



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROTEÍNA MORFOGENÉTICA ÓSEA RECOMBINANTE HUMANA:
UNA ALTERNATIVA PARA REGENERACIÓN ÓSEA EN
PERIODONCIA.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

KARLA YAZMÍN SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

TUTOR: C.D. RODRIGO NERIA MAGUEY



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres, Raquel y Eduardo, por todo el apoyo, esfuerzo, amor y sobre todo, por creer en mí, ya que sin ello no habría podido llegar a ser lo que soy ahora.

A mis hermanos, Edgar y Carlos, por estar a mi lado apoyándome en todo momento y alentándome a seguir siempre adelante.

A ti Bram, por todo el apoyo incondicional que me brindaste, por tu infinito amor y por ser mi compañero en casi toda esta etapa que hoy concluyo.

Al Dr. Rodrigo, por ser mi guía en este trabajo, por la paciencia y el tiempo que me dedicó.

A mis abuelos, por su cariño y por el hecho de que siguen a mi lado.

A mis tíos y tías, por estar siempre al tanto de mí y ofrecerme su ayuda cuando lo necesitaba.

A todos mis primos, por los momentos compartidos desde pequeños y ahora que estamos en otra etapa de nuestras vidas, pero siempre juntos.

A todos mis amigos, desde los más añejos hasta los más recientes, por estar conmigo y apoyarme.

Por último, a todos los que voluntaria e involuntariamente contribuyeron a mi formación profesional, siendo los primeros de muchos pacientes que espero ver a lo largo de mi vida.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	6
2.- PROPÓSITO.....	6
3.- OBJETIVO.....	7
4.- TEJIDO ÓSEO.....	8
4.1.Osteogénesis.....	8
4.1.1.Osificación intramembranosa.....	9
4.1.2.Osificación endocondral.....	10
4.2. Componentes celulares y de la matriz ósea.....	11
4.3. Componentes estructurales.....	15
5.- REGENERACIÓN OSEA.....	18
5.1. Definición de regeneración, cicatrización y remodelación.....	18
5.2. Injertos óseos.....	20
5.2.1. Mecanismos biológicos.....	20
5.2.1.1. Osteogénesis.....	20
5.2.1.2. Osteoinducción.....	21

5.2.1.3. Osteoconducción.....	21
5.3 Clasificación de injertos óseos.....	21
6.- PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS ÓSEAS (BMPs).....	24
6.1. Factores de crecimiento.....	24
6.1.1. Cascada de señalización celular.....	27
6.2. Generalidades de las BMPs.....	29
6.3. Clasificación de las BMPs.....	31
6.4. Cascada de señalización de las BMPs.....	32
6.5. Antecedentes de la Rh-BMPs.....	34
6.6. Mecanismo de acción de Rh-BMP.....	36
6.6.1. Vehículos.....	39
6.6.2. Presentación en el mercado.....	42
7.- APLICACIONES CLÍNICAS.....	45
7.1. Elevación de seno maxilar.....	45
7.2. Preservación de alveolo y regeneración de defectos óseos localizados.....	48
7.3. Regeneración periodontal.....	52
7.4. Oseointegración de implantes.....	54

8.- CONCLUSIONES.....	57
9.- FUENTES DE INFORMACIÓN.....	60

1.- INTRODUCCIÓN

La regeneración de los tejidos periodontales representa un gran desafío para los profesionales de la salud bucal, debido a que se torna complicado el devolver la estructura y función exacta de los tejidos perdidos. La ingeniería tisular ha abierto nuevas posibilidades en la regeneración de tejidos dañados, desarrollando sustitutos biológicos que restauren, mantengan y mejoren la función de dichos tejidos. Dentro de estos sustitutos encontramos a las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs por sus siglas en inglés), las cuales han sido aisladas, clonadas y se encuentran disponibles en el mercado por medio de la tecnología del ADN recombinante. Estas proteínas promueven la diferenciación de células mesenquimatosas en osteoblastos, los cuales forman nuevo hueso indistinguible del tejido original. Entre las aplicaciones clínicas de las BMPs en el área odontológica se encuentran elevaciones de seno y aumento de reborde alveolar asociados a defectos postextracción, con el objetivo de formar hueso para una subsecuente rehabilitación con implantes dentales. En la actualidad, la BMP recombinante humana (rhBMP) ha sido aprobada por la FDA (Food and Drug Administration) para utilizarla en humanos e introducirla al mercado.

2.- PROPÓSITO

Proporcionar a los cirujanos dentistas información actualizada sobre la proteína morfogenética ósea recombinante humana y sus aplicaciones en periodoncia, para que en un futuro pueda utilizarse en los tratamientos periodontales regenerativos.

3.- OBJETIVO

Realizar una revisión bibliográfica acerca de la proteína morfogenética ósea recombinante humana, sus orígenes, mecanismos de acción, ventajas, desventajas y aplicaciones clínicas en el área odontológica, particularmente en periodoncia.

4.- TEJIDO ÓSEO

El tejido óseo es una forma especializada de tejido conjuntivo, caracterizado por la mineralización de su matriz extracelular¹, lo cual le confiere gran rigidez y resistencia. El hueso cumple con dos funciones principales: soporte estructural y ser el mayor reservorio de calcio en el cuerpo.², La matriz ósea se compone de fibras colágenas impregnadas en sales minerales que incluyen fosfato de calcio (85%), carbonato de calcio (10%), y pequeñas cantidades de fluoruro de calcio y de magnesio (5%). Estos minerales están presentes principalmente en forma de cristales de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. El colágeno tipo I constituye aproximadamente el 90% de la matriz orgánica.¹

4.1. Osteogénesis

El hueso proviene de las células multipotenciales que dan lugar a los elementos esqueléticos, linfáticos y hematopoyéticos en el cuerpo humano. Los componentes esqueléticos craneofaciales derivan, en la etapa embrionaria, de la cresta neural a finales de la tercera semana de gestación, y en general son huesos intramembranosos. El esqueleto axial es formado a partir de los somitas, los cuales derivan del mesodermo paraxial y se encuentran organizados en pares alrededor de la quinta semana. La formación de este tipo de huesos es endocondral.³

Las células multipotenciales se diferencian para formar hueso mediante dos tipos de osificación: *intramembranosa* y *endocondral* (o *intracartilaginosa*). Algunos huesos se originan en forma directa en las membranas formadas

por la concentración de células mesenquimatosas y se llaman huesos membranosos. En el tipo de osificación endocondral, la matriz membranosa original se convierte en cartílago, que posteriormente se elimina y es sustituido por hueso. ⁴

4.1.1. Osificación intramembranosa

Este tipo de osificación se presenta en la formación y crecimiento de los huesos de la bóveda craneal, y comienza con la migración de algunas células mesenquimatosas que se acumulan en regiones específicas donde se formará el tejido óseo. Esta condensación celular dentro del tejido mesenquimatoso es la “membrana” que dará origen a un nuevo hueso. A medida que el proceso continúa, el tejido recién organizado adquiere mayor vascularización y las células mesenquimatosas acumuladas aumentan de tamaño y se redondean transformándose en osteoblastos. A causa del abundante contenido de colágena, la matriz ósea se vuelve más densa que el mesénquima circundante en cuyo espacio intercelular sólo aparecen delicadas fibras de tejido conjuntivo. Estas delgadas fibras no están calcificadas y constituyen la base orgánica del hueso, llamada sustancia osteoide. Con el tiempo la matriz se calcifica y, simultáneamente, más células mesenquimatosas circundantes de la membrana proliferan y dan origen a una población de células osteoprogenitoras. Algunas de estas células se adosan a las espículas formadas inicialmente, se transforman en osteoblastos y añaden más matriz. Por este mecanismo, llamado crecimiento por aposición, las espículas aumentan de tamaño y se unen a una red trabecular que adquiere la configuración general del hueso en desarrollo. Las células osteoblásticas están continuamente en actividad

mitótica, para proveer constantemente osteoblastos. Los nuevos osteoblastos, a su vez, depositan matriz ósea en capas sucesivas, formándose hueso inmaduro o fasciculado.¹

4.1.2. Osificación endocondral

La osificación endocondral inicia con la proliferación y acumulación de células mesenquimatosas que se van a diferenciar en condroblastos, los cuales van a producir matriz cartilaginosa. Con la secreción de la matriz, se forma un modelo de cartílago hialino que presenta crecimiento intersticial y por aposición, debido principalmente a la adición de matriz cartilaginosa producida por los nuevos condroblastos diferenciados a partir de la capa condrógena del pericondrio que rodea la masa del cartílago. Este cartílago forma parte del esqueleto embrionario primitivo, que sirve para orientar la dirección del crecimiento del hueso por el cual será sustituido. La osificación endocondral, o también llamada intracartilaginosa, es característica en los huesos largos.

El primer signo de osificación se da cuando los condroblastos cesan la producción de matriz y en su lugar se originan células osteoblásticas, debido a que los condroblastos (que ahora son condrocitos) se hipertrofian y comienzan a sintetizar fosfatasa alcalina, calcificando a su vez la matriz cartilaginosa circundante. Esto impide la difusión de las sustancias nutritivas causando la muerte de los condrocitos, dando paso a la degradación de la matriz cartilaginosa. La degradación y eliminación del cartílago calcificado deja restos con aspecto de espículas irregulares, donde las células osteoprogenitoras se adosan convirtiéndose en osteoblastos, que comienzan

a sintetizar tejido óseo (osteóide). En consecuencia, el hueso formado por este tipo de osificación se denomina hueso endocondral.¹

4.2. Componentes celulares y de la matriz ósea

Los tipos celulares que encontramos en el hueso son: células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento (*lining cells*) y osteoclastos. Con excepción del osteoclasto, cada una de estas células puede considerarse una forma diferenciada del mismo tipo celular básico.

- *Células osteoprogenitoras*: Éste tipo celular constituye una población de células madre derivadas del mesénquima, que tienen la capacidad para dividirse por mitosis y diferenciarse después en células óseas maduras. Se encuentran en la capa interna del periostio que recubre la superficie del hueso y en el endostio que tapiza las cavidades medulares, conductos de Havers y los conductillos de Volkman. Su aparente capacidad para diferenciarse en tres tipos celulares (adipositos, condroblastos y fibroblastos) indican que pueden modificar sus características morfológicas y funcionales.¹
- *Osteoblastos*: Son células relacionadas directamente con la formación ósea y se encuentran en la periferia de los huesos en crecimiento donde se está depositando la matriz ósea. Secretan tanto colágena como la sustancia fundamental que constituyen la

matriz ósea no mineralizada inicial, llamada osteoide. El proceso de calcificación parece ser iniciado por el osteoblasto mediante la secreción de las vesículas matriciales hacia la matriz, las cuales contienen gran cantidad de fosfatasa alcalina. A medida que se deposita la matriz osteoide, el osteoblasto y sus prolongaciones van quedando rodeados por ésta y cuando se encuentran completamente incluidos en el osteoide, el osteoblasto se convierte en osteocito.¹

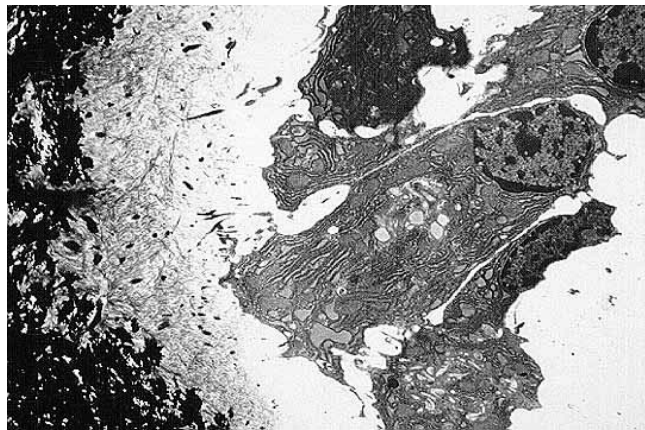


Figura 1. Osteoblastos sobre el material osteoide. El osteoblasto del centro presenta el núcleo en el extremo opuesto a la zona de contacto con el hueso. El osteoide se observa como un material finamente fibrilar de color gris y por debajo del mismo se sitúa el hueso mineralizado en color negro (Microscopía electrónica x 3400).⁶

Además, los osteoblastos secretan varias citoquinas y factores de crecimiento de efecto local sobre la formación y la resorción del hueso, entre ellas la interleucina 1, 6 y 11, las cuales activan a los osteoclastos. Otros mediadores químicos producidos por los osteoblastos son el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF), las prostaglandinas que estimulan la producción de interleucina-1,

proteína morfogenética ósea (BMP), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento transformador beta (TGF- β) que atrae por quimiotaxis a las células osteoprogenitoras, estimula la maduración de los osteoblastos y favorece su producción de matriz.⁵

