



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS ÓSEAS (rhBMP-2),  
UTILIZADAS EN CIRUGÍA MAXILOFACIAL PARA  
REGENERACIÓN DE DEFECTOS ÓSEOS. REVISIÓN DE  
LA LITERATURA.**

**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 MARCELA FIGUEROA AGUILAR

TUTOR: Esp. GABRIEL LORANCA FRAGOSO



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.

*Con mucho amor y respeto dedico esta tesina a mis padres, que con su amor y enseñanzas, me ayudaron a culminar esta etapa. Les agradezco todo su esfuerzo por siempre darme la mejor educación. Gracias a ustedes es que puedo estar escribiendo estas líneas.*

*A mi padre, por su apoyo incondicional.  
Esp. Octavio Figueroa López*

*A mi madre, por su constante fuente de inspiración y ejemplo.  
D. en C. Marcela Alejandra Aguilar Cuevas*

*A mis hermanos, que son la fuente de mi alegría y mi mayor bendición.  
Octavio Figueroa Aguilar  
Alejandro Figueroa Aguilar*

*Pero sobretodo a Dios,  
que me dio una maravillosa familia y con ello mi vida.*

*Gracias por llenarla de bendiciones.*

*Con mucho respeto y admiración, agradezco al Esp. Gabriel Loranca Flores por sus enseñanzas, consejos y orientación en la realización de esta tesina.*

*Agradezco a la Mtra. Roció Gloria Fernández López, por su valiosa enseñanza a lo largo de este Seminario de Cirugía Bucal; así como a los doctores que forman parte del cuerpo académico.*

*Por las asesorías y apoyo en la elaboración de este trabajo escrito agradezco especialmente*

*A la D. en C. Marcela Alejandra Aguilar Cuevas*

*Al C.D. Samuel Jiménez Escamilla*

*A mi alma mater, la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Odontología; así como a todas las personas que hacen de esta Universidad, la Máxima Casa de Estudios.*

*"Por mi raza hablará el espíritu"*

## ÍNDICE

Introducción	6
Objetivo	8
Justificación	9
I. Definición	11
1.1 Antecedentes Históricos	11
II. Generalidades	15
2.1 Tejido óseo	15
2.1.1 Estructura	18
2.1.2 Células	21
2.1.3 Mineralización del tejido óseo	26
2.2 Osificación	27
2.2.1 Intramembranosa	27
2.2.2 Endocondral	29
III. Fisiología del hueso	31
3.1.1 Fases del remodelado óseo	32
3.1.2 Factores reguladores del remodelado óseo	33
IV. Regeneración ósea guiada	36
3.1 Osteogénesis	36
3.2 Osteoinducción	36
3.3 Osteoconducción	37

V.	Defectos óseos	38
5.1	Reparación de defectos óseos	40
VI.	Injertos óseos	43
6.1	Autoinjertos	43
6.2	Alloinjertos	43
6.3	Isoinjertos	43
6.4	Xenoinjertos	44
VII.	Factores de crecimiento	45
VIII.	Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMPs)	49
8.1	Tipos de Proteínas morfogenéticas óseas (BMPs)	50
8.2.	Proteína morfogenética ósea-2 (BMP-2)	52
8.2.1	Métodos de obtención de BMP-2 y rhBMP-2	53
8.3	Mecanismo de señalización	55
8.4	Aplicación clínica	56
	Conclusiones	63
	Referencias	64



## Introducción

Uno de los principales retos a los que se enfrentan los cirujanos maxilofaciales es la reconstrucción de grandes defectos óseos que pueden ser originados por traumatismos, por alteraciones congénitas, procesos infecciosos y tumorales; o bien, por osteotomías empleadas en técnicas quirúrgicas. Motivo por el cual los clínicos e investigadores han trabajado en el desarrollo y aplicación de materiales biocompatibles; es decir, aquellos que tienen la capacidad de no ocasionar una respuesta adversa en el organismo y que además, propicien la regeneración ósea, con la finalidad de restablecer la integridad anatómica y funcional de la estructura alterada.<sup>1,2</sup>

El hueso autólogo es el material de elección para regeneración; sin embargo puede presentar morbilidad del sitio donador, se obtienen cantidades insuficientes de material y presenta resorción incontrolada.<sup>3</sup> Por décadas fueron utilizados únicamente materiales de relleno óseo<sup>4,5</sup>; es decir osteoconductores sin la capacidad de unirse al hueso del huésped ni de generar más.<sup>5</sup> Se ha demostrado que la remodelación y la respuesta del organismo, no solo depende de las características osteoconductoras y osteoinductoras del material a injertar sino también del propio medio ambiente celular en el sitio receptor, tal como lo explica Urist en su estudio *Bone: Formation by Autoinduction* en 1965.<sup>6</sup> Por este motivo, se han buscado injertos que funcionen como contenedor (osteoconducción) de estos biomateriales y además permitan la formación de nuevo hueso (osteoinducción) a partir de los mecanismos de regeneración del propio huésped (osteogénesis).<sup>3</sup>

La regeneración ósea por parte del organismo mediante autoinducción ha sido estudiada por Urist desde 1965, pero no fue hasta 1980 que este autor identificó a las proteínas morfogenéticas óseas BMPs (*Bone Morphogenetic Protein*) como las responsables de diferenciar células



vecinas del injerto a células osteoprogenitoras.<sup>7,8</sup> A partir de este hallazgo, los proyectos de investigación enfocados a BMPs han sido numerosos. Entre las proteínas morfogenéticas óseas utilizadas el campo de la Cirugía Maxilofacial para regeneración de defectos, se encuentra la BMP-2 y su forma recombinante humano rhBMP-2 por su amplia capacidad autoinductora.<sup>2</sup>

De esta manera la rhBMP2, es una alternativa como técnica de regeneración ósea, que basada en principios biológicos de autoinducción; es la responsable de desencadenar respuesta por parte del organismo para formar hueso autólogo en periodos de tiempo reducidos; mostrando diferencia significativa en defectos óseos o en fracturas en donde no es posible obtener fijación de un material de relleno óseo.<sup>2</sup>





---

## Objetivo

El propósito de esta revisión de la literatura internacional fue identificar las propiedades regeneradoras de las BMPs, especialmente la rhBMP-2 como material de osteoinducción. Analizar los factores de osteoregeneración, describiendo las ventajas de su utilización en la osteogénesis; así como, conocer la forma de obtención de estos materiales y las ventajas de su aplicación clínica para la reparación y regeneración de defectos óseos.



## Justificación

Existe un interés común en diversas áreas de la medicina orientado al desarrollo de materiales sustitutos de hueso para la reparación de defectos óseos; especialmente para corrección de defectos congénitos y postraumáticos; así como, los originados por patologías, procesos infecciosos y tumorales.

Uno de los más empleados es el injerto autólogo, el principal inconveniente es la cantidad insuficiente que se puede obtener del mismo para cubrir grandes defectos óseos.

El presente trabajo pretende ser una herramienta que oriente al odontólogo de práctica general sobre la utilización de biomateriales de relleno óseo que incluyan proteínas morfogenéticas óseas como injertos osteoinductores para la reparación de defectos. Además permitirá conocer, comprender y analizar los factores que intervienen en la osteoregeneración.

El clínico en la actualidad busca materiales biocompatibles que logren la reparación de forma eficaz y sin alterar la estructura biológica del hueso. De aquí que esta revisión permitirá establecer los avances en el estudio de materiales que logren la osteoconducción, osteoinducción y osteogénesis; en especial el uso de materiales que imitando a la naturaleza del mismo, permitan un medio ambiente celular propicio para acelerar estos procesos de regeneración. En este sentido, la rhBMP-2 es un material recién empleado en otros países (hace aproximadamente una década) que reporta resultados exitosos en esta búsqueda del material ideal.



---

Lo que permite justificarla utilización de una unidad osteogénica en donde se verifiquen de manera simultánea la osteoconducción, la osteoinducción y la osteogénesis para la reparación biológica de dichos defectos.



## I. Definición

Las Proteínas Óseas Morfogenéticas (BMPs) son un grupo de proteínas inductoras que, obteniéndose de la matriz ósea no mineralizada, son capaces de iniciar y estimular la diferenciación de células mesenquimales pluripotenciales hacia células progenitoras y determina importantes pasos durante el desarrollo embrionario temprano.<sup>1,2</sup>

Se engloban dentro de la familia de proteínas del factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) tal como la inhibina, la activina y los factores de crecimiento y diferenciación (GDF, *growth differentiation factor*).<sup>2-4</sup>

### 1.1. Antecedentes Históricos

Generalmente se requiere de un sustituto óseo para iniciar el proceso de reparación en un defecto del hueso debido a diferentes factores etiológicos; y así, restaurar la función normal del tejido. Por lo que se han realizado diferentes investigaciones con la finalidad de encontrar el material ideal que logre la integración de estos injertos con el medio ambiente celular.<sup>5</sup>

Es con los primeros estudios realizados en hueso, entre ellos el de Rudolph Virchow en 1853, que se describió la matriz orgánica no mineralizada o sustancia osteoide. No fue sino hasta 1889 en donde Senn, documentó la utilización de xenoinjertos óseos desmineralizados en cirugía ósea restauradora para defectos craneales en perro. Sin embargo, las propiedades de estos injertos estaban limitadas debido a la utilización de Ácido etilen-diamino-tetra-ácetico (EDTA) como medio para la desmineralización, que inactivaba de manera irreversible las proteínas de la matriz.<sup>1,4</sup>



Fue en 1965 cuando Urist demostró, al sustituir el EDTA por ácido hidroclicórico (HCl), la formación de hueso ectópico tras la implantación intramuscular de fragmentos de matriz ósea desmineralizada en ratones. Lo que había descubierto, fue el inesperado comportamiento de las células huésped vecinas al injerto que concluía en su diferenciación osteoprogenitora. En ese momento se creó el concepto de autoinducción. Posteriormente, en 1973, identificó proteínas de bajo peso molecular a las que denominó proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), como las causantes de esta osteoinducción.<sup>4,6-8</sup>

Levander, en 1938 reportó una serie de experimentos diseñados para estudiar la regeneración ósea. Al igual que Lacroix, en 1945 concluyó que la formación ósea era debida al fenómeno de inducción de una sustancia presente en el cartílago a la que denominó osteogenina. Los estudios de Reddi y Huggins en 1973 ayudaron a confirmar que la propiedad osteoinductiva de la matriz ósea era el resultado de una proteína ósea morfogenética no colágena.<sup>9,10</sup>

Uno de los principales inconvenientes del aislamiento y purificación de BMPs es la poca cantidad de éstas presentes en hueso; además de ser necesarios varios pasos para separar las fracciones proteicas no colágenas. Inicialmente para obtener 1 mg de BMP pura se requería más de 1 kg de hueso bovino. Los mayores avances tuvieron lugar cuando Wang en 1988, junto con otros investigadores, determinaron las fracciones proteicas de 30 KD (16, 18 y 30 KD) responsables de la regeneración. Las secuencias de aminoácidos de los componentes 16, 18 y 30 KD se usaron para desarrollar pruebas para monitorear las bibliotecas bovinas de DNA. Los clones recombinantes coincidentes obtenidos fueron utilizados para monitorear las bibliotecas de DNA recombinantes humanos correspondientes. Por lo que Wozney y cols realizaron las primeras clonaciones de BMPs con técnicas de



ADN recombinante en donde se obtuvieron la rhBMP-1, rhBMP-2 y rhBMP-3, revelándose sus características bioquímicas y biológicas, incluyendo su secuencia de aminoácidos. Poco después Wozney (1988), Celeste (1990) y Ozkaynak (1990) lograrían el aislamiento y la caracterización BMPs adicionales.<sup>1,2,9,11,12</sup>

“Las BMPs pueden jugar múltiples roles en el desarrollo embrionario y la organogénesis, incluyendo la formación del esqueleto y el desarrollo de los tejidos craneofaciales”.<sup>9</sup> Por lo que investigaciones y experimentos realizados para lograr su aplicación clínica en diferentes áreas médicas, no es difícil de explicar. En el área de cirugía y sobretodo, para la reparación de defectos óseos, se han encontrado diversos estudios inicialmente realizados en animales. En 1992 Rutherford y cols utilizaron BMP bovina purificada con matriz ósea colágena para promover la osteointegración rápida de implantes dentales. “En 1994 se halló que el 40% de los osteosarcomas eran capaces de producir osteoinducción promoviendo la formación de hueso ectópico.”<sup>9</sup>

Philip J Boyne y cols., desde 1996 demostraron la capacidad de la rhBMP-2 para reparar defectos de continuidad mandibulares y hendiduras palatinas en diferentes tipos de monos (*Macaque fascicularis*, *mulatta*). En 1997 en elevaciones sinusales y en el año 1999 sobre esponjas de colágeno, presentando, un favorable comportamiento osteointegrador con implantes convencionales y mallas de titanio. A su vez Sigurdsson y cols evaluaron la regeneración y osteointegración en defectos perimplantarios creados quirúrgicamente en perros Beagle, mediante la colocación de rhBMP-2.<sup>1,9</sup>

En 2005 un estudio comparativo de 2 concentraciones de rhBMP-2 detalla las cantidades a utilizar para elevación de senos maxilares. Estudio documentado de 14 pacientes, publicado en el *J Oral Maxillofac Surg* en 2008, demostró excelentes reconstrucciones óseas de defectos críticos de



---

los maxilares de hasta 3,5 centímetros, empleando la rhBMP-2 (INFUSE) en esponjas de colágeno reabsorbibles. La FDA aprobó el empleo clínico de BMPs en pacientes con diversas patologías de columna vertebral y pseudoartrosis, desde el 2000.<sup>1</sup>

Con los trabajos de investigación de Urist, Wozney, Boyne y de otros autores, las BMPs siguen siendo estudiadas y utilizadas sobre diferentes matrices biocompatibles, permitiendo que se desarrollen nuevas técnicas y procedimientos en Cirugía Maxilofacial.



## II. Generalidades

El tejido óseo es una forma especializada de tejido conjuntivo siendo éste, el principal componente estructural del esqueleto. Se encuentra compuesto por células y matriz extracelular altamente mineralizada que le otorga sostén y protección.<sup>13</sup>

El hueso es un tejido dinámico en constante formación y reabsorción, que permite el mantenimiento del volumen óseo, la reparación tisular y la homeostasis del metabolismo fosfocálcico. Este proceso se conoce con el nombre de remodelado óseo; se encuentra relacionado con los componentes estructurales del hueso y la sustancia fundamental; y depende de la interacción entre factores de crecimiento, hormonas, citoquinas y sus diversos tipos celulares.<sup>13-15</sup>

### 2.1. Tejido óseo

Los componentes estructurales de la matriz ósea incluyen componentes colágenos, no colágenos y componentes inorgánicos (Ver tabla 1).

