazo existente cuando se emplean materiales impuros. Es una buena opción en el tratamiento reconstructivo del hueso debido a traumas, neoplasias o infecciones y fracturas.⁵

El espectro que puede abarcar el tratamiento con injertos a base de OP-1 no sólo se limita a defectos en huesos largos. Ripamonti y cols. evaluaron la eficacia de una sola aplicación de proteína osteogénica-1 recombinante derivada de humanos para regenerar hueso en defectos óseos creados en la calvaria de papiones adultos (*Papio ursinus*). El agente transportador se elaboró a partir de matriz bovina y de papión. La matriz funcionará como un substrato insoluble y depositará la hOP-1 las cuales iniciarán la tan deseada respuesta osteogénica.⁸ Se observó que la inducción procedió desde la periferia hacia la parte central de los especímenes reconstituídos por hOP-1, además se hizo acompañar de una intensa angiogénesis como también de la migración de células mesenquimatosas hacia la matriz de colágena. El primer signo de reparación incluyó condrogénesis, hecho que indicó el proceso de regeneración por mecanismos endocondrales e intramembranosos.⁸ Como ya se ha indicado la diferenciación a osteoblastos, secreción de matriz osteoide y su mineralización se inició a partir de la periferia hacia el centro induciendo la formación de hueso trabecular. La diferenciación de la médula ósea comenzó a los 15 días después de haber colocado el injerto, lo que sugiere que la hOp-1 también posee actividad hematopoyética demostrada en este experimento con primates adultos. La regeneración completa se observó pasados 90 días, en donde las trabéculas dispersadas dentro del espacio medular unían la superficie pericraneal y endocraneal. La característica para que un substrato sea considerado óptimo es poseer una buena capacidad de adaptación al defecto como también debe restringir la formación de hueso únicamente al sitio quirúrgico, de esta manera provee una especie de contenedor donde

tomará lugar la neo-formación de tejido óseo y medular.⁸ Se ha postulado que las BMPs/OPs son iniciadores moleculares para la regeneración de defectos óseos. Por otra parte los hallazgos realizados por Shimasaki y cols²⁰ nos indica que dichas proteínas poseen otras funciones morfogénicas además de ser inductoras de tejido óseo.^{20,8}

Fig.27⁸ *Microfotografías de especímenes de papión cultivados con injertos óseos a base de hOP-1 en diferentes dosis, después de 30 días de haber colocado el injerto.*



A

Matriz colágena libre de hOP-1 (control) se puede notar la formación de hueso sólo en los extremos (flechas negras), sin embargo no existe diferenciación alguna en la parte central del espécimen (flecha blanca).



B

Injerto óseo a base de matriz de colágena de papión y hOP-1: se aprecia la formación de trabéculas en la parte central del espécimen



C

Especimen tratado con matriz colágena de bovino reconstituida con 0.1mg hOP-1 se observa la osteogénesis a lo largo del defecto. Nótese la presencia de tejido fibrovascular con restos de matriz inactiva (flecha blanca) localizado entre las superficies pericraneal y endocraneal.



D

Matriz colágena de papión reconstituida con 2.5 mg de hOP-1: aquí nótese la extensa formación de hueso que incluso ha separado las corticales extracraneal e intracraneal que además ha desplazado el músculo temporal (flecha negra). También se encuentran restos de matriz colágena en el centro del espécimen.

Fig.28⁸

Microfotografías de especímenes de pañón tratados con hOP-1 a 90 días de haber colocado los injertos.



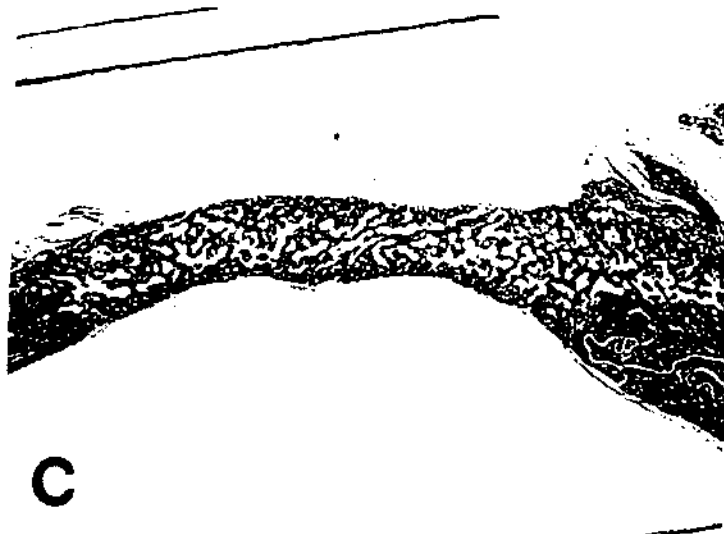
A

Matriz colágena de bovino sin hOP-1: se observa la limitada formación de hueso solamente en los extremos cercanos al tejido vivo.

