



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  
CICLOSPORINA A.

### **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

### **CIRUJANA DENTISTA**

P R E S E N T A:

LILIAN ARACELI GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

TUTOR: C.D. ARTURO SARACHO ALARCÓN

ASESORA: Dra. EILEEN URIBE QUEROL



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.

La tesis titulada “Expresión de la integrina  $\alpha 2\beta 1$  en el agrandamiento gingival inducido por Ciclosporina A” que presenta la alumna Lilian Araceli González Hernández, se realizó bajo la dirección del C.D. Arturo Saracho Alarcón 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.

*GRACIAS A DIOS, POR EL MILAGRO DE  
ESTA MARAVILLOSA VIDA.*

*A MIS PADRES POR GUIARME EN ELLA.*

*Y A LA MÁXIMA CASA DE ESTUDIOS POR  
LAS GRANDES OPORTUNIDADES QUE ME  
HA BRINDADO.*

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	6
1 PERIODONTO .....	6
1.1 APARATO DE INSERCIÓN: .....	6
1.1.1 Ligamento periodontal .....	6
1.1.2 Cemento .....	7
1.1.3 Proceso alveolar .....	8
2 ENCÍA .....	9
2.1.1 Definición .....	9
2.1.2 Anatomía .....	9
2.1.3 Características en salud .....	10
2.2 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS .....	11
2.3 TEJIDO CONECTIVO .....	11
2.3.1 MATRIZ EXTRACELULAR: .....	11
2.3.2 COLÁGENA .....	12
2.3.2.1 Síntesis y degradación de colágena .....	14
2.4 FIBROBLASTO: .....	16
2.4.1 Citoesqueleto .....	17
2.4.2 Actina .....	18
2.5 UNIÓN CÉLULA-MATRIZ EXTRACELULAR .....	18
2.6 INTEGRINAS .....	19
2.6.1 Definición y estructura .....	19
2.6.2 Funciones .....	20
2.6.3 Características .....	20
2.6.4 Activación .....	21

3 ENFERMEDADES GINGIVALES .....	24
3.1 Clasificación .....	24
3.2 AGRANDAMIENTO GINGIVAL .....	26
3.2.1 Definición .....	26
3.2.2 Clasificación .....	26
3.3 AGRANDAMIENTO GINGIVAL INDUCIDO POR FÁRMACOS .....	28
3.4 CICLOSPORINA A .....	29
3.4.1 Indicaciones .....	30
3.4.2 Farmacocinética .....	30
3.4.3 Mecanismo de acción .....	30
3.4.4 Efectos Adversos .....	31
3.5 TRATAMIENTO DEL AGRANDAMIENTO GINGIVAL .....	32
INTEGRINAS Y SU PAPEL EN EL AGRANDAMIENTO GINGIVAL .....	33
4 ANTECEDENTES .....	33
5 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	35
6 HIPÓTESIS .....	35
7 OBJETIVOS .....	36
7.1 OBJETIVO GENERAL .....	36
7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	36
8 MATERIALES Y MÉTODOS .....	37
8.1 Líneas celulares .....	37
8.2 Citometría de flujo o FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorting) .....	37
9 RESULTADOS .....	39

10 DISCUSIÓN .....	42
11 CONCLUSIONES .....	44
12 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45

## INTRODUCCIÓN

### 1 PERIODONTO

El periodonto es un conjunto de estructuras cuya finalidad principal es sostener los dientes en los maxilares. Está formado por el aparato de inserción y la encía. La encía es la encargada de proteger al aparato de inserción, este último, está conformado por el ligamento periodontal, el cemento y el hueso alveolar, y su función principal es ser el soporte del órgano dental (1, 2) (figura 1).

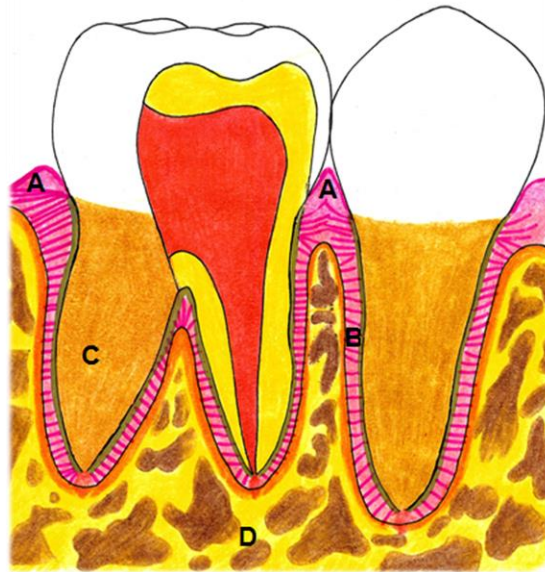


Figura1. El periodonto, integrado por: A) Encía B) Ligamento periodontal C) Cemento D) Proceso alveolar.