El 90% del peso total de las proteínas óseas incluye principalmente al colágeno tipo I y en menor cantidad el tipo V. También se ha encontrado en pequeñas proporciones el tipo III, relacionado a fibras de Sharpey (fibras que se unen a tendones y ligamentos); y tipo XII, relacionado a estrés mecánico.<sup>14</sup>

El otro 10% lo ocupan componentes no colágenos. Éstos últimos forman la sustancia fundamentalu osteoide, y son indispensables para el desarrollo, crecimiento, remodelado y la reparación del hueso. Tanto el colágeno





comolos componentes de la sustancia fundamental se mineralizan para formar el tejido óseo. <sup>13,14</sup>

Su porción mineral está formada principalmente por calcio, fosfato y carbonato en forma de cristales de hidroxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6 OH_2]$ . <sup>4,13,14</sup>

**Tabla1.** Componentes estructurales de la matriz ósea.

Componente Orgánico (35%)	Componente colágeno (90%)	Colágena	Tipo I (95%),II,V,XII
	Componente no colágeno (10%)	Proteoglicanos (10%)	Condroitín sulfato Hialurano Decorina Biglicano
		Glucoproteinas	Osteonectina Fosfatasa alcalina Osteopontina Fribronectina Trombospondina Vitronectina Sialoproteinas óseas
		Proteínas dependientes de vitamina K	Osteocalcina Proteína S Proteína MPG
		Factores de Crecimiento	IGF TNF- $\alpha$ TGF- $\beta$ PDGF FGF EGF VEGF GM-CSF M-CSF BMPs IL-1, IL-6
Componente inorgánico (65%)			Calcio Fosfato Carbonato

Fuente: Ross MH; 2009. Tabla elaborada por Karla M. Figueroa A.



Los cuatro grupos principales de proteínas no colágenas son:

a) Proteoglicanos

Le proporcionan al tejido óseo resistencia a la compresión. En esta clasificación se encuentran el Hialurano y el Condroitín Sulfato, que intervienen en las etapas iniciales de la morfogénesis ósea; y el Biglicano y Decorina, que aparecen en las fases siguientes de formación ósea. Estas proteínas no colágenas pueden modular la adherencia celular y medianen la calcificación de la matriz orgánica.<sup>2,13</sup>

b) Glucoproteínas

Actúan en la adhesión de las células óseas y las fibras colágenas a la sustancia fundamental mineralizada. Las glucoproteínas involucradas son la osteonectina (une el colágeno tipo I a los cristales de hidroxapatita), la fosfatasa alcalina (libera fosfato a partir de esteres fosfóricos, necesaria para la mineralización) y otras proteínas como la osteopontina, la fibronectina, la trombospondina, la vitronectina y sialoproteínas óseas; éstas, son fundamentales para los procesos de remodelado y regeneración actuando como receptores de superficie y permitiendo la adhesión de las células a la matriz extracelular mediante la activación de señales.<sup>2,3,13,16</sup>

c) Proteínas dependientes de la vitamina K

Entre ellas se encuentra la osteocalcina, que es sintetizada por los osteoblastos y las plaquetas, siendo responsable de capturar calcio desde la circulación, atrayendo y estimulando osteoclastos en el remodelado óseo.<sup>13</sup>



#### d) Factores de crecimiento

Son proteínas reguladoras que intervienen en la diferenciación, crecimiento y proliferación de células de forma autócrina o parácrina (Ver tabla 2).<sup>1,13-15</sup>

**Tabla 2.** Factores de crecimiento involucrados en la osteogénesis.

<b>IFG</b>	Factor de crecimiento similares a la insulina
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Factor de necrosis tumoral $\alpha$
<b>TGF- <math>\beta</math></b>	Factor de crecimiento transformante $\beta$
<b>PDGF</b>	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
<b>FGF</b>	Factor de crecimiento fibroblástico
<b>EGF</b>	Factor de crecimiento epidérmico
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento vascular endotelial
<b>GM-CSF</b>	Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos
<b>M-CSF</b>	Factor estimulador de colonias de macrófagos
<b>BMPs</b>	Proteínas morfogenéticas óseas
<b>IL-1, IL-6</b>	Interleucinas

Fuente: Junquera LM, 2009; Fernández-Tresguerres I, 2006.

Tabla elaborada por Karla M. Figueroa A.

#### 2.1.1 Estructura

La matriz ósea está formada por lagunas, conectadas por osteocitos, (encontrados en el interior), mediante una gran cantidad de prolongaciones denominados canalículos. De esta manera se forma una red en toda la masa del tejido mineralizado. El hueso está estructurado por laminillas de matriz osteoide calcificada. La disposición de estas laminillas es la que determina que el hueso sea compacto (capa gruesa y compacta de superficie ósea externa) o esponjoso (compuesto por trabéculas que forma la parte interna del hueso).<sup>13,14</sup>

La superficie externa del hueso esta revestida por una cápsula denominada periostio; excepto en las zonas en donde se articula con otros huesos. El



periostio de un hueso en crecimiento activo, está compuesto por una capa fibrosa externa y una interna que contiene células osteoprogenitoras capaces de sufrir mitosis y convertirse en osteoblastos.

El tejido que reviste tanto al hueso compacto que limita la cavidad medular como las trabéculas del hueso esponjoso se le conoce como endostio. Es una capa de células osteoprogenitoras que pueden diferenciarse en osteoblastos (células secretoras de matriz ósea) y células de revestimiento óseo.<sup>13</sup>

La cavidad medular y los espacios del hueso esponjoso contienen médula ósea. Compuesta de células progenies hematopoyéticas en diferentes etapas evolutivas y una red de fibras y células reticulares que funcionan como almacén de sostén para los vasos y las células en desarrollo. Cuando la producción de células sanguíneas disminuye y la cavidad medular se ocupa por tejido adiposo se le llama médula ósea amarilla. En el adulto la médula roja normalmente está limitada a espacios en el hueso esponjoso de pocos sitios, de donde se obtienen los trasplantes.<sup>6,13</sup>

El hueso compacto maduro está compuesto por unidades cilíndricas formadas por laminillas concéntricas de matriz ósea alrededor de un conducto central, el conducto de Havers, que contiene vasos y nervios; estas se conocen como osteonas o sistemas de Havers. Los canalículos de las prolongaciones de los osteocitos siguen un patrón radial con respecto al conducto para el intercambio de sustancias entre osteocitos y vasos sanguíneos. Entre las osteonas hay restos de laminillas intersticiales por lo que al hueso maduro se le conoce también como hueso laminillar. A través del hueso laminillar pasan vasos sanguíneos y nervios mediante los conductos de Volkmann, que van desde el endostio hasta el periostio para alcanzar los conductos de Havers, y conectarlos entre sí. El hueso esponjoso

tiene una estructura similar excepto que en éste, el tejido se distribuye en forma de trabéculas, por las cuales hay abundantes espacios medulares (Ver figura 1).<sup>13</sup>

**Figura 1.** Diagrama tridimensional de la estructura ósea.

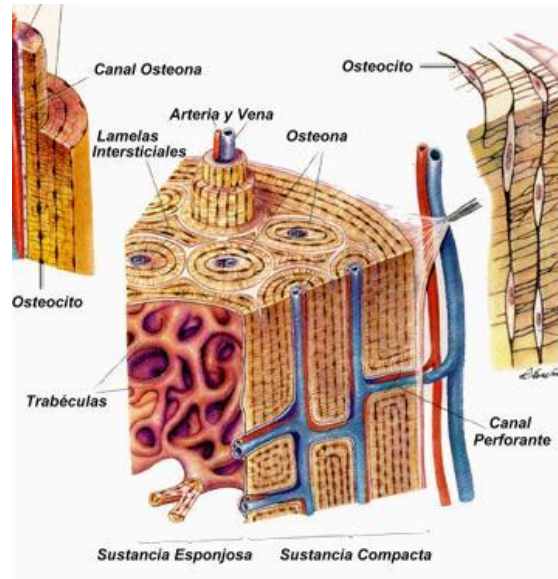


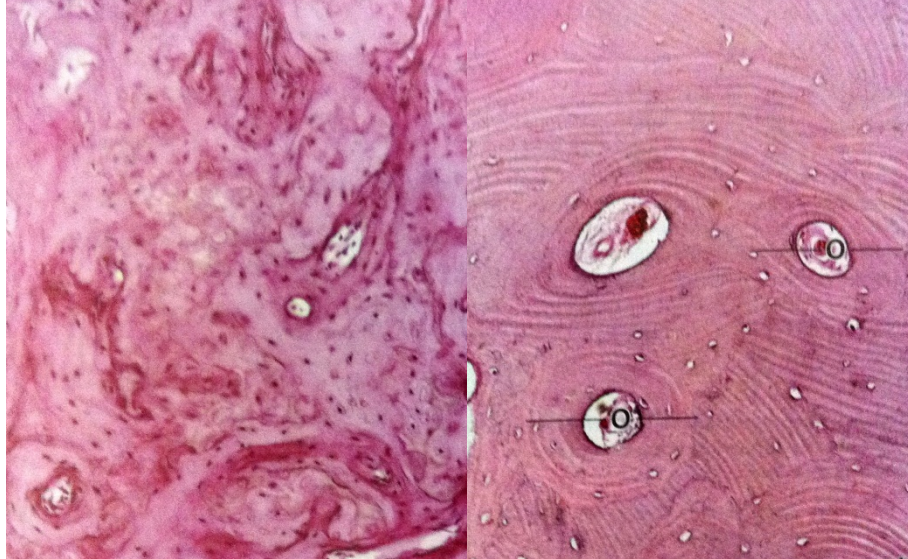
Imagen disponible en:<http://www.anatomiahumana.ucv.cl/efi/modulo1.html>

El hueso inmaduro es primer tejido óseo en el esqueleto de un feto y se le conoce también como hueso no laminillar ya que no muestra un aspecto de ésta forma a causa de la disposición entrelazada de las fibras colágenas. A diferencia del hueso maduro, las células tienden a distribuirse al azar siendo relativamente mayor la cantidad de células por unidad de volumen en el hueso inmaduro que el maduro (Ver figura 2 y 3). Con frecuencia se observa este tipo de tejido óseo en zonas de remodelado oseó.<sup>13,14</sup>

La irrigación sanguínea se da a través de orificios externos del hueso hasta llegar a la medula ósea. El drenaje venoso se produce por medio de venas que abandonan el hueso a través de los agujeros nutricios para discurrir en el periostio. Los conductos de Volkmann proveen la vía principal para los

vasos que atraviesan el tejido óseo compacto. Los vasos sanguíneos de menor calibre se introducen en los conductos de Havers donde se puede encontrar una arteriola o una vénula ó solo un capilar. En el hueso no hay linfa ni vasos que la contengan y solo el periostio posee drenaje linfático.<sup>13,15</sup>

**Figura 2 y 3.** Microfotografía de hueso inmaduro y maduro descalcificado.



Ala izquierda hueso inmaduro teñido con HE. A la derecha hueso maduro teñido con HE. Fuente: Ross MH, 2009.

### 2.1.2 Células

Los tipos celulares son cinco: células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo y osteoclastos. Con excepción del osteoclasto, cada una de estas células puede considerarse una forma diferenciada del mismo tipo celular básico.<sup>13</sup>

#### a) Células osteoprogenitoras

Derivan de células madre mesenquimáticas, con la capacidad de diferenciarse en muchos tipos celulares: fibroblastos, osteoblastos,



adipocitos y células musculares. La proteína fundamental que desencadena la diferenciación es el factor fijador central alfa 1 (CBFA1 = core binding factor alfa-1). Esta proteína estimula la expresión de genes característicos del fenotipo del osteoblasto. Las BMPs también desempeñan un papel en la diferenciación de los osteoblastos. Las células osteoprogenitoras comprenden las células periósticas que forman la capa más interna o profunda del periostio y las células endósticas que tapizan las cavidades medulares, los conductos de Havers y los de Volkmann.<sup>2,6,13</sup>

## b) Osteoblastos

Proceden de las células mesenquimales pluripotenciales de la médula ósea, endostio, periostios y pericitos vasculares.<sup>14</sup> Poseen la capacidad de secretar colágeno tipo I y proteínas de la matriz ósea, que constituyen la matriz no mineralizada inicial, llamada osteoide. Sintetizan ésta matriz orgánica a un ritmo de 2 a 3µm por día y expresan la fosfatasa alcalina que permite la mineralización a un ritmo de 1 a 2 µm por día.<sup>14</sup> Además, median la reabsorción llevada a cabo por osteoclastos a través de la síntesis de citoquinas específicas. Dirigen la disposición de las fibrillas de matriz y sintetizan factores de crecimiento. Los osteoblastos responden a estímulos mecánicos para mediar los cambios en el remodelado óseo. A medida que se deposita la matriz osteoide, el osteoblasto va quedando rodeado por ella. Cuando termina incluido por completo en el osteoide se convierte en osteocito.<sup>6-8,13</sup>

Los osteoblastos poseen prolongaciones citoplasmáticas muy delgadas que se introducen en el tejido osteoide producido por ellos a su alrededor y entran en contacto con las prolongaciones de osteocitos así como con osteoblastos vecinos.<sup>13,14</sup>



c) Osteocitos.

El osteocito es la célula ósea madura que se encuentra rodeado por la matriz que el osteoblasto secretó. Son las células más abundantes del hueso. Tienen como función la mecanotransducción respondiendo a fuerzas mecánicas aplicadas al hueso, que alteran no solo la genética sino también el mecanismo de apoptosis (muerte celular programada). “Cuando se produce un trauma en el hueso el cese de la circulación sanguínea origina hipoxia y necrosis de los osteocitos que están a más de 0.1 mm de una capilar intacto.”<sup>14</sup> “La muerte de osteocitos por traumatismos, envejecimiento celular o apoptosis, da como resultado la resorción de la matriz ósea por actividad osteoclastos, seguida por reparación o remodelado del tejido óseo por actividad de los osteoblastos”.<sup>13</sup>

Cada osteocito extiende prolongaciones citoplasmáticas para comunicarse con otros osteocitos y con células de revestimiento óseo del entorno mediante nexos. También pueden comunicarse con osteoblastos, pericitos de los vasos sanguíneos y otras células óseas distantes por medio de la expresión de moléculas de señal diversas, como transportadores de glutamato y óxido nítrico.<sup>6,7,13</sup>

Se han descrito 3 estados funcionales para los osteocitos, cada uno de ellos con una morfología característica: osteocitos latentes; osteocitos formativos, que exhiben indicios de formación de matriz y presentan características similares a los osteoblastos; y osteocitos resorptivos.<sup>6,7,13</sup>

d) Células de revestimiento óseo.