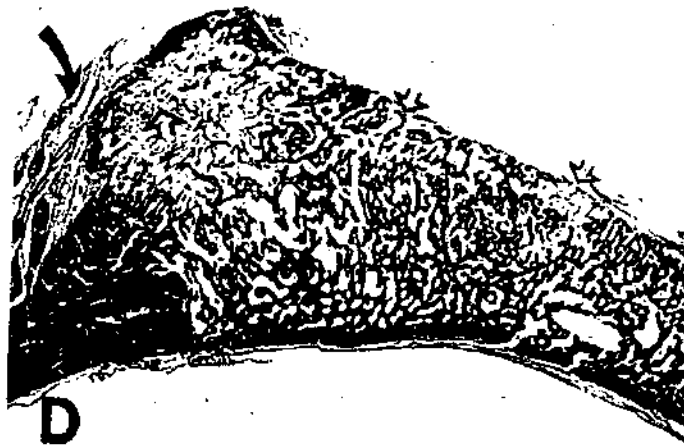


B

Matriz colágena de bovino reconstituida con 0.1mg hOP-1



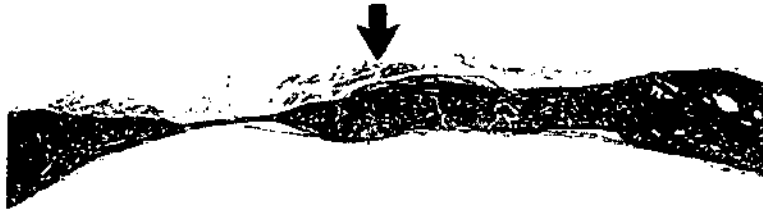
Matriz colágena de bovino reconstituida con 0.1mg de hOP-1



Es evidente la extensa respuesta osteogénica en este espécimen tratado con matriz colágena de bovino reconstituida con 2.5mg de hOP-1. Se puede observar (flecha negra) el desplazamiento del músculo temporal. Nótese que las trabéculas localizadas hacia la superficie endocraneal son un poco más voluminosas que las semejantes localizadas hacia la superficie extracraneal

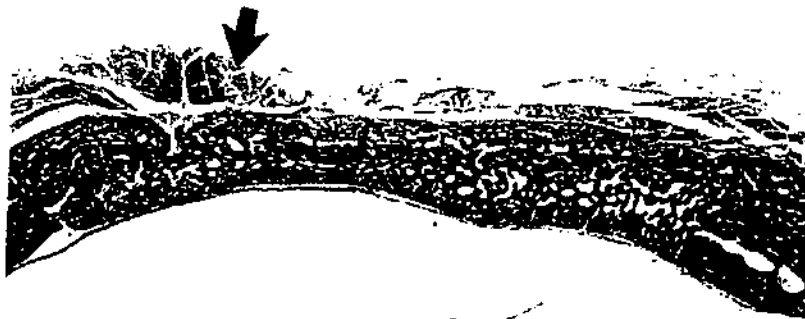
Fig.29⁸

Microfotografías de especímenes tratados con injertos óseos a base de matriz colágena de bovino reconstituida con diferentes concentraciones de hOP-1, después de 365 días de haber colocado el material.



A

Matriz colágena sin hOP-1



B

Matriz colágena reconstituida con 0.1mg de hOP-1.
El defecto ha sido totalmente reconstruido.



C

Matriz colágena de bovino reconstituida con 0.5mg de hOP-I.
El defecto ha sido totalmente reconstruido.



D

Especimen tratado con matriz colágena reconstituida con 2.5 mg de hOP-I
en la que se puede observar la completa integración del tejido óseo neoformado,
como también la reinsersión de las fibras del músculo temporal (flecha negra).

