



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE TITULACIÓN POR ALTO PROMEDIO (TAP)

**EXPRESIÓN DE LA INTEGRINA $\alpha 2\beta 1$ EN EL
AGRANDAMIENTO GINGIVAL INDUCIDO POR
NIFEDIPINO.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

ALEJANDRO HERNÁNDEZ ESPINOSA

TUTORA: Mtra. VIRIDIANA LOUSTALOT ANGULO

ASESORA: Dra. EILEEN URIBE QUEROL



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.

La tesis titulada “Expresión de la integrina $\alpha 2\beta 1$ en el agrandamiento gingival inducido por nifedipino” que presenta el alumno Alejandro Hernández Espinosa, se realizó bajo la dirección de la Mtra. Viridiana Loustalot Angulo y la asesoría de la Dra. Eileen Uribe Querol.

El financiamiento para la realización de esta tesis pertenece al proyecto IA202013, cuya responsable es la Dra. Eileen Uribe Querol y pertenece al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), de la UNAM.

Cada uno da lo que recibe
y luego recibe lo que da,
nada es más simple,
no hay otra norma:
nada se pierde,
todo se transforma.

**-Jorge Drexler.
"Todo se transforma".**

DEDICADO

A mi madre, por alentarme a seguir y darme la fuerza para no desistir, por darme la vida, por apoyarme y creer en mí en cada acontecimiento de mi vida, por enseñarme lo que es el sacrificio y las recompensas del esfuerzo, por enseñarme a ser fuerte para salir adelante por más difícil que se presente la situación.

A mi padre, por enseñarme a nunca rendirme y a no depender de otras personas para salir adelante. Por forjar mi camino, por enseñarme los valores y principios de la vida, por estar pendiente de mí en cada momento y por alentarme a lograr cada meta que me proponga.

A mi hermano por escucharme, apoyarme y entenderme. Por contagiarme de su alegría, empatía y nobleza, por explicarme muchos temas a lo largo de la licenciatura, por ser mi primer paciente y por estar siempre a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México:

Por brindarme el honor de poder pertenecer a tan grande institución.

“Por mi raza hablará el espíritu.”

A la Facultad de Odontología:

Por formarme y por llevarme de la mano para aprender todo sobre esta hermosa profesión.

A mis profesores:

Por brindarme todos sus conocimientos y por ser un ejemplo para mí.

A la Mtra. Viridiana Loustalot Angulo:

Por su tiempo y apoyo durante el programa de Titulación por Alto Promedio.

A la Dra. Eileen Uribe Querol:

Por su aceptación, apoyo y dedicación durante la elaboración de esta tesis. Por ser un gran ser humano, por ampliar mis conocimientos en el área de la odontología y por ser una inspiración para continuar mis estudios en el área de investigación.

A mis pacientes:

Por permitirme aprender a través de ellos.

A la Dirección General de Cooperación e Internacionalización (DGECI):

Por permitirme realizar una movilidad estudiantil en Córdoba, Argentina.

A la Universidad Nacional de Córdoba:

Por permitirme realizar una estancia y así poder ampliar mis conocimientos, enfoques y técnicas odontológicas.

A mis abuelos y tíos que partieron antes de tiempo.

A mis tías y tíos:

Por enseñarme que la humildad, el sacrificio, la gratitud y el respeto son clave para el éxito.

A mis primas y primos:

Por ser un ejemplo para mí, por demostrarme que se puede salir adelante.

A mis sobrinas y sobrinos:

Por llenar mis días de alegría. Espero, algún día, ser un ejemplo para ustedes.

A mi Prepa 7 (Ezequiel A. Chávez):

Por darme la mejor formación que pude haber tenido.

A mis mejores amigos:

Janeth, Day, Marisol, Alexis, Pablo. Por enseñarme que la amistad verdadera existe. Por todos los años de amistad y por los que vienen.

A mis amigos del “Ezequiel”:

Alejandra, Melisa, Verónica, Fernanda, Daniel, Jazmín. Más que mis amigos son mis hermanos, gracias por su infinita amistad.

A mis beffos:

Lorena, Alejandra, José, Mónica, Azul, Angélica. Por ser mis amigos desde el inicio de toda la licenciatura y por todos los momentos vividos.

A Abigail:

Por compartir conmigo muchas risas que aligeraron las clases, tareas y exámenes. Por ser la mejor asistente y compañera y sobre todo por tu apoyo incondicional.

A Lilian:

Por iniciar y terminar conmigo la licenciatura, por los pacientes, por escucharme, por las peleas, por todo.

A Jessica, Nancy y Santiago:

Por ser mi familia y apoyo durante nuestra estancia en Argentina. No pude haber pedido mejores compañeros de viaje y aventuras.

ÍNDICE

1. Resumen.....	10
2. Introducción	11
2.1 Periodonto	11
2.1.1 Ligamento periodontal	11
2.1.2 Cemento radicular	12
2.1.3 Hueso alveolar.....	12
2.1.4 Encía	14
2.1.4.1 Características clínicas en salud	14
2.1.4.2 Características macroscópicas	15
2.1.4.3 Características microscópicas	16
2.2 Matriz extracelular	17
2.2.1 Macromoléculas de la matriz extracelular	18
2.2.1.1 Colágeno.....	18
2.2.1.1.1 Tipos de colágeno	20
2.2.1.1.2 Síntesis del colágeno	20
2.2.1.1.3 Degradación del colágeno	21
2.3 Adhesión célula-matriz extracelular.	23
2.4 Integrinas.....	24
2.4.1 Estructura	25
2.4.2 Tipos de integrinas	26
2.4.3 Activación de las integrinas	27
2.4.4 Funciones de las integrinas	29
2.5 Enfermedades gingivales.....	30
2.6 Agrandamiento gingival.	33
2.6.1 Clasificación del agrandamiento gingival	34
2.7 Agrandamiento gingival inducido por medicamentos.	35
2.7.1 Tratamiento del agrandamiento gingival	36
2.8 Nifedipino.....	37
2.8.1 Antecedentes de los antagonistas de los canales de Ca^{2+}	37
2.8.2 Indicaciones	37
2.8.3 Fisiología	37
2.8.4 Farmacocinética	39
2.8.5 Reacciones adversas	39

3. Antecedentes	40
4. Planteamiento del problema.....	42
5. Justificación	42
6. Hipótesis	42
7. Objetivo.....	43
8. Materiales y métodos	43
8.1 Cultivos celulares.....	43
8.2 Anticuerpos.....	44
8.3 Citómetro de flujo o FACS (por sus siglas en inglés; Florescence- Activaded Cell Sorting)	44
9. Resultados	45
10. Discusión	49
11. Conclusiones	52
12. Referencias bibliográficas	53

1. RESUMEN

El agrandamiento gingival genera alteraciones estéticas y problemas periodontales en los pacientes que lo presentan. Un alto porcentaje de pacientes tratados con nifedipino sufren de agrandamiento gingival, reacción adversa del uso sistémico de este medicamento. El agrandamiento gingival es una enfermedad periodontal que promueve la acumulación de placa dentobacteriana. Así, el medicamento y la placa dentobacteriana producen una inflamación crónica, lo que provoca un aumento en la susceptibilidad a infecciones, a diversos problemas periodontales y a la dificultad para comer y hablar. El único tratamiento para el agrandamiento gingival es la cirugía periodontal. Se sabe que el agrandamiento gingival en parte está mediado por cambios en la actividad de los fibroblastos gingivales. Los fibroblastos gingivales son el principal tipo celular de la encía y son los encargados de mediar la homeostasis entre la síntesis y degradación del colágeno. Se sabe que este balance se rompe al presentarse el agrandamiento gingival. Las integrinas son moléculas que participan en la adhesión y degradación del colágeno. La integrina $\alpha 2\beta 1$ se une específicamente al colágeno tipo I, principal componente de la encía.

Con el propósito de entender mejor los mecanismos celulares que subyacen al agrandamiento gingival inducido por nifedipino, en el presente trabajo se analizó la expresión de la integrina $\alpha 2\beta 1$ entre una línea de fibroblastos gingivales de un paciente con agrandamiento gingival inducido por nifedipino y una línea de fibroblastos gingivales de un paciente sano.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 PERIODONTO

El periodonto sirve como protección de los dientes y está formado por los tejidos de soporte. El periodonto es una unidad biológica y funcional que experimenta cambios y modificaciones morfológicas relacionadas con alteraciones funcionales y del medio ambiente bucal. El periodonto se divide en dos partes. La primer parte es el aparato de inserción, compuesto por el ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar. La segunda parte es el aparato de protección, compuesto por la encía. (1, 2)

2.1.1 LIGAMENTO PERIODONTAL

El ligamento periodontal está conformado por tejido conectivo altamente vascularizado y de alto contenido celular. El ligamento periodontal se ubica en el espacio situado entre las raíces dentales y la pared interna del hueso alveolar. El ligamento periodontal une estas dos estructuras a través de diversas fibras. (1, 2)

Las fibras periodontales son fibras colágenas que están organizadas en haces y siguen una trayectoria sinuosa. Las fibras periodontales se clasifican en seis grupos: transeptales, de las crestas alveolares, horizontales, oblicuas ascendentes y descendentes, apicales e interradiculares (Figura 1). (1, 2)

Existen cuatro tipos de células presentes en el ligamento periodontal: las células del tejido conectivo, las de restos epiteliales, las del sistema inmunológico y las relacionadas con los elementos neurovasculares. Estos cuatro tipos celulares permiten que el ligamento periodontal cumpla con funciones de protección, formación y remodelación, nutricionales, sensoriales y de regulación del ancho periodontal. (1)

2.1.2 CEMENTO RADICULAR

El cemento radicular es una delgada capa de tejido mesenquimatoso calcificado avascular, de color amarillento que cubre la dentina de las superficies radiculares y, en ocasiones, pequeñas partes de la corona dental. (1-3)

El cemento radicular carece de inervación, no contiene vasos sanguíneos ni linfáticos, no experimenta resorción fisiológica y se caracteriza por que se deposita durante toda la vida. (2)

El cemento radicular cumple las siguientes funciones: (3)

1. Ancla los dientes al hueso alveolar y al cemento a través de fibras del ligamento periodontal.
2. Protege a la dentina a manera de capa.
3. Mantiene al diente en posición funcional a través de su depósito continuo.
4. Participa en la reparación y regeneración del periodonto.

De acuerdo a su origen, desarrollo función y localización, el cemento se clasifica en cemento acelular con fibras extrínsecas, cemento acelular fibrilar, cemento celular con fibras intrínsecas y cemento celular mixto estratificado (Figura 1). (3)

2.1.3 HUESO ALVEOLAR

El proceso alveolar es la porción ósea del maxilar y la mandíbula que forma y sostiene los alveolos dentarios (Figura 1). Éste está compuesto de: (1).

1. Una pared externa de hueso cortical.
2. Una pared interna, integrada por hueso compacto delgado llamado hueso alveolar.
3. Trabéculas esponjosas, entre las dos capas compactas, que actúan como hueso alveolar de soporte.

Las porciones vestibular y lingual de los alveolos dentarios están formadas por hueso compacto. El hueso esponjoso rodea la cortical alveolar en las zonas apical, apicolingual e interradicular. (1)

El hueso alveolar forma la pared ósea de los alveolos, los cuales sostienen a los dientes. Tiene su inicio a 2 mm de la unión cemento-esmalte, y recorre a lo largo de toda la raíz para finalizar en la porción apical dental. (3)

La principal vía para producir cambios en la forma, resistencia a la fuerza, reparación de heridas y homeostasis del calcio y fósforo en el cuerpo es la remodelación ósea. Este proceso se da a través de la resorción y formación ósea y requiere la coordinación de células llamadas osteoblastos y osteoclastos.

Los osteoblastos son las células encargadas de producir la matriz orgánica del hueso. El hueso alveolar se forma mediante osificación membranosa y consta de una matriz calcificada con osteocitos dentro de lagunas.