Derivan de osteoblastos y tapizan el tejido óseo que no se está remodelando. En la superficie externa de hueso, reciben el nombre de células periósticas y

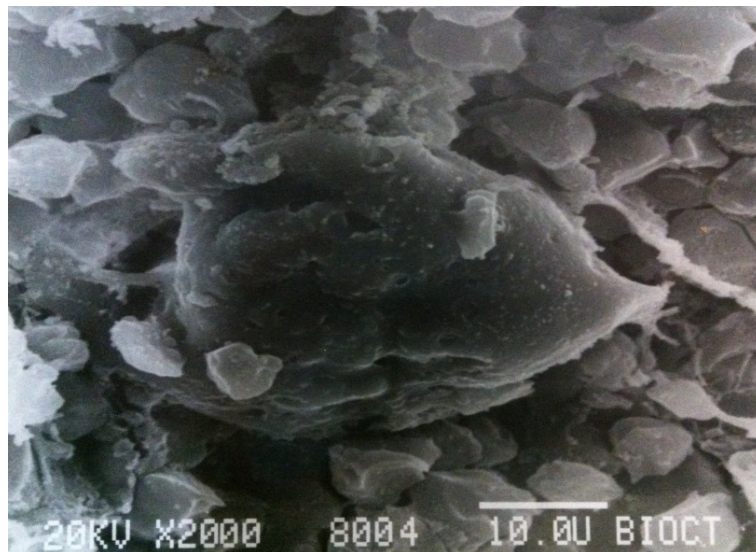


las internas células endósticas. Se cree que intervienen en el mantenimiento y la nutrición de los osteoides y que regulan el movimiento del calcio y el fosfato desde la sangre hacia el hueso y visceversa.<sup>13,14</sup>

e) Osteoclastos.

Los osteoclastos son células multinucleadas que proceden de la fusión de células progenitoras hematopoyéticas de CFU-GM (Unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos), célula que da origen a los linajes de granulocitos neutrófilos (CFU-G) y de monocitos (CFU-M). La formación de los osteoclastos ocurre en asociación estrecha con células de la estroma de la médula ósea que secretan citosinas indispensables para la diferenciación tanto de los osteoclastos como de los macrófagos, a partir de células CFU-GM (Ver figura 4).<sup>13,14,16</sup>

**Figura 4.** Macrófago sobre superficie ósea



Microfotografía que muestra macrófago sobre superficie ósea de rata Wistar a 3 semanas de implantación de HA a 2000X por MEB. Imagen: Dra. Marcela A. Aguilar C. y M.C. Silvia Antuna B. Departamento de Biología Celular y Tisular. Facultad de Medicina. UNAM.

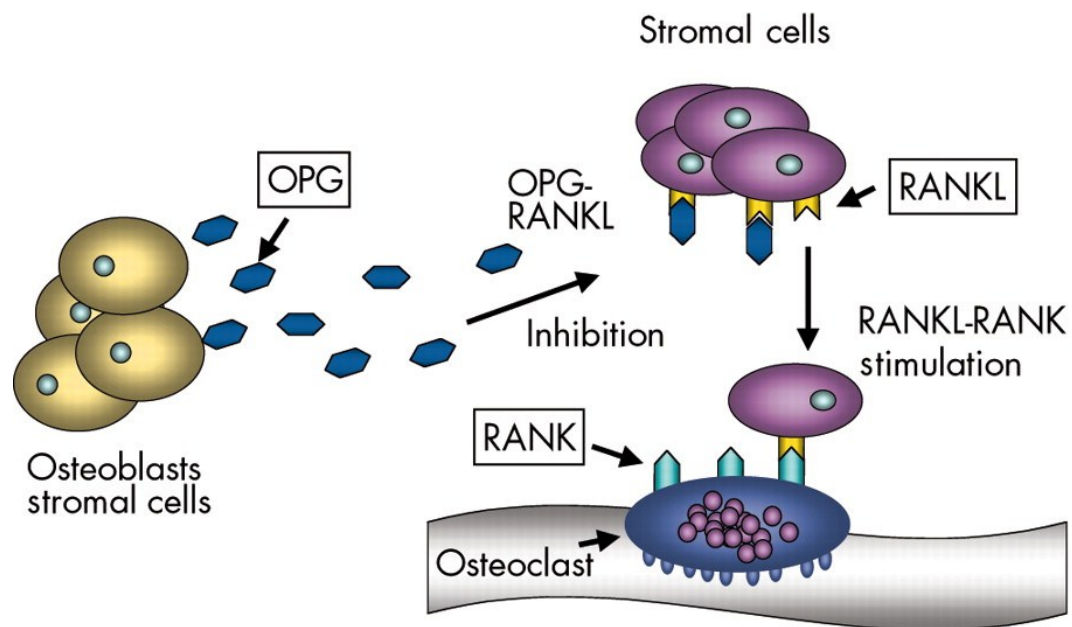


Los osteoclastos se movilizan hacia la zona a reabsorber y, seguidamente, se adhieren a la superficie ósea mineralizada sellando los bordes del área mediante integrinas. La integrina del osteoclasto reconoce el colágeno y otras proteínas de la matriz osteoide. A este nivel el pH es ácido debido a la secreción de la anhidrasa carbónica II y enzimas proteolíticas como colagenasas, metaloproteasas, catepsina K, glucuronidasa, etc. Estas enzimas generan la reabsorción del hueso mediante la solubilización de la matriz orgánica y mineral.<sup>13,14,16</sup>

Los conocimientos actuales acerca de la regulación de la osteoclastogénesis se basan en la existencia de 3 moléculas clave: OPG (osteoprotegerina, sintetizada por osteoblastos y pre-osteoblastos), RANKL (ligando situado en la superficie de osteoblastos y pre-osteoblastos) y RANK (receptor del RANKL situado en la membrana de osteoclastos y pre-osteoclastos). El RANKL (receptor activator of NFκB ligando, es una citoquina transmembranal perteneciente a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) al igual que la OPG.<sup>13-17</sup>

La interacción entre RANKL y su receptor RANK produce una activación de la diferenciación y de la actividad osteoclástica, aumentando la reabsorción. Esta vía puede ser bloqueada por la osteoprotegerina (OPG), que funciona como receptor “señuelo” para RANKL. La falta de ligando disponible afecta el mecanismo de señalización RANK-RANKL y actúa como inhibidor poderoso de la formación de los osteoclastos (ver figura 5). Los osteoblastos son los productores principales de la OPG, que está regulada por la IL-1, el TNF, el TGF-β, la vitamina D y la prostaglandina E<sub>2</sub>.<sup>13,14</sup> “Como consecuencia de su actividad, en el hueso situado exactamente por debajo del osteoclasto se forma una excavación poco profunda llamada bahía o laguna de resorción (laguna de Howship)”.<sup>13-17</sup>

**Figura 5.** Regulación de la osteoclastogénesis.



Fuente: J ClinPathol 2006;**59**:56-63 doi:10.1136/jcp.2005.026534

### 2.1.3 Mineralización del tejido óseo

“El componente mineral del hueso representa el 65% del peso óseo.”<sup>14</sup> Formado por calcio, fosfato y carbonato (en proporciones de 10:6:1) en forma de cristales de hidroxiapatita  $\{Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2\}$ . Estos le conceden ser sitio de depósitos de calcio y fosfato y en pequeña proporción magnesio, sodio, potasio, manganeso y flúor. Éstos depósitos de calcio pueden ser movilizados de la matriz ósea a sangre según se requiera, por lo que le concede un papel secundario en la regulación homeostática de la calcemia (concentración de calcio en sangre). Las proteínas con capacidad adhesiva favorecen la mineralización, mientras que los proteoglicanos, magnesio, ATP y pirofosfato la inhiben.<sup>13,16</sup>



La mineralización comprende la liberación de vesículas matriciales hacia la matriz ósea. El inicio de esta comienza con la fijación de  $Ca^{2+}$  extracelular por la osteocalcina y otras sialoproteínas, creando una concentración local alta de este ion para permitir la estimulación de osteoblastos. Posteriormente los osteoblastos secretan fosfatasa alcalina aumentando la concentración local de iones de  $PO_4^-$ , lo que a su vez, estimula un incremento adicional de la concentración de  $Ca^{2+}$  donde se iniciará la mineralización. Los osteoblastos, cuando existen concentraciones altas de  $Ca^{2+}$  y  $PO_4^-$ , liberan pequeñas vesículas matriciales (de 50 a 200nm de diámetro) hacia la matriz ósea contenedoras de fosfatasa alcalina y pirofosfatasa que dividen iones de  $PO_4^-$  de otras moléculas de la matriz. Éstas, determinan un aumento del punto isoeléctrico local, lo que produce la cristalización de  $CaPO_4$  en las vesículas matriciales circundantes. Los cristales de  $CaPO_4$  inician la mineralización por formación y depósito de cristales de  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  (hidroxiapatita) en la matriz que rodea los osteoblastos. Una vez precipitados los primeros cristales crecen con rapidez hasta unirse con cristales vecinos producidos alrededor de otras vesículas matriciales. De esta manera, una ronda de mineralización recorre el osteoide.<sup>13-16</sup>

## 2.2. Osificación

Se clasifica en endocondral o intramembranosa dependiendo si esta se da o no, mediante un precursor cartilaginoso.<sup>14</sup>

### 2.2.1. Intramembranosa

El primer indicio de osificación intramembranosa aparece alrededor de la octava semana de gestación, en el que las células mesenquimáticas migran y se acumulan en los sitios en donde se formará hueso, para posteriormente diferenciarse en células osteoprogenitoras a causa del factor de

transcripción Cbfa1. A medida que el proceso continua se adquiere una vascularización mayor, las células mesenquimáticas aumentan de tamaño y modifican su citoplasma convirtiéndose en osteoblastos. El osteoblasto entonces diferenciado secreta la matriz osteoide, hasta encontrarse rodeada de ella para convertirse en osteocito. A su vez, las células osteoprogenitoras se adosan a las espículas formadas inicialmente para formar nueva matriz conduciendo al crecimiento por aposición, característico del hueso en desarrollo (Ver figura 6 y 7).<sup>13-16</sup>

**Figura 6 y 7. Osificación Intramembranosa**

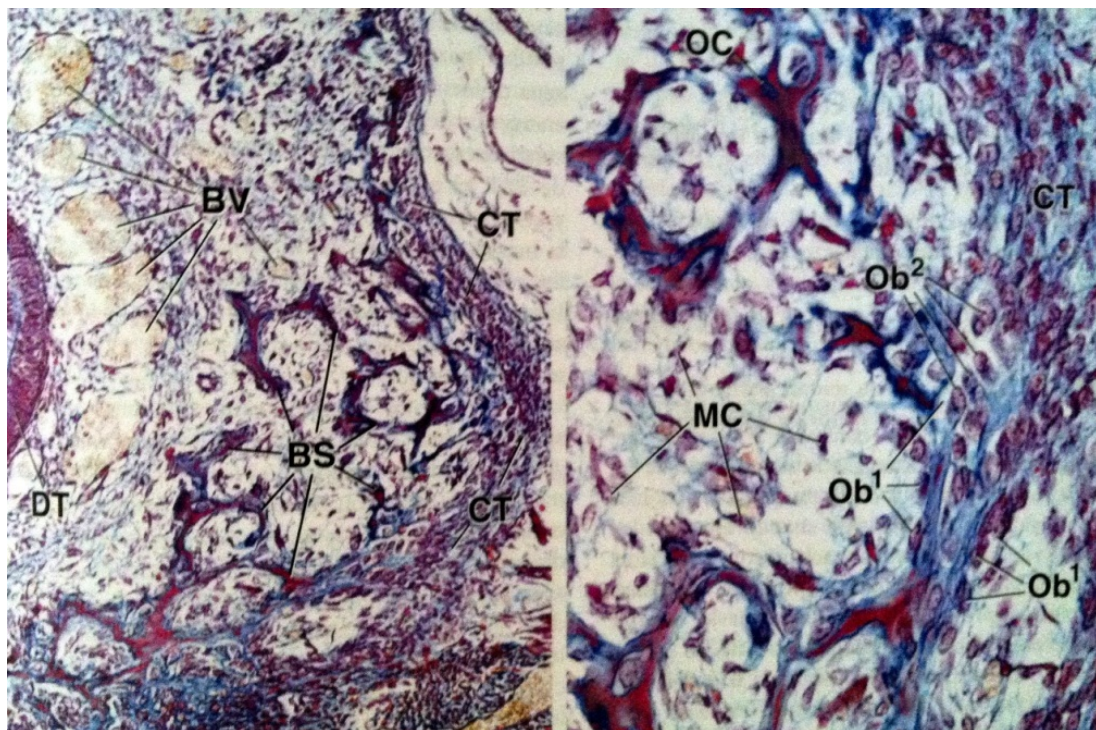


Imagen de cabeza fetal de ser humano con tricrómica de Mallory. Se observan espículas óseas (BS) con sustancia osteoide recién depositada (azul) y matriz mineralizada (rojo). Se observan vasos sanguíneos (BV), tejido conjuntivo (CT), diente en desarrollo (DT), células mesenquimales (CM), Osteoblastos inactivos (Ob1) y activos (Ob2). Fuente: Ross MH, 2009.

## 2.2.2 Endocondral

Esta osificación se inicia en el segundo trimestre de la vida fetal y continua después del nacimiento hasta el principio de la vida adulta.

Comienza con la proliferación y acumulación de células mesenquimáticas que bajo la influencia de factores de crecimiento fibroblástico (FGF) y BMPs, expresan colágeno tipo II para diferenciarse en condroblastos; que, a su vez, producen matriz cartilaginosa, formando un modelo de cartílago hialino.

Posteriormente, las células del pericondrio del modelo cartilaginoso detienen su producción para convertirse en osteoblastos, a lo que se le conoce posteriormente como periostio.

En el caso de un hueso largo alrededor del modelo cartilaginoso del hueso en desarrollo se forma un manguito distintivo de tejido óseo subperióstico denominado collarete óseo (Ver figura 8a y 8b).