El procedimiento quirúrgico más común para lograr la estabilización de la columna vertebral es la fusión espinal posterior.² Lo cual puede provocar un alivio al disminuir los síntomas en pacientes con artritis vertebral degenerativa, scoliosis sintomática o inestabilidad que es percibida después de una cirugía espinal o durante una disectomía. El fracaso para lograr una fusión espinal resulta en un elevada morbilidad que puede inducir a pseudoartrosis en un porcentaje que varía entre 5% a 40% de los casos tratados. Los injertos autógenos de cortical y esponjosa obtenidos de la cresta ilíaca son la elección para realizar una cirugía de fusión espinal. El procedimiento generalmente es exitoso sin embargo es imperativo una cirugía adicional. Cook y col. experimentaron con injertos a base de rhOP1 para lograr fusión espinal en caninos. Demostró que puede ser ésta una opción efectiva al empleo de los autoinjertos y aloinjertos eliminando los riesgos que implica cada uno de estos opciones. Los resultados de los exámenes radiográficos, mecánicos e histológicos demostraron que los injertos de rhOP-1 incrementaron de manera significativa el ritmo del desarrollo estructural del hueso como también la estabilidad funcional en comparación con los resultados obtenidos al emplear autoinjertos de hueso. Por medio del análisis radiográfico e histológico de las muestras de especímenes tratados con rhOP-1 se pudo constatar una mayor y más rápida formación, incorporación y remodelado óseo en comparación con los especímenes tratados con autoinjertos.²

Una cuestión obligada sería indagar si las BMPs y específicamente los injertos óseos elaborados a base de rhOP-1 tienen alguna aplicación en la regeneración de hueso alveolar. Giannobile y cols. investigaron la acción de la rhOP-1 para regenerar hueso en defectos de furca clase III. Quien en su estudio nos revela que la investigación por el desarrollo de moléculas y materiales bioactivos lleva más de una década. Los objetivos de tales investigaciones ha sido la regeneración del periodonto, compuesto por hueso

alveolar, cemento y ligamento. Las opciones comunes de tratamiento periodontal incluyen injertos óseos y regeneración guiada de tejido. Pero en varios casos clínicos existe incertidumbre acerca de los posibles resultados al emplear tales procedimientos regenerativos. Por lo cual prevalece la espera por desarrollar nuevas terapias que nos aseguren un mejor pronóstico en el campo restaurativo. Durante la última década el descubrimiento de la clonación de ciertos miembros de la superfamilia de factores de crecimiento transformantes beta (TGF- β) ha concentrado la atención para el desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas enfocadas a la regeneración de hueso.⁴³ Se tiene conocimiento que una de las proteínas pertenecientes a las BMPs posee una poderosa capacidad para promover la mitogénesis y diferenciación osteoblástica, tal proteína es OP-1(BMP-7). Si los fibroblastos del ligamento periodontal presentes en cultivos celulares son expuestos a la presencia de OP-1 se incrementa la actividad de la fosfatasa alcalina, la cual a su vez dependerá de la dosis. OP-1 estimula e induce la neoformación de hueso en sitios óseos como ectópicos, además también se ha demostrado que induce la formación de dentina de reparación y hueso alrededor de los implantes. Los resultados obtenidos en estos experimentos en los que se ha evaluado la actividad de OP-1 nos indican que dichas proteínas podrían modular la osteogénesis y cementogénesis en lesiones periodontales. Sin embargo se reconoce que aún existe limitada información acerca de los efectos de OP-1 en la regeneración de tejido periodontal. Al emplear injertos de OP-1 con matriz de colágena como vehículo, en caninos a los cuales se les creó un defecto de furca clase III, nos podemos dar cuenta que tales injertos son un mediador muy importante para la cicatrización de lesiones periodontales in vivo.⁴³ Las BMPs son una clase de proteínas que inducen profundos efectos sobre la diferenciación celular y homeostasis del hueso:

- actúan como mitógenos sobre células mesenquimatosas indiferenciadas y también sobre los precursores de osteoblastos

- inducen la expresión del fenotipo osteoblástico, es decir, aumentando la actividad de fosfatasa alcalina por parte de las células óseas.
- actúan como agentes quimiotácticos para las células mesenquimatosas y los monocitos.^{43,15}

Giannobile y cols. concluyeron que OP-1 demostró tener efectos potentes relacionados con la inducción de tejido periodontal en lesiones agudas, en este experimento la anquilosis demostró ser un suceso relativamente infrecuente.⁴³

Fig.30⁴³

Colocación de un dispositivo a base de OP-1 en defectos supraalveolares creados de manera quirúrgica en dientes de caninos.