### 1.1 APARATO DE INSERCIÓN

#### 1.1.1 Ligamento periodontal

El ligamento periodontal es una estructura de tejido conectivo, muy vascularizado y con alto contenido celular, que rodea la raíz del órgano dental. Se une al cemento dental y al hueso alveolar. De esta manera mantiene fijo al órgano dental en su alveolo (1,2).

Se conecta al hueso por medio de haces de fibras. Estas fibras, llamadas principales, son de colágena, se ordenan en haces y siguen una trayectoria sinuosa. Se dividen en seis grupos: transeptal, de la cresta alveolar, horizontal, oblicuo, apical, Interradicular (1).



En el ligamento periodontal existen cuatro grupos de células: de tejido conectivo, de restos epiteliales, del sistema inmune y las relacionadas con elementos neurovasculares. Las células del tejido conectivo, remodelan a las fibras principales para que se adapten a las necesidades fisiológicas y además como respuesta ante diferentes estímulos (1).

El ligamento periodontal permite distribuir las fuerzas generadas en la masticación hacia la apófisis alveolar para que sean absorbidas por esta última. Además, tiene funciones de: protección, unión, mantenimiento, formación, remodelación, nutrición y sensorial (1, 2, 3).

### **1.1.2 Cemento**

El cemento es una estructura de tejido mesenquimatoso calcificado de color amarillento, avascular, y sin inervación que cubre la raíz del órgano dental. Se han descrito cuatro tipos de cemento dental: cemento acelular con fibras extrínsecas o cemento primario, cemento celular mixto estratificado, cemento celular con fibras intrínsecas o cemento secundario y cemento acelular afibrilar (1, 2, 3).

En el cemento se insertan las fibras del ligamento periodontal uniendo al órgano dental con el hueso alveolar. Además, participa en el proceso de reparación de la superficie radicular (2).

Los diferentes tipos de cemento son producidos por cementoblastos del ligamento periodontal presentes en la superficie del cemento (2).

El primer tipo de cemento en formarse es el acelular, cubre casi un tercio e incluso la mitad cervical de la raíz, y, como su nombre lo indica no contiene células. Se forma antes de que el órgano dentario alcance el plano oclusal y su grosor varía de entre 30 a 230 micrómetros. Su estructura está constituida mayormente por las fibras de Sharpey las cuales tienen como función principal, brindar soporte al órgano dentario (1).

El cemento celular se forma posteriormente de que el órgano dental ha alcanzado el plano oclusal, es más irregular que el cemento acelular y contiene cementocitos en espacios individuales llamados lagunas que se comunican entre sí por medio de canalículos. Este tipo de cemento está menos calcificado y las fibras de Sharpey solo ocupan una pequeña parte de su estructura (1).

### 1.1.3 Proceso alveolar

El proceso alveolar es la porción del maxilar y de la mandíbula que forma los alveolos dentarios, en los cuales se encuentran insertados los órganos dentales (1). Absorbe y distribuye las fuerzas generadas durante el contacto dentario (2). El hueso alveolar se desarrolla y se encuentra en remodelación, durante la formación y erupción del órgano dentario. Su morfología es determinada, por el tamaño, la forma, la ubicación y la función del órgano dental que aloje (1).

Está estructurado por (1, 2) (figura 2):

- Pared externa de hueso cortical.
- Pared interna del alveolo, que se conforma por hueso compacto llamado hueso alveolar.
- Trabéculas esponjosas, entre las dos capas, las cuales actúan como hueso alveolar de soporte.



Figura 2: El proceso alveolar está estructurado por A) Pared externa de hueso compacto. B) Pared interna del alveolo llamado hueso alveolar. C) Hueso trabeculado.

El hueso está formado por 2/3 de materia inorgánica y 1/3 de matriz orgánica. La fracción inorgánica está compuesta por iones y sales minerales. Los iones que están presentes son: calcio, fosfato, hidroxilo, carbonato, citrato y rastros de sodio, magnesio y flúor. Las sales minerales están en forma de cristales de hidroxiapatita y constituyen aproximadamente el 60% del peso de la materia inorgánica (1,2).

Por su parte la matriz orgánica se compone en su mayoría por colágena tipo I (90%) (1).

El hueso alveolar mantiene un equilibrio entre remodelación y renovación, a través de los osteoblastos los cuáles depositan tejido óseo, en contraparte con los osteoclastos los cuáles se encargan de la resorción del mismo. Se conoce que, conforme avanza la edad, el número de osteoblastos disminuye, pero no se ha encontrado alguna diferencia en la cantidad de osteoclastos (1).

La remodelación es la primordial vía de los cambios óseos en su forma, resistencia ante la fuerza, reconstrucción de heridas y también para la homeostasis del calcio y fósforo en el cuerpo (1).