Los osteoclastos secretan enzimas hidrolíticas que digieren la porción orgánica del hueso. (1, 3)

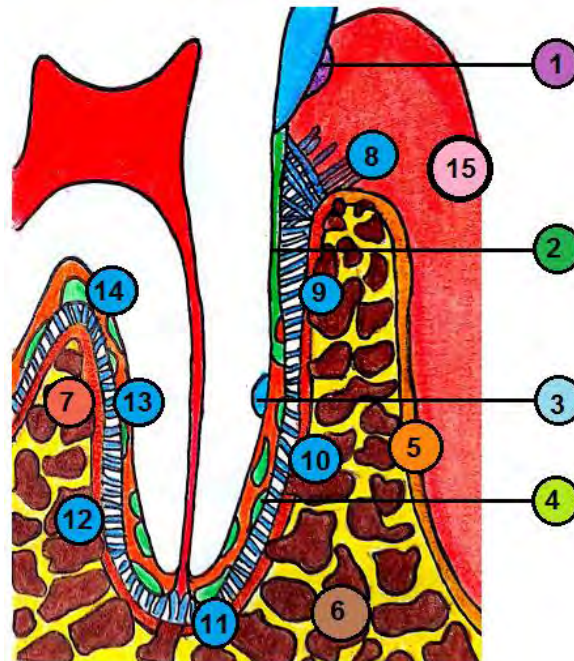


Figura 1. El periodonto. Cemento radicular: 1) Acelular fibrilar, 2) Acelular con fibras extrínsecas, 3) Celular con fibras intrínsecas, 4) Celular mixto estratificado. **Hueso alveolar:** 5) Cortical, 6) Esponjoso, 7) Compacto (Hueso alveolar). **Fibras del ligamento periodontal:** 8) De la cresta alveolar, 9) Oblicuas ascendentes, 10) Oblicuas descendentes, 11) Apicales, 12) Horizontales, 13) Transversales, 14) Interradiculares. 15) Encía. Modificado de (4)

2.1.4 ENCÍA

La encía es parte de la mucosa masticatoria. La encía rodea el cuello de los dientes y recubre los procesos alveolares de la maxila y la mandíbula. (1, 2)

2.1.4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS EN SALUD

La encía, en salud, clínicamente presenta las siguientes características:

1.- Color.

La encía insertada y marginal pueden presentar variaciones en el color, dependiendo del grado de queratinización, espesor del epitelio, vascularización y pigmentaciones, pudiendo ser rosa pálido o rosa coral. (1, 3)

2.- Forma.

La encía marginal tiene forma en filo de cuchillo. La encía insertada tiene forma festoneada, es decir sigue la forma del hueso alveolar y las raíces dentales. La forma de la encía interdental depende de las superficies dentales interproximales. (1, 3)

3.- Consistencia.

La consistencia de la encía es firme, resilente y fuertemente insertada al hueso. (1, 3)

4.- Textura.

La encía presenta puntilleo en forma de cáscara de naranja, excepto en el margen gingival. (1)

5.- Contorno.

El contorno presenta variaciones dependiendo de la forma de los dientes, alineación, ubicación y tamaño del área interproximal. La encía marginal presenta forma de collar siguiendo un contorno festoneado. (1)

6.- Tamaño.

La suma entre los elementos celulares y el suministro vascular, corresponden al tamaño de la encía. Un indicativo de enfermedad gingival es cuando la encía presenta un cambio en su tamaño. (1)

2.1.4.2 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

La encía, anatómicamente, se divide en tres zonas (Figura 2): (1, 2)

1. Libre o marginal.

Es la encía que, a manera de margen, rodea los dientes en forma de collar, mide 1 mm de ancho y está delimitada por el surco gingival.

2. Adherida.

Esta encía es la continuación de la encía marginal extendiéndose hasta la mucosa alveolar y está delimitada por la unión mucogingival. Está unida al periostio del hueso alveolar.

3. Interdental.

Esta encía ocupa el espacio interproximal por debajo del área de contacto entre dos dientes contiguos.

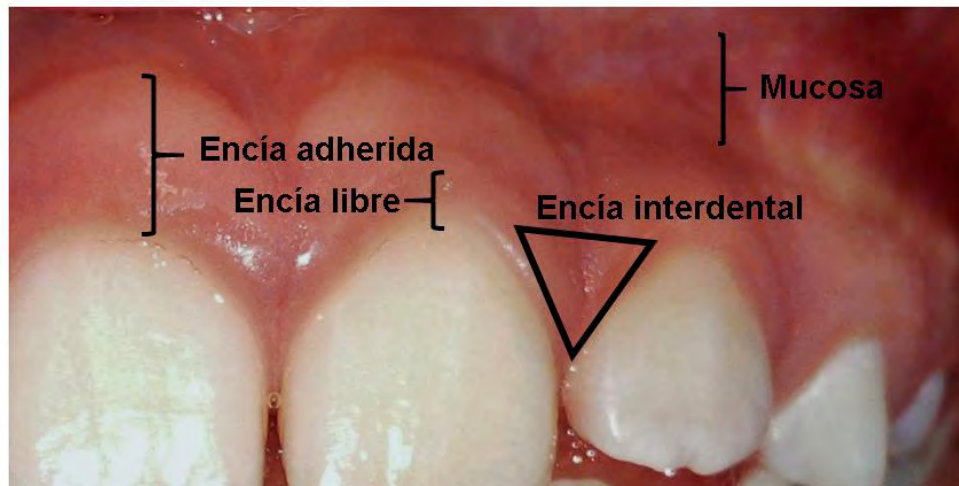


Figura 2. División anatómica de la encía.

2.1.4.3 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

La encía está compuesta, por una parte, por epitelio escamoso estratificado, predominantemente celular y, por otra parte, por tejido conectivo, llamado lámina propia o corion. (1) El tejido conectivo está compuesto por células (5%), fibras de colágeno tipo I (60%), vasos y nervios embebidos en matriz extracelular (35%).

Las células que se localizan en el tejido conectivo de la encía son macrófagos, células cebadas, histiocitos, adipocitos, células inflamatorias y fibroblastos. (1, 2, 5)

Los fibroblastos son células fusiformes, con un núcleo central de forma ovalada y con prolongaciones extracelulares. Los fibroblastos son las células más abundantes representando un 65% de la población total del tejido conectivo gingival (Figura 3). (1, 5) Los fibroblastos presentan las siguientes funciones: Sintetizan fibras elásticas, glucoproteínas de adhesión, glucosaminoglucanos, proteoglucanos y colágeno; también juegan un papel importante en el desarrollo, mantenimiento y reparación del tejido conectivo al participar en la elaboración de factores estimulantes, responsables de la diferenciación celular y de la cicatrización. Además intervienen en la síntesis, regulación y degradación del colágeno por medio de la fagocitosis y la secreción de colagenasas. (1, 5, 6)



Figura 3. Fibroblastos. Fibroblastos gingivales en cultivo. Aumento 10x.

2.2 MATRIZ EXTRACELULAR.

La matriz extracelular es una red estructural tridimensional compleja de macromoléculas que se localiza más allá de la proximidad de la membrana celular y engloba a las células del organismo (Figura 4). (7-9)

La matriz extracelular confiere soporte físico y flexibilidad, ejerce un papel activo en la regulación del comportamiento de las células que están en contacto con ella, influyendo en su supervivencia, desarrollo, migración, proliferación, adhesión y apoptosis. (6)

Así mismo, la matriz extracelular rellena el espacio entre las fibras del tejido conectivo y el espacio intercelular. Debido a su viscosidad, actúa como lubricante y como barrera ante microorganismo invasores. (10) Las macromoléculas que constituyen a la matriz extracelular son producidas localmente por las células incluidas en la misma. En la mayoría de los diferentes tipos de tejido conectivo, estas macromoléculas son secretadas por los fibroblastos. (6)

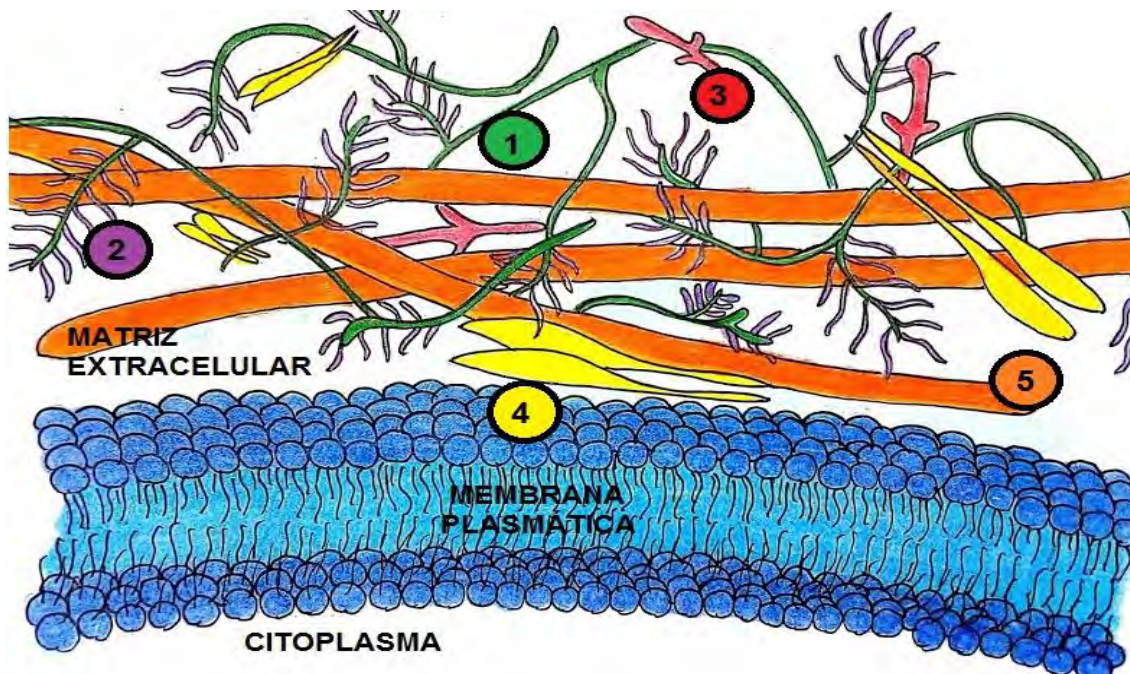


Figura 4. Matriz extracelular. 1) Polisacáridos. 2) Glucosaminoglucanos y proteoglucanos. 3) Fibronectina. 4) Laminina. 5) Colágeno. Modificado de (9).

2.2.1 MACROMOLÉCULAS DE LA MATRÍZ EXTRACELULAR

La matriz extracelular presenta las siguientes macromoléculas: (3, 6, 11)

1. Polisacáridos:
 - a. Glucosaminoglucanos
 - b. Proteoglucanos
2. Proteínas:
 - a. Globulares:
 - i. Glucoproteínas de multiadhesión
 - b. Fibrosas:
 - i. Fibras elásticas
 - ii. Fibras Reticulares
 - iii. Colágeno

Tanto los glucosaminoglucanos como los proteoglucanos, producen un gel llamado sustancia fundamental en la cual se encuentran incluidas las proteínas de la matriz extracelular. Esta sustancia fundamental ocupa el espacio entre las fibras y las células, y presenta un alto contenido de agua. (10, 12, 13)

El gel de polisacáridos aporta resistencia a las fuerzas de compresión que actúan contra la matriz extracelular, además contribuye a la difusión de nutrientes y metabolitos. Las proteínas de la matriz extracelular aportan rigidez, elasticidad, organización y anclaje a las células. (10, 12, 13)

2.2.1.1 COLÁGENO.

El colágeno es una de las familias de proteínas más abundantes y diversas en el cuerpo humano, la cual constituye alrededor de un 25 a 30% del total de proteínas. El colágeno forma un amplio rango de diferentes estructuras, cada una con una propiedad mecánica distinta, dependiendo de su ubicación en el cuerpo. (6, 10, 14) Las moléculas de colágeno son sintetizadas por los fibroblastos, aunque también por muchos otros tipos celulares, y secretadas hacia la matriz extracelular donde se polimerizan para formar microfibrillas de colágeno. (6)

Las fibrillas colágenas están constituidas por microfibrillas paralelas de un diámetro variable de entre 20 a 90 nm, así mismo presentan una estriación transversal que se repite cada 68 nm a lo largo de toda su longitud. (8, 10) La estructura molecular del colágeno está integrada por subunidades de tropocolágeno, cada una de 300 nm de largo por 1.5 nm de diámetro. Las moléculas individuales de tropocolágeno están constituidas por tres cadenas polipépticas llamadas cadenas α , envueltas entre sí a manera de una configuración helicoidal triple (Figura 5). (8, 10, 13)

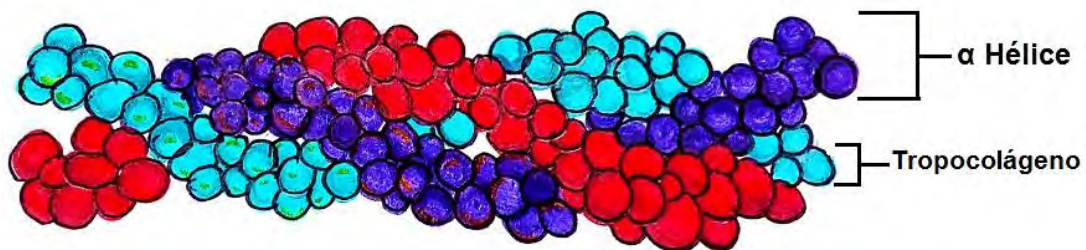


Figura 5. Molécula de colágeno. Triple α hélice conformadas por subunidades de tropocolágeno. Modificado de (14)