Se observan defectos Clase III de 5mm en sentido ápico-coronal, que después de haber levantado un colgajo se procedió a eliminar el cemento y ligamento periodontal naturales dejando las raíces totalmente libres.



Se procede a colocar el dispositivo osteoinductor de OP-1 vehículo de colágeno para llenar los defectos óseos. El material ocupó la totalidad de los espacios en cada una de las tres muestras. La cantidad de material fue de un aproximado de 40 a 70 mg.



Se empleó sutura ePTEF para elaborar los puntos y colocar el colgajo de nuevo en su lugar. El colgajo se colocó de 1 a 2mm sobre la línea CE.

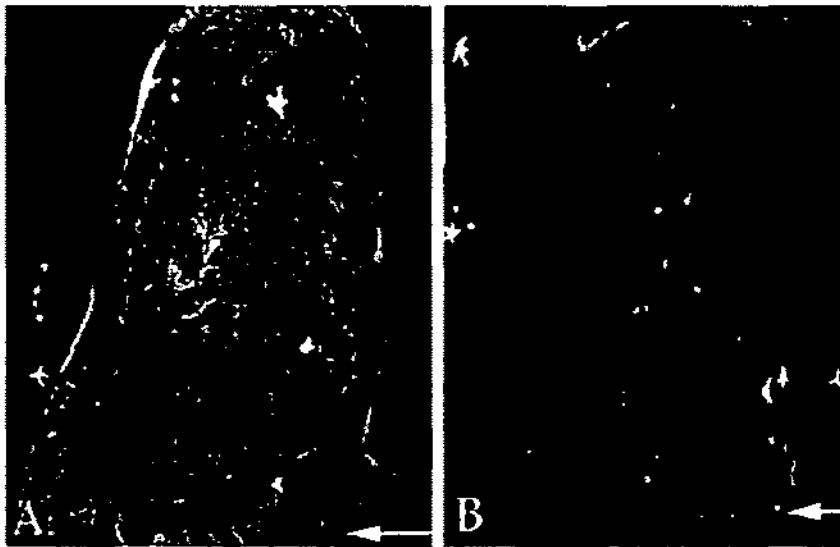
El mecanismo regenerativo incluyó la neoformación de hueso, cemento y ligamento periodontal. No obstante se reconoce que es requerida mayor investigación enfocada a los posibles efectos de OP-1 en la regeneración de lesiones periodontales.⁴³

El descubrimiento y perfeccionamiento de las técnicas de purificación y clonaje de las proteínas pertenecientes a la familia de BMP (de la BMP-2

Fig .31⁴³ Cortes sagitales para examinación histológica de la cicatrización natural y de los especímenes dentales caninos tratados con OP-1.



Respuesta natural regenerativa después de transcurridas 8 semanas del procedimiento quirúrgico. La flecha blanca representa el nivel de la cresta ósea inmediatamente después de la cirugía. Nótese la mínima formación de hueso en sentido coronal del defecto óseo. La lesión se encuentra ocupada casi en su totalidad por tejido conectivo denso fibroso.



Estimulación de cicatrización periodontal 8 semanas después de la cirugía con aplicación de OP-1 incluida en un vehículo de colágena. Las flechas indican el nivel de la cresta ósea inmediatamente después de la cirugía.

A. Efecto creado con 0.75mg/g OP-1

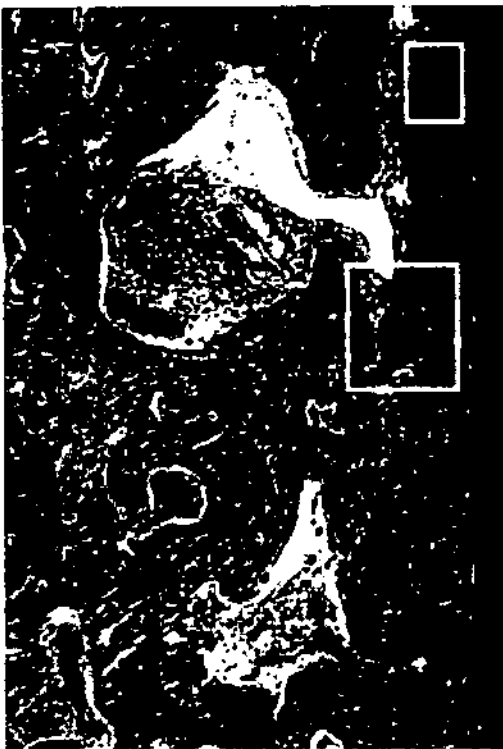
B. Efecto creado con 2.5mg/g OP-1.