## **2 ENCÍA**

### **2.1.1 Definición**

La cavidad oral se encuentra cubierta por mucosa oral. La mucosa oral se clasifica en:

- Mucosa masticatoria, que comprende encía y paladar duro.
- Mucosa especializada, la cual reviste la superficie dorsal de la lengua.
- Mucosa de revestimiento, que comprende, vestíbulo, carrillos, piso de boca, superficie ventral de la lengua y paladar blando.

Por lo tanto, la encía es mucosa masticatoria la cual brinda protección al resto de los tejidos periodontales y a los órganos dentales. Cubre el hueso alveolar y la raíz del órgano dental hasta la unión amelocementaria (1, 2, 3).

### **2.1.2 Anatomía**

La encía anatómicamente, se divide en: encía marginal, encía insertada y encía interdental (1, 2) (figura 3).

- Encía marginal: También llamada libre o no insertada, es la parte de la encía que rodea los cuellos dentales.
- Encía insertada: Continúa a la encía marginal, de consistencia firme, está sujeta al periostio de los maxilares. Se extiende desde la proyección externa del fondo del surco gingival, hasta la mucosa alveolar, de la cual es separada por la unión mucogingival. Por lingual, se limita hasta la

unión de la mucosa alveolar lingual, la cual es continuación de la mucosa bucal que tapiza el piso de la boca.

- Encía interdental: Ocupa el espacio debajo del área de contacto de los dientes (nicho gingival) y puede ser con forma de “col” (manifiesta una depresión en forma de valle que conecta a la papila vestibular con la lingual, adaptándose a la forma de contacto interproximal) o piramidal (la punta de la papila está directamente abajo del punto de contacto interproximal).

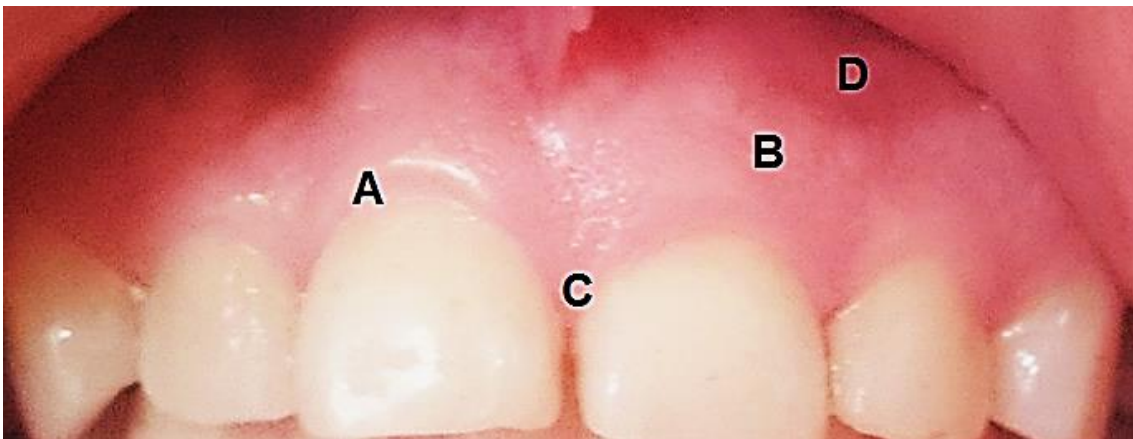


Figura 3. A) Encía libre o marginal. B) Encía insertada o adherida. C) Papila dental. D) Mucosa alveolar.

### 2.1.3 Características en salud

El color de la encía se ha descrito como un tono rosa “coral” que es producido por el abasto vascular, el grosor, grado de queratinización del epitelio y la presencia de melanocitos. El color también depende de la raza o del color de la piel. La mucosa alveolar es roja, uniforme y brillante (1,2).

La encía es de consistencia firme y resiliente y presenta en su superficie una textura parecida a la de una cáscara de naranja, la cual se conoce como graneada. Solo la encía insertada es graneada (1).

El tamaño de la encía varía dependiendo de la cantidad de elementos celulares y del abasto vascular (1).

El contorno y la forma de la encía van de acuerdo a la anatomía de los dientes y del contacto interproximal de estos. La posición de la encía es coronal a la unión cemento esmalte del órgano dental (1).

## **2.2 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS**

El tejido de la encía está conformado por (1, 4):

- 1) Epitelio escamoso estratificado, que contiene mayor cantidad de células que matriz extracelular.
- 2) Tejido conectivo, que se compone en mayor parte por fibras de colágena y sustancia fundamental.

## **2.3 TEJIDO CONECTIVO**

El tejido conectivo es el encargado de proporcionar soporte estructural a otros tejidos (5). Funciona también como medio de intercambio de los desechos metabólicos, nutrientes y oxígeno entre las células y la sangre. Además, ayuda a la defensa del organismo contra agentes patógenos por medio de las células de defensa que contiene (6, 7).