- *Osteocito*: Al quedar el osteoblasto rodeado de matriz ósea madura cambia su nombre al de osteocito, el cual es responsable de mantener la matriz ósea. Cada osteocito ocupa un espacio, llamado laguna u osteoplasto, que rodea a la célula. Los osteocitos extienden sus prolongaciones citoplasmáticas a través de canalículos en la matriz para establecer contacto con las prolongaciones de células vecinas mediante nexos. En un grado menor, los osteocitos pueden sintetizar nueva matriz y también reabsorberla en la periferia de cada laguna. La muerte de los osteocitos por traumatismos o envejecimiento celular resulta en la resorción de la matriz ósea por actividad de los osteoclastos, seguida por reparación o remodelado del tejido óseo por actividad de los osteoblastos.¹
- *Células de revestimiento (Bone-lining cells)*: Son células similares a los osteocitos en el aspecto de que no están relacionados con la formación de hueso, pero se adhieren a su superficie externa cuando cesa su desarrollo. Este tipo celular representa el fenotipo final de los osteoblastos previo a la activación de la remodelación. Son células inactivas que se encuentran sobre la superficie del hueso y están relacionadas con la iniciación de la remodelación ósea en respuesta a varios

estímulos químicos y mecánicos, promoviendo la diferenciación y maduración de los osteoclastos.⁷

- *Osteoclastos*: Son células multinucleadas grandes que aparecen en los sitios donde ocurre resorción ósea. Es un tipo de macrófago que se desarrolla a partir de los monocitos originados en el tejido hematopoyético de la médula ósea. Como consecuencia de su actividad, en el hueso justo por debajo del osteoclasto se forma una excavación poco profunda llamada bahía o laguna de Howship. Los osteoclastos aparecen en los sitios en donde se produce remodelado óseo. Así, en los sitios donde las osteonas están siendo alteradas o donde el hueso está sufriendo cambios durante el crecimiento, los osteoclastos son relativamente abundantes. Un aumento en la concentración de hormona paratiroidea promueve la resorción ósea y ejerce un efecto demostrable sobre la actividad osteoclásticas, mientras que la calcitonina secretada por las células parafoliculares de la glándula tiroides tiene un efecto opuesto compensador reduciendo la actividad de los osteoclastos.¹

La matriz ósea presenta dos componentes principales: la matriz orgánica y las sales inorgánicas.

La composición de la matriz orgánica consta mayoritariamente de fibras colágeno tipo I, y en menor cantidad colágeno tipo V. También contiene sustancia fundamental en la forma de glucosaminoglucanos (hialuronano, condroitinsulfato y queratansulfato), varias sialoproteínas y pequeñas glucoproteínas (osteocalcina, osteonectina y osteopontina). Las últimas dos

desempeñan un rol crucial en la fijación del calcio durante el proceso de mineralización. Tanto el colágeno como los componentes de la sustancia fundamental se mineralizan para formar tejido óseo.¹

La matriz inorgánica también conocida como mineralizada esta compuesta por sales minerales que incluyen fosfato de calcio (85%), carbonato de calcio (10%) y pequeñas cantidades de fluoruro de calcio y magnesio (5%). Los cristales óseos se encuentran principalmente en forma de hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], los cuales estabilizan y producen la dureza y rigidez que caracterizan al tejido óseo.¹

Además, el hueso contiene pequeñas cantidades de proteínas no colágena o factores solubles de señalización embebidas en la matriz mineralizada, incluyendo diversos factores de crecimiento, entre los que se encuentran la familia de proteínas morfogenéticas óseas (BMPs).⁸

4.3. Componentes estructurales

El tejido óseo se puede clasificar en hueso compacto (denso) y hueso esponjoso (trabeculado). El primero consiste en una capa externa dura que reviste al hueso, mientras que el segundo está conformado por una malla de aspecto esponjoso compuesta de trabéculas y constituye la parte interna del hueso. Los huesos se pueden clasificar también de acuerdo a su forma en largos, cortos, irregulares y planos. En particular, los huesos planos (entre los que se encuentran los maxilares) están compuestos por dos capas paralelas

de hueso compacto denominadas tabla externa e interna y una capa interpuesta de tejido óseo esponjoso.¹

La superficie externa del hueso está cubierta por una capa de tejido conectivo denso (excepto las superficies articulares de los huesos largos) que contiene células osteoprogenitoras, denominada periostio. El tejido que reviste tanto el hueso compacto que limita la cavidad medular como las trabéculas del hueso esponjoso se conoce como endostio. Cada una de estas capas tiene la capacidad histogénica para formar hueso, mediante la diferenciación de su componente celular a osteoblastos.¹

El hueso maduro está compuesto principalmente por unidades cilíndricas llamadas osteonas o sistemas de Havers. Las osteonas consisten en laminillas concéntricas de matriz ósea alrededor de un conducto central, el conducto de Havers, que contiene vasos y nervios. Los conductillos que contienen las prolongaciones de los osteocitos en general se disponen siguiendo un modelo radial con respecto al conducto. Entre las osteonas hay restos de laminillas concéntricas antiguas que reciben el nombre de laminillas intersticiales. A causa de esta organización, el hueso maduro también se denomina hueso laminillar. Los conductos de Volkmann (conductos perforantes) son túneles en el hueso laminillar a través de los cuales pasan vasos sanguíneos y nervios desde las superficies perióstica y endóstica para alcanzar el conducto de Havers, conectándolos también entre sí.¹

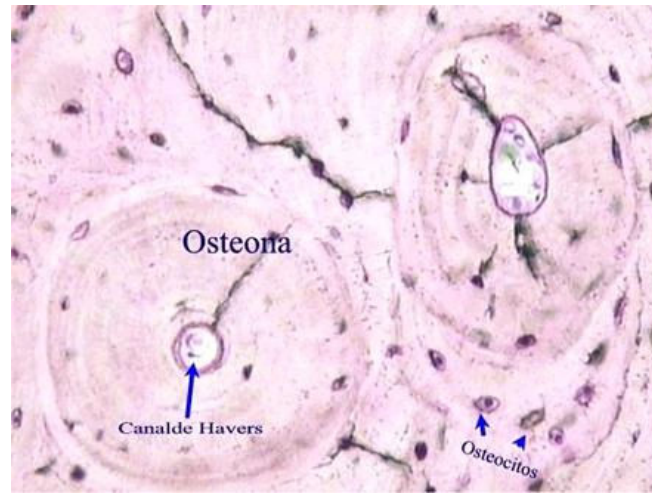


Figura 2. Componentes del hueso mineralizado.⁹

5.- REGENERACIÓN ÓSEA

5.1. Definición de regeneración, cicatrización y remodelación

La reparación de un tejido se puede llevar a cabo de dos formas, la *regeneración* y la *cicatrización*. La *regeneración* es la reparación del tejido lesionado por células de la misma estirpe, y la *cicatrización* es la sustitución del tejido dañado por tejido conectivo, constituyendo una cicatriz.¹⁰

Otra definición nos dice que la cicatrización se refiere a la restauración de determinado tejido sin que éste logre conservar su arquitectura original ni su función. Cuando dicho tejido no recupera su estado original, sus propiedades físicas y mecánicas son claramente inferiores a las del tejido original, ésta es una transformación que en general ocurre espontáneamente y el resultado es la cicatrización. Se entiende por regeneración cuando la restauración de dicho tejido posee propiedades, en cuanto forma y función, indistinguibles al tejido original.¹¹

El término remodelación ósea se utiliza para describir los acontecimientos dinámicos asociados con la reparación del hueso y la homeostasis en los individuos maduros. El proceso de remodelación del hueso implica las siguientes etapas¹²:

- 1) Activación de las células osteogénicas precursoras (preosteoclastos)
- 2) Absorción activa del hueso (reabsorción)
- 3) Formación de nuevo hueso
- 4) Periodo de reposo

La iniciación de la remodelación está determinada por estímulo hormonal u otros factores sobre las células de revestimiento o *lining cells*, que van a permitir la diferenciación y maduración de los osteoclastos. Una vez activos, los osteoclastos se adhieren a la superficie del hueso y comienza la reabsorción. Los osteoclastos reabsorben la matriz ósea en dos fases: primero solubilizan el mineral y después digieren la matriz orgánica. El mineral se solubiliza acidificando el microambiente por medio de la integración de iones H^+ hacia el hueso. Los componentes orgánicos de la matriz, principalmente el colágeno, son degradados por metaloproteinasas y catepsinas K, B y L secretadas por el osteoclasto. Posteriormente, los osteoblastos se reclutan en el sitio de remodelación bajo estímulos de diversos factores de crecimiento y secretan nueva matriz orgánica (osteoide),¹³ acompletándose la remodelación en aproximadamente dos o tres meses. Estos osteoblastos pueden ser incorporados en la matriz ósea y diferenciarse en osteocitos; otros quedan en la superficie ósea como células de revestimiento, y otra parte de ellos mueren por apoptosis.⁷

Se pueden definir tres condiciones básicas como prerequisite para lograr la regeneración ósea¹⁴:

- La llegada de células formadoras de hueso o de células capaces de diferenciarse en ellas.
- La presencia de estímulos para iniciar la diferenciación.
- La formación de un medio osteoconductor.

5.2. Injertos óseos

Los injertos óseos o materiales de implante son sustitutos de hueso que se colocan o implantan con diversos objetivos, como incrementar el volumen óseo del defecto existente, estimular la regeneración periodontal, servir como andamiaje para la neoformación ósea, entre otros.¹⁵

5.2.1. Mecanismos biológicos

Son tres los mecanismos biológicos que intervienen durante la regeneración donde se utilizan materiales de implante óseo o injertos:

5.2.1.1. Osteogénesis

Es la formación y desarrollo del hueso, y ocurre cuando los osteoblastos viables y células progenitoras son transplantados junto al material injertado en los defectos óseos. Un ejemplo serían los injertos autólogos extraorales, entre los que se encuentra la cresta ilíaca, calota o tibia, y los intraorales, como la tuberosidad del maxilar, mentón y zona retromolar. Las células osteogénicas pueden promover la formación ósea o activar más rápido el crecimiento del hueso.^{12,16}

5.2.1.2. Osteoinducción

La osteoinducción implica la diferenciación de las células del tejido conectivo en células formadoras de hueso influenciadas por agentes inductores. Esta capacidad la poseen las proteínas osteoinductoras, como por ejemplo la proteína morfogenética, que se encuentra en el hueso humano desmineralizado. Generalmente, los injertos funcionan como una estructura para la llegada de células del huésped, por lo regular mesenquimatosas, que luego se diferencian en osteoblastos.¹²

5.2.1.3. Osteoconducción

Este mecanismo se presenta cuando el material injertado le sirve como andamiaje para facilitar la aposición de matriz ósea en el defecto, por ejemplo los aloinjertos, como el hueso esponjoso (liofilizado), la hidroxiapatita de origen orgánico y algunos sustitutos óseos sintéticos, como el fosfato tricálcico.¹²

5.3. Clasificación de los injertos óseos

Los injertos óseos se pueden dividir principalmente en tres grupos⁸:

- *Autógenos*
- *Aloinjertos*
- *Aloplásticos*

Algunos autores consideran a los *Xenoinjertos* como un subgrupo de los injertos aloplásticos.¹⁷

Los *injertos autógenos o autoinjertos* se refieren al transplante de tejido dentro de un mismo individuo y provee los tres mecanismos biológicos para la formación de hueso. Son extraídos del cuerpo del paciente y trasplantados a otro sitio de la misma persona. Los sitios donantes pueden ser extra o intrabucales. Entre los sitios intrabucales se encuentran la tuberosidad del maxilar, sínfisis mentoniana, cuerpo y rama mandibular. Los injertos óseos extrabucales pueden ser tomados de la cresta ilíaca, costilla, calota craneal y tibia. La ventaja de este tipo de injertos es que promueven la osteogénesis, la osteoconducción y la osteoinducción; sin embargo, su obtención implica una intervención quirúrgica adicional, que puede ser molesta para el paciente.¹⁸

Los *aloinjertos* son transferidos entre sujetos de una misma especie pero genéticamente diferentes; son obtenidos de cadáveres y sometidos a una desecación por congelación. Las ventajas de los alonjertos incluyen su gran disponibilidad, que no se necesita de un sitio donador por parte del paciente, reducción del tiempo durante la cirugía y disminución de las complicaciones. Las desventajas están principalmente relacionadas con la antigenicidad de los tejidos obtenidos de otro individuo, que pueden inducir una respuesta inmune en el huésped. Sin embargo, el hecho de que sean procesados por desecación o congelación disminuye significativamente su antigenicidad. Los aloinjertos más comúnmente usados son el FDDB (Freeze Dried Bone Allograft por sus siglas en inglés) o liofilizado y el DFDBA (Desmineralized Freeze Dried Bone Allograft). Son principalmente osteoconductivos¹⁷ a excepción del DFDBA, que además tiene propiedades osteoinductivas debido al proceso de desmineralización al que es sometido, dejando

expuestos algunos factores de crecimiento, particularmente las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), las cuales pueden incrementar esta capacidad osteoinductiva.^{19,20}