Los principales aminoácidos que constituyen al colágeno son la glicina (33.5%), la prolina (12%), la hidroxiprolina (10%) o la hidroxilisina. La secuencia de aminoácidos de todos los colágenos es característica, ya que posee el aminoácido glicina repetido en cada tercera posición de la propia secuencia. Los distintos tipos de colágeno se deben a variaciones en la estructura química de estas cadenas polipépticas. (8, 10)

2.2.1.1.1 TIPOS DE COLÁGENO

Las moléculas de colágeno, de acuerdo con su grado de polimerización, se dividen en varios subgrupos según su secuencia de aminoácidos o a sus similitudes estructurales (Tabla 1). (8)

Tabla 1. CLASES Y TIPOS DE COLÁGENO	
CLASE	TIPO
Colágeno fibrilar	I, II, III, V, XI
Colágeno asociado con fibrillas y que tienen hélices triples ininterrumpidas (FACIT)	IX XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII
Colágenos formadores de redes hexagonales	VIII, X
Colágenos transmembrana	XIII, XVII, XXIII, XXV
Colágenos con regiones en hélice triple e interrupciones múltiples (multiplexinas)	XV, XVIII
Colágenos formadores de membranas basales	IV, VI, VII

2.2.1.1.2 SÍNTESIS DEL COLÁGENO

La síntesis del colágeno se realiza a través de las siguientes etapas (Figura 6): (10, 12)

1. Los polirribosomas, unidos a la membrana del retículo endoplasmático rugoso, sintetizan cadenas polipeptídicas de preprocolágeno o también llamadas cadenas α .
2. Al mismo tiempo que se forman las cadenas α , también se lleva a cabo la hidroxilación de prolina y lisina mediante las enzimas prolina hidroxilasa y la lisina hidroxilasa; formando así a la hidroxiprolina y la hidroxilisina.
3. Posteriormente, cada cadena α se acopla con otras dos cadenas mediante enlaces de hidrógeno para formar una triple hélice, dando la formación del preprocolágeno. Cada cadena α se sintetiza con dos péptidos de registro en cada uno de sus extremos amino y carboxilo. Estos garantizan la correcta alineación de las cadenas para formar la triple hélice.

4. El preprocolágeno acumulado y transportado en vesículas desde el complejo de Golgi hasta la membrana plasmática, en donde sufre exocitosis hacia la matriz extracelular.
5. En el medio extracelular, los péptidos de registro son eliminados por proteasas llamadas procolágeno peptidasas, por lo cual la molécula ahora se denomina tropocolágeno, la cual ahora puede presentar polimerización para la formación de microfibrillas y fibrillas de colágeno.

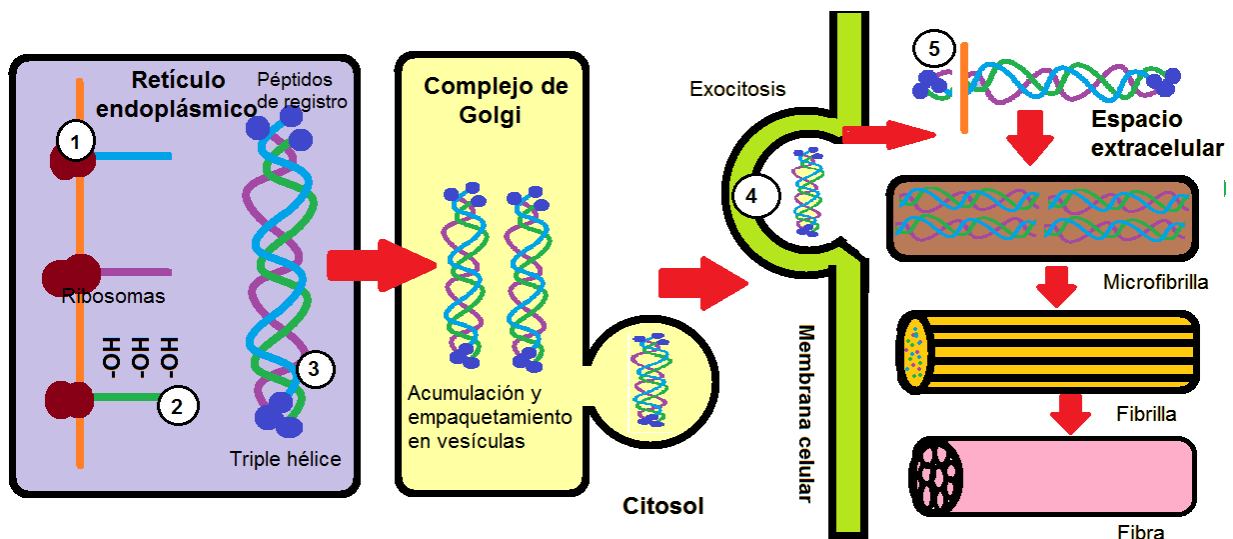


Figura 6. Síntesis del colágeno. 1.- Síntesis de las cadenas α . 2.- Hidroxilación. 3.- Formación del preprocolágeno (triple hélice). 4.- Acumulación, empaquetamiento en vesículas y exocitosis. 5.- Eliminación de péptidos de registro, formación del tropocolágeno. Polimerización para formar microfibrillas, fibrillas o fibras de colágeno.

2.2.1.1.3 DEGRADACIÓN DEL COLÁGENO.

El metabolismo del colágeno mantiene su homeostasis mediante la síntesis y degradación del mismo. Se piensa que la degradación es un proceso que se da mediante dos vías, la primera es la vía extracelular y la segunda es la vía intracelular. (15)

1. Vía extracelular de la degradación del colágeno.

La degradación del colágeno extracelular esta mediada por el reconocimiento de sitios específicos de escisión llevado a cabo por metaloproteasas de la matriz, proteínas dependientes de zinc. Existen 25 metaloproteasas clasificadas en 5 subfamilias de acuerdo a su afinidad con el sustrato: colagenasas, gelatinasas, estromelisin, metaloproteasas de membrana y matrilisin. (15)

Las colagenasas son responsables del primer paso de la degradación del colágeno, dividiéndola en fragmentos de $\frac{1}{4}$ y $\frac{3}{4}$. Posteriormente, los fragmentos de colágeno son desnaturalizados por gelatinasas (MMP-2 Y MMP-3), o por catepsina K, una proteasa de cisteína lisosomal que fragmenta la colágena tipo I y II en los extremos de la molécula y en múltiples sitios de la triple hélice. (15)

2.- Vía intracelular de la degradación del colágeno.

La degradación intracelular del colágeno puede ser efectuada por los macrófagos y por los fibroblastos. Cuando la integrina se despliega, deja sitios de unión con alta afinidad por su ligando, con lo cual el colágeno se une a las integrinas, creando señales intra y extracelulares. (15)

Esta unión provoca que el citoesqueleto genere una fuerza motriz capaz de producir la endocitosis de la integrina y el colágeno, formando así un endosoma. Dentro del endosoma se localiza la integrina y el colágeno, la integrina puede ser degradada junto con el colágeno por medio de catepsina K, o dissociarse del colágeno y ser reciclada volviendo a la superficie celular en un endosoma de reciclaje. (15-18)

2.3 ADHESIÓN CÉLULA-MATRIZ EXTRACELULAR

Dentro de las múltiples interacciones que realizan las células con su entorno, se encuentran aquellas que les permiten unirse y comunicarse. Las células pueden unirse unas a otras (adhesión célula-célula) o con su matriz extracelular (adhesión célula-matriz) (Figura 7). (6, 19)

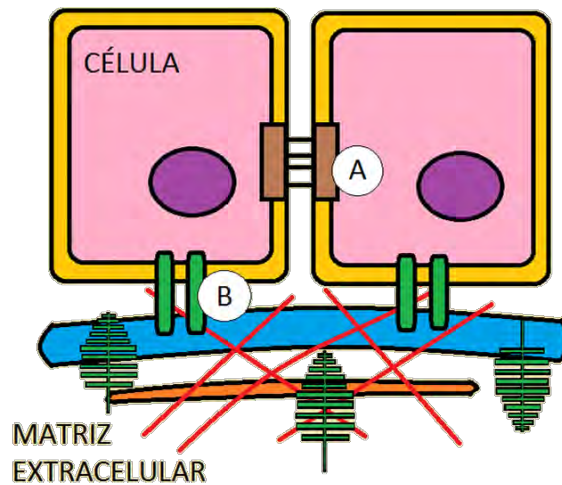


Figura 7. Adhesión celular. *A: Adhesión célula-célula, B: Adhesión célula-matriz extracelular.*

Las interacciones entre las células con su matriz extracelular están dadas por medio de proteínas integrales de membrana llamadas moléculas de adhesión celular (CAM). Las moléculas de adhesión celular son proteínas transmembranales que se extienden desde el citoplasma hasta el espacio extracelular, donde se unen de manera específica a sus ligandos. Los ligandos pueden ser moléculas de adhesión celular de la superficie de otras células o componentes de la matriz extracelular. (20)

Las moléculas de adhesión celular controlan la arquitectura, forma y resistencia celular. A su vez, generan vías de comunicación permitiéndoles intercambiar señales que controlen su comportamiento y de esta forma regulen sus patrones de expresión génica. También permiten la migración, el crecimiento, las funciones inmunológicas, la permeabilidad, el reconocimiento celular, la reparación tisular, la diferenciación y la embriogénesis. (6)

Estructuralmente existen cuatro familias de moléculas de adhesión celular expresadas en la superficie celular (Figura 8): (21)

1. Superfamilia de las inmunoglobulinas.
2. Familia de las cadherinas
3. Familia de las selectinas.
4. Familia de las integrinas.

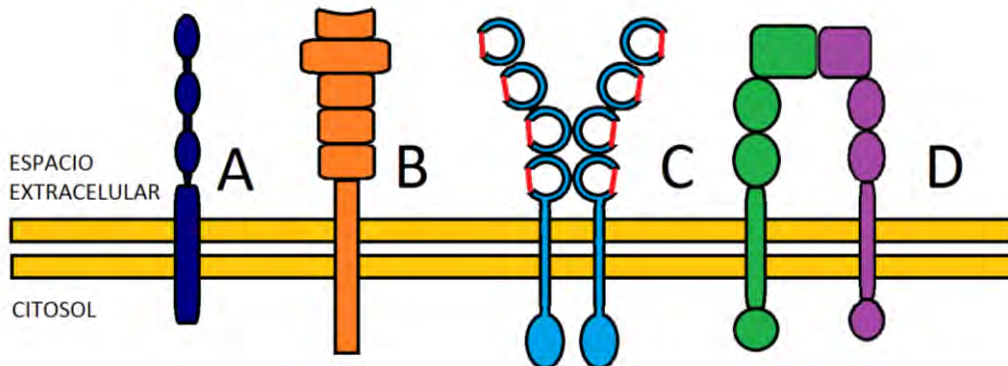


Figura 8. Moléculas de adhesión celular. A: Cadherina, B: Selectina, C: Inmunoglobulina, D: Integrina. Modificado de (6).

2.4 INTEGRINAS

Las células sintetizan, organizan y degradan a la matriz extracelular y ésta, a su vez, ejerce una gran influencia sobre las células. Esta influencia es ejercida primordialmente a través de proteínas transmembrana de adhesión celular que actúan como receptores de matriz. Este tipo de proteínas acoplan la matriz extracelular al citoesqueleto intracelular y, a través de ellas, los componentes de la matriz pueden influir en la mayoría de los aspectos del comportamiento celular.

Los principales tipos de receptores presentes en células animales son las integrinas, las cuales se unen a la mayoría de las proteínas de la matriz extracelular. Las integrinas responden a señales tanto intracelulares como extracelulares. Es decir, la unión de un componente de matriz o cualquier ligando de superficie celular a una integrina, puede transmitir un mensaje al interior de la célula y, a su vez, desde el interior celular se puede transmitir un mensaje hacia el exterior. (6)

2.4.1 ESTRUCTURA

Las integrinas son heterodímeros constituidos por dos subunidades glucoprotéicas transmembranales unidas entre sí de forma no-covalente, llamadas α y β .

La subunidad α presenta dos cadenas ligadas por un enlace disulfuro y una cabeza globular con sitios de unión para cationes divalentes.