El tejido conectivo tiene dos secciones, una sección extracelular llamada matriz extracelular, y otra sección compuesta por diferentes tipos de células. La matriz extracelular se compone de diversos tipos de proteínas además de sustancia fundamental (4, 5, 6). Los elementos de la matriz extracelular son secretados por las células presentes en el tejido conjuntivo y esto determina las propiedades físicas del tejido (4, 7, 8). La sección celular se compone en su mayoría por fibroblastos que tienen una labor importante en el desarrollo, mantenimiento y reparación del tejido conectivo (4, 8).

### **2.3.1 MATRIZ EXTRACELULAR**

La matriz extracelular ocupa el espacio que se encuentra entre las células (4, 8). La matriz extracelular es muy abundante en el tejido conjuntivo, ya que se encuentra en mayor proporción que las células que contiene. (4)

Dependiendo de los diferentes tipos de macromoléculas que contenga la matriz extracelular y de su organización, genera una gran variedad de formas que se adapta a las demandas funcionales de cada tejido (4, 7, 8).

Las funciones de la matriz extracelular son: dar sostén mecánico y estructural a los tejidos y también participar activamente en la regulación del comportamiento de las células con las que está en contacto, involucrándose en su desarrollo, migración, proliferación, forma, función y apoptosis (4, 6, 7). Además, resistir las fuerzas de estiramiento y compresión a las que son sometidos los tejidos (6).

La matriz extracelular se compone de (4, 5, 6, 7):

- Proteoglucanos
- Glucosaminoglucanos: ácido hialurónico, condroitín sulfato, dermatán sulfato, heparán sulfato, heparina queratán sulfato.
- Proteínas fibrosas: colágena y elastina
- Glucoproteínas multiadhesivas: fibronectina, laminina, tenascina.

Las moléculas de proteoglucanos forman una “sustancia fundamental” en la cual se encuentran incluidas las proteínas fibrosas. La sustancia fundamental ocupa el espacio entre las fibras y las células, tiene función lubricante y presenta un alto contenido de agua (4, 5).

Las fibras de colágena refuerzan la matriz y ayudan en la organización de esta, mientras que las fibras de elastina le dan propiedades de elasticidad. Además, muchas proteínas en la matriz favorecen el anclaje de las células a la matriz extracelular (4).

### **2.3.2 COLÁGENA**

La colágena es una proteína fibrosa y es el componente que se encuentra en mayor cantidad en el tejido conectivo (8). Sus diferentes tipos conforman una familia de proteínas, las cuales son secretadas por las células del tejido conjuntivo, principalmente fibroblastos. Las proteínas de colágena, son las más abundantes en piel y huesos, constituyendo el 25% de la masa total de proteína en los animales mamíferos (4).

La colágena es la encargada de mantener la estructura y el tono del tejido (1). Además, brinda protección contra las fuerzas a las que es sometido el tejido (4). La colágena tiene una estructura helicoidal que se integra de 3 cadenas

polipeptídicas, conocidas como cadenas  $\alpha$ , que se enrollan sobre sí mismas (4, 8) (figura 4).

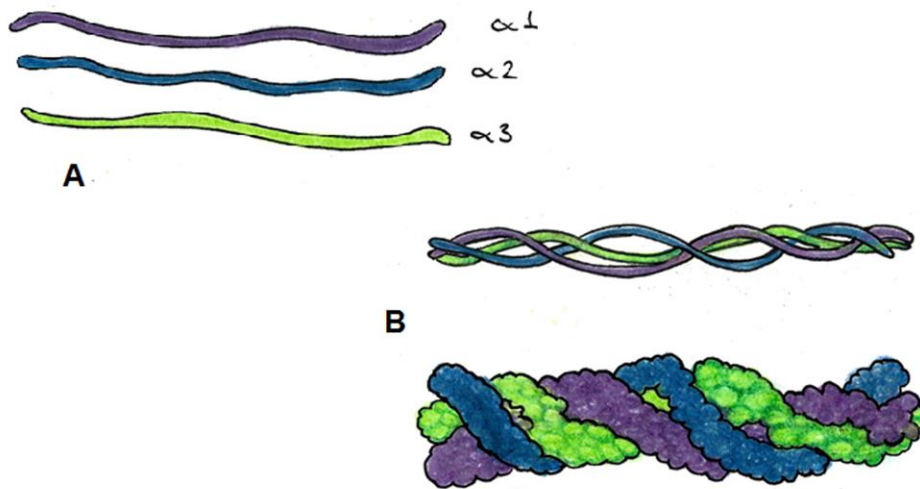


Figura 4. Estructura de la colágena. A) Cadenas  $\alpha$  compuestas por prolina, glicina e hidroxiprolina. B) Las tres cadenas  $\alpha$  se enrollan para formar la molécula de colágena.

Los aminoácidos que participan en la formación de la colágena son prolina, glicina, e hidroxiprolina. Los más importantes en la formación de la hélice trimérica son la prolina y la glicina. La prolina, por un lado, estabiliza la conformación helicoidal de cada una de las cadenas  $\alpha$ . Por otro lado, la glicina, que se encuentra por cada tres residuos de aminoácido a lo largo de la región central de las cadenas  $\alpha$  favorece el denso empaquetamiento de las tres cadenas  $\alpha$  (4).