**Figura 8a.** Osificación endocondral

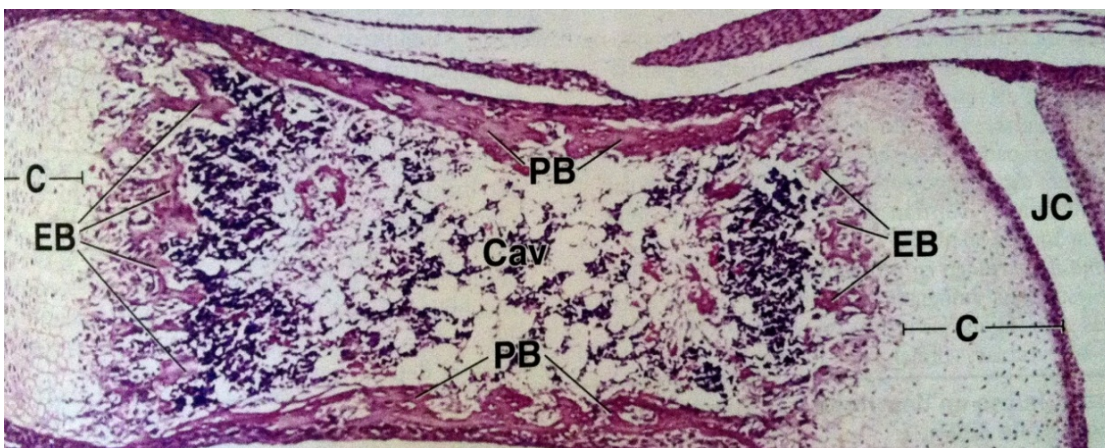


Imagen de hueso en desarrollo de ser humano con HE. Fuente: Ross MH, 2009.

### **Figura 8b. Proceso de Osificación endocondral**

- 1) Las células del cartílago proliferan en las epífisis y sintetizan matriz nueva. Este proceso es el que causa el aumento de la longitud del hueso.
- 2) El hueso perióstico (PB) continua formándose
- 3) Los condrocitos que se enfrentan con la cavidad se tornan hipertróficos
- 4) La matriz cartilaginosa se calcifica.
- 5) Se produce la erosión del cartílago y se crean espículas cartilaginosas.
- 6) Se forma hueso sobre las espículas de cartílago calcificado en el frente de erosión; este tejido óseo se llama hueso endocondral (EB).

A continuación existe una invasión por parte de estructuras vasculares y los condrocitos sufren apoptosis, creándose una cavidad medular primitiva. Algunas células migran a través de la neovasculatura y abandonan la circulación para dar origen a la medula ósea. Durante la osificación el cartílago avascular es reemplazado gradualmente por tejido óseo vascular, proceso iniciado por el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).<sup>13,15,16,18</sup>



### III. Fisiología del hueso

El remodelado óseo es un proceso de reestructuración del hueso existente, mediante formación de nuevas osteonas. Comprende en principio osteoclastos productores de túneles, cavidades de resorción, que serán ocupados más tarde por vasos sanguíneos. Una vez ocupado la luz del túnel se inicia la producción de tejido óseo alrededor de su pared. Este mecanismo se produce en las unidades básicas multicelulares o BMU (*basic multicellular units*), donde los osteoclastos reabsorben una cantidad determinada de hueso; y los osteoblastos forman la matriz osteoide y la mineralizan para rellenar la cavidad previamente creada. Este fenómeno equilibrado permite, en condiciones normales, la renovación de un 5-10% del hueso total al año.<sup>14</sup>

Una unidad de remodelado óseo tiene dos componentes distintos: un cono de corte o conducto de resorción y un cono de cierre. El primero tiene osteoclastos activos y células en procesos de mitosis, preosteoblastos, osteoblastos, pericitos adicionales y células endoteliales. Los osteoclastos perforan un conducto de unos 200  $\mu\text{m}$  de diámetro, el cual le dará las dimensiones al sistema de Havers. Una vez establecido el diámetro, los osteoblastos comienzan a sintetizar la matriz y depositarla sobre las paredes del conducto en laminillas sucesivas. Dado que las laminillas óseas se depositan desde la periferia hacia adentro, el conducto se va estrechando.<sup>13,15</sup>

La vida media de cada unidad de remodelado en humanos es de 2 a 8 meses y la mayor parte de este período está ocupado por la formación ósea. Existen en el esqueleto humano 35 millones de unidades básicas multicelulares y cada año se activan 3-4 millones, por lo que el esqueleto se renueva totalmente cada 10 años.<sup>13,15</sup>



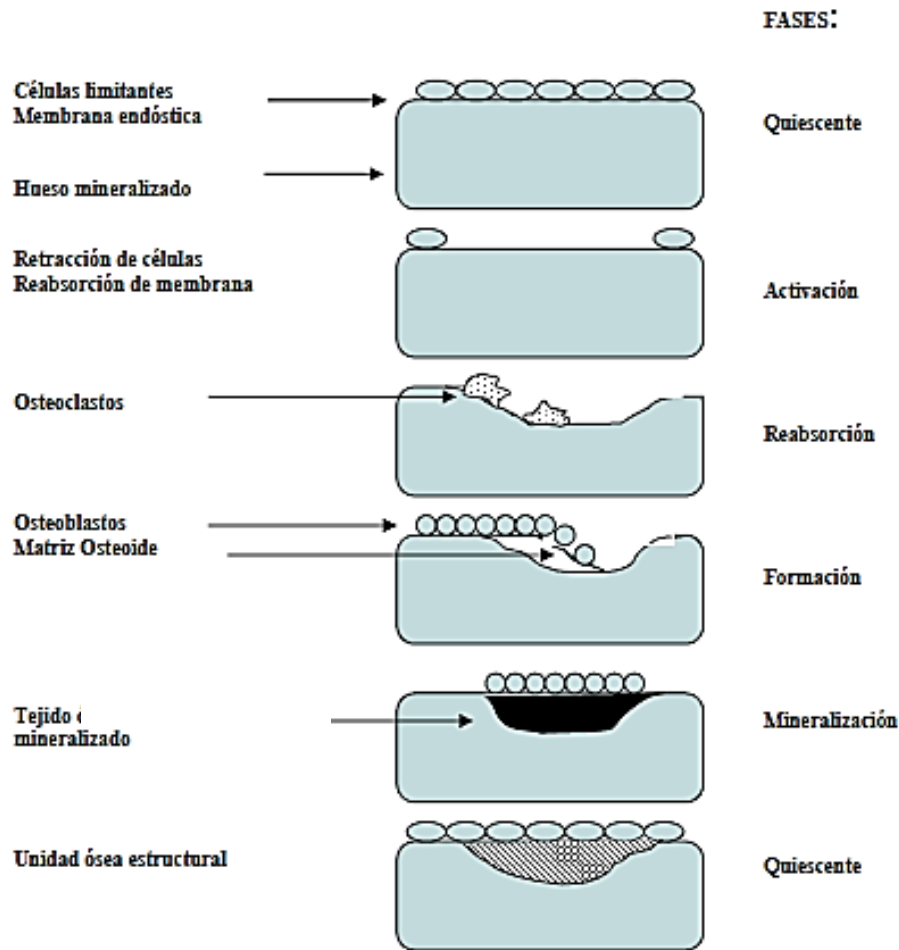


El remodelado permite la renovación de un 5% del hueso cortical y un 20 % del trabecular al año. Por esto la renovación es de un 5-10% del hueso total al año. El remodelado óseo existe toda la vida, pero sólo hasta la tercera década el balance es positivo, que es cuando existe la máxima masa ósea.<sup>3</sup>

### 3.1. Fases del remodelado óseo

- 1) Fase Quiescente. El hueso se encuentra en condiciones de reposo.
- 2) Fase de activación. Consiste en la retracción de las células limitantes y digestión de la membrana endóstica por acción de las colagenasas. Al quedar expuesta la superficie mineralizada se produce atracción de osteoclastos.
- 3) Fase de reabsorción. Los osteoclastos y macrófagos, comienzan a disolver y degradar la matriz osteoide y mineral; se libera TGF- $\beta$ , PDGF, IGF-I y II.
- 4) Fase de formación. En las zonas reabsorbidas se agrupan pre-osteoblastos, que actúan como quimiotácticos, estimulan su proliferación, sintetizan una sustancia cementante sobre la que se va a adherir el nuevo tejido y expresan BMPs responsables de su diferenciación. A los pocos días comienza la síntesis de sustancia osteoide.
- 5) Fase de mineralización. Una vez depositada la sustancia osteoide, a los 30 días comienza la mineralización, que finalizará a los 130 días en el hueso cortical y a 90 días en el trabecular (Ver figura 9).<sup>15</sup>

**Figura 9. Fases del Remodelado óseo.**



Fuente: Fernández-Tresguerres I, 2006.

### 3.2. Factores reguladores del remodelado óseo

Entre los factores reguladores se encuentran los genéticos (determinantes en la cantidad de masa ósea dentro de un 60 y 80%), los mecánicos (debido a la acción muscular transmitida a hueso), los vasculonerviosos (que constituyen el primer paso para la osificación y reparación ósea), los nutricionales,



hormonales (Ver tabla 3) y locales (factores de crecimiento, citoquinas y proteínas de la matriz ósea).<sup>15</sup>

**Tabla 3.** Hormonas que intervienen en la fisiología ósea.

<b>Hormonas tiroideas</b>	Estimulan la síntesis de matriz osteoide, favoreciendo síntesis de IGF-I. Estimulan la reabsorción (aumenta el número y función de osteoclastos).
<b>PTH (parathormona):</b>	Homeostasis del Ca (acción directa en hueso y riñón e indirecta en intestino). Hipercalcemia (favorece la reabsorción). En dosis intermitentes, estimuladora en formación ósea (síntesis de IGF-I y TGF- $\beta$ ). En administración continua, estimuladora del factor favorecedor de la osteoclastogénesis (RANKL).
<b>Calcitonina</b>	Inhibidora de la reabsorción ósea (reducción del número y actividad de osteoclastos).
<b>1,25(OH)<sub>2</sub> vitamina D3 o calcitriol</b>	Favorece la mineralización (absorción intestinal de Ca y PO <sub>4</sub> ), necesaria para el crecimiento normal del esqueleto.
<b>Andrógenos</b>	Efecto anabolizante sobre hueso (estimulo de receptores osteoblásticos). Su deficiencia se asocia a menor densidad ósea. Actúan de mediadores de GH en la pubertad.
<b>Estrógenos</b>	Necesarios para el cierre de cartílagos. Favorecen la formación ósea (aumento del número y función de osteoblastos). Disminuyen la reabsorción (aumento de osteoprotegerina OPG)
<b>Progesterona</b>	Anabolizante óseo a través de osteoblastos que poseen receptores para la hormona o mediante la competición por los receptores osteoblásticos de los glucocorticoides.
<b>Insulina</b>	Estimula la síntesis de la matriz (aumento de la síntesis hepática de IGF-I).
<b>Glucocorticoides</b>	A dosis altas tienen efectos catabólicos sobre el hueso (inhiben la síntesis de IGF-I y suprimen BMP-2 y Cbfa1). A dosis fisiológicas tienen capacidad osteogénica favoreciendo la diferenciación osteoblástica.
<b>Hormona de Crecimiento GH</b>	Estimula la actividad de osteoblastos. Aumento en la síntesis de colágeno, osteocalcina, fosfatasa alcalina y de IGF-I y II.

Fuente: Fernández-Tresguerres I, 2006. Tabla elaborada por Karla M. Figueroa A.

Dentro de los factores locales, los factores de crecimiento actúan como moduladores de las funciones celulares, fundamentalmente sobre el crecimiento, diferenciación y proliferación celular; las proteínas de la matriz actúan como moduladores de los factores de crecimiento y participan en la

regulación de la diferenciación celular; y las citoquinas juegan un papel importante en la respuesta inmunológica, la inflamación y la hematopoyesis, con un efecto autócrino y parácrino (Ver tabla 4).<sup>14</sup>

**Tabla 4.** Factores locales reguladores del remodelado óseo.

	<b>Estimulan formación</b>	<b>Estimulan reabsorción</b>	<b>Inhiben reabsorción</b>
<b>Factores de Crecimiento</b>	BMP-2	TNF	
	BMP-4	EGF	
	BMP-6	PDGF	
	BMP-7	FGF	
	IGF-1	M-CSF	
	IGF-2	GM-CSF	
	TGF- $\beta$		
	FGF		
	PDGF		
	VEGF		
<b>Citoquinas</b>		IL-1	IFN- $\gamma$
		IL-6	IL-4
		IL-8	
		IL-11	
		PGE <sub>2</sub>	
		PGE <sub>1</sub>	
		PGG <sub>2</sub>	
		PGI <sub>2</sub>	
	PIH <sub>2</sub>		

Fuente: Fernández-Tresguerres I, 2006.



## IV. Regeneración ósea guiada

La Regeneración Ósea Guiada (GBR) se basa en la formación de hueso nuevo para el relleno de defectos óseos; comprende el uso de membranas con funciones de barrera aptas para evitar la infiltración, en la zona de reparación, de componentes celulares (células epiteliales y conjuntivas) distintos a células osteopromotoras.<sup>19</sup> Ocorre a través de 3 procesos simultáneos: osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción.<sup>14,16,19</sup>

### 4.1 Osteogénesis

Depende exclusivamente de la supervivencia de las células trasplantadas, principalmente de los preosteoblastos y osteoblastos. Se origina principalmente en hueso esponjoso, debido a su rápida revascularización, que puede ser completa a las 2 semanas, mientras que en el cortical puede llevar varios meses.<sup>14,16,19,20</sup>

### 4.2 Osteoinducción

Se inicia por medio de la transformación de células mesenquimales indiferenciadas perivasculares de la zona receptora, a células osteoformadoras en presencia de moléculas reguladoras del metabolismo óseo. Dentro de estas moléculas cabe destacar el grupo de las proteínas morfogenética. La fuente de estas proteínas son los injertos autólogos, el plasma rico en factores de crecimiento y las proteínas morfogenéticas obtenidas mediante técnicas de ingeniería genética. La proteína morfogenética, que se deriva de la matriz mineral del injerto, es reabsorbida por los osteoclastos y actúa como mediador de la osteoinducción; esta y otras proteínas deben ser removidas antes del inicio de esta fase, que



comienza 2 semanas después de la cirugía y alcanza un pico entre las 6 semanas y los 6 meses, para decrecer progresivamente después.