Ambas subunidades se localizan en la membrana celular y presentan pequeñas colas intracelulares y largas regiones extracelulares. La porción intracelular de la subunidad β se une a un complejo de proteínas que forman una unión con el citoesqueleto. (6, 22) La región extracelular de la subunidad β se une a proteínas de la matriz extracelular, como el colágeno, la laminina, la fibronectina y otros ligandos. La cola intracelular de la subunidad β actúa directa o indirectamente con diversas proteínas estructurales, como talina, vinculina o paxilina. Estas proteínas estructurales, a su vez, se unen a los filamentos de actina del citoesqueleto (Figura 9). (6, 9, 14)

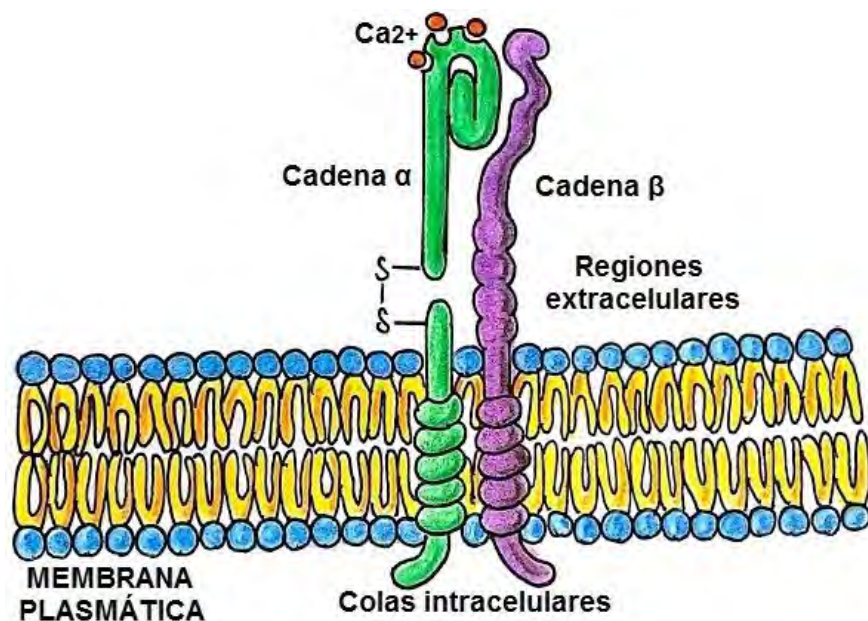


Figura 9. Estructura de las integrinas. Modificado de (20)

2.4.2 TIPOS DE INTEGRINAS.

En los humanos existen 24 tipos de integrinas. 18 genes codifican para las cadenas α y ocho genes codifican para las cadenas β , que dimerizan en distintas combinaciones (Figura 10). (14)

Muchas integrinas se unen a más de un ligando y más de uno de estos ligandos se une a más de una integrina, usando el mismo o distinto sitio de reconocimiento. De esta manera, las integrinas se unen a moléculas de la matriz extracelular, receptores específicos de leucocitos y receptores RGD (secuencia tripéptido Arginina-Glicina-Aspartato). (Tabla 2). (20, 22, 23)

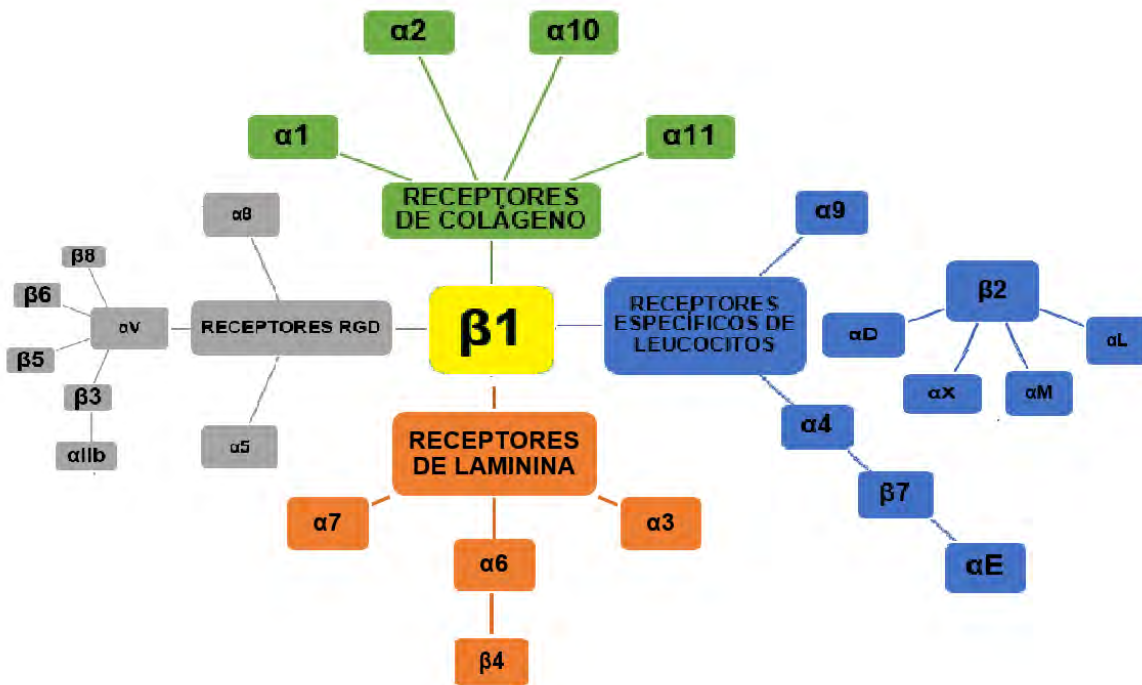


Figura 10. Familia de las integrinas compuesta por 18 subunidades α y 8 subunidades β . Modificado de (23).

Las integrinas se pueden agrupar en subgrupos basados en las propiedades de unión a ligando o en la composición de la subunidad. Cada tipo de integrina puede ser clasificado en subgrupos basados por su unión a ligando, la cual es dependiente de cationes extracelulares como el magnesio y el calcio. (14, 23)

Tabla 2. ALGUNOS LIGANDOS DE LAS INTEGRINAS. (21, 23)		
LIGANDOS	INTEGRINAS	
Fibronectina	$\alpha 3\beta 1, \alpha 4\beta 1, \alpha 4\beta 7, \alpha 5\beta 1, \alpha 8\beta 1, \alpha V\beta 1, \alpha V\beta 3, \alpha V\beta 5, \alpha V\beta 6, \alpha V\beta 8, \alpha IIb\beta 3$	
Fibrinógeno	$\alpha 5\beta 1, \alpha M\beta 2, \alpha V\beta 3, \alpha X\beta 2, \alpha IIb\beta 3, \alpha V\beta 1$	
Laminina	$\alpha 1\beta 1, \alpha 2\beta 1, \alpha 6\beta 1, \alpha 7\beta 1, \alpha 6\beta 4, \alpha 3\beta 1, \alpha 9\beta 1, \alpha 10\beta 1$	
Vitronectina	$\alpha V\beta 1, \alpha V\beta 3, \alpha V\beta 5, \alpha IIb\beta 3, \alpha 8\beta 1$	
Colágeno	Colágeno IV > colágeno I, colágeno IX	$\alpha 1\beta 1$
	Colágeno I > colágeno IV, colágeno IX	$\alpha 2\beta 1$
	Colágeno IV > colágeno VI > colágeno II, colágeno IX	$\alpha 10\beta 1$
	Otros tipos de colágeno	$\alpha 11\beta 1, \alpha IIb\beta 3, \alpha 3\beta 1, \alpha 9\beta 1, \alpha 5\beta 1$

2.4.3 ACTIVACIÓN DE LAS INTEGRINAS

Las integrinas no son moléculas rígidas y pasivas, sino que tienen la capacidad de cambiar de un estado activo, cuando forma uniones, a un estado inactivo, cuando no las forma, y la unión a sus ligandos en una cara de la membrana tiene que alterar su predisposición a unirse a otros grupos de ligandos en la cara opuesta. (6)

En el momento en que la integrina se une o se separa de sus ligandos se producen cambios conformacionales que afectan a los terminales intra y extracelulares de la molécula. Un cambio estructural en uno de las regiones terminales se asocia a un cambio en el otro extremo, por lo que la señal puede ser transmitida a cualquier sentido a través de la membrana celular. (6)

Cuando las integrinas se encuentran en su forma plegada o en estado inactivo, las regiones intracelulares de las cadenas α y β permanecen juntas y se adhieren entre sí. (Figura 11-1). Cuando la región extracelular se despliega, este contacto se rompe y las regiones intracelulares de las cadenas se separan. (Figura 11-2). Como resultado, en la cola de la cadena β queda expuesta una región de unión a talina. Posteriormente la vinculina se une a la talina, provocando el ensamblaje de filamentos de actina en el extremo intracelular de la molécula de integrina. (6)

Cuando un ligando se une a la región extracelular de la integrina, se produce un cambio conformacional. La integrina reacciona y une el citoesqueleto a la molécula de integrina en su porción citoplasmática, este mecanismo se conoce como “activación de fuera hacia adentro”. En algunos casos se produce una reacción en cadena, activando una quinasa de adhesión focal (FAK), llegando hasta el núcleo. (6, 24) Esta cadena de causa-efecto puede funcionar de manera inversa, es decir de dentro hacia afuera. La talina compite con las cadenas α de la integrina por la unión a las cadenas β . Así, cuando la talina se une a la cadena β , impide la unión α - β , con lo que las porciones citoplasmáticas de la molécula permanecen separadas. Este fenómeno conlleva a que la porción extracelular de la integrina cambie a la forma extendida o activa (Figura 11-3). (6, 24)

El intercambio entre estas vías de comunicación, transmite señales en ambas direcciones a través de la membrana celular, permitiendo la generación de interacciones complejas entre las células y su entorno físico y químico. (6)

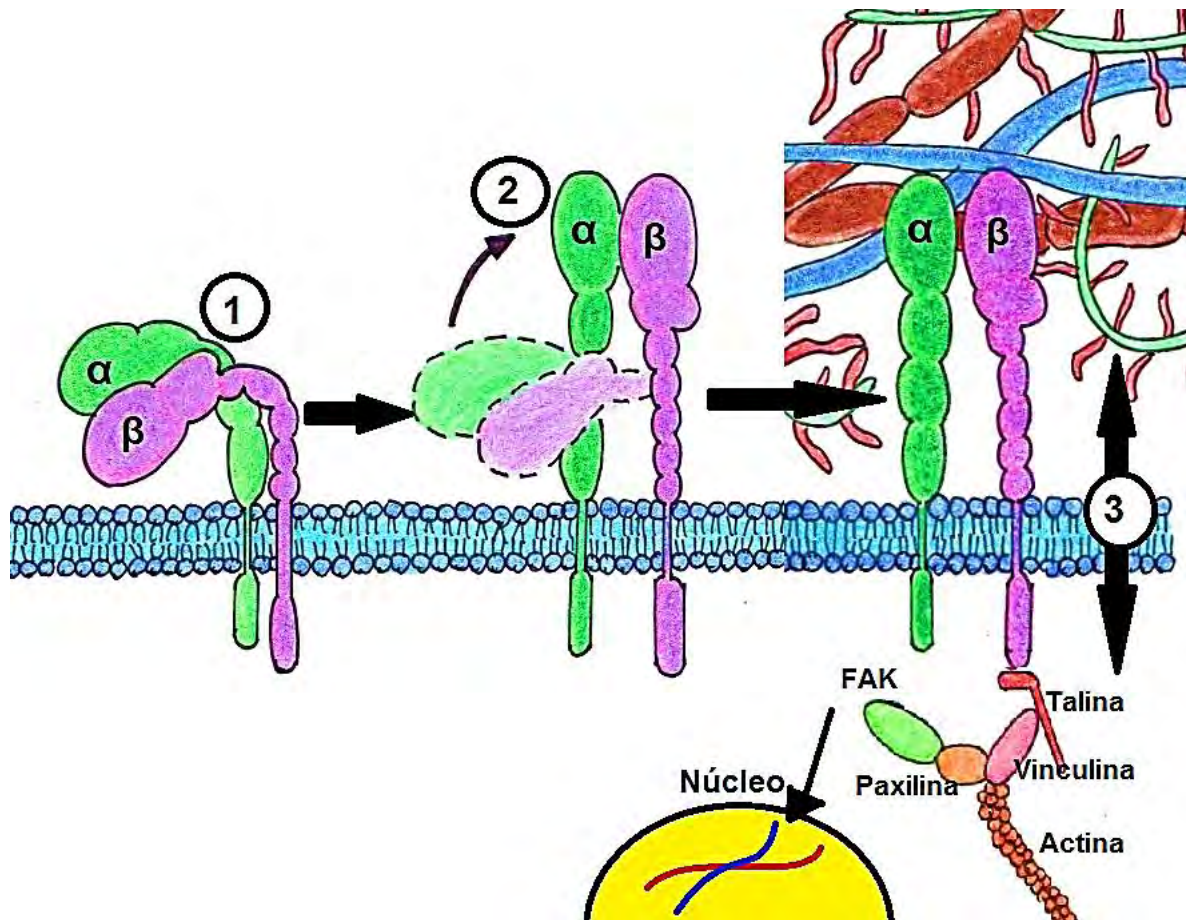


Figura 11. Activación de las integrinas. 1) Forma plegada o estado inactivo. 2) Estado activo. 3) Activación de "fuera hacia adentro" o "de dentro hacia afuera". Modificado de (9, 25)

2.4.4 FUNCIONES DE LAS INTEGRINAS

Las integrinas participan en las siguientes funciones: (6, 9, 14, 26)

- Activan vías de señalización intracelulares que permiten la regulación de la mayoría de los aspectos del comportamiento celular.
- Participan en la agregación plaquetaria.
- Participan en un proceso llamado dependencia de anclaje, en el cual las células deben estar unidas a la matriz extracelular por medio de las integrinas para poder crecer, proliferar y sobrevivir. En caso de que esta unión se pierda se produce la apoptosis celular.