Se conocen 25 cadenas  $\alpha$  distintas, pudiendo formar más de 10,000 tipos de moléculas de colágena, pero solo se han identificado poco más de 20 tipos de colágena (4, 5).

Los principales que se localizan en el tejido conjuntivo son los tipos I, II, III, V y XI, del cual, el tipo I es el principal en la piel y en los huesos (4).

Dependiendo de la estructura y de sus funciones, se puede clasificar en (tabla 1) (7):

**TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE LA COLÁGENA DE ACUERDO A SU ESTRUCTURA Y FUNCIONES**

<b>A) Colágenas que forman fibrillas.</b>	Pertencen a este grupo los tipos I II III V y XI de colágena.
<b>B) Colágenas asociadas a fibrillas</b>	Unen a las colágenas que forman fibrillas entre sí, y a otros componentes de la matriz extracelular. Se encuentran en esta clasificación los tipos IX y XII.
<b>C) Colágena formadora de redes.</b>	El tipo IV pertenece a este grupo y es de los principales componentes de las láminas basales.
<b>D) Colágena de anclaje.</b>	En este grupo se encuentra el tipo VII que forma fibrillas de fijación que unen a la dermis con la epidermis (6).

### **2.3.2.1 Síntesis y degradación de colágena.**

El proceso de la formación de la colágena inicia en el núcleo, mediante el proceso de traducción se crea el RNA mensajero, el cual pasa a los ribosomas del retículo endoplásmico. Después la colágena se sintetiza en el retículo endoplásmico de las células, siguiendo el proceso a continuación descrito (8) (figura 5):

- 1-. Se inicia con la formación de una cadena  $\alpha$  de prolina (8).
  - 2-. Después se hidroxilan los residuos de prolina y glicina, mediante esta hidroxilación se forman la hidroxiprolina y la hidroxilisina. (9)
  - 3-. Tres cadenas  $\alpha$  se acoplan entre sí, formando la triple hélice unida por medio de enlaces de hidrógeno intercatenarios, dando formación así al procolágena (8).
- A las moléculas de procolágena, en cada extremo de la triple hélice se les añade una extensión peptídica adicional, la cual impide que las fibrillas de colágena se polimericen dentro de la célula. Las moléculas se acumulan en el aparato de Golgi y posteriormente son transportadas en gránulos de secreción liberándose por medio de exocitosis hacia el espacio extracelular. Después de que es secretado al medio extracelular se separan de la molécula de procolágena las extensiones peptídicas terminales por medio de la enzima procolágena peptidasa, convirtiéndose así, la macromolécula en colágena. Las moléculas de



colágena, ahora ya en el medio extracelular, pueden polimerizarse a fibrillas con bandas transversales (9).