Los sustitutos sintéticos de hueso o *aloplásticos* difieren en su estructura y conformación así como también en la posibilidad de ser reabsorbido en condiciones fisiológicas. Estos materiales funcionan como osteoconductores, y en relación a su porosidad pueden clasificarse en densos, macroporosos y microporosos; con respecto a su estructura, pueden ser cristalinos o amorfos. Cuanto más porosos sean mejor soporte ofrecen para el crecimiento óseo y la velocidad de reabsorción aumenta. Cuanto más cristalinos son se tornan menos reabsorbibles. Ejemplos de materiales aloplásticos son el fosfato tricálcico, sulfato de calcio, carbonato de calcio, HTR (polímero de sustitución de tejidos duros), vidrios bioactivos (óxido de calcio, bióxido de silicio, óxido de sodio, pentóxido de fósforo), etc.¹²

Por último, los *xenoinjertos* se obtienen de otras especies y actualmente existen dos fuentes principales de obtención, el hueso bovino y el coral natural. Son de muy fácil manipulación y su mecanismo de acción es estrictamente el de la osteoconducción.² El hueso bovino disponible en el mercado es procesado para proporcionar el mineral óseo natural puro (hidroxiapatita), disociándolo de su componente orgánico. Una ventaja de este injerto es que provee un componente estructural similar al hueso humano, con una actividad osteoconductiva mejorada comparándola con los materiales sintéticos.²¹

6.- PROTEINAS MORFOGENÉTICAS ÓSEAS (BMPs)

6.1. Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son proteínas señalizadoras que tienen la capacidad de inducir, inhibir o estimular la división y diferenciación celular. A este nivel afectan la expresión de una serie de genes que darán lugar a un aumento o disminución de la mitogénesis.²² Los factores de crecimiento son depositados en la matriz extracelular donde son liberados durante la degradación de la matriz y actúan como parte de una compleja red de señales durante la remodelación y regeneración tisular.²³

El mecanismo de regulación osteogénica por medio de factores de crecimiento es muy complejo. Los efectos producidos en las células óseas pueden ser directos o indirectos, o también pueden abarcar diferentes tipos celulares. Una determinada citocina o factor de crecimiento puede estimular tanto a los osteoblastos como a los osteoclastos.²⁴ A continuación se explican varios de los factores que regulan el crecimiento de las células óseas:

- *Factor de crecimiento epidérmico (EGF por sus siglas en inglés)*. Es un factor de progresión que promueve la división celular mediante la fijación a receptores específicos de la tirosina-cinasa sobre la membrana celular.¹⁰ Además, estimula la producción de prostaglandinas e induce la reabsorción ósea.²²
- *Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)*. Este factor promueve un incremento en la proliferación y diferenciación de las células osteogénicas. La administración sistémica y local del FGF aumenta la formación ósea en animales experimentales.²⁵ Esto

es debido a que el FGF incrementa la expresión del TGF- β en las células osteogénicas.²⁶

- *Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)*. Este factor de crecimiento actúa como agente cicatrizante y es liberado tras la agregación y degranulación plaquetaria; provoca una marcada proliferación de fibroblastos e incrementa la síntesis de colágena. Actúa como un quimiotáctico y factor mitogénico sobre las células osteoblásticas, aumentando la producción de proteínas de la matriz ósea.²²
- *Factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF)*. Se conocen dos isoformas de este factor, el IGF-I y IGF-II.²³ El IGF-I tiene un efecto mitogénico sobre los fibroblastos y es un potente quimiotáctico para éstos.²⁷ Ambos factores son depositados en la matriz ósea, donde son almacenadas en asociación con su unión a proteínas. Tanto el IGF-I y II son liberados durante la resorción y se disocian de su unión a proteínas, y junto con el TGF- β , incrementan la actividad osteoblástica y, por lo tanto, la formación de nuevo hueso.²⁸
- *Factor de necrosis tumoral (TNF)*. Producido por muchas células cancerígenas, el TNF incrementa la actividad osteoclástica, por medio de acción directa o por incremento de la expresión de interleucina 6 (IL-6).²³
- *Factor de crecimiento transformador α (TGF- α)*. Este factor es homólogo al factor de crecimiento epidérmico. Es producido por células malignas y activado por macrófagos. En general, el TGF- α estimula la proliferación de preosteoblastos mientras disminuye el grado de diferenciación.²³

- *Factor de crecimiento transformador β (TGF- β).* El TGF- β juega un importante rol en la formación y desarrollo de diversos tejidos. Se conocen más de 30 proteínas, las cuales pertenecen a la superfamilia TGF- β , tales como las activinas y las proteínas morfogenéticas óseas.²³ Dependiendo la concentración a la cual son administrados, los TGF- β puede estimular y inhibir la proliferación celular. Los efectos mitogénicos observados a bajas concentraciones son ejercidos de forma indirecta por inducción de la síntesis de PDGF. Por el contrario, cuando se administran altas concentraciones de TGF- β se produce una inhibición en la expresión del receptor PDGF, lo que conlleva a una disminución de la proliferación celular.²² Su síntesis esta a cargo de las células formadoras de hueso presentes en la matriz ósea y ejerce un efecto anabólico sobre las células osteogénicas. Durante la resorción ósea, éste factor tiene un efecto parácrino para incrementar la proliferación de los osteoblastos.²⁹
- *Proteína morfogenética ósea (BMP).* Esta proteína forma parte de la superfamilia del factor de crecimiento transformador β (TGF- β), que influyen en el desarrollo y diferenciación de las células óseas en el embrión. También juegan un rol en el desarrollo de otros órganos tales como riñones, ojos, cerebro, testículos, piel, corazón y dientes.^{30,31} Actualmente se conocen alrededor de 40 proteínas de esta superfamilia. También se han identificado varios tipos de BMPs, que en su mayoría tienen un efecto osteoinductor. Son expresadas en las células óseas, desencadenando un incremento en la proliferación y diferenciación de osteoblastos y condroblastos.³²

Otras sustancias que actúan en la diferenciación celular son:

- *Glucocorticoides*. Disminuyen la formación ósea y promueven la resorción osteoclástica in vitro.³³
- *Citocinas (interleucinas)*. Las interleucinas regulan la diferenciación de las células inmunológicas, pero además influyen en la resorción ósea, promoviendo la osteoclastogénesis.³⁴

6.1.1. Cascada de señalización celular

Aunque muchos mediadores químicos influyen en la división celular, los más importantes son los factores de crecimiento que circulan en el suero o son producidos localmente por células de forma parácrina. Los sucesos moleculares que dan como resultado la división celular se pueden resumir de la siguiente manera:

- *Unión ligando-receptor*. El crecimiento celular se inicia por la unión de un factor de crecimiento con sus receptores específicos en la superficie celular o dentro de la misma.
- *Activación del receptor*. Casi todos los receptores para factor de crecimiento son proteínas monómeras de la superficie celular que presentan un dominio citoplasmático intrínseco con actividad de tirosina cinasa. La unión de ligando produce una dimerización del receptor, que a su vez genera autofosforilación de tirosinas específicas sobre las parejas de dímeros. La fosfoproteína activada

resultante puede entonces iniciar una cascada de señales, sea por unión a moléculas efectoras secundarias o por fosforilación de otras proteínas.

- *Transducción de señales y segundos mensajeros.* El receptor activado se une a proteínas cinasas adicionales para poder ser fosforiladas o algunas veces sufren cambios conformacionales adquiriendo nuevas actividades. Las proteínas que actúan como segundos mensajeros incluyen:
 - *Proteínas de unión a GTP (trifosfato de guanosina)*, como proteínas G y la familia de proteínas *ras*. Éstas acoplan los receptores activados con los efectores intracelulares. La activación *ras* conduce una cascada de fosforilación que afecta un gran número de enzimas citoplasmáticas denominadas *proteínas cinasas mitógenas activadas (MAP)*.
 - *Fosfolipasa C- γ (PLC- γ)*, por medio de esta proteína se elevan los niveles de calcio intracelular y se logra una mayor fosforilación de las proteínas intracelulares. La fosforilación de proteínas iniciada por las interacciones receptor-ligando está contrarregulada por fosfatasas intracelulares. Estas pueden concluir la transducción de señales eliminando fosfatos de algunas proteínas.
- *Transmisión de señales al núcleo celular:* La cascada de cinasas MAP y de segundos mensajeros, como el calcio, transmiten las señales al núcleo, induciendo la expresión de un gran número de genes reguladores del crecimiento, los cuales participan en la regulación de la síntesis de DNA y en la división celular.
- *Ciclo celular y ciclinas.* La entrada y progresión de las células a través del ciclo celular está controlada por cambios en las concentraciones

intracelulares y actividad de un grupo de proteínas denominadas ciclinas. Las ciclinas regulan la división celular, formando complejos activados con un grupo de proteínas cinasas llamadas *quinasas* dependientes de ciclina (cdk) que regulan etapas específicas del ciclo celular. Después de la división celular, las ciclinas son descompuestas; en tanto no ocurra un nuevo estímulo de crecimiento y síntesis de nuevas ciclinas, las células no pueden sufrir mitosis adicionales.¹⁰

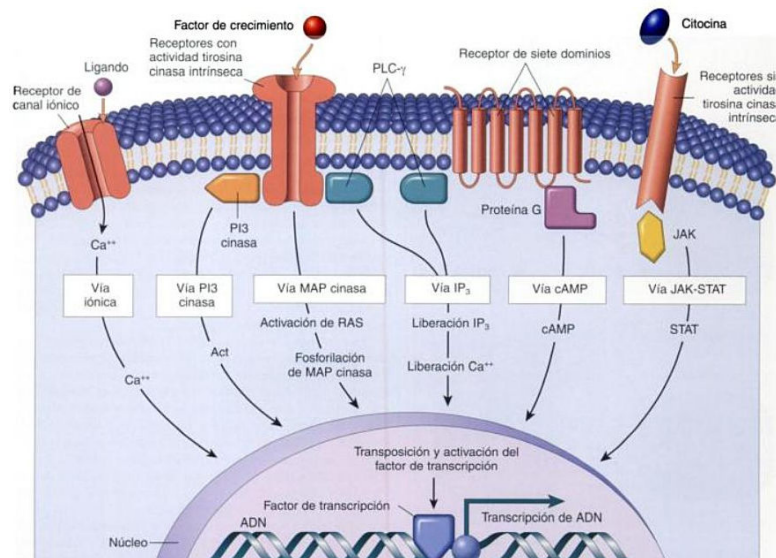


Figura 1. Diferentes vías de señalización, incluyendo la de los factores de crecimiento.¹⁰

6.2. Generalidades de las BMPs

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs por sus siglas en inglés) son un grupo de péptidos pertenecientes a la gran familia del factor de crecimiento transformador- β (TGF- β). Sin embargo el TGF- β es una citocina cuya acción es únicamente mitogénica, puede inducir a las células mesenquimatosas a convertirse en fibroblastos, importante para la reparación de los tejidos

blandos, pero no es capaz de formar hueso, pues su función primaria es la de inducir a las células mesenquimatosas a mitosis no a cambios morfogenéticos.³⁵

En un experimento *in vitro* se administraron BMPs en células mesenquimatosas humanas observándose un incremento en la producción de matriz ósea y aumento en la fosfatasa alcalina y en la colágena tipo I.³⁶ Sin embargo, no se produjo la proliferación celular, indicando que las BMPs no actúan como agentes mitógenos de las células mesenquimatosas, si no son morfogenes que inducen la diferenciación de dichas células en osteoblastos.³⁷ Además, las BMPs son capaces de inducir la formación de hueso ectópico³⁸, debido a que no necesitan de las células osteoprogenitoras que circundan el tejido óseo, sino que pueden estimular a las células mesenquimatosas a diferenciarse en células formadoras de cartílago o hueso.³⁹ Por lo tanto, las BMPs parecen ser capaces de inducir las dos vías de formación ósea, tanto la osificación endocondral como la intramembranosa.^{40,41} Por otro lado, la formación de hueso ectópico relacionado a la implantación subcutánea de BMPs (matriz ósea desmineralizada) trae como resultado la inducción local de diferenciación ósea endocondral.⁴²

Durante la embriogénesis, las BMPs establecen el esbozo del cuerpo del embrión, regulando el desarrollo dorso-ventral⁴³, la apoptosis celular, el desarrollo de los brotes de las extremidades⁴⁴, la diferenciación de células neurales y las interacciones epitelio-mesénquima durante la organogénesis.⁴⁵

6.3. Clasificación de las BMPs

Hasta el momento se han identificado 20 miembros de la familia de las BMPs en el genoma humano. Las BMPs se pueden dividir en subfamilias⁴⁶, como lo muestra la siguiente tabla:

Subfamilia	BMP	Función
Procolágena C-proteinasa relacionada con mosquito <i>Drosophila</i>	BMP-1	Colagenasa
BMP-2 ^a	BMP-2	Osteoinducción; condrogénesis; osteogénesis
Osteogenina	BMP-3	Modulación de la actividad de la BMP-2
BMP-2B	BMP-4	Osteoinducción; condrogénesis; osteogénesis
BMP-5	BMP-5	Osteoinducción; condrogénesis; osteogénesis
Vgr-1	BMP-6	Osteoinducción; condrogénesis; osteogénesis
OP-1	BMP-7	Osteoinducción; condrogénesis; osteogénesis; nefrogénesis
OP-2	BMP-8	Osteoinducción; condrogénesis; osteogénesis; espermatogénesis; desarrollo de la placenta
OP-3	BMP-8B	Osteoinducción; condrogénesis; osteogénesis
BMP-10	BMP-10	¿Osteogénica?