- Reclutan proteínas de señalización intracelular como la quinasa de las adhesiones focales (FAK), la cual constituye uno de los principales lugares de fosforilación de a residuos de tirosina.
- Las integrinas activadas pueden inducir respuestas intracelulares localizadas, como la expresión génica, la adhesión celular y la locomoción.
- Las integrinas participan en la fagocitosis y recaptura del colágeno.

2.5 ENFERMEDADES GINGIVALES

Las enfermedades gingivales son una amplia familia de patologías complejas y son producto de diferentes etiologías. La característica común a todas las enfermedades gingivales es que se localizan exclusivamente en la encía y no afectan al resto del periodonto. (27)

En el Simposio Internacional Internacional para la Clasificación de las Enfermedades Periodontales de 1999, organizado por la Asociación Americana de Periodontología (AAP), se presenta la clasificación más reciente y aceptada de cada una de las enfermedades o lesiones gingivales (Tabla 3). (1)

Tabla 3. CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES GINGIVALES DE 1999. (3)	
A. Enfermedades gingivales inducidas por placa dental	
I.	Gingivitis asociada exclusivamente con placa dental <ul style="list-style-type: none"> A. Sin otros factores locales contribuyentes B. Con factores locales contribuyentes
II.	Enfermedades gingivales modificadas por factores sistémicos <ul style="list-style-type: none"> A. Asociado con el sistema endócrino <ul style="list-style-type: none"> 1. Gingivitis asociada con la pubertad. 2. Gingivitis asociada al ciclo menstrual 3. Gingivitis asociada al embarazo <ul style="list-style-type: none"> a)Gingivitis b)Granuloma piógeno

<ul style="list-style-type: none"> 4. Gingivitis asociada a diabetes mellitus
<ul style="list-style-type: none"> B. Asociada con discrasias sanguíneas <ul style="list-style-type: none"> 1. Gingivitis asociada a leucemia 2. Otras
<ul style="list-style-type: none"> III. Enfermedad gingival inducida por medicamentos <ul style="list-style-type: none"> A. Enfermedad gingival inducida por medicamentos <ul style="list-style-type: none"> 1. Agrandamiento gingival inducido por medicamentos 2. Gingivitis inducida por medicamentos <ul style="list-style-type: none"> a)Gingivitis asociada a anticonceptivos orales b)Otra
<ul style="list-style-type: none"> IV. Enfermedades gingivales modificadas por malnutrición <ul style="list-style-type: none"> A. Gingivitis por deficiencia de ácido ascórbico B. Otras
<p>B. Lesiones gingivales no inducidas por placa dental</p>
<ul style="list-style-type: none"> I. Enfermedades gingivales de origen bacteriano específico <ul style="list-style-type: none"> A. Lesiones asociadas a <i>Neisseria gonorrhoeae</i> B. Lesiones asociadas a <i>Treponema pallidum</i> C. Lesiones asociadas a especies estreptocócicas D. Otras
<ul style="list-style-type: none"> II. Enfermedades gingivales de origen viral <ul style="list-style-type: none"> A. Infecciones por herpesvirus <ul style="list-style-type: none"> 1. Gingivoestomatitis herpética primaria 2. Herpes bucal recurrente 3. Infecciones por Varicela-Zóster B. Otras
<ul style="list-style-type: none"> III. Enfermedades gingivales de origen micótico <ul style="list-style-type: none"> A. Infecciones por especies <i>Candida</i> <ul style="list-style-type: none"> 1. Candidosis gingival generalizada B. Eritema gingival lineal C. Histoplasmosis D. Otras

IV.	Lesiones gingivales de origen genético
	<ul style="list-style-type: none"> A. Fibromatosis gingival hereditaria B. Otras
V.	Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas
	<ul style="list-style-type: none"> A. Desórdenes mucocutáneos <ul style="list-style-type: none"> 1. Liquen plano 2. Penfigoide 3. Pénfigo vulgar 4. Eritema multiforme 5. Lupus eritematoso 6. Inducido por medicamentos 7. Otras B. Reacciones alérgicas <ul style="list-style-type: none"> 1. Materiales restaurativos dentales <ul style="list-style-type: none"> a. Mercurio b. Níquel c. Acrílico d. Otros 2. Reacciones atribuibles a: <ul style="list-style-type: none"> a. Dentífricos b. Enjuagues dentales c. Aditivos de gomas de mascar d. Alimentos y aditivos 3. Otros
VI.	Lesiones traumáticas (fácticas, iatrogénicas o accidentales)
	<ul style="list-style-type: none"> A. Lesión química B. Lesión física C. Lesión térmica
VII.	Reacciones a cuerpo extraño
VIII.	Otros no especificados

2.6 AGRANDAMIENTO GINGIVAL

El agrandamiento gingival es el aumento del volumen de la encía tanto en altura como en grosor o en ambos. El agrandamiento gingival se realiza a expensas del crecimiento de la porción de encía libre o de la encía insertada provocando que cubra una porción de las coronas dentales y modificando la estética de la encía e interferir con el habla y la masticación. (1, 3)

Clínicamente, el agrandamiento gingival, es un crecimiento crónico e indoloro. En el agrandamiento gingival la papila interdental, al crecer, adquiere una forma circular y elevada que se extiende al margen gingival conforme avanza la enfermedad. El agrandamiento, tanto marginal como papilar, puede llegar a aproximarse, provocando que la encía cubra un porcentaje considerable de las coronas hasta, en casos graves, cubrirlas en su totalidad interfiriendo con la oclusión (Figura 12). (1)

La presencia del agrandamiento gingival puede originar diversos problemas periodontales derivados de una difícil técnica de cepillado. Esto promueve un alto índice de placa dentobacteriana; por lo tanto, el agrandamiento puede ser combinado, es decir, depende de la acción del medicamento y de inflamación provocada por las bacterias. (1)



Fig. 12. Agrandamiento gingival inducido por nifedipino. Clínicamente se observa aumento de volumen en las papilas gingivales de los dientes anteriores superiores.

2.6.1 CLASIFICACIÓN DEL AGRANDAMIENTO GINGIVAL

Los tipos de agrandamiento gingival se organizan según los factores etiológicos y los cambios fisiológicos producidos (Tabla 4):

TABLA 4. CLASIFICACIÓN DEL AGRANDAMIENTO GINGIVAL POR ETIOLOGÍA Y CAMBIOS FISIOLÓGICOS. (1)	
I.	Agrandamiento inflamatorio <ul style="list-style-type: none">A. CrónicoB. Agudo
II.	Agrandamiento inducido por medicamentos
III.	Agrandamientos relacionados con enfermedades o padecimientos sistémicos <ul style="list-style-type: none">A. Agrandamiento condicionado<ul style="list-style-type: none">1. Embarazo2. Pubertad3. Deficiencia de vitamina C4. Gingivitis de célula plasmática5. Agrandamiento condicionado no específico (granuloma piógeno)B. Enfermedades sistémicas que provocan agrandamiento gingival<ul style="list-style-type: none">1. Leucemia2. Enfermedades granulomatosas
IV.	Agrandamiento neoplásico (tumores gingivales) <ul style="list-style-type: none">A. Tumores benignosB. Tumores malignos
V.	Agrandamiento falso

De acuerdo a los criterios de ubicación y distribución, el agrandamiento gingival puede clasificarse en (Tabla 5):

Tabla 5. CLASIFICACIÓN DEL AGRANDAMIENTO GINGIVAL DE ACUERDO A SU UBICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN. (1)	
Localizado	Limitado a la encía adyacente a un solo diente o un grupo de dientes.
Generalizado	Afecta la encía en toda la boca.
Marginal	Se limita a la encía marginal.
Papilar	Se limita a la papila interdental.
Difuso	Afecta a la encía marginal e insertada y las papilas.
Discreto	Agrandamiento aislado sésil o pedunculado tipo tumor.

2.7 AGRANDAMIENTO GINGIVAL INDUCIDO POR MEDICAMENTOS

El agrandamiento gingival inducido por medicamentos es un efecto secundario adverso, no deseado, del uso sistémico y prolongado de medicamentos que afecta a la encía. (1, 28)

Algunos de los medicamentos que lo producen son: (1, 28)

- Anticonvulsivos: Fenitoína, valproato de sodio.
- Inmunosupresores: Ciclosporina A.
- Bloqueadores de canales de calcio: Nifedipino, verapamilo.

Dentro de las características clínicas del agrandamiento gingival inducido por medicamentos se presenta una tendencia a presentarse en el sector anterior, superior e inferior, con una mayor incidencia dentro de los tres primeros meses posteriores al uso del medicamento. El agrandamiento gingival presenta sangrado excesivo ante cualquier estímulo, como respuesta inflamatoria exagerada a la placa dental. (1, 3) El agrandamiento gingival es crónico y aumenta de tamaño lentamente. Al retirarse mediante cirugía, el agrandamiento gingival recurre después de cierto tiempo. Cuando se deja de administrar el medicamento, el agrandamiento gingival desaparece espontáneamente dentro de unos meses. (1)

2.7.1 TRATAMIENTO DEL AGRANDAMIENTO GINGIVAL INDUCIDO POR MEDICAMENTOS

El tratamiento para el agrandamiento gingival inducido por medicamentos comienza al realizar un correcto diagnóstico y con ello controlar o disminuir los factores de riesgo que provocan la enfermedad, para después corregir los efectos de la enfermedad. (2)

El tratamiento para el agrandamiento gingival inducido por medicamentos se divide en 4 fases o etapas: sistémica, inicial o higiénica, correctiva y de mantenimiento o de sostén. (2)

La meta de la fase sistémica es eliminar o disminuir la influencia de la enfermedad sobre los resultados de la terapia. Así mismo, se realizan interconsultas con el médico tratante de la enfermedad sistémica del paciente para considerar la posibilidad de discontinuar o sustituir el medicamento. (1, 2)

El objetivo de la fase higiénica es el control o eliminación de las causas locales del agrandamiento gingival, como placa dentobacteriana, cálculo, restauraciones defectuosas u otros factores relacionados a la inflamación gingival. Esta fase incluye la educación del paciente para realizar una correcta higiene oral. (2)

La fase correctiva consiste en enmendar los efectos del agrandamiento gingival sobre los tejidos gingivales a través de procedimientos quirúrgicos. Los procedimientos quirúrgicos para corregir el agrandamiento gingival son la gingivectomía y la gingivoplastía. (1, 2)

La fase de mantenimiento consiste en la recurrencia de la enfermedad. En esta fase se llevan a cabo refuerzos de higiene para que el paciente mantenga un nivel de placa dentobacteriana bajo y así disminuir la inflamación que contribuye al agrandamiento gingival. También se replantea la posibilidad de realizar procedimientos quirúrgicos posteriores en caso de recidiva del agrandamiento gingival. (1, 2)

2.8 NIFEDIPINO

2.8.1 ANTECEDENTES DE LOS ANTAGONISTAS DE LOS CANALES DE Ca^{2+}

El descubrimiento de los canales de calcio fue realizado por Fatt y Katz cuando trabajaban con células musculares en cangrejos. (28)

Posteriormente, en 1960, Fleckenstein y Godfraind realizaron investigaciones sobre medicamentos que modificaban la contracción muscular al bloquear la entrada del calcio en los miocitos. A partir de estas investigaciones, demostraron que, para evitar la contracción del músculo, se necesitaba incrementar la concentración de calcio en el medio extracelular.(29) Fleckenstein demostró que el nifedipino, derivado del verapamilo, bloquea el movimiento del calcio a través del canal del calcio del miocito en el corazón, y con ello se altera la fase “estable” del potencial de acción. (29)

2.8.2 INDICACIONES

Nifedipino es un medicamento que pertenece a la familia de las dihidropiridonas, actúa principalmente en las células miocárdicas y en las células musculares lisas de las arterias coronarias y de vasos de resistencia periférica. (29) Está indicado en profilaxis y tratamiento de angina de pecho estable de esfuerzo, angina vasoespástica e hipertensión arterial. (30)

2.8.3 FISIOLÓGÍA

La interacción de los bloqueadores de calcio con la membrana celular es un mecanismo complejo. En la membrana celular se han identificado tres receptores que pueden ser bloqueados por distintas sustancias químicas: Fenilalquilaminas, benzodiazepinas y dihidropiridonas (nifedipino).