### 4.3 Osteoconducción

Es un proceso lento y prolongado, donde el injerto tiene la función de esqueleto. Este tipo de curación predomina sobre todo en los injertos corticales, donde el injerto es progresivamente colonizado por vasos sanguíneos y células osteoprogenitoras de la zona receptora, que van lentamente reabsorbiéndolo y depositando nuevo hueso.<sup>19,20</sup>

Los injertos pueden ser de tipo trabecular, cortico-trabecular o cortical. El hueso trabecular induce el proceso de osteogénesis. El cortico-trabecular además de ser útil para la reconstrucción anatómica, provee la mayor parte de la proteína osteogénica, involucrada en la fase de cicatrización ósea. El hueso cortical provee una estructura muy resistente y únicamente provee un mecanismo osteoconductor.<sup>20,21</sup>

La invasión de tejidos blandos adyacentes y la migración rápida de fibroblastos hacia el defecto óseo se han señalado como obstáculos para la regeneración ósea. Debido a esto surgió el procedimiento de la “regeneración ósea dirigida”, utilizando diversas membranas diseñadas para que funcionen como barrera a fin de impedir que los tejidos blandos adyacentes y los fibroblastos penetren en el defecto; así se facilita la proliferación de células productoras de hueso.<sup>19,21</sup>



## V. Defectos óseos

Los defectos óseos son pérdidas segmentarias de hueso. Entre las principales causas se encuentran las ocasionadas por traumatismos; por procesos patológicos, tumorales o infecciosos; posteriores a procedimientos quirúrgicos y los originados por alteraciones congénitas.<sup>18</sup>

Entre las causas para la aparición de dichos defectos encontramos a las heridas traumáticas. Éstas, se producen en general por una acción violenta de origen mecánico, en donde la fuerza de la acción es mayor a la resistencia de los tejidos que la reciben.<sup>3,5,22</sup>

Las fracturas de los huesos maxilares y de la mandíbula, que comprenden el 0.04% de todas las fracturas, se incluyen dentro de los defectos postraumáticos. Las causas de la mayoría de estos traumatismos son las peleas, accidentes industriales y los choques automovilísticos. Las fracturas ocurren más frecuentemente por factores predisponentes tales como trastornos endocrinos (hiperparatiroidismo, osteoporosis, osteopetrosis, entre otros); o bien, enfermedades locales (displasia fibrosa, tumores, quistes entre otros).<sup>22,23</sup> Otro tipo de defectos, son los ocasionados comúnmente dentro de la práctica habitual por los cirujanos mediante el empleo de técnicas quirúrgicas (osteotomías); donde el corte daña la superficie ósea y la irrigación del tejido.<sup>3,5,22</sup> “Ham en 1952 constató este fenómeno, al observar que los osteocitos se mueren cuando están lejos de un capilar (la distancia máxima es de 0.1 mm).”<sup>15</sup>

Dentro de los defectos óseos patológicos se encuentran los ocasionados por tumores; otros, se presentan al remover lesiones quísticas o como secuela de la presencia de alguna infección tal como la enfermedad periodontal.<sup>3,5,24</sup>



Los defectos congénitos son anomalías del desarrollo que están presentes en el momento del nacimiento. La repercusión clínica de estas alteraciones es muy amplia, desde lesiones benignas hasta formas más graves incompatibles con la vida. Los avances en el diagnóstico y tratamiento han permitido en los últimos años la mejor caracterización de las malformaciones. Además, la mejora en el conocimiento de las bases genéticas y moleculares involucradas en el desarrollo del encéfalo está permitiendo determinar mejor la etiología y corrección de estos defectos.<sup>3,5,25</sup>

En los estudios de regeneración ósea se distinguen dos tipos de defectos:

a) Críticos

Aquellos defectos donde el organismo no consigue promover el reparo del tejido óseo, formándose, básicamente, un tejido cicatricial. Éstos carecen de capacidad de regeneración espontánea y pueden estar presentes durante toda la vida del individuo.<sup>26,27</sup>

b) No críticos

Aquellos defectos en los que el organismo es capaz de promover la reparación ósea integral sin métodos de auxilio para la reparación, siempre que se aporten las condiciones adecuadas, se logre una estabilización del coágulo, el mantenimiento del espacio y reposo mecánico.<sup>26,27</sup>

Generalmente se requiere de un injerto o de un sustituto óseo para lograr la reparación de una deficiencia esquelética debida a trauma, tumores o desarrollo anormal, y así restaurar la función normal del tejido.<sup>3,5,24,27</sup>





## 5.1 Reparación de defectos óseos

Fisiológicamente la reparación del hueso; posterior a la hemorragia, organización del coágulo y proliferación de los vasos sanguíneos circundantes, se puede dividir en tres fases: Primero con la formación del callo primario, que ocurre dentro de los diez a veinte días, seguido de la formación del callo secundario, en donde el sistema de Havers prolifera en todas direcciones y finalmente con la reconstrucción funcional del hueso; en donde las fuerzas mecánicas ejercidas en el defecto son de suma importancia. El sistema de Havers se dispone de acuerdo con las líneas de fuerza. Se elimina el exceso de hueso y la forma se moldea de acuerdo con su función de modo que crezca en una superficie y disminuya en otra.<sup>3,5,11,22,23</sup>

La restitución de la integridad de un hueso (Ver tabla 5) para recuperar su función y su contorno anatómico, se logra por 2 vías: directamente por curación primaria o indirectamente por curación secundaria.<sup>23</sup>

La reparación primaria se produce cuando los huesos mantienen una exacta reposición y una total inmovilidad en el caso de los defectos ocasionados por fracturas. A los pocos días los sistemas de Havers migran células mesenquimales que se transforman en osteoclastos y osteoblastos. Inicialmente se produce una resorción de hueso necrótico, seguidamente son reparadas sucesivamente las laminillas óseas de la esponjosa y posteriormente las corticales correspondientes. De esta manera se reconstruye íntegramente sin la necesidad de la formación de callo óseo.<sup>22,23</sup>

La reparación secundaria es la regla en un proceso normal de osteosíntesis. Se produce por la necesidad de rellenar un espacio existente. Esta



reparación sucede en 4 fases y consiste en la producción de tejido óseo provisional o callo óseo.<sup>22</sup>

#### Fase 1 Coagulación de la sangre del hematoma (1 al 6 día)

Se rompen los vasos sanguíneos de la medula ósea, la corteza, el periostio, los músculos y los tejidos blandos adyacentes. El hematoma rodea los extremos y se extiende a la medula ósea y tejidos blandos.<sup>22,23</sup>

#### Fase 2. Tejido de coagulación (6 al 12 día)

En el hematoma se forma una red de fibrina. Las células inflamatorias se presentan por quimiotaxis y los fibroblastos y capilares invaden el coagulo. Este proceso constituye la base de la proliferación mesenquimatosa. El tejido de granulación remueve el tejido necrótico principalmente por actividad fagocítica. Tan pronto como esta función termina, el tejido de granulación se convierte en tejido conectivo laxo. Seguidamente, se forman fibras colágenas para unir los bordes del defecto y los osteoclastos destruyen el hueso necrótico. A continuación los osteoblastos comienza la osteoformación del callo. Es una fase temprana que sirve de soporte mecánico para la formación del callo secundario.<sup>22,23</sup>

#### Fase 3. Formación de tejido osteoide (12-21 días)

Se caracteriza por la formación de tejido osteoide, que, posteriormente se va transformando en un tejido óseo trenzado que paulatinamente va adquiriendo la constitución de hueso óseo maduro.<sup>22,23</sup>



#### Fase 4. Reconstrucción funcional del hueso (4° a 8° semanas)

En la fase final, los osteoclastos forman un tejido óseo definitivo tanto endóstico como periostio, mineralizando al tejido óseo preformado. La mecánica es el factor principal de esta etapa. Es un hecho que si el hueso no está sujeto al stress funcional el hueso maduro verdadero no se forma. Los sistemas de Havers que se orientan debido a los factores de stress reemplazan a los no orientados del callo secundario. Éste, se forma en abundancia reconstruyéndose de acuerdo con el tamaño del hueso remanente. Esto parece llevarse a cabo en ondas alternantes de actividad osteoclástica y osteoblástica.<sup>22,23</sup>

**Tabla 5.** Etapas de reparación y remodelado óseo

<b>I.</b> Inducción	Formación del hematoma en el sitio del defecto. Llegada de factores de crecimiento y citoquinas.
<b>II.</b> Inflamación	Reclutamiento de células inflamatorias, macrófagos y fibroblastos al sitio del defecto.
<b>III.</b> Formación de cartílago	Mitosis de células mesenquimales y diferenciación de condrocitos; hipertrofia de condrocitos y calcificación; depósito de matriz extracelular colagenosa y angiogénesis.
<b>IV.</b> Formación de hueso inmaduro	Diferenciación de osteoblastos y mineralización de matriz extracelular.
<b>V.</b> Formación de hueso maduro	Resorción ósea, remodelado, formación de hueso maduro o laminillar y de medula ósea.

Fuente: Setti S, 2002.



## VI. Injertos óseos

De acuerdo a su origen y estructura, con el propósito de establecer las características más importantes para su elección, los injertos han sido clasificados<sup>20</sup> en:

### 6.1. Autoinjertos

Este tipo de injerto autólogo, se compone por tejido tomado del mismo individuo, y proporciona mejores resultados, ya que es el único que cumple con los 3 mecanismos de regeneración ósea (osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción). Además evita la transmisión de enfermedades y el rechazo inmunológico. Es el material de relleno más apropiado para ser utilizado como injerto óseo, a pesar de requerir de una intervención quirúrgica adicional para ser obtenido.<sup>3,19,20</sup>

### 6.2. Aloinjertos

También llamados injertos homólogos. Se componen de tejido tomado de un individuo de la misma especie, no relacionado genéticamente con el receptor. Es un injerto osteoconductor y osteoinductor. Existen 3 tipos de Aloinjertos óseos: congelados, desecados (liofilizados) y desmineralizados.<sup>20,28</sup>

### 6.3 Isoinjertos

Conocidos también con el nombre de isogénicos. Se componen por tejido tomado de un individuo genéticamente relacionado con el individuo receptor.<sup>20,29</sup>



## 6.4 Xenoinjertos

También llamados injertos heterólogos y se componen de tejido tomado de un donador de diferente especie. Clínicamente no son aceptables debido a su gran antigenicidad.<sup>20</sup> El hueso heterólogo, normalmente de origen bovino, puede ser adquirido comercialmente sin limitaciones en cuanto a su cantidad. A pesar de poseer solamente propiedades osteoconductoras, lo cual prolongaría el tiempo de regeneración ósea en comparación con el hueso autólogo, es muy utilizado debido a que con el mismo se evita una intervención quirúrgica adicional.<sup>6,7,19</sup>

Se han buscado alternativas a este tipo de biomateriales, que incluyen biomateriales aloplásticos o sintéticos como la hidroxiapatita (HA) y el fosfato tricálcico (TCP). Estos materiales son osteoconductoras, es decir actúan como un esqueleto estructural.<sup>3,19</sup> La HA sintética porosa tiene una estructura compuesta por calcio, fósforo e iones hidroxilo compatible con los tejidos vivos y tiene una estructura similar al hueso; es estéril, osteoconductor y posee una excelente osteointegración. A pesar de esto posee una desventaja de importancia debido a su débil resistencia y fragilidad.<sup>5</sup>

El sustituto óseo ideal debe ser estéril, no tóxico, aceptable inmunológicamente y disponible en cantidades suficientes. El óptimo debería ser capaz de inducir la diferenciación celular y al mismo tiempo proporcionar un andamio osteoconductor, gradualmente reabsorbible para la formación de nuevo hueso. Adicionalmente debería actuar como barrera mecánica para el crecimiento fibroso o la interposición de tejido blando (o músculo) en el defecto óseo.<sup>5,19,21</sup>



## VII. Factores de crecimiento

La comunicación celular se da a través de señales que se relacionan y actúan en conjunto. La base de este funcionamiento, es el que una célula señalizadora produzca una sustancia molecular, que posteriormente será detectada por una célula diana mediante una proteína receptora. Un conjunto de señales actuando juntas puede provocar un efecto superior a la suma de los efectos de cada señal o modificarlas. En general, los factores de crecimiento favorecen la síntesis de matriz celular y de sustancias que bloquean la degradación tisular. Cada uno interviene de forma independiente aunque actuando sinérgicamente producen efectos mayores.<sup>29-32</sup>

### Factor de crecimiento análogo a la insulina I y II (IGF-I y II)

Son polipéptidos similares a la insulina sintetizados por hígado y osteoblastos que se encuentran en gran concentración en la matriz osteoide. Incrementan el número y función de los osteoblastos, favoreciendo la síntesis de colágeno. Están regulados por hormonas y factores de crecimiento locales. La GH, los estrógenos y la progesterona aumentan su producción, mientras que los glucocorticoides la inhiben. Asimismo, median en la interacción osteoblasto-osteoclasto e intervienen de forma activa en el remodelado óseo. El IGF-II es el factor de crecimiento más abundante de la matriz ósea.<sup>15,16</sup>

### Factor de crecimiento transformante $\beta$ (TGF- $\beta$ )

Factor estimulador de la formación ósea, que incrementa la diferenciación osteoblástica y la síntesis de la matriz osteoide e inhibe la síntesis de proteasas de la matriz. Se activa durante la resorción o reabsorción



osteoclástica. Asimismo, inhibe la reabsorción de los osteoclastos y su actividad estimulando su apoptosis.<sup>12,13,15,16</sup>

La super familia TGB- $\beta$  incluye al factor de crecimiento transformante  $\beta$ , a las activinas, a las inhibinas y a las proteínas morfogenéticas (ver figura 10). Es una gran familia de moléculas de señalización que regula muchos aspectos en la función celular por lo que tiene diversos efectos en una gran variedad de tipos celulares y tejidos.<sup>30-32</sup>

### Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMPs)

Pertenecen a la familia de los TGF- $\beta$ . Constituyen un grupo de proteínas capaces de conseguir la transformación de tejido conjuntivo en tejido óseo, por lo que se consideran osteoinductivas. Asimismo, son capaces de estimular la diferenciación de células pluripotenciales hacia diferentes líneas celulares. Son muy abundantes en el tejido óseo y durante la embriogénesis participan en la formación de hueso y cartílago. Actualmente se las considera como los factores más potentes de la diferenciación osteoblástica.<sup>11,12,15</sup>

### Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)

Estimula la síntesis proteica de los osteoblastos y favorece la reabsorción ósea. Interviene en la proliferación de fibroblastos, así como de células musculares lisas, la neovascularización y la síntesis de colágeno favoreciendo la cicatrización.<sup>15,31</sup>