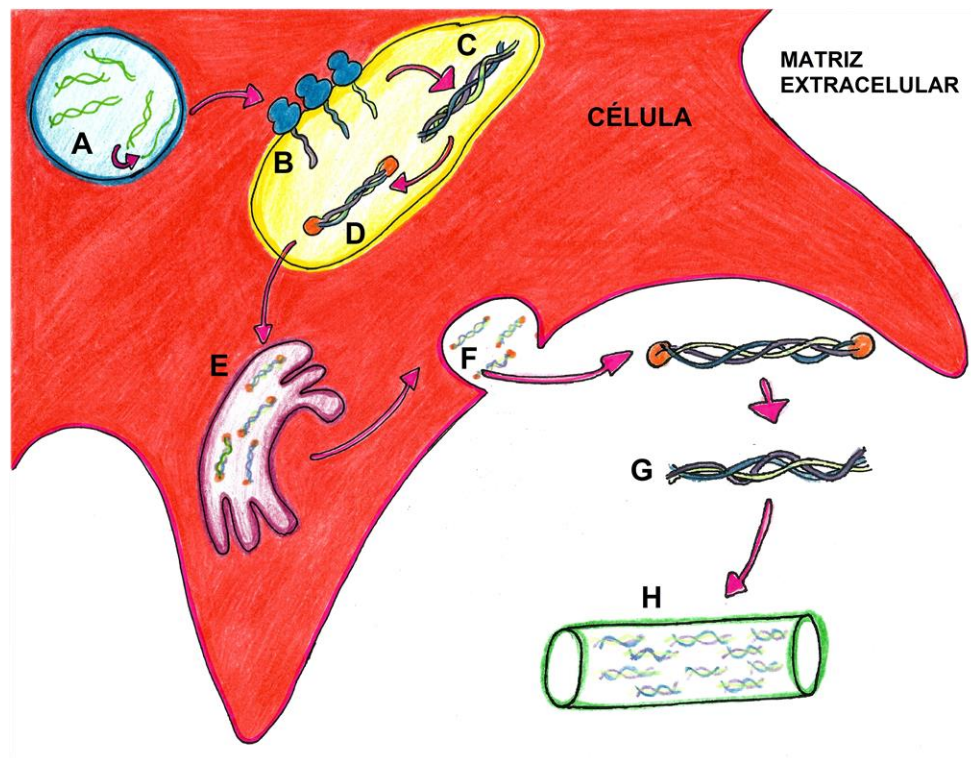


Figura 5. Proceso de síntesis de colágeno. A) Se produce el RNA mensajero. B) Se sintetizan las cadenas  $\alpha$  de colágeno. C) Las cadenas  $\alpha$  se enlazan. D) Se le agrega una extensión peptídica a la molécula de procolágeno. E) Las moléculas de procolágeno se acumulan en el aparato de Golgi. F) Liberación de las moléculas de procolágeno por medio de exocitosis. G) Las extensiones peptídicas se separan de la molécula de procolágeno y se forma la colágeno. H) Las moléculas de colágeno se unen a otras para formar fibrillas.

Los fibroblastos ayudan a la regulación del colágeno, al fagocitar las fibras de colágeno “antiguas”, mediante un proceso de degradación intracelular que se lleva a cabo por medio de hidrólisis enzimática (1, 10, 11, 12).

La vía de degradación de la colágeno no es aún muy clara. Se sabe que este proceso de degradación inicia con la fragmentación de la colágeno, y puede ser debido a desgaste mecánico, por acción de radicales libres o por medio de la acción de enzimas conocidas como metaloproteasas (que incluyen a las colagenasas y gelatinasas) (10). Al ser escindida la colágeno los fragmentos resultantes pierden la estructura de triple hélice. Estos fragmentos son reconocidos por receptores específicos que se encuentran en la superficie de la célula (por ejemplo integrinas). Posteriormente, estos fragmentos son internados

a la célula por medio de fagocitosis, endocitosis o macropinocitosis, para finalmente ser degradados en lisosomas por medio de cisteína proteasas (figura 6) (incluidas las catepsinas). (10, 11)

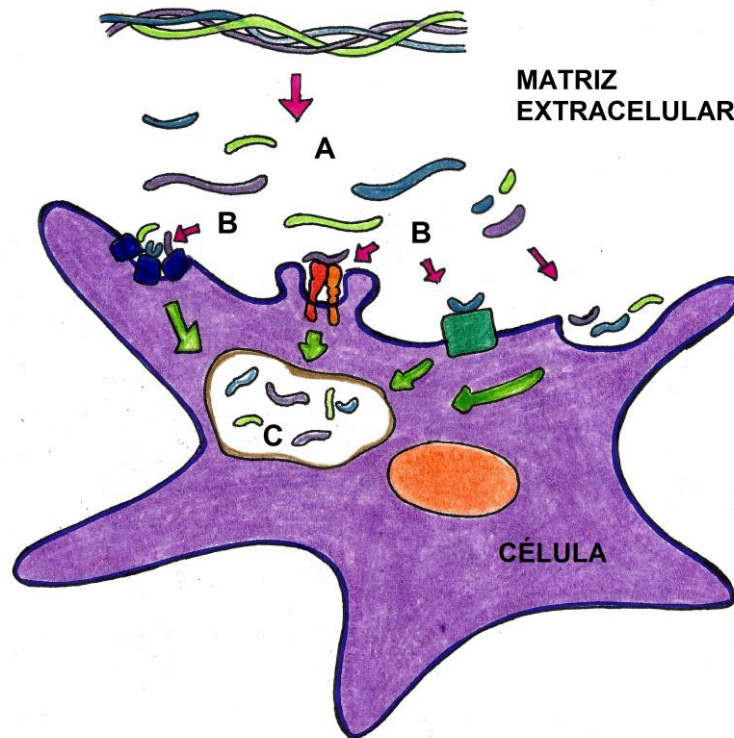


Figura 6. Proceso de degradación de colágeno. A) Fragmentación de colágeno. B) Internalización de la colágeno por medio de diferentes vías. C) Degradación de los fragmentos de colágeno en los lisosomas de la célula.

## 2.4 FIBROBLASTO

El fibroblasto es el tipo celular predominante en el tejido conjuntivo, se distingue por ser fusiforme (de forma alargada), tiene núcleo esférico en el centro y prolongaciones (13, 14, 15) (figura 7). Presenta un citoesqueleto desarrollado, formado por microtúbulos y microfilamentos de actina los cuales participan en los procesos de motilidad celular y en su comunicación con el medio extracelular (14,16).

Entre las funciones del fibroblasto se encuentran:

- 1) Sintetizar proteínas como colágeno y elastina, además de otros como glucosaminoglucanos, proteoglucanos y glucoproteínas de adhesión (10, 14, 15).