Nifedipino se une a los receptores de dihidropiridonas, canales de calcio sensibles a voltaje tipo L, bloqueando la entrada del calcio extracelular al tejido muscular.

A su vez, los receptores de dihidropiridonas no activan a los receptores de rianodina que están ubicados en la membrana del retículo sarcoplásmico, evitando la salida de más calcio, dando como resultado un descenso en los niveles de calcio en el sarcoplasma. (31)

Este descenso provoca la disminución en la fuerza de contracción (ionotropismo negativo), reducción en la frecuencia cardíaca (cronotropismo negativo), disminución en la velocidad de conducción (dromotropismo negativo) y la relajación del músculo liso vascular. Al producir esta relajación, se reduce la resistencia vascular periférica y por ende la disminución de la presión arterial. Los canales de calcio se encuentran localizados en el músculo liso vascular, los miocitos cardíacos y en los nodos atrioventricular y sinoatrial. (28, 31)

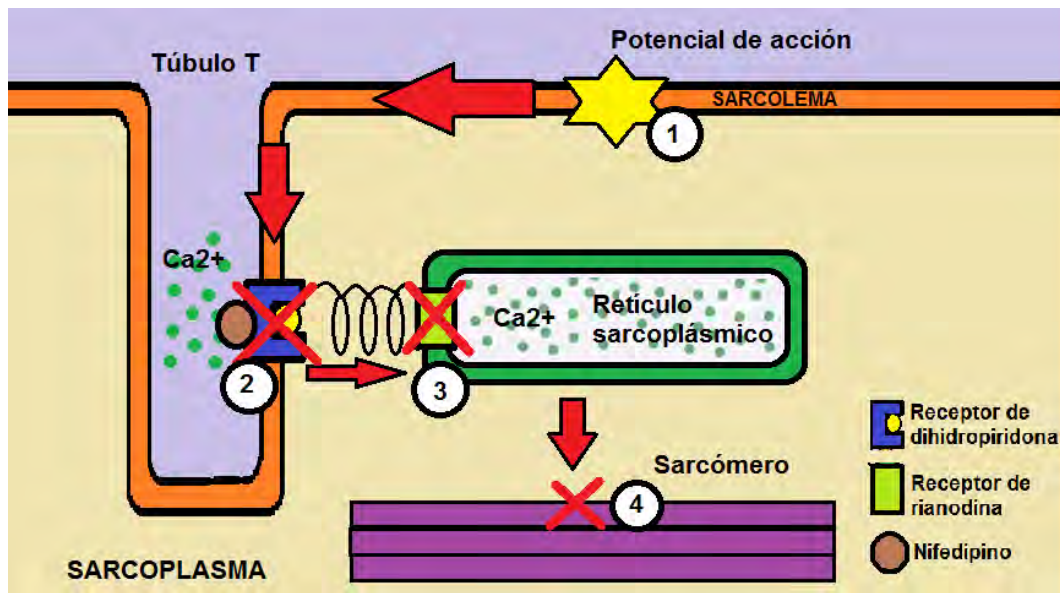


Figura 13. Fisiología del nifedipino. 1.- El potencial de acción viaja por el sarcolema hasta los túbulos T. 2.- Nifedipino se une a los receptores de dihidropiridonas (canales de calcio tipo L, dependientes de voltaje), bloqueando la entrada de calcio extracelular al sarcoplasma. 3.- No se activan los receptores de rianodina, evitando la salida de calcio del retículo sarcoplásmico. 4.- Descenso de los niveles de calcio. El calcio no se une al sarcómero y no se produce la contracción muscular, dando como resultado la relajación muscular.

2.8.4 FARMACOCINÉTICA

La vía de administración del nifedipino es por vía oral, su absorción es inmediata. Su biodisponibilidad sistémica es del 45-56%, debido a que sufre efecto de primer paso o también llamado hepático.

El nifedipino es metabolizado en la pared intestinal e hígado, mediante distintos procesos oxidativos. Posteriormente, es excretado en forma de metabolitos principalmente por vía renal y por la bilis en las heces. (29, 30)

2.8.5 REACCIONES ADVERSAS.

Las siguientes reacciones se han presentado en pacientes tratados con nifedipino: Reacciones alérgicas, trastornos del sueño, náusea, trastornos visuales, hipotensión, dolor abdominal, agrandamiento gingival, prurito, eritema, espasmos musculares, impotencia, poliuria, disuria, cefalea, taquicardia, entre otras. (29, 30)

3. ANTECEDENTES

El agrandamiento gingival asociado a medicamentos fue reportado por primera vez en 1939, en un paciente tratado con fenitoína, un anticonvulsivante usado para el tratamiento de la epilepsia. El término utilizado por primera vez para esta patología fue hiperplasia gingival. (32, 33) En el año de 1983 se reporta por primera vez el agrandamiento gingival inducido por ciclosporina A. Un año después, en 1984, Lederman y colaboradores reportan las características clínicas del agrandamiento gingival inducido por bloqueadores de canales de calcio, entre ellos nifedipino. (28, 33) A partir de estos reportes se inician investigaciones y se sugieren diferentes mecanismos que expliquen la patogenia del agrandamiento gingival como: la dosis o nivel plasmático del medicamento, predisposición genética, la presencia de placa dentobacteriana y sarro, aumento de niveles de interleucina-1, aumento en el número y actividad de los fibroblastos, participación de las metaloproteasas, participación de las citosinas, la inhibición del catabolismo del colágeno o el incremento de la matriz extracelular. (28, 33-35) Años más tarde, el término hiperplasia gingival deja de ser utilizado debido a que, tras varias investigaciones, se concluyó que en el agrandamiento gingival no está involucrado el aumento de fibroblastos, si no de la excesiva acumulación de elementos de la matriz extracelular. (36) Fundamentado esto, se demuestra que existe un exceso de colágeno tipo I, principal componente de la encía. (37)

En 1897, Richard Hynes establece el término “integrina” a las moléculas que unen elementos de la matriz extracelular con el citoesqueleto celular. (38)(39). Gracias a esto, se establece que la integrina $\alpha_2\beta_1$ es un receptor específico para el colágeno tipo I. Esta integrina juega un papel importante en el proceso de degradación y fagocitosis del colágeno. (39-41)

Lee y colaboradores reportan que es necesaria la unión de la integrina con el colágeno tipo I para que se lleve a cabo el primer paso para la internalización del colágeno. (42)

Así mismo se han realizado estudios en diversos sujetos de estudio, por ejemplo en fibroblastos de pacientes con fibromatosis gingival hereditaria, estos estudios arrojan que existe un incremento en el nivel de la subunidad $\alpha 2$ y que puede estar relacionado con el depósito excesivo de colágeno. (39)

En estudios más recientes, en fibroblastos gingivales normales, se reporta que la integrina $\alpha 2\beta 1$ presenta una baja afinidad al colágeno tipo I. Por otro lado, otro estudio confirma que ciclosporina A inhibe la expresión subunidad $\alpha 2$ de la integrina en fibroblastos gingivales y por ende la fagocitosis del colágeno en los fibroblastos. (41, 43)

Por lo que se plantea que, sí existe menor expresión de la subunidad $\alpha 2$ de las integrinas, la fagocitosis es reducida. Deduciendo que si no existe unión entre la integrina y el colágeno, no hay internalización de colágeno en el fibroblasto para su degradación. De esta forma, se plantea que el agrandamiento gingival es causado por la disminución de la expresión de la integrina $\alpha 2\beta 1$ en los fibroblastos de los pacientes tratados con nifedipino.

4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La hipertensión arterial es uno de los principales factores de riesgo para padecer enfermedad cardiovascular, cerebrovascular y falla renal, los cuales son importantes causas de mortalidad en México.

Entre los años 2000 a 2006, la prevalencia de hipertensión arterial aumentó 19.7% hasta afectar 1 de cada 3 adultos mexicanos (31.6%).

En el año 2012, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, la prevalencia de hipertensión arterial fue de 33.3% en hombres y del 30.8% en mujeres de cada 100 personas (en una población de 20 años o más). (44)

Esta cifra se ve incrementada considerando que México ocupa uno de los primeros lugares de obesidad a nivel mundial, factor de riesgo asociado a la hipertensión arterial. Con base en lo anterior, se puede deducir que el número de pacientes tratados con bloqueadores de canales de calcio, como el nifedipino, va en incremento y por ende, el riesgo de presentar agrandamiento gingival inducido por este medicamento.

5.- JUSTIFICACIÓN

Debido a que no existen muchos estudios detallados sobre el comportamiento, a nivel celular, del agrandamiento gingival inducido por nifedipino que expliquen cuál es su patogenia, el presente trabajo pretende aportar cómo es que los fibroblastos gingivales interactúan con la matriz extracelular a través de las integrinas, y así en un futuro buscar alternativas al tratamiento diferentes a la cirugía periodontal.

6.- HIPÓTESIS

Los fibroblastos derivados de encía de pacientes con agrandamiento gingival inducido por nifedipino presentan una disminución en el porcentaje de expresión de integrinas en comparación a las de los fibroblastos derivados de encía de individuos sanos.

7.- OBJETIVO

Comparar la expresión de integrinas $\alpha 2\beta 1$ entre fibroblastos gingivales derivados de encía de un individuo sano y fibroblastos gingivales derivados de encía de un paciente con agrandamiento gingival inducido por nifedipino.

8.- MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 CULTIVOS CELULARES

Se utilizaron líneas celulares de fibroblastos gingivales donados por la Dra. Eileen Uribe-Querol del posgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México, provenientes de cultivos primarios de fibroblastos aislados de un paciente bajo tratamiento con nifedipino y de un paciente periodontalmente sano.

La línea celular derivada del paciente sano se denominó Con002 y la línea derivada del paciente bajo tratamiento con nifedipino se denominó Nif001.

Los fibroblastos se mantuvieron en medio de cultivo DMEM (Dubecco's Modified Eagle Medium, Gibco, Grand Island, NY), suplementado con 10 % de suero fetal bovino, 20 mM de L-Glutamina, 50,000 unidades de penicilina, 50,000 unidades de estreptomycin y 125 μ g de anfotericina B, atemperado a 37 °C en una atmósfera húmeda con 5% de CO₂.

Los estudios fueron realizados entre los pases 7 y 22 de los cultivos.