GDF-11	BMP-11	¿Osteogénica?
GDF-7; CDMP-3	BMP-12	Condrogénica
GDF-6; CDMP-2	BMP-13	Condrogénica
GDF-5; CDMP-1	BMP-14	Condrogénica
BMP-15	BMP-15	¿Osteogénica?

(Vrg-I) Vegetal-related I; (GDF) Growth differentiation factor; (CDMP) cartilage-derived morphogenetic protein.

La familia de BMPs aisladas en el hueso incluyen varias subfamilias. La BMP-1 difiere de las otras BMPs en que su estructura no es parecida a la del TGF- β , sino que ha mostrado ser idéntica a la procolágena C-proteinasa. La BMP-2 y BMP-4 están íntimamente relacionadas por presentar más del 90% de homología en su secuencia de aminoácidos. Las BMP-5, 6 y 7 (esta última también llamada proteína osteogénica I) constituyen una subfamilia que comparten aproximadamente el 70% de su secuencia de aminoácidos con las BMP-2 y 4. La BMP-3, probablemente la proteína más abundante en los extractos de hueso purificado, presenta alrededor de un 50% de homología en su secuencia de aminoácidos con otros miembros de la familia BMP.⁴⁷ Las BMPs 2, 3, 4, 6 y 7 tienen una actividad osteoinductiva. La BMP-2 también funciona como agente quimiotáctico para los osteoblastos.⁴⁸

6.4. Cascada de señalización de las BMPs

Las BMPs son sintetizadas dentro de las células como moléculas precursoras que incluyen un indicador peptídico, un pre-dominio y un dominio carboxil terminal, el cual constituye la proteína madura y que contiene siete residuos de cisteína. Estos residuos se encuentran en todos los miembros de la superfamilia TGF- β .⁴⁹ La división proteolítica de la región madura genera porciones libres que pueden unirse o dimerizarse con las de otras

BMPs. Una vez ocurrida la dimerización, la molécula secretada se convierte en un dímero activo, por ejemplo un homodímero BMP-2/BMP-2 o un heterodímero BMP2/BMP-7.⁵⁰

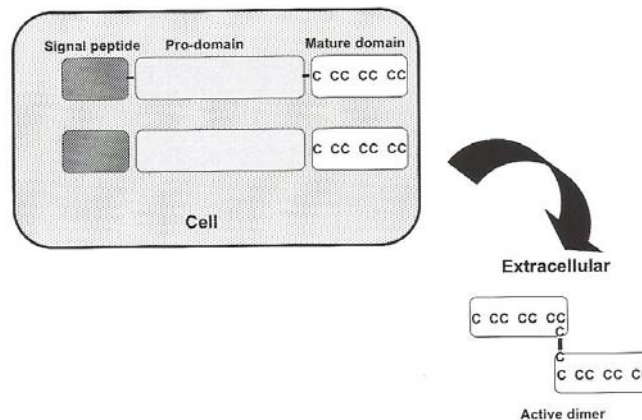


Figura 2. Secreción de la región madura de la molécula BMP.⁴⁷

La señalización de las BMPs inicia en la superficie celular cuando se unen con los receptores serina-treonina cinasa tipo I y II,⁵¹ los cuales a su vez tienen subcategorías.⁵² Los receptores de las BMPs están compuestos de tres partes: un dominio extracelular corto, una membrana y un dominio intracelular con la región serina-treonina activa.⁵³ El receptor tipo II es el sitio de unión primaria del ligando, el cual lo activa y al mismo tiempo produce la fosforilación del receptor tipo I.⁵¹

Después de la activación y fosforilación de los receptores, comienza la vía de señalización por medio de una familia de proteínas llamada Smad. Estas proteínas son consideradas como las más importantes traductoras de señales de los receptores serina-treonina cinasas.⁵⁴ Específicamente, las Smads 1, 5 y 8 son fosforiladas por el receptor tipo I.⁵⁵ Una vez fosforiladas, se traslocan al núcleo donde interactúan con el ADN unido a proteínas,⁵⁶ o

exhiben una actividad transcripcional directa, ya sea como monómeros o en asociación con la Smad 4.⁵⁷ Algunas Smads son expresadas en diferentes fases del ciclo celular y pueden presentar funciones estimuladoras o inhibitorias.⁵⁸ Las Smads 6 y 7 han mostrado que antagonizan e inhiben la fosforilación de las Smads 1, 5 y 8. La fosforilación de la Smad 1 lleva a la activación transcripcional del gen DPC4, que codifica para Smad 4, y el subsecuente complejo formado por las Smads 1 y 4 es traslocado al núcleo, iniciándose la transcripción genética que dará como resultado la diferenciación osteoblástica.⁵⁶

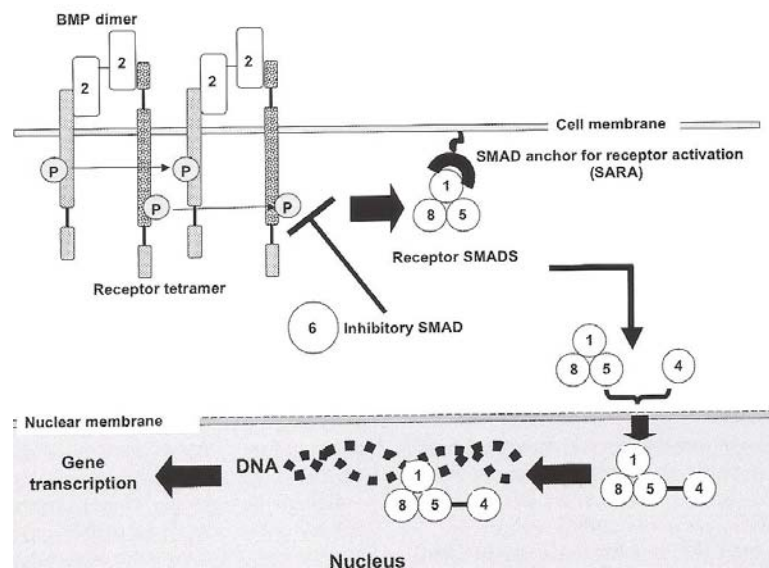


Figura 3. Vía de señalización de las BMPs.⁴⁷

6.5. Antecedentes de las rhBMPs

En el año de 1889, Senn anunció que el hueso descalcificado podía inducir la reparación de defectos óseos. Él trató la osteomielitis usando residuos descalcificados de hueso bovino con yodoformo. Su primer objetivo fue usar

el yodoformo como un antiséptico para tratar la osteomielitis, y el hueso bovino descalcificado como un posible vehículo, pero se dio cuenta que además de controlar la infección, se produjo la formación de nuevo hueso en el defecto.⁵⁹ Después, en 1938, Levander observó que el extracto de hueso inducía la formación ósea cuando lo inyectó intramuscularmente.⁶⁰ Pero el descubrimiento más trascendental lo hizo Urist en 1965, quien mostró que el hueso descalcificado con ácido clorhídrico induce la formación de nuevo hueso en un sitio ectópico, implantado intramuscularmente en un modelo de rata. Urist acuñó el término “proteína morfogenética ósea” o “proteína osteogénica”, la cual fue el ingrediente activo en su fórmula.³⁸ Sin embargo, su investigación se entorpeció por el hecho de que no era un ensayo reproducible para la proteína. Además, no era contundente que la supuesta proteína fuera la responsable de la inducción ósea en un sitio ectópico. Más tarde, en 1981, Reddi y Sampath lograron dilucidar lo propuesto por Urist cuando inventaron un ensayo reproducible de la formación ectópica de hueso. El ensayo se basó en la actividad de la fosfatasa alcalina y el calcio contenido en el hueso recién formado. También mostraron que al disociar de la matriz las proteínas osteoinductoras con agentes caotrópicos como la urea y el hidrocloreuro de guanidinio, no se indujo la formación de hueso, y cuando le agregaron de nuevo las proteínas, fue sumamente efectiva en la inducción de hueso tanto como la original. Con esto se comprobó que las proteínas contenidas en la matriz fueron las responsables de la formación ectópica de hueso⁴². Mas tarde, en 1988, Elizabeth Wang y colaboradores identificaron un grupo de proteínas en hueso bovino, y lograron purificarlas optimizando los resultados de estudios anteriores. Además, crearon clones recombinantes para estas proteínas (rhBMP-1, rhBMP-2A y rhBMP-3).⁶¹ A partir de esto, surgió una fuerte competencia por identificar la secuencia genómica de la BMP. Dos grupos (Creative BioMolecules y Genetics Institute) dedujeron simultáneamente la secuencia genómica de varias

BMPs, lo cual resultó en una disputa por la patente que fue resuelta subsecuentemente. La BMP humana es actualmente producida por medio de las técnicas recombinantes.⁶²

La tecnología del ADN recombinante es un proceso que forma parte de la ingeniería genética. Este proceso consiste en aislar y manipular un fragmento de ADN de un organismo para introducirlo en otro, e inicia con la ruptura específica del ADN realizando una secuencia rápida de todos sus nucleótidos para determinar los límites de un gen y los aminoácidos que codifica. En seguida, se procede a la clonación del ADN por medio de un elemento génico autorreplicante (plásmido o virus) y una vez logrado esto, el ADN se somete a alteraciones mediante ingeniería genética produciendo la modificación de los genes, los cuales pueden insertarse en un organismo.⁶³

6.6. Mecanismo de acción de las Rh-BMPs

Dentro de las subfamilias de las BMPs aisladas en hueso se encuentra la BMP-2, considerada como una molécula osteoinductiva y que ha sido de las más estudiadas por ser la única en demostrar la misma actividad inductiva presente en el hueso y extractos del mismo. La rhBMP-2 se ha evaluado en estudios preclínicos emulando posibles aplicaciones clínicas y ha sido desarrollada a través de estudios clínicos controlados para introducirlas al mercado.⁴⁷

A nivel molecular, las rhBMP-2 se unen a ambos receptores serina-treonina cinasa (tipo I y tipo II), produciéndose la fosforilación del receptor tipo I, el cual adquiere la habilidad para transmitir las señales por medio de las

proteínas Smads. En seguida, las Smads 1, 5 y 8 son fosforiladas por el receptor tipo I formando un complejo con la Smad 4. Una vez unidas, las Smads se traslocan en el núcleo celular, donde pueden activar varios genes que codifican para BMP-2.⁶⁴

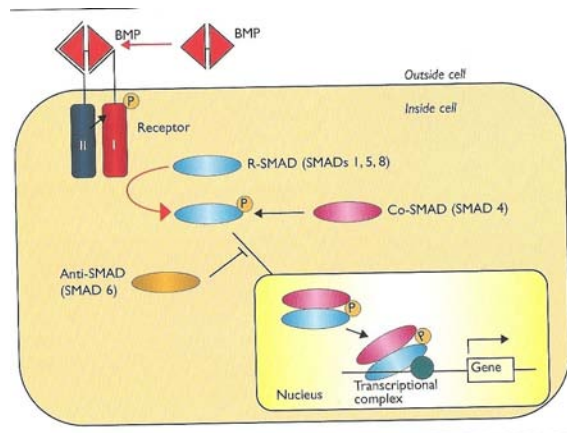


Figura 4. Vía de señalización de las rhBMPs desde la unión a su receptor hasta la trasducción de señales en el núcleo.⁴⁷

A nivel celular, la inducción ósea por rhBMP-2 se lleva a cabo por las dos vías de osificación, endocondral e intramembranosa. Estos procesos fueron inicialmente estudiados en ratas, implantándoles subcutáneamente rhBMP-2 junto con matriz ósea propia de las ratas, la cual se extrajo y desmineralizó para obtener BMPs endógenas.⁴¹ La serie de eventos celulares fueron prácticamente indistinguibles de los observados por Urist con hueso desmineralizado.³⁸ Los primeros eventos incluyen quimiotaxis, durante la cual numerosas células mesenquimatosas indiferenciadas infiltran el sitio implantado y posteriormente proliferan. Aún no está claro si el efecto proliferativo es directa o indirectamente causado por la rhBMP-2, ya que *in vitro* diversos tipos celulares responden a la diferenciación, en lugar de la proliferación. Las células mesenquimatosas se

diferencian entonces en condrocitos. Posteriormente, comienza una infiltración de numerosos vasos sanguíneos en la zona, y el cartílago comienza a ser reemplazado por hueso. Eventualmente el injerto se convierte por completo en hueso, poblándose con elementos medulares óseos. Con la presencia de estos elementos, incluyendo los osteoclastos, comienza la remodelación del nuevo hueso y la maduración de la médula ósea hematopoyética. Evidentemente los eventos celulares observados son muy complejos; éstos son iniciados por la administración de rhBMP-2 pero indudablemente influyen otros factores, como las hormonas y los factores de crecimiento. En cuanto a la concentración de rhBMP-2 administrada, las dosis altas forman al mismo tiempo cartílago y hueso en el sistema ectópico⁴¹, sugiriendo que también inducen la formación ósea intramembranosa. Estudios con animales han indicado que la contribución en la formación ósea intramembranosa y endocondral con rhBMP-2 depende de la dosis, la naturaleza del vehículo y el sitio de implantación.