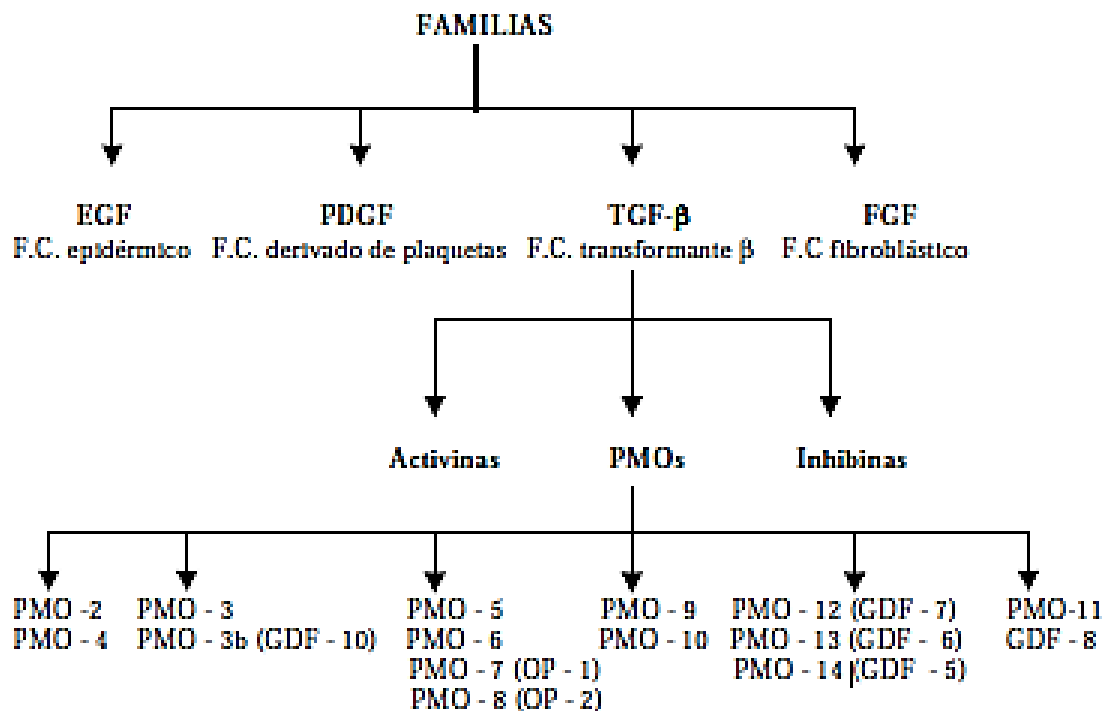
### Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)

Factor anabolizante óseo, ya que es mitógeno de osteoblastos, de células endoteliales vasculares y de fibroblastos.<sup>11,15</sup>

## Factor de crecimiento epidérmico (EGF)

Es un potente mitógeno de las células de origen mesodérmico y ectodérmico. Se sintetiza en múltiples tejidos del organismo, por lo que podría estar involucrado en diversas funciones biológicas, aún no bien esclarecidas. Respecto al hueso podría tener una doble acción formadora y destructora, si bien ésta última es la más conocida.<sup>15</sup>

**Figura 10.** Factores de crecimiento



Familia de las proteínas morfogenéticas óseas. Fuente: Rivera J, 2002.

## Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)

Induce la angiogénesis y la proliferación endotelial vascular. Produce vasodilatación y un incremento de la permeabilidad vascular. Se produce en situaciones de hipoxia y actualmente se está considerando como uno de los





factores claves en el desarrollo de las primeras fases del proceso de reparación de fracturas y regeneración ósea, así como en el desarrollo tumoral.<sup>15,18</sup>

Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF)

Factor importante para la osteoclastogénesis y puede intervenir en la patogenia de la osteopetrosis.

Factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF)

Factor producido por los osteoblastos y células del estroma medular y es requerido como en las primeras fases de la osteoclastogénesis para la formación de células gigantes multinucleadas, pero no tiene efecto sobre la actividad osteoclástica.

Factor de necrosis tumoral (TNF)

Estimula la reabsorción y se le ha relacionado con la pérdida ósea de la artritis y de la enfermedad periodontal.<sup>15</sup>



## VIII. Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMPs)

Las proteínas son macromoléculas que ejecutan prácticamente todas las actividades en las células humanas. Como enzimas, aceleran la velocidad de las reacciones metabólicas; como fibras estructurales, suministran apoyo mecánico y; funcionan como hormonas, factores de crecimiento y activadores genéticos. Son receptoras y transportadoras en la membrana determinando diferentes reacciones celulares. De acuerdo a su estructura y composición actúan de manera selectiva con otras moléculas efectuando funciones específicas.<sup>13,16</sup> Las proteínas morfogenéticas óseas son proteínas formadas por dos cadenas polipeptídicas idénticas. Tras la disociación de las correspondientes secuencias de propéptidos se produce la proteína biológicamente activa.<sup>4</sup>

Las proteínas morfogenéticas óseas, por su nombre en inglés *bone morphogenetic proteins* (BMPs), se engloban dentro de la familia de proteínas del Factor de Crecimiento Transformante-beta (TGF- $\beta$ ). Hasta la fecha se han aislado y clonado más de 40 BMPs de diferentes tejidos.<sup>4</sup> Cuentan con propiedades osteoinductivas, producidas localmente por osteoblastos, que inician y estimulan la diferenciación de células mesenquimales pluripotenciales hacia células progenitoras.<sup>1,2,4,6</sup> Se encuentran distribuidas a lo largo de las fibras colágenas del hueso normal, en células periosteales y en células mesenquimales de la médula ósea.<sup>3,5,11</sup>

La familia del TGF- $\beta$  y BMPs, tienen una secuencia de aminoácidos terminal hidrofóbico y dominios de tamaño variable. La secuencia terminal es la que se cree guía al precursor hacia un patrón secretorio, el prodominio regula la actividad. El dominio maduro contiene de 110 a 140 aminoácidos con 6 residuos de cisteína en su extremo C7 terminal, que forman 3 uniones



disulfuro con cada unión monomérica que es con excepción de la BMP-1, la característica invariable de esta superfamilia.<sup>4,11</sup>

Juegan un papel crítico en la regulación del crecimiento, diferenciación y apoptosis de osteoblastos, condroblastos, células neuronales y epiteliales.<sup>5</sup> Actúan en toda la cascada de eventos que forman el nuevo hueso: quimiotaxis de células progenitoras, mitosis y diferenciación de condrocitos y osteoblastos.<sup>2,3,11</sup> Inician su actividad en los estadios tempranos de cascada. Los condroblastos y osteoblastos pueden ser formados ya sea de células que no necesitan una señalización para comenzar a formar el hueso y las no determinadas que son células susceptibles a inducción.<sup>3</sup>

### 8.1 Tipos de Proteínas morfogenéticas óseas (BMPs)

Estudios realizados en la década de los 80s, a partir de diversos métodos y varios pasos para separarlas distintas fracciones de proteínas no colágenas, produjeron un grupo de componentes de bajo peso molecular con propiedades de inducción ósea. Las secuencias aminoácidas de los componentes 16,18 y 30 KD se usaron para desarrollar pruebas para monitorear las bibliotecas bovinas de DNA. Los clones recombinantes coincidentes obtenidos fueron utilizados para las bibliotecas de recombinantes correspondientes y se revelaron sus características bioquímicas y biológicas, incluyendo sus secuencias de aminoácidos.<sup>1,3,4,9,29</sup>

De ellas, la más estudiada es la rhBMP-2 que muestra un alto poder morfogénico con actividad mitógena. La BMP-2 actúa en embriogénesis; diferenciación de osteoblastos, adipositos y condrocitos; puede tener influencia en la actividad osteoclástica y diferenciación neuronal. Está localizada en hueso, hígado, bazo, cerebro, riñón, corazón y placenta.<sup>9-11,31</sup>



La *BMP-3* u osteogenina, es una proteína osteoinductiva que promueve el fenotipo condrogénico y está localizada en pulmón, riñón, intestino y cerebro.<sup>4,9,11</sup>

La *BMP-4* influye en embriogénesis, gastrulación y formación de mesodermo sobre todo en ratones. Es producida por la aorta dorsal y dirige la diferenciación de neuronas simpáticas. Localizada en meninges, pulmón, riñón e hígado. Se ha identificado recientemente la expresión de *BMP-4*, *IGF-1* y *TGF-β*, durante distracción osteogénica de la mandíbula en *minipig* tanto en periodo de distracción, como en el de fijación neutra, importante dado la similitud entre la morfología y fisiología entre la mandíbula de estos mamíferos y la humana.<sup>4,9,11</sup>

La *BMP-5* actúa en embriogénesis y se ha localizado en pulmón, riñón e hígado. La *BMP-7*, llamada también proteína osteogénica-1 (*OP-1*) actúa en reparación de huesos largos, hueso alveolar, fusión de espina bífida, diferenciación de osteoblastos, condroblastos y adipositos, está localizada en glándula adrenal, vejiga, cerebro, ojo, corazón, riñón, pulmón, placenta, bazo y músculo esquelético.<sup>1,4,9,11</sup>

El resto de proteínas morfogenéticas han sido identificadas con actividad en diferentes tejidos de animales o inhibición. Las *BMPs* pueden jugar múltiples roles en el desarrollo embrionario y la organogénesis, incluyendo la formación del esqueleto y el desarrollo de los tejidos craneofaciales y dentales. La hibridación *in situ* ha demostrado que el *RNA* de la *BMP-2* y de otras proteínas morfogenéticas, se expresan en corazón, folículos dentarios, mesénquima craneofacial, cerebro, pulmón, bazo riñón hígado entre otros (Ver tabla 6).<sup>4,9</sup>

**Tabla 6.** Localización de BMPs

<b>Tejido óseo</b>	Periostio
	Endostio
	Médula ósea
	Periodonto
<b>Diente</b>	Folículos dentales
	Pulpa
	Dentina
	Cemento
	Periodonto
<b>Mesénquima</b>	Craneofacial
<b>Algunos otros órganos y estructuras en la embriogénesis</b>	Corazón
	Pulmón
	Hígado
	Riñón
	Bazo
	Cerebro
	Placenta
<b>Rol en la formación de tumores</b>	Osteosarcomas osteoblásticos
	Osteosarcomas fibroquísticos
	Tumores odontogénicos que se originan a partir de dentina, cemento, hueso.
<b>Ingeniería Genética</b>	Proteínas morfogenéticas óseas recombinante humano (rhBMPs)

Fuente: Henostroza N, 1999. Tabla elaborada por Karla M. Figueroa A.

## 8.2. Proteína morfogenética ósea-2 (BMP-2)

Es una de las más representativas del grupo. Estimula la actividad y formación ósea en sitios ectópicos y ortópicos, teniendo actividad condrogénica y osteogénica; logrando formación de hueso endocondral o intramembranoso, indistinguible entre BMPs recombinantes y aquel logrado por extractos derivados de hueso.<sup>2-4,9,12,32</sup>



### 8.2.1 Métodos de obtención de BMP-2 y rhBMP-2

La obtención de la proteína morfogenética ósea en su forma natural, aislada y descrita por Urist, se realiza a través de los siguientes pasos<sup>3,6,8,10</sup>:

1) El primero, es la preparación del hueso cortical fresco de bovino, refrigerado en hielo seco (40°C). Se elimina el tejido blando y medula ósea con agua destilada a 4°C para remover la mayor cantidad de residuos. Posteriormente se congela evitando la desnaturalización de las proteínas.

2) Los huesos se trituran (aproximadamente 1mm).

3) Posteriormente se realiza la extracción de lípidos con una mezcla de Cloroformo - Metanol (1:1) durante 6 horas, con agitación permanente, para facilitar la separación de lípidos. Posteriormente se filtra y se verifica ausencia de grasa residual.

4) Después se descalcifica utilizando ácido clorhídrico (HCl) 0.6N durante 6 horas. Se filtra el material y se lava con agua destilada a 4°C para eliminar el exceso de ácido y estabilizar el pH de la solución. Se realiza la prueba de determinación de Calcio. El ácido clorhídrico extrae los fosfatos de calcio solubles en el ácido, aminoácidos, péptidos y otras sustancias de bajo peso molecular. Los minerales del hueso son solubles en ácidos orgánicos (HCl), sin digestión de los componentes proteicos no colágenos.

5) Para la solubilización del colágeno, se le adiciona una solución de Cloruro de Calcio (CaCl<sub>2</sub>) y ácido Etilen diamino tetracético (EDTA) por 12 horas a 4°C. El (CaCl<sub>2</sub>) es una sal que convierte el colágeno óseo en gelatina permitiendo una rápida separación y solubilización de las BMPs, facilitando su extracción.



6) Finalmente se realiza la extracción de las BMPs. De la gelatina de matriz ósea insoluble obtenida en el paso anterior, se utiliza una solución de urea 6 M/CaCl<sub>2</sub> que extrae las BMPs solubles del colágeno.

El procedimiento de filtración es importante para la recuperación de las proteínas ya que por su bajo peso molecular (16-18 y 30 KD) pueden perderse fácilmente.<sup>1,3,4,9,29</sup> Para la obtención de un producto de buena calidad bacteriológica fue necesario trabajar con estrictas condiciones de esterilidad, después de la desmineralización con el ácido, ya que con este procedimiento se elimina la contaminación bacteriológica y viral.