8.2 ANTICUERPOS

Los siguientes anticuerpos monoclonales (mAb) fueron utilizados para identificar a las subunidades α y β y a la molécula del complejo principal de histocompatibilidad (MHC I) en cada línea celular (Tabla 6):

Tabla 6. ANTICUERPOS.	
INTEGRINA	ANTICUERPO
Subunidad α	mAb P1E6
Subunidad β	mAb T52/16
MHC I	mAb W6/32

8.3 CITÓMETRO DE FLUJO O FACS (FACS por sus siglas en inglés; Florescence-Activaded Cell Sorting)

La citometría de flujo es un proceso que permite que las células pasan en fila dentro de un flujo a través del aparato, pudiendo ser desde 500 hasta 4000 células por segundo. El citómetro de flujo permite cuantificar simultáneamente diversas características (físicas, morfológicas, fenotípicas o bioquímicas) de una sola célula, estableciendo mediciones cuantitativas y multiparamétricas. Este análisis multiparamétrico hace posible evaluar poblaciones celulares particulares, aprovechando las propiedades celulares intrínsecas como la dispersión de la luz y características controladas como la fluorescencia. (45)

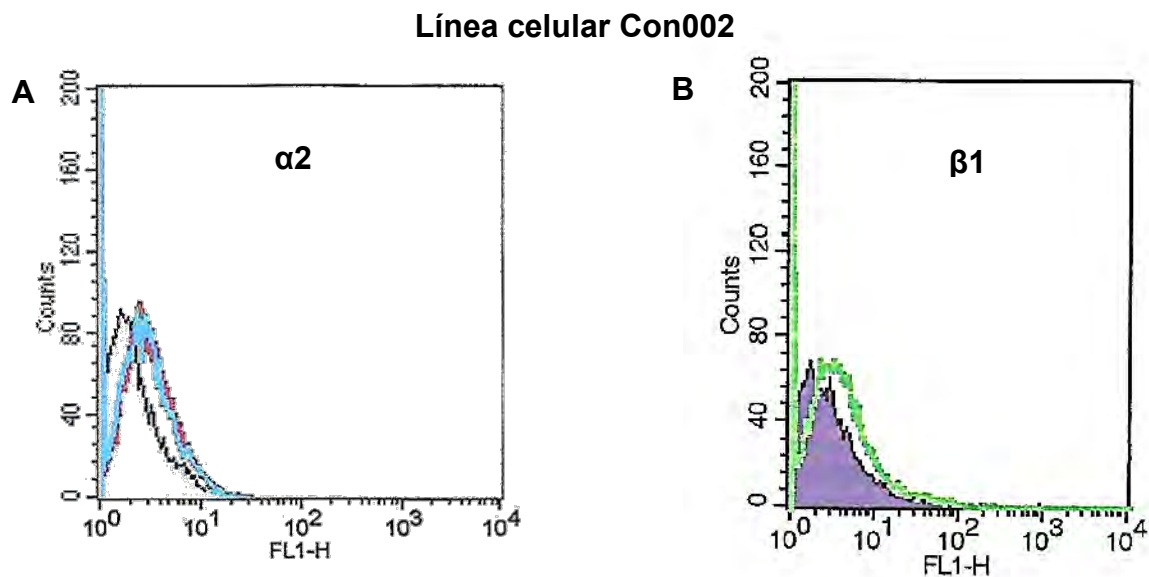
Los cultivos de fibroblastos confluentes, de las líneas celulares Con002 y Nif001, se despegan con tripsina. Posteriormente, Los fibroblastos se contaron en un hemocitómetro. 1,000,000 de fibroblastos, tanto de Con002 como de Nif001, se utilizaron para cada ensayo de citometría.

Las células fueron marcadas con cada uno de los anticuerpos monoclonales para integrinas y MHC, se incubaron en hielo por una hora y se lavaron tres veces con 1000 μ l de amortiguador para FACS frío (PBS + 0.5% de albumina de suero bovino (BSA) + 1% de sacarosa), se centrifuga a 5000 rpm por 1 min. Se retiró el

sobrenadante y se agregó al botón de células 500 μ l del anticuerpo secundario FITC-F (ab') 2-antiratón IgG 1:400. Los fibroblastos se incubaron en hielo por 30 minutos, se volvieron a lavar 3 veces con 1000 μ l de amortiguador para FACS frío y se centrifugaron a 5000 rpm por 1 minuto. Se retiró el sobrenadante y se agregaron 300 μ l de buffer de fijación (1% de paraformaldehído en PBS frío). Se almacenan protegidos de la luz a 4 C para su posterior lectura en el citómetro de flujo.

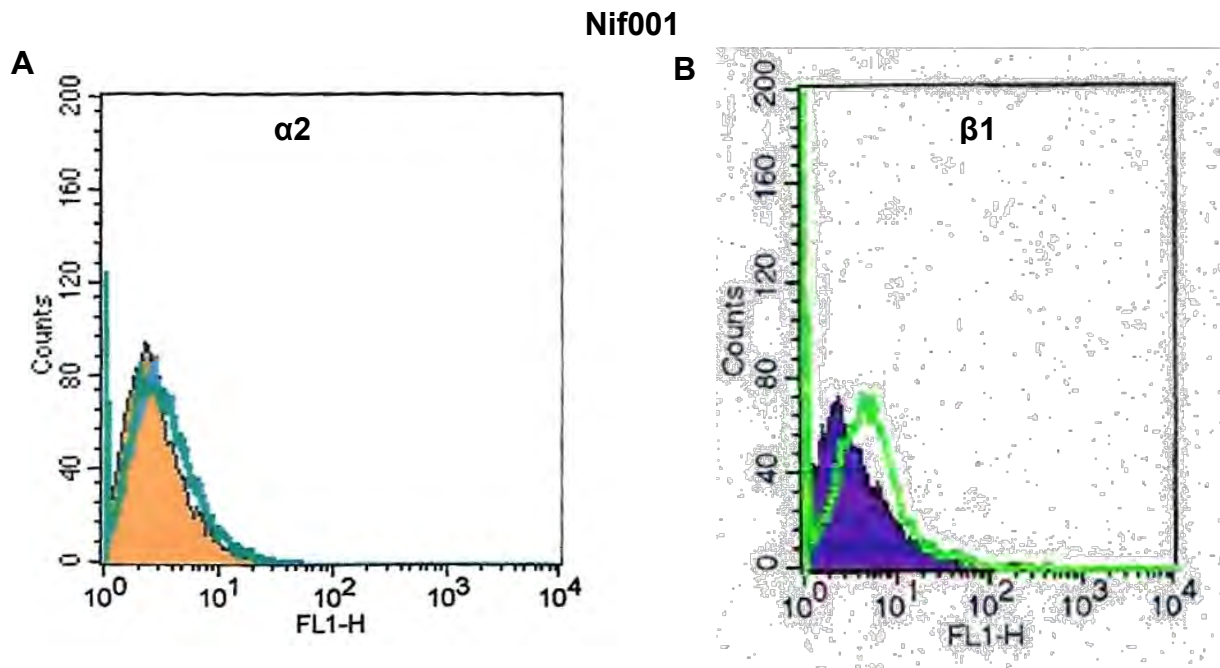
9.- RESULTADOS

La línea de fibroblastos sanos, Con002, expresan las subunidades α 2 y β 1 por medio de citometría de flujo (Figura 13 A y B). El desplazamiento del histograma hacia la derecha muestra una mayor fluorescencia, es decir mayor presencia de la molécula. Mientras más alejado esté del origen, mayor es la expresión de la molécula detectada.



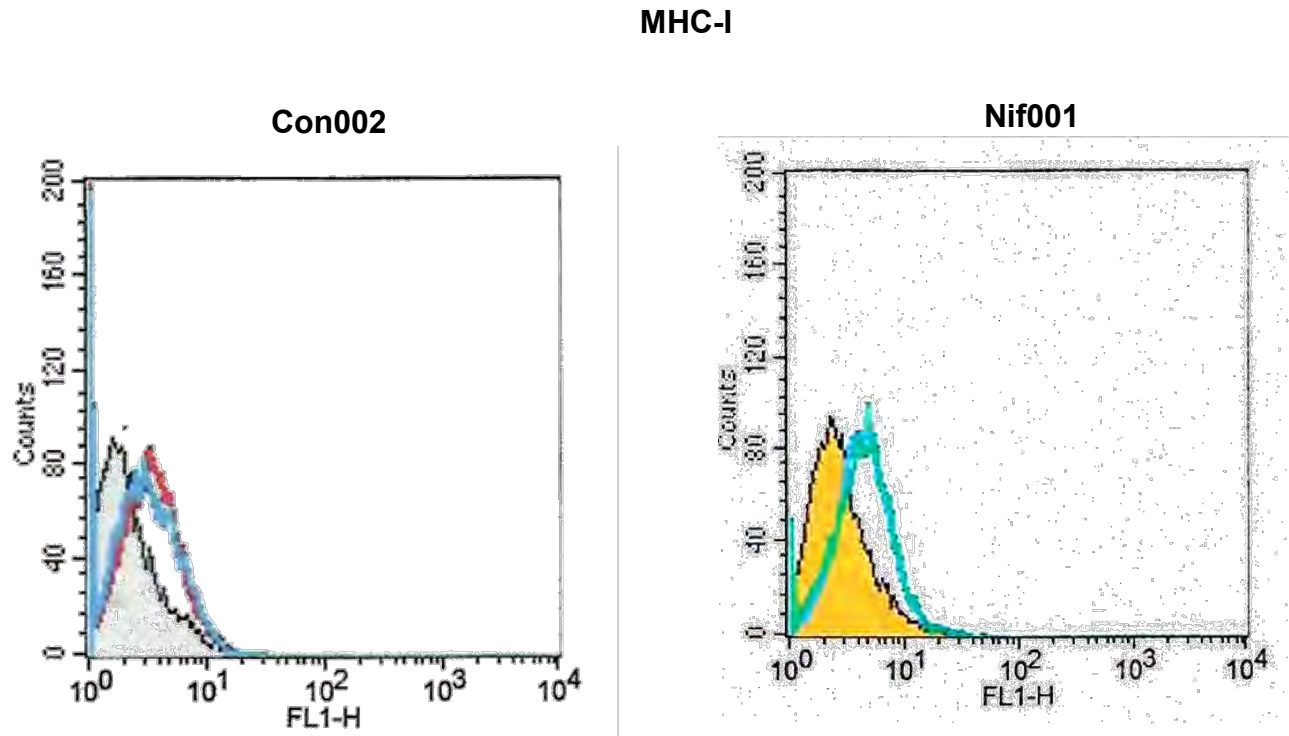
Figuras 13. Expresión de integrinas. Histogramas representativos de la expresión de subunidad α 2 (A) y β 1 (B). La línea negra (A) y morada (B) representan la fluorescencia emitida por los fibroblastos. Las líneas de color azul, rojo (A) y verde (B) representan la fluorescencia emitida por el anticuerpo para cada subunidad de la integrina. n= 4 y 8 ensayos, respectivamente.

La línea de fibroblastos de un paciente con agrandamiento gingival inducido por nifedipino, Nif001, por medio de citometría de flujo, expresan la subunidad $\beta 1$, mientras que la expresión de la subunidad $\alpha 2$ se ve disminuida. El desplazamiento del histograma hacia la derecha muestra una mayor fluorescencia, es decir mayor presencia de la molécula. Mientras más alejado esté del origen, mayor es la expresión de la molécula detectada. (Figura 14 A y B).



Figuras 14. Expresión de integrinas. Histogramas representativos de la expresión de subunidad $\alpha 2$ (A) y $\beta 1$ (B). Las líneas anaranjada (A) y morada (B) representan la fluorescencia emitida por los fibroblastos. Las líneas de color verde oscuro (A) y verde claro (B) representan la fluorescencia emitida por el anticuerpo para cada subunidad de la integrina. $n = 9$ ensayos

A la par de cada evaluación, a manera de control positivo se verificó la expresión del complejo principal de histocompatibilidad tipo I (MHC I) con el anticuerpo W6/32. (Figura 15).



Figuras 15. Controles positivos del análisis por citometría de flujo. Detección del complejo principal de histocompatibilidad tipo I (MHC I) con el anticuerpo W6/32 en fibroblastos gingivales.

En las tablas 7 y 8 pueden observarse, de manera simplificada, los resultados obtenidos en la citometría. Es claro que entre las líneas celulares de fibroblastos gingivales evaluados, sanos y tratados con nifedipino, existen diferencias significativas en la expresión de integrinas $\alpha 2$ y $\beta 1$.

De un total de 4 ensayos que se realizaron de la línea celular Con002, el porcentaje de expresión de la subunidad $\alpha 2$ fue del 75%. Por otro lado, de un total de 8 ensayos que se realizaron, el porcentaje de expresión de la subunidad $\beta 1$ fue del 62.5%. (Tabla 7).

Tabla 7. PORCENTAJE DE EXPRESIÓN DE LAS SUBUNIDADES $\alpha 2$ y $\beta 1$ EN LÍNEA CELULAR Con002.			
$\alpha 2$		$\beta 1$	
+	-	+	-
3 (75%)	1 (25%)	5 (62.5%)	3 (37.5%)

Tabla 7. Síntesis de mediciones realizadas para la detección de integrinas en la superficie celular de los fibroblastos gingivales.

Las citometrías exhiben el siguiente patrón de expresión: + para presencia de la integrina, – para ausencia de la integrina.

De un total de 9 ensayos que se realizaron de la línea celular Nif001, el porcentaje de expresión de la subunidad $\alpha 2$ fue del 44.4%. Por otro lado, de un total de 9 ensayos que se realizaron, el porcentaje de expresión de la subunidad $\beta 1$ fue del 66.6%. (Tabla 8).

Tabla 8. PORCENTAJE DE EXPRESIÓN DE LAS SUBUNIDADES $\alpha 2$ y $\beta 1$ EN LÍNEA CELULAR Nif001.			
$\alpha 2$		$\beta 1$	
+	-	+	-
4 (44.4%)	5 (55.5%)	6 (66.6%)	3 (33.3%)

Tabla 8. Síntesis de mediciones realizadas para la detección de integrinas en la superficie celular de los fibroblastos gingivales.

Las citometrías exhiben el siguiente patrón de expresión: + para presencia de la integrina, – para ausencia de la integrina.