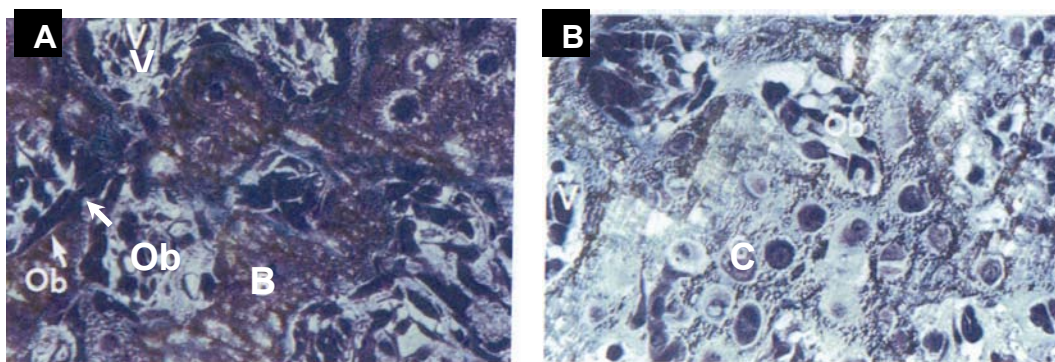


Figura 5. Formación de cartílago y hueso 5 días después de la implantación de BMP-2 en ratas. (A) Osteoblastos Ob, hueso B y vasos sanguíneos V; y (B) Formación de cartílago

C.⁴¹

La rhBMP-2 induce la formación de hueso cuando se aplica en un sitio determinado, inicialmente forma tejido óseo trabecular si es aplicado sobre tejido duro o blando; después, el hueso neoformado es remodelado en hueso cortical y/o laminillar trabeculado, de acuerdo al lugar anatómico y a las condiciones biomecánicas del ambiente.⁴⁷

Estudios con modelos animales sobre la dosis de BMP requerida para inducir la formación ósea han indicado que aproximadamente de 3 a 3.5 mg de BMP son suficientes para inducir la neoformación de hueso y para rellenar defectos óseos. La calidad del hueso inducido por BMP es indistinguible del hueso natural, y se calcifica mucho más rápido. En humanos, la regeneración ósea con BMP es completada de 8 a 10 semanas, a diferencia de los autoinjertos que tardan de 12 a 16 semanas, aproximadamente.⁶²

6.6.1. Vehículos

Las BMPs son proteínas hidrosolubles y relativamente de bajo peso molecular que pueden difundirse fácilmente en los fluidos corporales. Cuando son administradas durante procesos quirúrgicos están expuestas a disolverse rápidamente en hematomas, a ser irrigadas fuera del sitio intervenido o a perderse durante la succión. En un experimento se colocaron BMPs sin un vehículo y se observó que solo permanecieron pocas horas en el sitio. Por lo tanto es necesario que las BMPs sean llevadas al sitio requerido por medio de un vehículo para tener una acción local prolongada.⁶⁵ Desde el punto de vista práctico, un vehículo permite la aplicación de las BMPs y facilita su distribución en la zona quirúrgica.⁴⁷

Un vehículo ideal no debe inducir una respuesta inflamatoria o reacción inmune. La degradación del vehículo tampoco debe producir residuos tóxicos, debe ser un material poroso que se asemeje lo más posible al hueso esponjoso, lo que permitirá la captura o atrapamiento de células inflamatorias y factores de crecimiento.⁶²

Los vehículos para BMPs pueden clasificarse en sales inorgánicas, polímeros naturales, polímeros sintéticos o una combinación de ambos. Entre las sales inorgánicas comúnmente usadas encontramos el fosfato tricálcico (FTC) y la hidroxiapatita (HA), la cual es producida de forma natural por el hueso y lentamente reabsorbida por lo que se ha vuelto cada vez menos popular que el primero⁶⁶. El FTC en forma de gránulos se absorbe ligeramente más rápido (40-60 días) que el promedio de formación del hueso.⁶³ Las presentaciones de este tipo de vehículos pueden ser partículas o en forma de bloque. Una ventaja de estos materiales es que la BMP es incorporada en el material como endurecedor, en vez de solo unirse a su superficie. Esto permite que puedan ser liberadas conforme el material es reabsorbido y permanezcan mucho más tiempo en el sitio de aplicación.⁴⁷

La colágena tipo I es el polímero natural más usado como vehículo. Se obtiene de los huesos, tendones y ligamentos. Los biomateriales derivados de colágena están disponibles en varias presentaciones, incluyendo partículas, esponjas y láminas. Entre las ventajas de este material se encuentran su biocompatibilidad (debido a que es el componente encontrado en mayor cantidad dentro de la matriz extracelular), su capacidad de unión con las BMPs y la retención de éstas en el sitio de aplicación. Las desventajas incluyen el potencial de inmunogenicidad y la transmisión de enfermedades. Otros polímeros naturales que han sido considerados como

vehículos son el hialuronato, la fibrina, alginato y otros polímeros de origen animal o vegetal.^{47,62}

Dentro de los polímeros sintéticos más usados están el ácido poliláctico, ácido poliglicólico y el ácido poliláctico-glicólico (PLGA por sus siglas en inglés). Las ventajas que tienen estos materiales son la eliminación del riesgo a adquirir alguna enfermedad, la capacidad de controlar su degradación por medio de la composición del polímero, su baja o nula antigenicidad y su ilimitada fuente de obtención. Las desventajas incluyen su degradación hidrolítica que puede provocar una reacción inmunológica con la acumulación de células gigantes, y la posibilidad de acidificar localmente el medio debido a la degradación de sus productos. Otros polímeros de este tipo incluyen a los polianhídridos, polifosfazenos, fumarato de polipropileno, entre otros.^{47,62}

La combinación de estos polímeros puede fusionar propiedades que favorezcan la acción de las BMPs. Ejemplos de estos compuestos son la colágena combinada con HA y FTC, colágena con PLGA y el ácido hialurónico impregnado en esponjas de ácido poliláctico. En aplicaciones clínicas, la esponja de colágena absorbible (ACS por sus siglas en inglés) se ha desarrollado como un vehículo para usarlo junto con la rhBMP-2. La rhBMP-2 liofilizada se hidrata con agua estéril y se aplica sobre la esponja, donde se une rápidamente a la colágena de tal forma que si se llega a extraer líquido de la esponja durante su manipulación, éste contendrá muy poca cantidad de rhBMP-2. La ACS mantiene la rhBMP-2 en el sitio de aplicación por semanas, durante las cuales ocurre la formación de hueso. Posteriormente la esponja es reabsorbida por células gigantes a cuerpo extraño mientras se induce la formación de nuevo hueso, dejando

únicamente el hueso normal del huésped, libre de algún residuo proveniente del biomaterial colocado.⁴⁷

6.6.2. Presentación en el mercado

El 9 de marzo del año 2007 la Food and Drug Administration (FDA) aprobó en Estados Unidos la introducción al mercado de la rhBMP-2 por la casa comercial Medtronic Sofamor Danek, con el nombre de Infuse Bone Graft. Las indicaciones para su uso en odontología son elevaciones de seno y aumentos de reborde alveolar asociados a defectos postextracción. El kit de Infuse Bone Graft contiene un frasco de rhBMP-2 liofilizada, una esponja de colágena absorbible (ACS), un frasco con agua estéril de 5 o 10 ml y una jeringa para inyectar el agua y rehidratar la rhBMP-2.⁶⁷



Figura 6. Presentación de Infuse Bone Graft.⁶⁸

Las cantidades de rhBMP-2 y medidas de la ACS contenidas en el kit son variadas, como lo muestra la siguiente tabla:

Kit Configurations					
	Description	Item #	Graft Volume	mg rhBMP-2	Absorbable Collagen Sponge (ACS) Dimensions
NEW Sizes!	INFUSE® Bone Graft – XX Small	7510050	0.7cc	1.05mg	One (1) 1/2" x 2" Sponge
	INFUSE® Bone Graft – X Small	7510100	1.4cc	2.10mg	One (1) 1" x 2" Sponge
	INFUSE® Bone Graft – Small	7510200	2.8cc	4.2mg	Two (2) 1" x 2" Sponges
	INFUSE® Bone Graft – Medium	7510400	5.6cc	8.4mg	Four (4) 1" x 2" Sponges
	INFUSE® Bone Graft – Large	7510600	8.0cc	12.0mg	Six (6) 1" x 2" Sponges
	INFUSE® Bone Graft – Large II	7510800	8.0cc	12.0mg	One (1) 3" x 4" Sponge

Figura 7. La tabla muestra las cantidades disponibles de rhBMP-2 y los diferentes tamaños de la ACS contenidos en el kit de Infuse Bone Graft.⁶⁸

La rhBMP-2 se obtiene de células ováricas de hámster chino por medio de ingeniería tisular. La ACS es una matriz suave, blanca, flexible y absorbente fabricada con colágena tipo I de origen bovino. Previo a la implantación, la rhBMP-2 debe ser rehidratada con agua estéril. La solución obtenida es aplicada uniformemente en la ACS, para entonces llevarla al sitio de implantación.⁶⁷



Fig. X. Aplicación de la solución con rhBMP-2 sobre la ACS.⁶⁷

Existe otra rhBMP-2 en el mercado con el nombre de Inductos, desarrollada por la casa comercial Wyeth Pharmaceuticals en Europa. Sus indicaciones son estrictamente para cirugías ortopédicas.⁴⁷

7.- APLICACIONES CLÍNICAS

Las BMPs son de gran interés como agentes terapéuticos en la reparación de fracturas, prevención de osteoporosis, fusión espinal, entre otras.⁶⁹ Su aplicación dentro del área odontológica ha sido ampliamente investigada, determinando su uso en el aumento de reborde alveolar, elevación de seno, oseointegración de implantes dentales y regeneración periodontal. Un gran número de estudios, principalmente con modelos animales de perro y primates, se han realizado para evaluar la rhBMP-2 combinada con varios vehículos y productos para el aumento de reborde y la oseointegración de los implantes dentales.⁷⁰

7.1. Elevación de seno maxilar

Boyne et al⁷¹ realizaron una investigación donde se evaluó la seguridad y efectividad de las rhBMP-2 en humanos. Se seleccionaron 12 pacientes de edades entre los 27 y 70 años que tuvieran una cantidad insuficiente de hueso alveolar en la parte posterior del maxilar y fueran candidatos a una elevación unilateral de seno. La dosis total de rhBMP-2 que fue implantada varió entre 1.77 y 3.4 mg por paciente, inyectada en una esponja de colágena absorbible (ACS) de 7.5 X 10 cm. La rhBMP-2/ACS fue evaluada durante el proceso quirúrgico de acuerdo a su cohesividad, forma, manipulación, volumen, colocación, facilidad y tiempo de preparación. Estas características fueron calificadas en una escala del 1 al 4, siendo el último número el más favorable. En general se consideró a la rhBMP-2/ACS como de fácil manipulación, arrojando resultados entre 3.7 y 4 en todos los parámetros. No se reportaron efectos adversos de gravedad ni cambios

significativos en el conteo de células inmunológicas. Los efectos adversos más comunes fueron el edema facial, eritema, dolor y rinitis. Por medio de una tomografía computarizada (TC), se midió la cantidad de hueso inducido por la rhBMP-2 tomando en cuenta lo alto, ancho y densidad del hueso. En un corte transversal del sitio tratado se midió la altura del hueso por medio de una línea vertical trazada desde la cortical de reborde alveolar hasta el piso del seno maxilar. Se tomaron las medidas en una TC prequirúrgica y postquirúrgica; en ésta última las medidas se obtuvieron a lo largo de la línea vertical hasta la porción más superior del hueso a incrementar.