- 2) Producción de factores de crecimiento que controlan el crecimiento y diferenciación celulares. (13)
- 3) Producción y mantenimiento de la sustancia fundamental (14,15).
- 4) Fagocitosis de colágena y otros componentes de la matriz extracelular (10,14).
- 5) Producción de enzimas para la degradación de elementos de la matriz extracelular, esto con el fin de remodelar el tejido y mantener la homeostasis (14).

Hay dos tipos de fibroblasto en el periodonto, los fibroblastos del ligamento periodontal y los fibroblastos gingivales. Ambos secretan principalmente colágena tipo I (14).

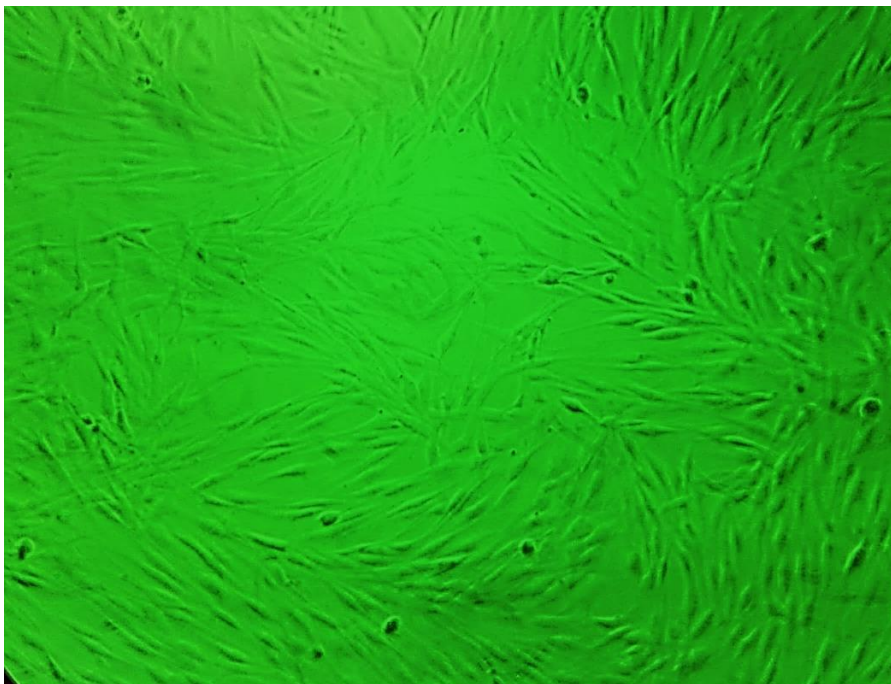


Figura 7. Cultivo de fibroblastos en medio suplementado (DMEM) y vistos a través de microscopio óptico.

#### **2.4.1 Citoesqueleto**

El citoesqueleto es un conjunto de proteínas que proporciona la configuración de la membrana plasmática y organiza la localización de las estructuras que se encuentran en el citoplasma (8).

Se compone de tres tipos de proteínas filamentosas (8):

- 1- Actina (microfilamentos). Tiene un papel estructural, y también se relaciona con movimientos de la célula.

- 2- Microtúbulos. Están involucrados en la organización de los organelos, transporte y división celular.
- 3- Filamentos intermedios. Proporcionan fuerza mecánica a la célula.

### **2.4.2 Actina**

Los filamentos de actina se forman a partir de la polimerización de subunidades globulares llamadas actina G, las cuales se organizan en una hélice de dos cadenas. Estos filamentos forman una capa que se encuentra justo por debajo de la membrana citoplasmática y se denomina “corteza celular”. Esta corteza celular es partícipe de varios procesos como endocitosis, exocitosis, y migración de las células (13).

La actina es producida por células musculares, y no musculares (por ejemplo, fibroblasto). En las células no musculares, la actina contribuye al facilitar el movimiento de los fibroblastos (8).

Existen diversas proteínas que se unen a la actina. Se pueden clasificar en cuatro grupos basándose en sus funciones y son (8):

- Proteínas de corte: Rompen filamentos de actina, en aparición de  $Ca^{2+}$ .
- Proteínas de unión: Que se unen y enrollan con la actina.
- Miosinas: Mueven filamentos de actina que se orientan en sentidos opuestos alineados entre sí (contracción).
- Proteínas de anclaje: Regulan la unión de los filamentos de actina a la membrana plasmática. Entre ellas encontramos a la fodrina, talina y vinculina.

### **2.5 UNIÓN CÉLULA-MATRIZ EXTRACELULAR**

Existen proteínas llamadas moléculas de adhesión celular (CAM) que se encuentran en la membrana de las células y por medio de las cuales la célula se une al medio que la contiene (unión célula-matriz) o a otra célula (unión célula-célula) (4,16). De esta manera las células se agrupan para formar diferentes tipos de tejido o para la transferencia de información entre células o entre célula y matriz extracelular (16).

Estructuralmente, las moléculas de adhesión celular tienen una región extracelular, una región transmembrana y una región intracelular (17).