Uno de los principales problemas en los métodos de aislamiento para la obtención de BMP-2 en forma natural, es la poca cantidad de proteína que se puede obtener. Para 1 mg de BMP pura se precisan más de 1 kg de hueso bovino.<sup>1</sup> Fue la identificación del gen correspondiente a la BMP-2, lo que permitió mediante técnicas de biología molecular e ingeniería tisular la obtención de células capaces de sintetizar grandes cantidades de BMP-2 recombinante humano (rhBMP-2) con la misma capacidad osteoinductiva que la forma natural.<sup>1,13-15</sup>

La técnica de obtención mediante biología molecular es la descrita por Mullis, de la Universidad de California, llamada PCR (del inglés *polymerase chain reaction*), lo que le permitió ganar el premio nobel en 1993. Por la acción de la enzima polimerasa que permite replicar cuantas veces se quiera un segmento específico de ADN genómico, o secuencia de ADN codificante procedente de una molécula de ADNm. Gracias a esta técnica un tramo de ADN puede replicarse y almacenarse indefinidamente.<sup>4,33</sup>

El DNA codificante de la BMP se obtiene del ARNm que la codifica, el cual se puede aislar de las medulas óseas (Técnica in vitro de transcripción inversa). El ARNm se convierte en una molécula de ADN codificante por la acción de la enzima transcriptasa inversa (Ver figura 11). Esta nueva molécula de DNA, puede producir grandes cantidades por la acción del PCR. Tomando un segmento codificante de la BMP (inserto) y por la acción de una o varias enzimas de restricción, se inserta dentro de una segunda molécula de ADN llamada vector, que va a actuar como molécula portadora; el cual va a dirigir la producción de BMP en grandes cantidades dentro de una célula en la que se introduce (célula huésped).<sup>4,29,34,35</sup>

**Figura 11.** Traducción y Transcripción para la síntesis de proteínas

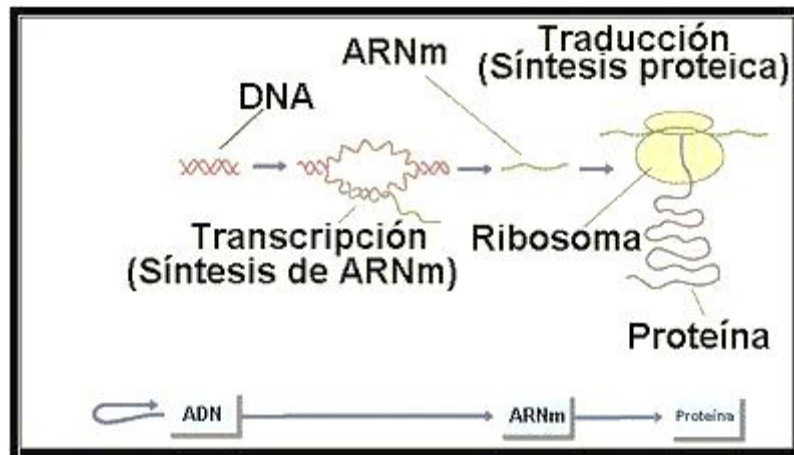


Imagen disponible en: <http://biolemadutra.blogspot.com/2008/08/sntesis-de-protenas-para-organizar-su.html>

### 8.3 Mecanismo de señalización

Las BMPs son reguladas por mecanismos endocrinos mediando los eventos celulares, pegándose a los receptores superficiales de las células diana.<sup>4</sup>





Esta interacción dispara una serie de eventos celulares que pueden influenciar los diferentes procesos de proliferación y diferenciación celular, síntesis de proteínas y producción de matriz extracelular.<sup>3,5,7-11</sup>

Los receptores de TGF- $\beta$  Y BMPs están asociados. Las proteínas se unen a los receptores transmembranales serina/treonina/quinasa de Tipo I y Tipo II específicos o receptores de BMPs (BMPR-I y BMPR-II), que forman complejos heterotetraméricos en las superficies de las membranas y con ello la activación de la cascada de señalización.<sup>2,4,35</sup>

Inmediatamente después de la unión se inicia la fosforilación del complejo proteína-receptor tipo II (BMPR-II), lo cual produce fosforilación de proteínas segundo mensajero específico, localizadas en el citosol celular (*Smad 1,5 y 8*). Éstas constituyen heterotrímeros que, tras su translocación al núcleo, inician la transcripción del llamado “gen de respuesta” mediante el *Smad 4*. Los *Smad 1, 4 y 5* se consideran marcadores intracelulares esenciales de las BMPs (Ver figura 12).<sup>4,11,35,36</sup>

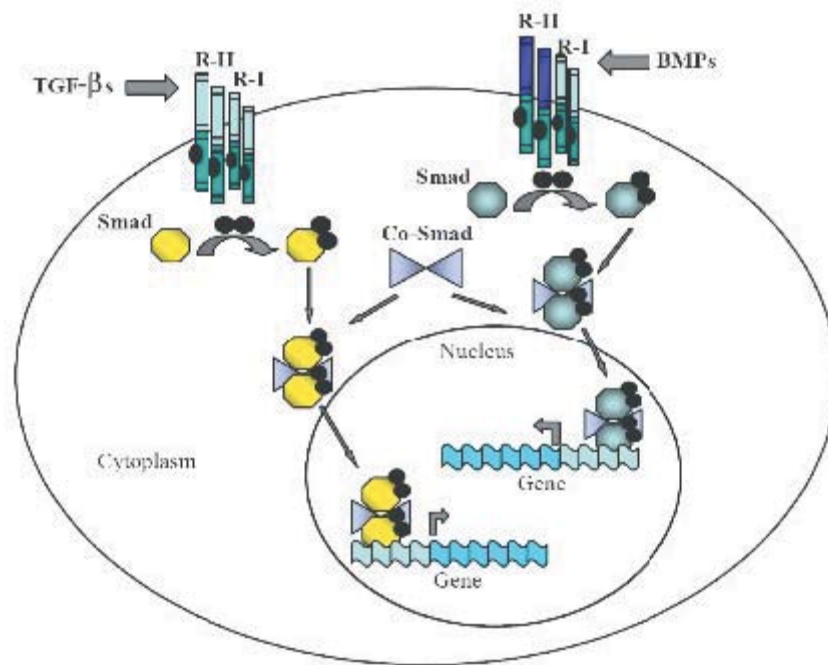
Los monocitos humanos presentan entre 750 y 1000 complejos receptores de BMP. Basta un enlace de 2 o 3 receptores por célula para producir un estímulo quimiotáctico en esas células, para que las células diana indiferenciadas migren hacia el lugar del implante. En este sitio, y de acuerdo a la elevada concentración local de TGF- $\beta$ s y BMPs, se produce la proliferación y diferenciación de las células mesenquimales.<sup>4,11</sup>

#### 8.4 Aplicación clínica

Las BMPs dirigen y regulan los procesos de reparación de defectos o fracturas, influenciando la proliferación y diferenciación de las células mesenquimales indiferenciadas en cartílago o en osteoblastos, promoviendo

la producción de matriz ósea y la síntesis de proteínas colágenas y no colágenas en el sitio del defecto.<sup>5</sup>

**Figura 12.** Cascada de señales desencadenadas por la familia de TGF $\beta$  y BMP-2 para la regulación



Fuente: Palosaari et al. 2003. Disponible

en:<http://colegiodentistas.org/revista/index.php/revistaodontologica/article/viewArticle/12>

Las BMPs dada su acción en regeneración y remodelación de las lesiones óseas, se han convertido en opción de tratamiento al aumentar la respuesta del hueso alrededor de materiales aloplásticos; y, es factible que en el futuro cercano sustituyan los injertos de hueso autólogo y alogénico.<sup>11</sup> La osteoregeneración puede estar basada en la colocación de injertos de hueso, BMPs o la combinación de ambos (Ver tabla 7). La selección de una de estas alternativas dependerá de la morfología y tamaño del defecto óseo.<sup>19,36</sup>



**Tabla 7.** Materiales de transporte disponibles para BMPs.

Polímeros Naturales	Diferentes tipos de colágenos, Fibrina, Fibronectina, Acido Hialurónico.
Matriz ósea desmineralizada	
Polímeros Sintéticos	Ácido poliláctico y poliglicólico.
Gel de ácido hialurónico	
Cerámicos	Hidroxiapatita y Fosfato tricálcico.
Aloinjertos	
Materiales inorgánicos no cerámicos	
Nuevos modelos en investigación	Depósitos inyectables, vectores virales, genéticos, factores osteogénicos, entre otros.

Fuente: Vaibhav B, 2005.

Es importante señalar que en estudios previos se demuestra que 1 mg de proteína parcialmente purificada, cuando es implantada en un defecto óseo, causa la producción de aproximadamente 1 gramo de hueso. Por lo que el volumen de hueso generado está condicionado por la cantidad de rhBMP-2 utilizada.<sup>1,13-15</sup>

En una investigación realizada en perros, utilizando rhBMP-2 alrededor de implantes dentales, se demostró la neoformación de hueso 3 veces mayor que el caso control en el mismo lapso de tiempo. En estudio realizado en alveolos de ratas Wistar, a las que se les colocaron gelatinas de esponja con 1 µg de rhBMP-2 se demostró el aumento de cantidad y calidad de hueso en menos tiempo en comparación con el grupo control; de igual forma se ha comprobado su efectividad clínica en humanos (ver figura 13 y 14).<sup>11</sup>

En 1996 Philip Boyne y sus colaboradores demostraron la capacidad de la rhBMP-2 para reparar soluciones de continuidad mandibulares y hendiduras palatinas. Se ha demostrado que la rhBMP-2, influye en la reparación de huesos largos, paladar hendido, fusión de espina bífida (Ver figura 15).<sup>11</sup>

**Figura 13 y 14.** Preservación alveolar utilizando rhBMP-2

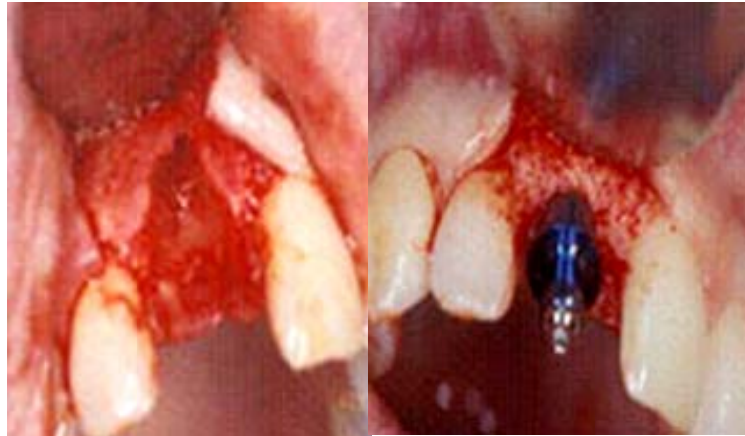


Imagen disponible en: <http://connect.in.com/infuse-bmp/images-oral-surgeon-jay-p-malmquist-oral-surgery-dental-implants-wisdom--1-710916384642.html>

**Figura 15.** Biomaterial INFUSE para injerto espinal.



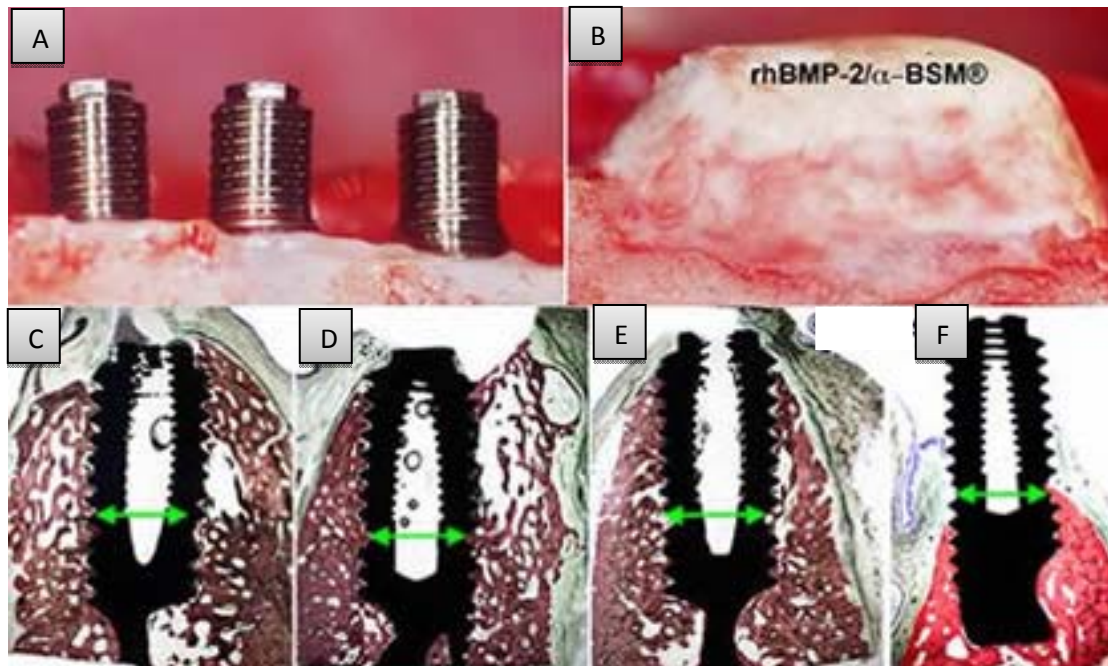
Imagen que muestra presentación del biomaterial para injerto utilizado en reconstrucción o fusión espinal. El biomaterial está compuesto por: rhBMP-2, estructura espinal y esponja de colágeno. Fuente: Medtronic Disponible en: <http://www.biomaterials.org/week/bio26.cfm>.

Posteriormente se obtuvieron resultados positivos en técnicas de elevaciones sinusales (1997) y de osteointegración con implantes (1999).<sup>1</sup>

En estudios de resistencia a torque en sitios de implantes a diferentes intervalos de tiempo, se ha encontrado que donde se utiliza rhBMP-2

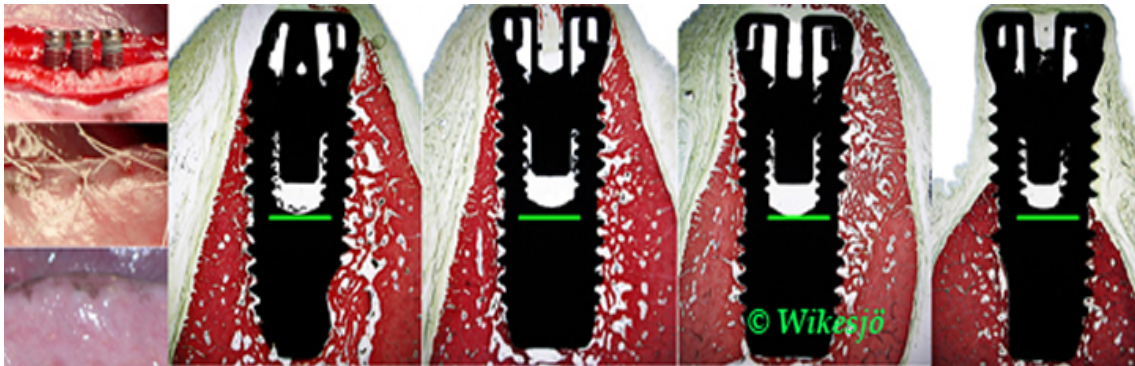
existen mayor resistencia a la fuerza de reversa, que en los que no reciben tratamiento. Sin embargo no se presenta ninguna diferencia histológica entre ambos sitios de implantes después de 12 semanas, ya que al final los implantes se osteointegran de igual manera; pero cuando son usadas las BMPs, la regeneración es más rápida al principio, lo que permitiría, probablemente someter dichos implantes a cargas más rápidamente. Además, la aplicación clínica de rhBMP-2 en sitios de implantes óseos, en donde la altura o ancho del reborde residual es mínimo, se ha demostrado que ha aumentado tras la aplicación de dicho gel (Ver figura 16 y 17).<sup>11,37</sup>

**Figura 16.** Aplicación clínica de rhBMP-2 en implantes dentales.



Defectos de tamaño crítico en sitios de implante. A) Implantes antes de la colocación de rhBMP-2. B) Implantes recibiendo gel de colágena rhBMP-2 C, D Y E) Microfotografías que muestran formación ósea. Las flechas verdes indican la posición del reborde alveolar después de la colocación de los implantes y antes de la utilización de rhBMP-2. Obsérvese la formación ósea casi al nivel de la plataforma del implante. F) Implante control sin la colocación de rhBMP-2. Fuente: Wikesjö UM, et al 2002.