La dosis de 7.5 mg/g de OP-1 demostró los mejores resultados en términos de respuesta regenerativa del periodonto. Se puede observar que existe abundancia de hueso maduro llenando por completo el defecto.

Fig.32 ⁴³

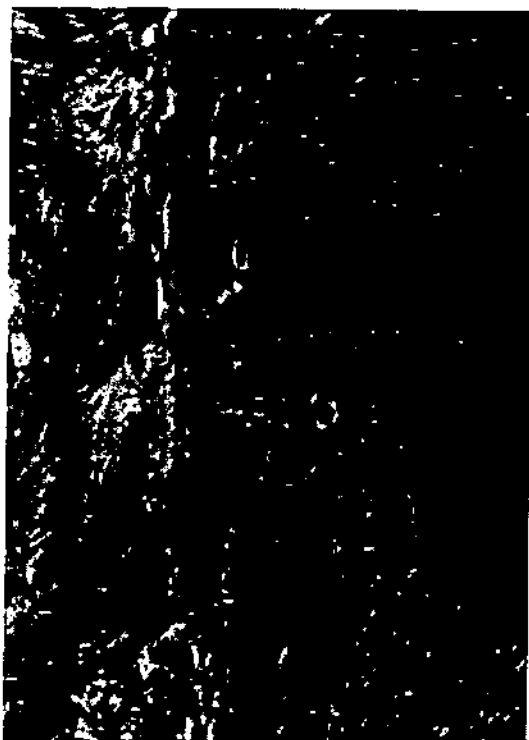
Estimulación de osteosíntesis, cementogénesis y nuevas inserciones del ligamento periodontal en especímenes de dientes caninos tratados con 7.5mg/g OP-1



Se puede observar una abundante formación de tejido óseo como también numerosos osteocitos sumergidos en la matriz mineralizada.



Esta es la zona marcada dentro del recuadro en la fig A. Se puede distinguir una gruesa capa de cemento con fibras periodontales orientadas perpendicularmente desde las raíces hacia la pared alveolar adyacente



Se puede observar áreas de reabsorción localizadas dentro de la dentina adyacente a la interface cemento/dentina

hasta BMP-6, y de OP-1 y OP-2) ha creado un nuevo campo de investigación para esclarecer o entender más acerca de los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo y regeneración ósea.⁵⁰ Inclusive la detección de ciertos niveles de expresión de BMP/OP en otros sistemas de desarrollo y órganos inherentes al organismo, además de su acción ya bien conocida sobre el tejido óseo nos indica que esta familia de proteínas son importantes durante el desarrollo y organogénesis. La expresión de OP-1 durante la morfogénesis del diente nos indica que durante la vida post-natal éstas proteínas pueden ser usadas para la reparación y crecimiento de dentina como también de tejidos periodontales.⁵⁰ Se ha documentado la expresión de niveles elevados de BMPs/OPs durante la morfogénesis del diente.⁵⁰

En base a lo anterior se postula que tales proteínas pudieran también inducir tanto la cementogénesis como la síntesis, ensamblaje y orientación de las fibras periodontales. Es así como se evaluó la función que tiene la OP-1, en unión a un transportador de colágena, sobre la inducción y reparación de defectos en furca creados en papiones (*Papio ursinus*). Los resultados obtenidos de este experimento demuestran que la OP-1 induce la cementogénesis sobre superficies radiculares denudadas, fenómeno que fue acompañado por regeneración del ligamento periodontal. Aún se necesita mayor investigación concerniente al efecto de BMPs/OPs sobre el tejido periodontal dando por hecho que esto también involucra a sus células.

La disposición de cantidades considerables de hOP-1 permitirá examinar su posible potencial terapéutico en medicina ortopédica, en algunos procedimientos de cirugía plástica, como también en cirugías reconstructivas y periodontales.⁸

CONCLUSIONES

Hemos detallado la función de la **proteína osteogénica-1** también conocida como **bone morphogenetic protein 7**, no sólo en lo concerniente a su gran potencial involucrado en la regeneración y crecimiento del tejido óseo, si no también hemos abordado algunas interacciones que de acuerdo a su origen o naturaleza poseen en algunos otros órganos del cuerpo humano.