10.- DISCUSIÓN

Se sabe que tras retirar el tratamiento con nifedipino, el agrandamiento gingival cede y con ello, se considera que la condición de agrandamiento es reversible. (1) Los resultados aquí mostrados dependen de variables como el tiempo de administración del medicamento, las condiciones sistémicas del paciente, el tiempo con el padecimiento, los pasos celulares, las condiciones de cultivo, etc. De igual forma, es importante recalcar que el estudio fue realizado *in vitro*.

La detección de los receptores de integrinas para moléculas de la matriz extracelular sin condiciones patológicas, ha sido escasamente descrito. (43) Se ha reportado que el principal componente de la matriz extracelular en la encía es el colágeno tipo I (5), siendo el principal receptor para colágeno tipo I la integrina $\alpha 2\beta 1$. (39, 41, 43). Otros reportes indican que el reconocimiento de las moléculas de la matriz extracelular por las integrinas, implica el primer paso para la activación de las vías intra o extracelular del colágeno. (15-18) Además, se ha propuesto que, en fibroblastos gingivales normales, los niveles de expresión de la integrina $\alpha 2\beta 1$ son bajos, pero aun así se expresan. (43) En nuestra investigación se encontró que, en fibroblastos gingivales normales (Con002), la subunidades $\alpha 2$ y $\beta 1$ se expresan en un porcentaje del 75% y del 62.5%, respectivamente. Con lo cual se confirma que la integrina $\alpha 2\beta 1$ está presente en fibroblastos gingivales sanos, aún en porcentajes bajos.

En el presente estudio encontramos que la integrina $\alpha 2\beta 1$ en fibroblastos gingivales normales se expresa, sin embargo en el caso de los fibroblastos gingivales derivados de un paciente tratado con nifedipino la subunidad $\alpha 2$ disminuye su expresión y la subunidad $\beta 1$ conserva su expresión, esto sugiere que el agrandamiento gingival altera a la integrina que se une a colágena y por lo tanto, también altera la homeostasis de la síntesis y degradación del colágeno.

Existen pocos estudios relacionados con otras enfermedades periodontales, sin embargo, se ha reportado que en el agrandamiento gingival hereditario la expresión de la subunidad $\alpha 2$ aumenta. (39) La citometría de flujo realizada en estudios en pacientes con agrandamiento gingival hereditario, demostró una mayor fluorescencia en la expresión de la subunidad $\alpha 2$ en comparación con los controles; mientras que para la subunidad $\beta 1$ no hubo diferencia. Así mismo, se utilizó PCR para analizar la expresión de RNAm de la subunidad $\alpha 2$, el cuál demostró una mayor expresión en los fibroblastos derivados de pacientes con agrandamiento gingival hereditario que en los fibroblastos derivados de pacientes sanos. Al igual que en la citometría de flujo, en PCR no hubo diferencia para la subunidad $\beta 1$. (39)

De acuerdo a la reciente investigación, los niveles de la subunidad $\alpha 2$ se ven disminuidos en fibroblastos gingivales tratados con nifedipino; para la subunidad $\beta 1$, en ambos casos se encuentran sin cambios.

Correlacionando lo descrito por la literatura y los resultados obtenidos, se sugiere que el agrandamiento gingival hereditario se debe a una mayor síntesis y por ende a una acumulación excesiva de colágeno. En comparación con nifedipino, sucede lo contrario, existe una disminución en la degradación y fagocitosis del colágeno.

Se han realizado estudios en fibroblastos tratados con ciclosporina A, no así con nifedipino. (41) En estos estudios, realizados en ratas con dieta suplementada con ciclosporina A, por medio de citometría de flujo se encontró que los fibroblastos mostraron una disminución en la fagocitosis del colágeno. En FACScann se encontró que en estos fibroblastos inhiben específicamente la expresión de la subunidad $\alpha 2$. (41)

En la reciente investigación, se encontró que en fibroblastos gingivales de pacientes tratados con nifedipino, los niveles de la expresión de la subunidad $\alpha 2$ disminuyen. En ambos casos, tanto en fibroblastos gingivales de pacientes tratados con nifedipino como en fibroblastos gingivales de pacientes tratados con ciclosporina A y la expresión de la subunidad $\beta 1$ no se ve alterada, concordando así que, tanto en el tratamiento con ciclosporina A como con nifedipino, la

expresión de la subunidad $\alpha 2$ se ve disminuida y, por ende también, la degradación y fagocitosis del colágeno.

Por otro lado, se necesitan realizar ensayos con más líneas celulares, tanto de pacientes sanos como de pacientes tratados con nifedipino o con algún otro tratamiento farmacológico o con alguna otra patología periodontal para poder compararlos entre sí. De la misma manera, se necesita evaluar un mayor número de subunidades de integrinas y con ello contrastar las diferentes expresiones entre sí, ya que en encía no sólo existe colágeno, si no otros componentes de la matriz extracelular con los que las integrinas interactúan.

Al considerar que las cirugías de remoción de encía por agrandamiento gingival son rutinarias, es importante establecer vínculos entre la investigación básica y la clínica para que se done el tejido removido para el desarrollo de nuevas investigaciones.

11.- CONCLUSIONES

Existen diferencias en la expresión de integrinas en la superficie celular entre los fibroblastos gingivales normales y fibroblastos gingivales bajo tratamiento con nifedipino.

Los fibroblastos gingivales derivados de encía de un paciente con agrandamiento gingival inducido por nifedipino (Nif001) disminuyen la expresión de la subunidad $\alpha 2$.

El nifedipino, probablemente, inhibe la degradación y fagocitosis del colágeno, promoviendo así, el agrandamiento gingival.

12.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carranza FA, Newman MG, Takei HH. Periodontología clínica. 10a ed. México: McGraw-Hill; 2010. 1287 p.
2. Lindhe J, Lang NP, Karring T. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 5a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. 569 p.
3. Vargas Casillas AP, Yáñez Ocampo BR, Monteagudo Arrieta CA. Periodontología e Implantología. 1a ed. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana.; 2016. 426 p.
4. Wolf HF. Periodoncia. 3a ed. Barcelona, España: Masson; 2005. 532 p.
5. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 3a ed. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2009. 454 p.
6. Alberts B. Biología molecular de la célula. 5a ed. Barcelona, España: Omega; 2008. 1728 p.
7. Álvaro T, Noguera-Salvá R, Fariñas-Guerrero F. La matriz extracelular: de la mecánica molecular al microambiente tumoral (parte II). Rev Esp Patol. 2010;43(1):24-32.
8. Ross MH, Wojciech P. Histología : Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular. 6a ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2012. 974 p.
9. Karp G. Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos. 7a ed. México. D.F.: McGraw-Hill; 2014. 783 p.
10. Junqueira LC, Carneiro J. Histología Básica. Texto y Atlas. 6a ed. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2005. 640 p.
11. Ponce B. Histología básica: fundamentos de biología celular y del desarrollo humano. 1a ed. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2015. 408 p.
12. Gartner LP, Hiatt JL. Histología básica. Barcelona, España: Elsevier Saunders; 2011. 342 p.
13. Geneser F, Brüel A, Christensen EI, Trantum-Jensen J, Qvortrup K. Geneser histología. 4a ed. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2015. 768 p.
14. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J. Cell Biology. 2a ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2007 Apr. 928 p.
15. McKleroy W, Lee TH, Atabai K. Always cleave up your mess: targeting collagen degradation to treat tissue fibrosis. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2013;304(11):L709-21.
16. Daley WP, Peters SB, Larsen M. Extracellular matrix dynamics in development and regenerative medicine. J Cell Sci. 2008;121(Pt 3):255-64.
17. Dupuy AG, Caron E. Integrin-dependent phagocytosis: spreading from microadhesion to new concepts. J Cell Sci. 2008;121(Pt 11):1773-83.
18. Valdembri D, Sandri C, Santambrogio M, Serini G. Regulation of integrins by conformation and traffic: it takes two to tango. Mol Biosyst. 2011;7(9):2539-46.
19. Zúñiga Cerón LF, Freyre Bernal SI, Navia Amézquita CA, Saavedra Torres JS. Adhesión celular: el ensamblaje de la vía al cáncer. Morfolia. 2014;6(2):3-19.
20. Chandar N, Viselli S. Biología molecular y celular. México, D.F.: Lippincott Williams and Wilkins. Wolters Kluwer Health; 2012. 236 p.

21. Jiménez Marín AM. Caracterización molecular de las integrinas beta-1 (Cd29) y beta-3 (Cd61) porcinas . Obtención de anticuerpos contra dominios específicos de ambas moléculas [Doctoral]. España: Universidad de Córdoba; 2002.
22. Kierszenbaum AL, Tres LL. Histología y Biología Celular. Introducción a la anatomía patológica. 3a ed. Barcelona, España: Elsevier Saunders; 2012. 700 p.
23. Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D. Integrins. Cell Tissue Res. 2010;339(1):269 – 80.
24. The National University of Singapore MI. Integrin Activation: MB Info; 2000-2016 [Available from: <https://www.mechanobio.info/topics/mechanosignaling/integrin-activation/>].
25. Kinbara K, Goldfinger LE, Hansen M, Chou FL, Ginsberg MH. Ras GTPases: integrins' friends or foes? Nat Rev Mol Cell Biol. 2003;4(10):767-76.
26. Danen EHJ. An Overview of Structural and Functional Aspects. Austin (TX): Landes Bioscience: Madame Curie Bioscience Database [Internet]; 2000-2013 [Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6259/?report=classic>].
27. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology. 1999;4(1):7-19.
28. Livada R, Shiloah J. Calcium channel blocker-induced gingival enlargement. J Hum Hypertens. 2014;28(1):10-4.
29. Brunton L, Blumenthal D, Parker K, Buxton I. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 11a ed. México, D.F.: McGraw-Hill; 2007. 2017 p.
30. Rodríguez Carranza R. VAM. Vademécum Académico de Medicamentos. 6a ed. México, D.F.: McGraw-Hill; 2013. 742 p.
31. Rueda A, de Alba-Aguayo DR, Valdivia HH. Receptor de rianodina, fuga de calcio y arritmias. Arch Cardiol Mex. 2013;84(3):191-201.
32. Mariani G, Calastrini C, Carinci F, Marzola R, Calura G. Ultrastructural features of cyclosporine A-induced gingival hyperplasia. J Periodontol. 1993;64(11):1092-7.
33. Gasparini SR, Valsecia D, Mabel E. Hiperplasia gingival fibrosa inducida por fármacos en el NEA Universidad Nacional Del Nordeste. 2003(4):22-5.
34. CADIME. Hiperplasia gingival por medicamentos. El día a día en AP. 2007;33(5):273-5.
35. Brown RS, Arany PR. Mechanism of drug-induced gingival overgrowth revisited: a unifying hypothesis. Oral Dis. 2015;21(1):e51-61.
36. Matuck Auad R, de Souza Quirino MR. Crescimento gengival induzido pela ciclosporina. Rev biociênc. 2000;6(2):55-60.
37. Gawron K, Lazarz-Bartyzel K, Potempa J, Chomyszyn-Gajewska M. Gingival fibromatosis: clinical, molecular and therapeutic issues. Orphanet J Rare Dis. 2016;11:9.
38. Hynes RO. The emergence of integrins: a personal and historical perspective. Matrix Biol. 2004;23(6):333-40.
39. Zhou J, Meng LY, Ye XQ, Von den Hoff JW, Bian Z. Increased expression of integrin alpha2 and abnormal response to TGF-beta1 in hereditary gingival fibromatosis. Oral Dis. 2009;15(6):414-21.

40. Vieira-Junior JR, de Oliveira-Santos C, Della-Coletta R, Cristianismo-Costa D, Paranaiba LMR, Martelli-Junior H. Immunoexpression of α 2-integrin and Hsp47 in hereditary gingival fibromatosis and gingival fibromatosis-associated dental abnormalities. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18(1):e45-e8.
41. Kataoka M, Seto H, Wada C, Kido J, Nagata T. Decreased expression of alpha2 integrin in fibroblasts isolated from cyclosporin A- induced gingival overgrowth in rats. *J Periodontal Res*. 2003;38(5):533-7.
42. Lee W, Sodek J, McCulloch CAG. Role of integrins in regulation of collagen phagocytosis by human fibroblasts. *J Cellular Physiol*. 1996;168(3):695-704.
43. Palaiologou AA, Yukna RA, Moses R, Lallier TE. Gingival, dermal, and periodontal ligament fibroblasts express different extracellular matrix receptors. *J Periodontol* 2001;72(6):798-807.
44. ENSANUT (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición) México.2012 [Available from: <http://ensanut.insp.mx/>].
45. INCMNSZ. Unidad de citometría de flujo Ciudad de México, México: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Red de Apoyo a la Investigación (RAI); 2015 [Available from: <http://rai.unam.mx/pages/ucdf.html>].