**Figura 17.** Aplicación clínica de rhBMP-2 en implantes dentales.



Aplicación clínica de rhBMP-2 en defectos de tamaño crítico periimplantares. En las 3 microfotografías del lado izquierdo se observa incremento en el reborde residual posterior a la colocación de rhBMP-2, en el microfotografía de implante de lado derecho, se observa osteointegración, pero sin aumento de reborde al no aplicar rhBMP-2. Las líneas verdes indican el nivel de la cresta alveolar antes de la utilización de rhBMP-2. Fuente: Wikesjö UM, et al 2002.

En el 2008 en el *J Oral Maxillofac Surg*, Alan Herdford, publica reconstrucciones óseas de 14 pacientes en defectos sobradamente críticos (mayores a 3.5 cm) utilizando únicamente rhBMP-2.<sup>1</sup>

Comercialmente existen 2 tipos bien estudiados y evaluados, a un precio elevado: rhBMP-2 (INFUSE, *Medtronic*, ver figura 18) y la rhBMP-7 (OP-1 Putty, *Stryker Biotech*), aprobadas por la FDA para su empleo clínico en pacientes con diversas patologías de columna vertebral y pseudoartrosis, desde el 2000. (Ver figura 18). Existen otras marcas comerciales de proteínas morfogenéticas óseas que han sido evaluadas para su aplicación clínica.<sup>1,3,4,36</sup>

**Figura 18. INFUSE® BoneGraft**

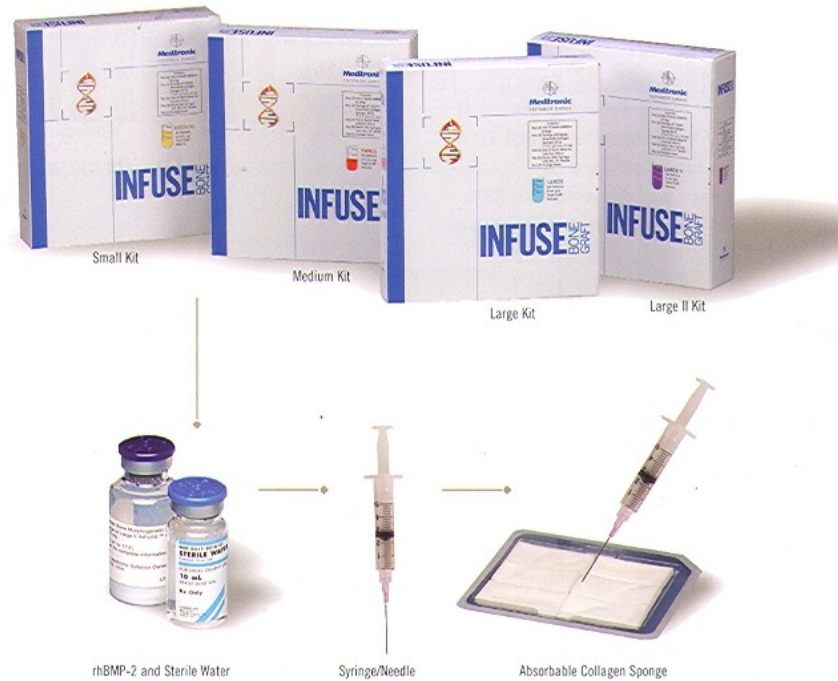


Imagen disponible en: [https://www.infusebonegraft.com/omf\\_about.html](https://www.infusebonegraft.com/omf_about.html)

La deficiencia de hueso es uno de los principales problemas en la rehabilitación de los pacientes, por lo que cualquier estrategia que ayude a aumentar los rebordes, a la osteointegración, eficacia en las elevaciones de seno maxilar previo a la colocación de implantes dentales intraóseos, regeneración de segmentos completos en pacientes post trauma o cirugía oncológica, va a ser de ayuda incuestionable. Otra ventaja de la utilización de BMPs es evitar cirugías de injertos de tejidos más agresivas como los de cresta iliaca, en que hay morbilidad del sitio donador. <sup>11</sup>



## Conclusiones

La ausencia de propiedades osteoinductivas en los sustitutos actuales de injertos óseos ha promovido la investigación para desarrollar nuevos productos. La utilización de BMPs en sinergia con materiales osteoconductores como la Hidroxiapatita o el hueso liofilizado, complementarían sus características, aumentando la capacidad osteoregenerativa.

El concepto de reemplazo óseo utilizando únicamente osteoinducción es atractivo, ya que el hueso inducido resultante es enteramente autólogo y por lo tanto, no habría morbilidad del sitio donador ni limitaciones por disponibilidad o cantidad de material de injerto utilizado.

En la actualidad se presentan varias preocupaciones y consideraciones respecto a la utilización de BMPs recombinante humano. Se desconocen los efectos de éstas a largo plazo y en dosis mayores. Siendo la rhBMP-2 una proteína recombinante humana, existe el riesgo de desarrollar reacciones inmunológicas adversas como respuesta a cuerpo extraño. Se ha encontrado que se pueden aislar proteínas morfogenéticas de osteosarcomas, por lo que una de las principales preocupaciones es el desarrollo de alguna lesión tumoral; tanto en pacientes sanos como con antecedentes oncológicos o alguna predisposición genética.

Finalmente, existen controversias en cuanto a la aplicación de rhBMP-2, debido al costo-beneficio; y, cuestionamientos importantes para su uso en la práctica clínica habitual, debido a su difícil obtención. Sin embargo, ninguno de estos cuestionamientos invalida el gran éxito que supone su identificación y su importante proyección futura.





## Referencias

1. Junquera LM, Gallego L; Bases teóricas y aplicación clínica de las proteínas morfogenéticas óseas en cirugía maxilofacial. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*; 2009; 31(3): 157-159.
2. Scheufler C, Sebald W, Hülsmeier M; Crystal Structure of Human Bone Morphogenetic Protein-2 at 2.7 Å Resolution. *J Mol Biol*; 1999; 287: 103-15.
3. Rivera JA, Riaño CH, Monsalve PA, Osorio A; Injertos óseos-Nueva alternativa. Fase I. Extracción de proteínas morfogenéticas parcialmente purificadas de hueso bovino. *Rev Col Cienc Pec*; 2003; 16(2): 139-46.
4. Andrades JA; Proteínas morfogenéticas óseas: la medicina que viene. *Encuentros en la Biología*, ISSN; 2002; 76: 1134-8496. Disponible en: [mhtml:file:///F:\Proteínas morfogenéticas óseas la medicina que viene \(I\).mht](mhtml:file:///F:\Proteínas morfogenéticas óseas la medicina que viene (I).mht)
5. Rivera JA, Riaño CH, Echavarría A, Monsalve PA, Alzate GJ, Restrepo LF, et al; Injertos óseos-Nueva alternativa. Fase III. Obtención, caracterización y evaluación de Hidroxiapatita Sintética y el compuesto de Hidroxiapatita Sintética porosa – Proteínas Morfogenéticas Óseas en un modelo experimental Lapino. *Rev Col Cienc Pec*; 2004; 17(1): 20-8.
6. Urist MR; Bone: Formation by Autoinduction. *Science*; 1965; 150: 893-9.
7. Urist MR; Jurist JM, Dubuc MD, Strates BS; Quantitation of New Bone Formation in Intramuscular Implants of Bone Matrix in Rabbits. *Clinical Orthopaedics and Related Research*; 1970; 68:279-93.



8. Urist MR, Mikulski A, Lietze A; Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. Proc Natl AcadSci; 1979; 76(4):1828-32.
9. Henostroza N, Gómez P. Proteínas Morfogenéticas; Rev Estomatol Herediana; 1999; 9(1-2): 32-7.
10. Urist M, Lietze A, Mizutani H, Katsumasa T, Triffitt JT, Amstutz J, et al; A Bovine Low Molecular Weight Bone Morphogenetic Protein (BMP) Fraction. Clinical Orthopaedics and Related Research; 1982; 162:219-31.
11. Lorz Ulloa P. Proteínas Morfogenéticas de Hueso en Osteointegración: Revisión Sistemática de Literatura; Publicación Científica Facultad de Odontología UCR; 2005; (7): 8-16.
12. Rutherford B, Fitzgerald M. A new Biological Approach to Vital Pulp Therapy; Critical Reviews in Oral Biology & Medicine; 1995; (6):218-29.
13. Ross MH, Pawlina W. Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. 5 ed. Madrid, España: Editorial Panamericana; 2009. p. 218-57.
14. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, Canto Pingarrón M del, Blanco Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11: E47-51.
15. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, Canto Pingarrón M del, Blanco Jerez L. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11:E151-7.



16. Karp G. Biología Celular y molecular. Conceptos y experimentos. McGraw-Hill Interamericana; 1998; 627-70.
17. Poznak CV, Cross SS, Saggese M, Hudis C, Panageas KS, Norton L, et al. Expression of osteoprotegerin (OPG), TNF related apoptosis inducing ligand (TRAIL), and receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL) in human breast tumours. *J ClinPathol* 2006; 59:56-63.
18. Samee M, Kasugai S, Kondo H, Ohya K, Shimokawa H. Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Transfection to Human Periosteal Cells Enhances Osteoblast Differentiation and Bone Formation. *J Pharmacol Sci* 2008; 108:18-31.
19. Dinatale E, Guercio E. Regeneración ósea guiada (GBR). Revisión de la literatura. *Acta Odontológica Venezolana* 2008; 46(4):1-10.
20. Soto Góngora S, Taxis González MG. Injertos óseos. Una alternativa efectiva y actual para la Reconstrucción del complejo cráneo-facial. Universidad FES Zaragoza, México, 2004.
21. Sesman-Bernal AL, Barceló-de la Isla R, Herrera-Rosas A, Espejo-Plascencia JI, Ávila-Figueroa L, Velasquillo-Martínez MC, León-Pérez JA; Estudio comparativo de hueso craneal generado en un modelo experimental de osteogénesis en conejos. *Acta Pediatr Mex* 2010; 31(5): 206-16.
22. Kruger GO. Tratado de Cirugía Bucal. Nueva Editorial Interamericana, 2da Ed. México; 1978.
23. Sandner O. Tratado de Cirugía Oral y Maxilofacial. Amolca; Ed. 2007; 892-6.



24. Palty A, Hoch T. Un concepto para el manejo de varios defectos dentales. *Implant Dentistry* 2002;11:73-78.
25. Saura JE, Lara JL. Defectos intracraneales y raquimedulares congénitos. Manejo Neuroquirúrgico. Actualización Obstetricia y Ginecología 2011. Disponible en: [http://www.hvn.es/servicios\\_asistenciales/ginecologia\\_y\\_obstetricia/ficheros/curso2011\\_mmf\\_7b\\_defectos\\_intracraneales\\_y\\_raquimedulares\\_congenitos.pdf](http://www.hvn.es/servicios_asistenciales/ginecologia_y_obstetricia/ficheros/curso2011_mmf_7b_defectos_intracraneales_y_raquimedulares_congenitos.pdf).
26. Duque de Miranda Chaves-Netto H, Olate S, Miranda Chaves MA, Albergaria Barbosa JR, Mazzonetto R. Análisis Histológico del Proceso de Reparación en Defectos Óseos. Reconocimiento de Defectos Crítico. *Int J Morphol* 2009; 27(4):1121-7.
27. Ochandiano Caicoya, S. Relleno de cavidades óseas en cirugía maxilofacial con materiales aloplásticos. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*; 2007; 29 (1): 21-32.
28. Amillo S, Gonzalez F, Illescas JA. Incorporación de Aloinjertos óseos intercalares corticales. Estudio experimental en conejos. *An Sist Sanit Navar* 2003; 26(3):357-63.
29. Andrades JA, Santamaría JA, Nimmi ME, Becerra J. Selección, amplificación, inducción y diferenciación de células osteoprogenitoras: Una alternativa para la reparación ósea. *Mapfre Medicina* 1999; 10(3):38-49.
30. Urist MR, DeLange RJ, Finerman GAM. Bone Cell Differentiation and Growth Factors. *Science* 1983; 220:680-6.



31. Verrier S, Meury TR, Kupcsik L, Heini P, Stoll T, Alini M. Platelet-Released supernatant induces osteoblastic differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells: Potential role of BMP-2. *European Cell and Materials* 2010; 20:403-14.
32. Toyono T, Nakashima M, Kuhara S, Akamine A. Expression of TGB- $\beta$  Superfamily Receptors in Dental Pulp. *J Dent Rest* 1997; 76(9):1555-60.
33. Young-Dan Ch, Won-Joon Y, Kyung-Mi W, Jeong-Hwa B, Gene L, Je-YoelCh, et al. Molecular Regulation of Matrix Extracellular Phosphoglycoprotein Expression by Bone Morphogenetic Protein-2. *J Biol Chem*; 2009; 284(37): 25230-40.
34. Carrillo Mateos JP, Carrillo Rivas B. Aplicaciones de la biología molecular en el aparato locomotor. *Revista Española de Cirugía Osteoarticular*; 2000; 408 (35):405-9.
35. Setti S, Rengachary MD. Bone Morphogenetic Proteins: Basic Concepts. *Neurosurg Focus* 2002;13(6): 1-10.
36. Vaibhav B, Prasada V. Bone Morphogenic Protein: Current State of Field and the Road Ahead *J Orthopaedics* 2005; 2(4): 972-8.
37. Wikesjö UM, Sorensen RG, Kinoshita A, Wozney JM. RhBMP-2/ $\alpha$ BSM induces significant vertical alveolar ridge augmentation and dental implant osseointegration; *Clin Implant Dent Relat Res*. 2002;4(4):174-82.