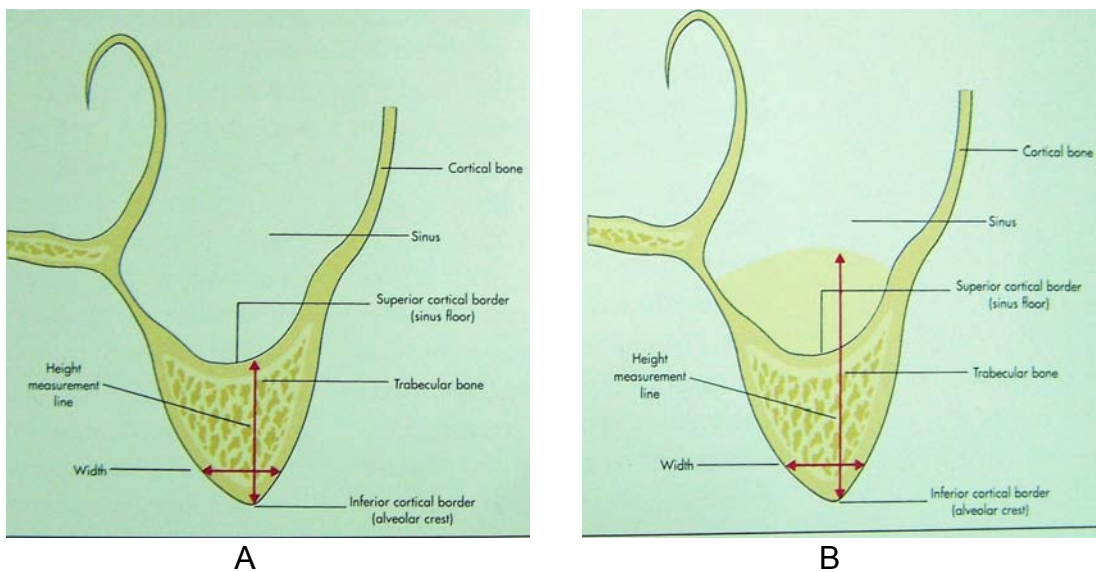


Figura 8. Corte transversal del sitio tratado: (A) TC prequirúrgica y (B) postquirúrgica (16 semanas después).⁷¹

En estos cortes también fue medida la cantidad del hueso a lo ancho. La densidad del hueso neoformado se midió comparándola con la del hueso nativo.

+

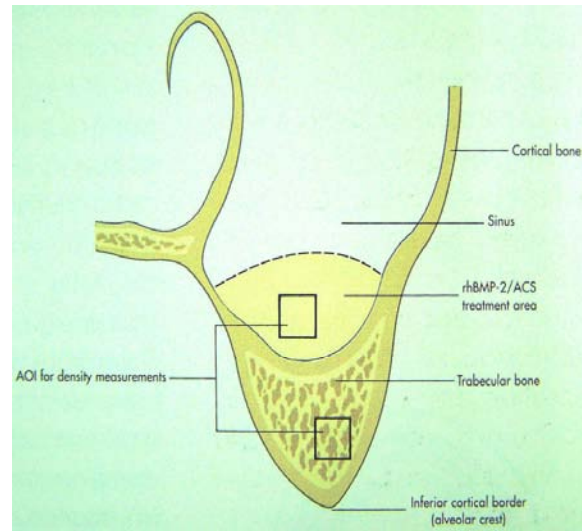


Figura 9. Comparación de las densidades óseas.⁷¹

La media general en el aumento de seno maxilar a las 16 semanas fue de 8.51 ± 4.13 mm. Siete de los pacientes presentaron una altura óptima o ideal para la colocación de implantes. También se realizó un análisis histológico en dos de los siete pacientes para determinar la calidad y cantidad del hueso neoformado. En la muestra histológica, la cantidad de trabeculado en el nuevo hueso inducido fue clasificado como moderado, dentro de una escala de 0 (ausente) a 3 (abundante). La cantidad de tejido óseo se presentó de moderado a abundante, al igual que el número de osteoblastos y capilares en la médula del hueso neoformado, lo que comprobó la calidad del hueso inducido por medio de las rhBMP-2.

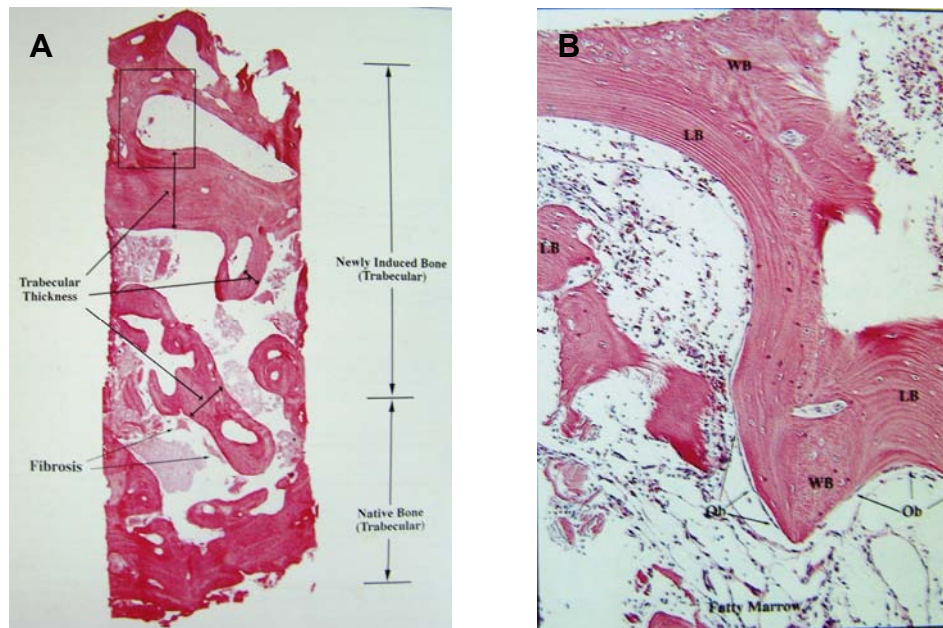


Figura 10. Cortes histológicos donde se muestra la cantidad del hueso neoformado (A) y sus componentes: (B) hueso lamelar (LB), tejido óseo (WB) y osteoblastos (Ob).⁷¹

Estos resultados indican que las rhBMP-2 representan una alternativa para aumentar verticalmente el piso del seno maxilar y posteriormente lograr la rehabilitación por medio de prótesis implanto soportadas.

7.2. Preservación de alveolo y aumento de reborde en defectos óseos localizados

Un segundo estudio se realizó para evaluar la seguridad y efectividad de las rhBMP-2 pero ahora en la preservación de alveolo postextracción y aumento de reborde en defectos óseos localizados.⁷² En este estudio, un total de 12 pacientes fueron tratados con rhBMP-2 en una concentración de 0.43 mg/ml (producida y purificada por Genetics Institute) disuelta en 8 ml de agua estéril, y posteriormente se inyectó en una ACS. La mitad de los pacientes se

destinaron para preservación de alveolo y el resto para aumento de reborde en defectos óseos localizados. El volumen de la rhBMP-2/ACS a implantar dependió del procedimiento y tamaño del defecto. En consecuencia, la dosis total de rhBMP-2 varió entre cada paciente. Los parámetros utilizados para determinar la viabilidad de la rhBMP-2/ACS fueron los mismos que en el estudio de Boyne.⁶⁹ En cuanto a la seguridad de su uso se evaluó mediante la toma de signos vitales, análisis de orina y estudios hematológicos como química sanguínea. Los resultados mostraron que las rhBMP-2/ACS fueron bien toleradas local y sistémicamente, sin efectos adversos. Además, su manipulación fue muy sencilla, facilitando su adaptación en el reborde o el alveolo. En los casos de preservación de alveolo la cantidad de hueso que se formó a las 16 semanas fue de 0.31666 mm, mientras que en los defectos óseos, el aumento de hueso en promedio fue de 0.16 mm. En cuanto a la cantidad de hueso neoformado, los resultados no fueron muy prometedores debido a varios factores, como la dosis de rhBMP-2, el número de personas en la muestra, la ausencia de un grupo control y la variación de volumen implantado de rhBMP-2/ACS.

Posteriormente, se realizó otra investigación en la que se mejoraron los métodos y parámetros para evaluar la eficacia de la rhBMP-2/ACS en el aumento de reborde sobre defectos óseos localizados (post-extracción) para la colocación de implantes dentales.⁷³ Se obtuvo una muestra de 80 pacientes que requerían preservación o aumento de reborde alveolar con destrucción de la cortical vestibular ($\geq 50\%$ de pérdida) tras la extracción de dientes maxilares (premolares y anteriores). La muestra se dividió en dos, con 40 pacientes cada una, a los que se les administró de forma aleatoria 0.75 mg/ml de rhBMP-2/ACS, 1.5 mg/ml de rhBMP-2/ACS, un placebo (ACS sola) o ningún tratamiento. Por medio de una tomografía computarizada (TC) se evaluó la cantidad de hueso neoformado, el volumen adecuado de hueso

alveolar para la colocación de implantes dentales y la densidad ósea (una TC de inicio y otra a los 4 meses posteriores al tratamiento). En un corte transversal del sito tratado se midió la formación de nuevo hueso. Los criterios empleados fueron la altura (una medida) y el ancho del hueso alveolar (tres medidas de 25, 50 y 75% en la longitud del alveolo post-extracción), como se muestra en la siguiente figura:

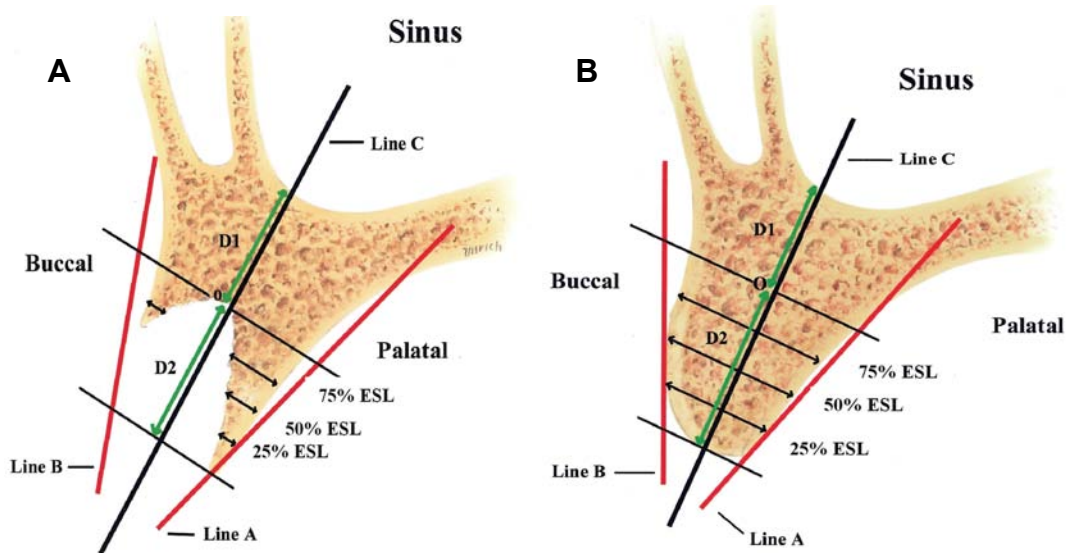


Figura 11. Criterios para medir la neoformación de hueso en la TC. (A) TC inicial y (B) TC a cuatro meses del tratamiento con rhBMP-2/ACS.⁷³

Los resultados en cuanto a la neoformación de hueso indicaron que los pacientes que recibieron 1.5 mg/ml de rhBMP-2/ACS tuvieron un incremento mayor en la cantidad de hueso que los pacientes a los que se les administró la mitad de la dosis (≤ 0.05). La anchura del hueso a nivel del 50% en los grupos que se administró 1.5 mg/ml fue estadísticamente significativa en comparación con los que no tuvieron tratamiento alguno (≤ 0.05). El volumen de hueso alveolar necesario para la colocación de un implante dental a nivel del 50% y 75% del alveolo fue tres veces mayor en el grupo de 1.5 mg/ml de

rhBMP-2/ACS comparado con el grupo placebo o el que no fue tratado. En cuanto a la densidad ósea, no hubo diferencias significativas entre todos los grupos.