Esta proteína se encuentra muy bien conservada en las especies terrestres mamíferas, por lo cual se ha contado con la materia prima (hueso) para poder extraer, purificar, clonar y finalmente obtener grandes cantidades de OP-1 mediante la técnica de ADN recombinante. Sin embargo como hemos visto esto no lo es todo, cuando la OP-1 se combina con una matriz transportadora absorbible y esta ya reconstituída es colocada sobre el defecto óseo es capaz de iniciar el reclutamiento, anclaje o adherencia, proliferación y diferenciación de las células mesenquimatosas. Esto tiene el objetivo de formar hueso nuevo con medula ósea plenamente funcional.

Los injertos a base de OP-1 son capaces de reemplazar a los injertos que comúnmente se han estado empleando en situaciones como defectos y/o deficiencias del tejido óseo.

La seguridad de los procesos para obtener la OP-1, purificarla y clonarla nulifican el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, hecho cuya probabilidad que suceda está incrementada mediante el uso de los aloinjertos.

Estos dispositivos han demostrado regenerar el hueso con mayor rapidez e inclusive con mejor calidad cuando se les compara con los resultados obtenidos al usar autoinjertos.

También pueden promover la osteointegración alrededor de los aditamentos protésicos metálicos.

En casos de una severa pérdida de hueso debido a los efectos de neoplasias, los injertos de OP-1 podrían bien reemplazar a los aloinjertos y al mismo tiempo acelerar el proceso neo-formación del hueso.

En resumen este tipo de biomaterial ha demostrado ser confiable al menos todavía en la fase experimental para poder en un futuro cercano ser considerado como una excelente opción terapéutica en total beneficio de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Cook Stephen D, Wolfe Michael, Samantha L. Salkeld, Rueger C. David.** Effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of segmental defects in non - human primates. *The Journal of Bone and Joint Surgery.* 77-A, no. 5, pp734-750, May 1995 .
2. **Cook Stephen, Dalton E.Jeanette, Tan Edward, Whitecloud S. Thomas, Rueger C. David.** *Spine, Vol. 19, No. 15, pp1655-1663. 1994.*
3. **Sampath Kuber T, Rueger David C.** Structure, function, and Orthopedic Applications of Osteogenic Protein-1 (OP-1). *Complications in Orthopedics. Recent Reports.* 9, no.4, Invierno, pp101-107. 1994.
4. **INTERNET**
<http://www.oral-implant.com/BGsinus.htm>
5. **Cook Stephen, Baffes, Gregory Wolfe. Michael, Sampath T Kuber, Whitecloud Thomas.** The effect of recombinant human osteogenic protein-7 on healing of large segmental bone defects. *The Journal of Bone and Joint Surgery.* 76-A, no. 66, pp 827-838. June 1994. .
6. **Takahashi Toshiyuki, Tominaga Teiji, Watabe Noriaki, Yokobori Toshimitu, Sasada Hiroshi, Yoshimoto Takashi.** Use of porous hydroxyapatite graft containing recombinant human bone morphogenetic protein-2 for cervical fusion in a caprine model. *J Neurosurg (Spine)* 90:pp224-230, 1999
7. **INTERNET**
W-C US Patent No_4563350 Inductive collagen based bone repair preparations.htm
8. **Ripamonti Ugo, Van Den Heever Barbara, Sampath Kuber, Tucker Marjorie, Rueger David, Redüi Hari.** Complet regeneration of bone in the Baboon by recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1, bone morphogenetic protein-7. *Growth Factors, Vol. 123., pp273-289.*

9. INTERNET

<http://gbsystems.com/papers/general/c05297.htm>

10. **Urist Marshall, Delange Robert, Finerman G.A.M.** *Science*, 220: pp680-686,1983.
11. **Wozney M John, Rosen Vicki, Celeste J Anthony, Mitsock M Lisa, Whitters J Matthew, Kriz W Ronald, Hewick M Rodney, Wang A Elizabeth.** Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 242: pp1528-1534, 1998.
12. **Knutsen Raymond, Wergedal E Jon, Sampath Kuber, Baylink J David, Mohan Subburaman.** Osteogenic protein-1 stimulates proliferation and differentiation of human bone cells in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Vol.,194, No. 3, pp1352-1358 Agosto, 1993.
13. **Griffith Diana, Keck Peter, Sampath Kuber, Rueger David, Carlson William.** Three-dimensional structure of recombinante human osteogenic protein-1: structural paradigm for the transforming growth factor β superfamily. *Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A.* Vol. 93,pp 878-883, January, 1996.
14. INTERNET
W-C US Patent no_4294753 Bone morphogenetic protein process.htm
15. **Postlethwaite Arnold, Raghov Rajendra, Stricklin George, Ballou Leslie, Sampath Kuber.** Osteogenic protein-1, a bone morphogenetic protein member of the TGF- β superfamily, shares chemotactic but not fibrogenic properties wiyh TGF- β . *Journal of cellular physiology*. Vol 161: pp562-570. 1994.
16. **Sampath K.T., Reddi H.A.** Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. Vol.,78, No12, pp 7599-7603, December, 1981.