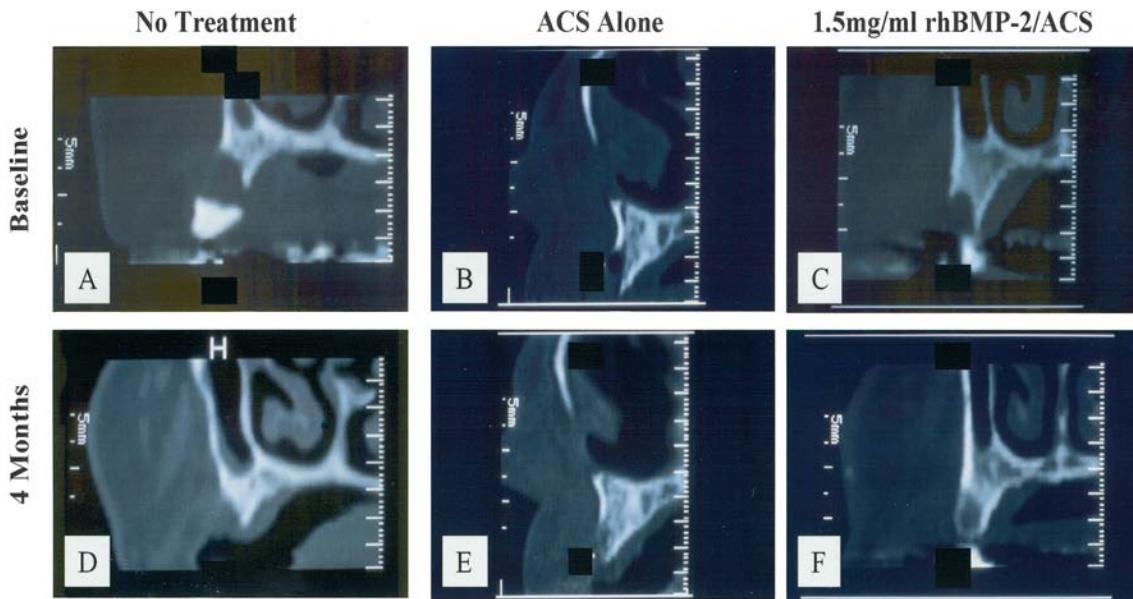


Figura 12. TC de los rebordes alveolares, comparando la cantidad de hueso formado en cada uno (sin tratamiento, grupo control y 1.5 mg/ml rhBMP-2/ACS). TC iniciales (A,B,C) y TC a los 4 meses de la cirugía (D,E,F).⁷³

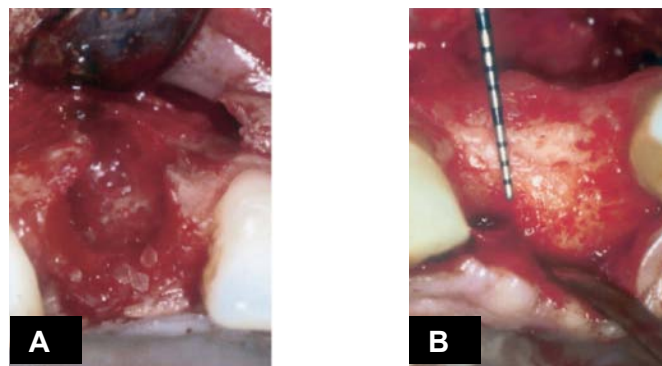


Figura 13. (A) Sitio postextracción que muestra más del 50% de pérdida ósea en la cortical vestibular. (B) Sitio de la extracción 4 meses después de haber sido tratado con 1.5 mg/ml de rhBMP-2/ACS.⁷³

Además, se realizó un estudio histológico el cual reveló que el hueso neoformado fue indistinguible del hueso nativo.

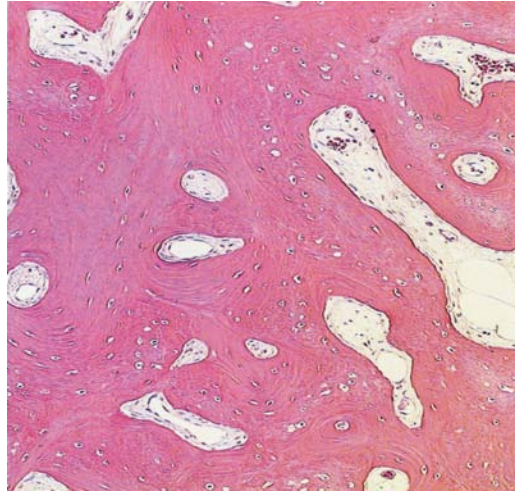


Figura 14. Corte histológico a los 8 meses de la cirugía en un paciente que se le administró 0.75 mg/ml de rhBMP-2 /ACS.⁷³

En conclusión, los resultados de este estudio demuestran que la aplicación de rhBMP-2 en una ACS tiene efectos significativos en la neoformación ósea para la colocación de implantes dentales.

7.3. Regeneración periodontal

En un estudio se evaluó el efecto de la rhBMP-2 en la regeneración del hueso alveolar y el cemento, en asociación con resorción radicular y anquilosis.⁷⁴ Se crearon quirúrgicamente defectos periodontales en 8 perros, alrededor de los 3° y 4° premolares mandibulares tanto derechos como izquierdos; los defectos fueron de 6 mm, midiéndolos con una sonda desde la unión cemento-esmalte hacia apical, alrededor de todos los órganos

dentarios. A 6 de los 8 perros se les administró rhBMP-2/ACS en diferentes concentraciones (0.05, 0.1 y 0.2 mg/ml; el volumen total fue de aproximadamente 4 ml), cubriendo los defectos con la esponja embebida en rhBMP-2. El resto de los animales recibieron la rhBMP-2/ACS en concentraciones de 0 y 0.10 mg/ml sobre los defectos en forma contralateral (controles). Los animales fueron sacrificados 8 semanas después de haber realizado la cirugía, y se obtuvieron muestras en bloque de los defectos para ser analizados histológica e histométricamente. Los resultados revelaron que los sitios que recibieron la diferentes concentraciones de rhBMP-2/ACS presentaron una significativa regeneración ósea comprendiendo entre un 86 y 96% de incremento vertical (4.3 y 5 mm).

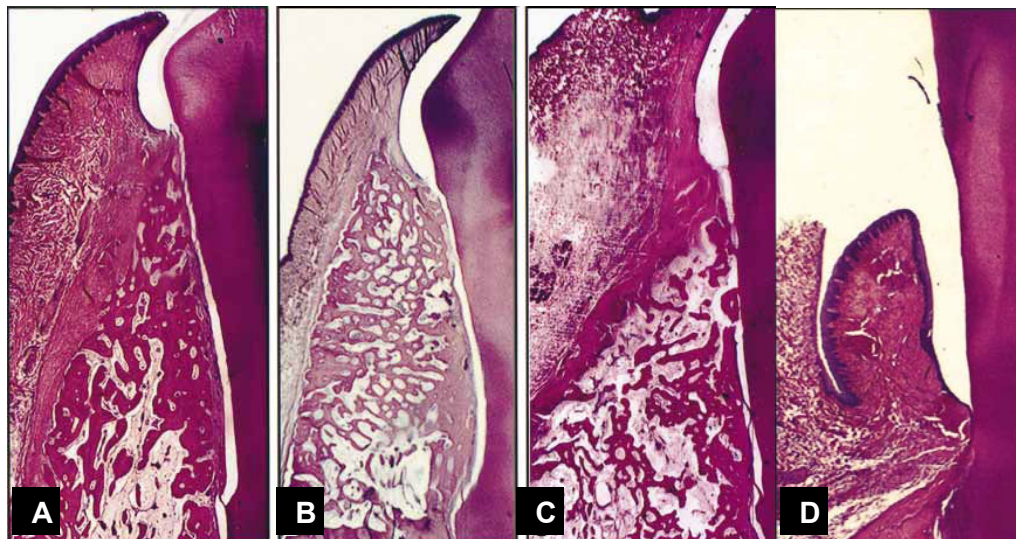


Figura 15. Formación de hueso a las 8 semanas de la cirugía con las diferentes concentraciones de rhBMP-2/ACS y en el grupo control. (A) 0.05 mg/ml, (B) 0.10 mg/ml, (C) 0.20 mg/ml y (D) grupo control.⁷⁴

La regeneración del cemento, desde el extremo más apical de la raíz hacia su parte más coronal fue limitada, oscilando entre 6 y 8% (0.3 y 0.4 mm). La resorción radicular se observó en todas las concentraciones de rhBMP-2,

siendo mayor en los sitios donde se colocó en concentraciones altas (0.2 mg/ml). La anquilosis se presentó en todos los dientes que recibieron la rhBMP-2. Los defectos controles en los que no se administró rhBMP-2 exhibieron una limitada o incluso nula evidencia de regeneración ósea y del cemento, resorción radicular y anquilosis.

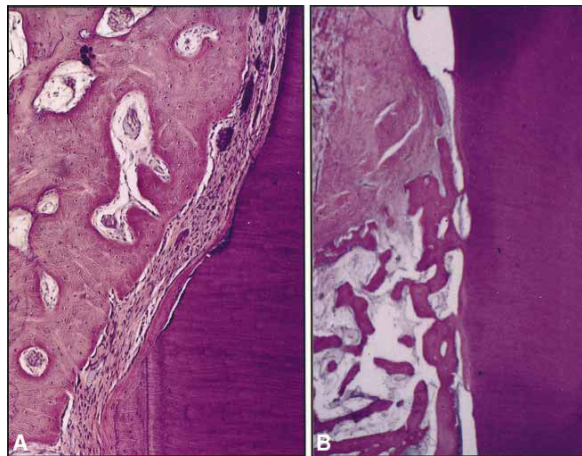


Figura 16. Microfotografía del sitio implantado con rhBMP-2/ACS, en la que se muestra la formación de cemento en el extremo apical de la raíz (A) y la anquilosis en la parte coronal del defecto (B).⁷⁴

Por lo tanto, parece ser que la resorción radicular y la anquilosis son directamente proporcionales a la concentración de rhBMP-2 administrada. En contraste, la regeneración ósea no parece estar relacionada a la concentración de rhBMP-2.

7.4. Oseointegración de implantes

La combinación de rhBMP-2 con una esponja de colágena absorbible (ACS) fue utilizada en modelos caninos para producir la regeneración ósea y la

oseointegración de implantes dentales.⁷⁵ Quirúrgicamente se redujo la altura del reborde alveolar mandibular 5 mm, desde la unión cemento-esmalte hacia apical de los premolares, los cuales posteriormente se extrajeron. Después se colocaron implantes de 10 mm, insertándolos 5 mm en el hueso y dejando los 5 mm restantes del implante expuestos. En seguida se cubrieron los implantes, unos con rhBMP-2/ACS y otros únicamente con la ACS (zona control), y se suturó. A las 16 semanas el sitio intervenido fue sometido a estudios radiográficos, histológicos e histométricos, los cuales revelaron que la formación ósea en cuanto a altura fue de 4.2 ± 1.0 mm en los implantes tratados con rhBMP-2/ACS y 0.5 ± 0.3 mm en la zona control.



Figura 17. Formación de nuevo hueso alrededor de la superficie del implante. La flecha indica el nivel de la cresta ósea reducida quirúrgicamente. (A) Sitio con rhBMP-2/ACS y (B) sitio control.⁷⁵

La oseointegración del implante en el hueso inducido fue en promedio de $29.1 \pm 9.8\%$ y $65.3 \pm 15.3\%$ con rhBMP-2 y la zona control, respectivamente. Las radiografías revelaron un incremento paulatino de zonas radiopacas desde la 2^a semana después de la cirugía hasta la 16^a. El estudio histológico confirmó la regeneración ósea en los defectos tratados con rhBMP-2, al

mismo tiempo que se observaba una adaptación de este hueso a la superficie del implante. Esto indica que la cantidad de hueso inducido por rhBMP-2 tiene una pobre capacidad de oseointegración, en contraste con la zona control, que a pesar de inducir muy poca cantidad de hueso, tiene buena oseointegración a la superficie de los implantes dentales. Estos resultados señalan que la rhBMP-2 induce la regeneración del tejido óseo, pero su acción en la oseointegración de los implantes todavía está en duda.

8.- CONCLUSIONES

Las aplicaciones clínicas de la rhBMP en odontología se han encaminado básicamente a la rehabilitación de zonas desdentadas con implantes dentales, por medio de elevaciones de seno y aumento de reborde alveolar. Tales procedimientos han sido aprobados por la FDA mediante la aplicación de un gran número de pruebas para corroborar la seguridad de su empleo en humanos. Boyne y Fiorellini *et al.* realizaron una serie de estudios para evaluar la seguridad y efectividad de la rhBMP-2 en elevación de seno y aumento de reborde alveolar en sitios postextracción, respectivamente. Los resultados revelaron que la rhBMP-2 empleada junto con una esponja de colágena absorbible (ACS) tiene un amplio margen de seguridad, presentando pocos o nulos efectos indeseables. En cuanto a su efectividad, ambos tratamientos tuvieron buenos resultados, donde el hueso neoformado presentó las condiciones ideales para la colocación de implantes dentales.

Desde su introducción al mercado, la rhBMP-2 se ha convertido en una alternativa para el tratamiento de regeneración ósea que puede llegar a sustituir a los injertos autólogos, gracias a su capacidad para inducir la diferenciación de las células mesenquimatosas en osteoblastos, que formarán hueso indistinguible del original. Además, con la rhBMP-2 se evita una intervención quirúrgica adicional, que en el caso de los injertos autólogos es indispensable para la toma del hueso en el paciente. A pesar de los beneficios que proporciona el uso de la rhBMP, su costo actualmente es muy elevado, lo que puede considerarse como una limitante para su utilización.

Por otro lado, su empleo en el tratamiento de regeneración periodontal y oseointegración está en proceso de investigación. En un estudio realizado

por Wikesjö y colaboradores, se demostró que la aplicación de la rhBMP-2 sobre defectos periodontales creados quirúrgicamente en modelos caninos produjeron la anquilosis y resorción radicular de los órganos dentales; además, la regeneración del cemento radicular fue muy baja.

Por lo tanto, la aplicación de la rhBMP en defectos óseos periodontales no es aún viable; no obstante, se espera que el campo de la investigación siga ampliándose para llegar a dilucidar su uso en este tipo de tratamientos.