17. **Sampath K.T., Reddi H.A** Homology of bone-inductive proteins from human, monkey, bovine, and rat extracellular matrix. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. Vol.,80, pp6591-6595, November 1983.
18. **INTERNET**
W-C US Patent No_5182365 Osteogenic proteins.htm
19. **Urist Marshall R, Mikulski, Lietze Arthur.** Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*. Vol.,76, No.4, pp.1828-1832, April 1979.
20. **Shimasaki Shunichi, Zachow Rob J, Li Danmei, KimHolly, Iemura Shun-ichiro, Ueno Naoto, Sampath Kuber, Chang Jeffrey, Erickson Gregory F.** A functional bone morphogenetic protein system in the ovary. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* Vol.,96, pp,7282-71287, June 1999.
21. **Geneser,** Histología. México, D.F. , Editorial Médica Panamericana. p17-30. 1992.
22. **Vaughan Janet M,** The physiology of bone. Inglaterra. Oxford University Press. p 1-76, 246-250. 1970.
23. **Lesson, Lesson ,** Texto /atkas de histología. México. Editorial Interamericana. p167-189. 1988.
24. **Patten Bradley,** Human embriology. U.S.A. The Blakiston Company Inc. 2nd. p248-286.1953
25. **Robbins Stanley L.** Patología estructural y funcional. México. Editorial Interamericana.p 72-84, 1385-1391.1990
26. **Editado por Leon Weiss,** Cell and tissue biology atextbook of histology. U.S.A. Urban & Schwarzenberg. p218-238. 1983.
27. **The developing human, clinically oriented embriology.**Philadelphia, U.S.A. W.B. Saunders Co. 4th p334-343. 1988
28. **Cormack David H.** Introduction to histology. U.S.A. J.B. Lippincott. p164-190. 1984.

29. **Wendell Smith, et al.** Embriología humana. México. Editorial Interamericana. 3ª . p106-114.1985.
30. **Ganong W.,** Fisiología médica. México. Editorial El Manual Moderno. 9ª . p324-334. 1984.
31. **Kubler NR.** Osteoinduction and reparation, *Mund-,Kiefer-Und Gesichtschirurgie* 1(1):2-25,1997 Febrero. (ABSTRACTO)
32. **Ayers Reed A,Simske Steven J, Nunes Christa R, Wolford Larry M.** Long term bone ingrowth and residual microhardness of porous block hydroxyapatite implants in humans. *J.Oral Maxillofacial Surg* 56, pp1297-1301. 1998.
33. **Apuntes de Cirugía Bucal del 4º año de la carrera de cirujano dentista en la clase del Dr. Gustavo Durón Araujo.**
34. **Davies JE.** Mechanisms of endosseous integration.*International Journal of Prosthodontics* 11(5):391-401, Sep-Oct. 1998 (ABSTRACTO)
35. **Wozney J.M., Rosen V, Byrne M, Celeste A.J, Moutsatsos i., Wang A.,** Growth factors influencing bone development. *J. Cell Sci. Suppl.* 13, pp149-156, 1990.
36. **A.J., Iannazzi J.A.,Taylor Robin C.,Hewick Rodney, Rosen Vicki, Wang Elizabeth A, Wozney John.** Identification of transforming growth factor β family members presente in bone-inductive protein purified from bovine bone. *Proc.Natl. Acad. Sci. U.S.A.* Vol. 87, pp.9843-9847, December. 1990.
37. **Paramore G,Christopher, Laurysen Carl, Rauzzino M.J, Wadlington Van R, Palmer Cheryl A, Brix Amy, Cartner Samuel C, Hadley Mark N.** The safety of OP-1 for lumbar fussion with decompression - a canine study.*Neurosurgery.* Vol.44 No5, pp1151-1156 May, 1999.
38. **Urist, M.R.,** Bone formation by autoinduction. *Science*, 150: pp893-899, 1965.