Se ha visto que la acción de las rhBMPs esta relacionada directamente con el tipo de vehículos en el que se administre, ya que dependiendo de sus características (tamaño de poro, composición, etc.) será la efectividad y éxito del tratamiento. Si bien la presentación en el mercado de la rhBMP-2 incluye un vehículo a base de colágena tipo I (ACS), existen otros vehículos que pueden ser igualmente efectivos, como el ácido poliláctico, ácido poliglicólico y el ácido poliláctico-glicólico (PLGA por sus siglas en inglés). Estos materiales ofrecen ventajas sobre los polímeros naturales en cuanto a que se elimina cualquier riesgo de adquirir alguna enfermedad y es posible controlar su degradación por medio de la composición del polímero sintético. Un estudio realizado por Kawakatsu y colaboradores, demostró la eficacia de la rhBMP-2 contenida en una esponja de PLGA en el aumento vertical de defectos óseos creados quirúrgicamente en perros.

Aún no están totalmente elucidados los efectos de las rhBMPs en la regeneración ósea y de los tejidos periodontales, ya que los resultados obtenidos hasta el momento no han dejado muy en claro las ventajas que tienen sobre los injertos óseos en los tratamientos de elevación de seno y aumento de reborde alveolar. Se deben realizar más investigaciones con protocolos estandarizados para definir mejor la participación de las rhBMPs

en la regeneración de los tejidos periodontales, y en un futuro poder aplicarlas en el tratamiento de la periodontitis y defectos óseos relacionados a órganos dentales.

9.- FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ross M.H., Kaye G.I., Paulina W. Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. 4^a. ed. Montevideo, Uruguay: Editorial Médica Panamericana, 2005. Pp. 182-204.
2. Robert WE, Turkley PK, Breznick N, Fielder PJ. Implants: Bone Physiology and metabolism. CDA J 1987; 15:54-61.
3. Davies JE. Bone Engineering. Toronto, Canadá: em squared incorporated, 2000. Pp. 15.
4. Caplan AI, Bruder SP. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. Trends Mol Med 2001; 7: 259-264
5. Geneser F. Histología sobre bases moleculares. 3a. ed. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, 2000. Pp. 274-275.
6. pt.wikipedia.org/wiki/Osteoblasto
7. Miller SC, Jee WSS. Bone lining cell. In: Hall BK (ed) Bone, vol 4. Boca Rato: CRC, 1990; 1-19.
8. Garg Arun K. BONE, Biology, Harvesting, Grafting for Dental Implants Racionale and Clinical Applications. 1a. edición. China: Editorial Quintessence Publishing Co, Inc., 2004. Pp. 22.

9. encolombia.com/VITABIOTICS/Estudio_Osteocare2.htm
10. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Patología Humana. 6^a. ed. México, D.F.: Editorial Interamericana McGraw-Hill, 1999. Pp. 53-54.
11. Anitua E., Andia I. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea, Plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F.). 1^a. ed. España: Editorial Puesta al día publicaciones, S.L., 2000. Pp. 37
12. Mandalunis PM. Remodelación ósea. Actualiz osteología 2006; 2 (1): 16-18.
13. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocr Rev: 2000; 21: 115-37, 33.
14. Romanelli H.J., Adams E.J. Fundamentos de la cirugía periodontal. 1^a. ed. México, D.F.;: Editorial AMOLCA, 2004. Pp. 241-242.
15. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Periodontología clínica e implantología odontológica. 3^a. ed. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, 2003. Pp.607.
16. Mann W. Autogenous transplant n the treatment of an infrabony pocket. J Periodontology, 1995; 2: 205-208.
17. Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. Implant Dent 1993;2: 158-167.

18. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid
19. Lane JM. Bone graft substitutes. *West J Med* 1995; 163: 565-566.
20. Acil Y, Spinger IN, Broek V, Terheyden H, Jepsen S. Effects of bone morphogenetic progein-7 stimulation on osteoblast cultured on different biomaterials. *J Cell Biochem* 2002; 86: 90-98.
21. Nasr HF, Aichelmann-Redi E, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontol* 2000 1999; 19: 74-86
22. Arnás M, Ballester JF, Molinos JM, Álvarez a. Factores de crecimiento: estado del conocimiento actual. *Rev. Esp. Odontoestomatológica de implantes* 2002; 10: 202-208.
23. Schliephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31: 469- 484.
24. Lacey DL, Erdmann JM, Shima M, King S, Matayoshi A, Ohara J, Perkins SL. Interleukin 4 enhances osteoblast macrophage colony-stimulating factor, but not interleukin 6, production. *Calcif Tissue Int* 1994; 55: 21-28.
25. Nakamura T, Hanada K, Tamura M, Shibanushi T, Nigi H, Tagawa M, Fukumoto S, Matsumoto T. Simulation of endosteal bone formation by systemic injections of recombinant basic fibroblast growth factor in rats. *Endocrinology* 1995; 136: 1276-1284.

26. Hurley MM, Lee SK, Raisz LG, Bernecker P, Lorenzo J. Basic fibroblast growth factor induces osteoclast formation in murine bone marrow cultures. *Bone* 1998; 22: 309-316.
27. Cho MI, Matsuda N, Ramakrishan PR, Llin WL. Differential regulation of periodontal ligament cells activities by platelet derived growth factor, insuline like growth factor-I and epidermal growth factor. *Molecular patogenesis of periodontal disease. American Society of Microbiology* 1994; 403-414.
28. Gabbitas B, Canalis E. Growth factor regulation of insulin-lide growth factor binding protein-6 expression in osteoblast. *J Cell Biochem* 1997; 66: 77-86.
29. Gao J, Simons AL, Bartold PM. Expression of transforming growth factor-beta 1 in the developing periodontium of rats. *J Den Res* 1998; 77: 1708-1716.
30. Mehler MF, Mabie PC, Zhang D, Kessler JA. Bone morphogenetic proteins in the nervous system. *Trends Neurosci* 1997; 20: 309-317.
31. Reddi AH. Bone morphogenetic proteins and skeletal development: the kidney-bone connection. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 598-601.
32. Wozney JM, Rosen V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and reparir. *Clin Ortoph* 1998; 346: 26-3

-
33. Delany AM, Dong Y, Lomri A, Marie PJ. Endogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is involved as an autocrine factor for human osteoblastic cells. *J Cell Physiol* 1997; 56: 295-302.
 34. Teitelbaum SL, Abu-Amer Y, Ross FP. Molecular mechanisms of bone resorption, *J Cell Biochem* 1995; 59: 1-10.
 35. Boyne P. Maxillofacial surgical application of bone inductor material. Position Paper. *Implant Dent* 2001; 10 (1): 2-4.
 36. Yamaguchi A, Katagiri T, Igeda T, Wozney JM, Rosen V, Wang EA, Kahn AJ, Suda T, Yoshiki S. Recombinant human bone morphogenetic proteins-2 stimulates osteoblastic differentiation and inhibits myogenic differentiation in vitro. *J Cell Biol* 1991; 113: 681-687.
 37. Reddi AH. Cartilage derived morphogenetic proteins and cartilage morphogenesis. *Microsc Res Tech* 1998; 43: 131-136.
 38. Urist MR: Bone: formation by autoinduction. *Science* 150: 893-899, 1965
 39. Reddi AH, Cunningham NS. Initiation and promotion of bone differentiation by bone morphogenetic proteins. *J Bone Miner Res* 1993; 8 (suppl 2): S499-S502.
 40. Wozney JM. The potential role of bone morphogenetic proteins in periodontal reconstruction. *J Periodontol* 1995; 66: 506-510.

41. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 2220-2224.
42. Samphat TK, Reddi AH: Dissociative extraction and reconstruction of bone matrix components involved in local bone differentiation. Proc Natl Acad ASci USA. 78_ 7599-7603, 1981
43. Jones CM, Lyons Km, Lapan PM, Wright C, Hogan BL. DVR-4 (bone morphogenetic protein-4) as a posterior-ventralizing factor in Xenopus mesoderm induction. Development 1992; 115: 639-647.
44. Zou H, Niswander L. Requirement for BMP signaling in interdigital apoptosis and scale formation. Science 1996; 272: 738-741.
45. Vainio S, Karavanova I, JowettA, Thesleff I. Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. Cell 1993; 75: 45-58.
46. Reddi AH. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. NatBiotechnol 1998; 16: 247-252
47. Lynch SE, Marx RE, Nevins M, Wisner LA. Tissue engineering, applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics. 2a. ed. China: Editorial Quintessence Publishing Co, Inc., 2008. Pp. 159-160.
48. Lind M, Eriksen EF, Büniger C. Bone morphogenetic protein-2 but not bone morphogenetic protein-4 and -6 stimulates chemotactic migration of

-
- human osteoblasts, human marrow osteoblasts,, and U2-OS cells. *Bone* 1996; 18: 53-57.
49. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 1988; 242: 1528-1534.
50. Hoffman A, Weich G, Gross G. Hillman G. Perspectives in the biological function, the technical and therapeutic application of bone morphogenetic proteins. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001; 57: 294-308.
51. Massague J, Weis-Garcia F. Serine/threonine kinase receptors:mediatros of transforming growth factor beta family signals. *Cancer Surv*, 1996; 27: 41-64.
52. Yamashita H, Ten D, Heldin CH, Miyazono K. Bone morphogenetic protein receptors. *Bone*, 1996; 19: 569-574.
53. Lin HY, Wang XF, Ng. Eaton E, Weinberg RA, Lodish HF. Expression cloning of the TGF- beta tipe II receptor, a functional transmembrane serine/threonine kinase (published erratum apprearse in *Cell* 1992 Sep 18; 70-76: following 1068). *Cell*, 1992; 68: 775-785.
54. Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P. TGF- β signaling from cell membrane to nucleus trhough SMAD protein. *Nature*, 1997; 390: 465-471.
55. Aoki H, Fujii M, Imamura T, Yagi K, Takehara K, Kato M, et al. Synergistic effects of different bone morphogenetic proteins type I

- receptors on alkaline phosphatase induction. *J Cell Sci*, 2001; 114: 1483-1489.
56. Chen X, Rubock MJ, Whitman M. A transcriptional partner for MAD proteins in TGF- β signaling (published erratum appears in *Nature* 1996 Dec 19-26; 348: 648). *Nature*, 1996; 383: 691-696.
57. Kretzschmar M, Lui F, Hata A, Doody J, Massague J. The TGF- β family mediator Smad 1 is phosphorylated directly and activated functionally by the BMP receptor kinase. *Genes Dev*, 1997; 11: 984-995.
58. Sakau T, Onishi T, Yamamoto T, Nagamine T, Samphat T, Ten D. Localization of Smads, the TGF- β family intracellular signaling components during endochondral ossification. *J Bone Miner Res*, 1999; 14: 1145-1152.
59. Senn N: On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. *AM J Med Sci* 98:219-243, 1889.
60. Levander G. A study of bone regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 1938; 67: 705-714.
61. Wang, E. A. et al. Purification and characterization of other distinct bone-inducing factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1998; 85: 9484-9488.
62. Rengachary S. Bone morphogenetic proteins: basic concepts. *Neurosurg Focus*, 2002; 13: 1-6.
63. www.korion.com.ar/archivos/adn_recombinante.pdf

64. Miyazono K. Signal transduction by bone morphogenetic protein receptors: functional roles of Smad proteins. *Bone* 1999; 25: 91-93.
65. Seeherman H, Wozney J, Li R. Bone morphogenetic protein delivery systems. *Spine* 2002; 27 (1): 16-23.
66. Ripamonti U, Ma S, Reddi AH. The critical role of geometry of porous hydroxyapatite delivery system in induction of bone by osteogenin, a bone morphogenetic protein. *Matrix* 1992; 12: 202-212.
67. <http://www.fda.gov/cdrh/pdf5/p050053.html>
68. Ripamonti U, Reddi AH. Tissue engineering, morphogenesis and regeneration of the periodontal tissues by bone morphogenetic proteins. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8: 154-163.
69. Wikesjö UME, Sorensen RG, Wozney JM. Augmentation of alveolar bone and dental implant osseointegration; Clinical implications of studies with rhBMP-2. *J Bone Joint Surg Am* 2001; 82A (1): S136-S145.
70. Boyne PH, Marx RE, Nevins M, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997; 17: 11-25.
71. Howell TH, Fiorellini J, Jones A, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation of augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997; 17: 125-139.

72. Joseph P. Fiorellini, T. Howard Howell, David Cochran, et al. Randomized Study Evaluating Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 for Extraction Socket Augmentation. *J Periodontol* April 2005; 76 (4): 605-613.
73. Wikesjö UM, Guglielmoni P, Promsudthi A, Cho KS, Trombelli L, Selvig KA, Jin L, Wozney JM. Periodontal repair in dogs: effect of rhBMP-2 concentration on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment. *J Clin Periodontol*. 1999 Jun;26(6):392-400
74. Sigurdsson TJ, Fu E, Tatakis DN, Rohrer MD, Wikesjö UME. Bone morphogenetic protein-2 for peri-implant bone regeneration and osseointegration, *Clin Oral Implants Res* 1997; 8: 367-374.