39. **Kusumoto K., Bessho K., Fujimura K., Akioka J, Ogawa Y., Iizuka T. N.** Prefabricated muscle flap including bone induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2: an experimental study of ectopic osteoinduction in a rat latissimus dorsi muscle flap. *British Journal Of Plastic Surgery.* 51, pp275-280. 1998.
40. **Cunningham B., Masahiro K, Parker Larry, Weis James, Seftor John, Fedder I, McAfee Paul.** *Spine.* Vol. 24, No 6, pp 509-518. 1999
41. **Wang Elizabeth, Rosen V, Cordes P, Hewick M R, Kriz J M, Luxenberg D, Sibley B, Wozney J.** Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol.85,pp.9484-9488, December 1988.
42. *INTERNET*
W-C US Patent No_4795804 Bone morphogenetic agents.htm
43. **Giannobile William V, Ryan S, Shih M-S, Ling Su D, Kaplan P L, Chan T.C.K.** Recombinant human osteogenic protein-1 (OP-1) stimulates periodontal wound healing in class III furcation defects. *J periodontol.* Vol 69, No 2, pp129-137.1997.
44. **Solursh Michael, Langille R, Wood J, Sampath K.T.** Osteogenic protein-1 is required for mammalian eye development. *Biochemical and biophysical research communications* 218, pp438-443, 1996.
45. **Hentunen Teuvo A, Lakkakorpi P, Tuukkanen J, Lehenkari P, Sampath K.T, Väänänen K.H.** Effects of recombinant human osteogenic protein-1 on the differentiation of osteoclast like cells and bone resorption. *Biochemical and biophysical research communications.* Vol. 209, No 2, pp433-443, April, 1995.
46. **Özkaynak Engin, Schnegelsberg P.N.J, Oppermann H.** Murine osteogenic protein-1: high levels of mRNA in kidney. *Biochemical and*

- biophysical research communications*. Vol. 179, No 1, pp116-123, Agosto, 1991.
47. **Dijke Peter ten, Yamashita H, Sampath K.T, Hari Reddi A, Estevez M, Riddle D, Ichijo H, Heldin Carl-Henrik, Miyazono K.** Identification of type I receptors for osteogenic protein-1 and bone morphogenetic protein-4. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 269, No,25, June 24, pp16985-16988, 1994.
48. **Vukicevic Slobodan, Visnja L, Ping C, Roberta B, Reddi A.H., Sampath K.T.** Localization of osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) during human embryonic development: high affinity binding to basement membranes. *Biochemical and biophysical research communications* Vol.198, No2, January 28, pp693-700, 1994.
49. **INTERNET**
<http://www.op1.com>
50. **Ripamonti U, Heliotis M, Rueger D.C., Sampath K.T,** Induction of cementogenesis by recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1/BMP-7) in the baboon (*Papio ursinus*).*Archs oral Biol*. Vol.41, No 1, pp 121-126, 1996.
51. **Kusumoto K., Bessho K., Fujimura K., Akioka J, Ogawa Y., Iizuka T. N.** Comparison of recombinant and purified human bone morphogenetic protein. *British Journal of oral & Maxillofacial Surgery*. Vol.37, pp 2-5, 1999.
52. **Wang Elizabeth A, Rosen V, D'Alessandro J, Bauduy M, Cordes P, Harada T, Israel D, Hewick r, Kerns K, La Pan P, Luxenberg D, McQuaid D, Moutsatsos I, Nove J, Wozney J.** Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* Vol. 87, pp 2220-2224, March 1990
53. **Fawcett D. Wayne.** Bloom and Fawcett a textbook of histology. U.S.A. W.B. Saunders Co. 11th . p239-245. 1986.

54. *INTERNET*

www.bionximplants.com

55. **Sampath Kuber T, Maliakal J.C, Hauschka P, Jones K.W, Sasak H, Tucker F.R, White H.K, Coughlin E.J, Tucker M.M, Pang H.L.R, Corbett C, Özkaynak E, Oppermann H, Rueger C.D.** Recombinant human osteogenic protein-1 (hOp-1) induces new bone formation *in vivo* with a specific activity comparable with natural bovine osteogenic protein and stimulates osteoblasts proliferation and differentiation *in vitro*. *The journal of Biological Chemistry*. Vol. 267, No 28, Issue october 5,pp. 20352-20362. 1992.