Cada molécula en la región extracelular se une a un ligando específico, con lo cual se activan diversas señales en la célula que determinarán la función que realizará la célula (18).

Las moléculas de adhesión celular, se ven involucradas en procesos tan diversos como: embriogénesis, crecimiento, diferenciación, migración celular, apoptosis, respuesta inmune, hemostasia, inflamación, reparación tisular y metástasis, entre otras funciones (18, 19, 20).

Se conocen cuatro familias principales de CAM (4, 16):

- 1-. Cadherinas.
- 2-. Superfamilia de las inmunoglobulinas.
- 3-. Selectinas.
- 4-. Integrinas

## **2.6 INTEGRINAS**

### **2.6.1 Definición y estructura**

Las integrinas son llamadas así porque integran la matriz extracelular con el citoesqueleto de la célula (9). Las integrinas son proteínas transmembranales compuestas por dos subunidades glucoprotéicas ( $\alpha$  y  $\beta$ ) unidas entre sí de manera no covalente (4) (figura 8).

Las integrinas son los principales receptores para la mayoría de proteínas que se encuentran en la matriz extracelular. Uniendo así a la matriz extracelular con el citoesqueleto de la célula (4).

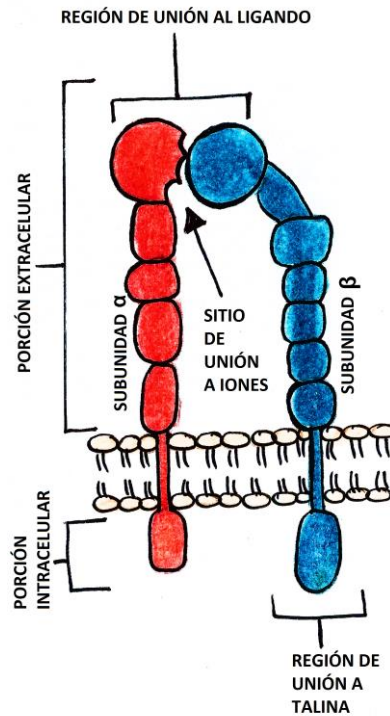


Figura 8. Estructura de las integrinas. Las integrinas se componen por dos subunidades glicoprotéicas. En el esquema se muestra la porción extracelular e intracelular de las integrinas, así como las regiones de unión a otros componentes

### 2.6.2 Funciones

Además de sus funciones de adherencia, las integrinas envían señales hacia las dos direcciones (célula <-> matriz) a través de la membrana (21). Activando diversas vías de señalización intracelular, dan información a la célula acerca de las características de la matriz extracelular a la que está unida (4). Estas vías de señalización conducen a la activación de procesos como: activación del ciclo celular, diferenciación celular, reorganización del citoesqueleto, regulación de la expresión de genes e inducción de apoptosis (4, 6).

### 2.6.3 Características

La colágena, el fibrinógeno, la fibronectina y otras proteínas, son ligandos extracelulares que pueden interactuar con las integrinas en su región extracelular (21). Mientras que, en su estructura citoplasmática, las integrinas pueden interactuar con proteínas del citoesqueleto como la talina,  $\alpha$ -actinina, vinculina y demás (21), uniéndose así de manera indirecta a los haces de actina (4)(figura 9).



Las integrinas forman parte esencial de la célula, pero necesitan ser activadas para poder unirse a sus ligandos (19).

La unión de las integrinas a su ligando, depende de cationes extracelulares, los cuales pueden ser  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{Mg}^{2+}$  (6, 8). Las integrinas presentan regiones de unión para estos cationes en sus regiones extracelulares. El tipo de catión influye en la afinidad y especificidad de la integrina a su ligando (4). Además estos cationes son necesarios para la conservación de la unión de la integrina a su ligando (6).

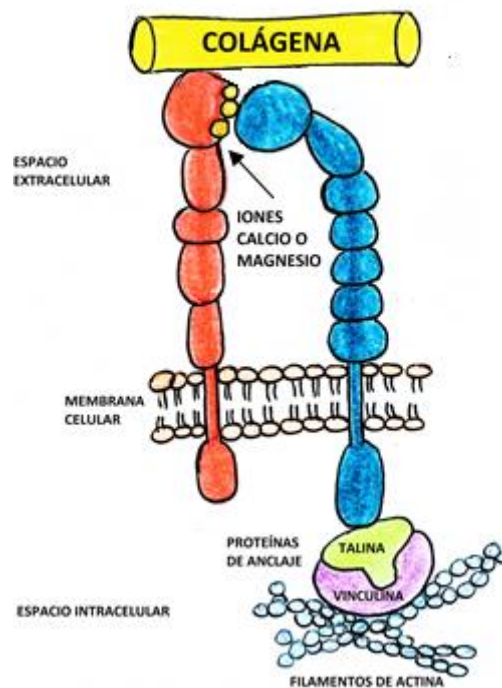


Figura 9. Unión de la integrina a su ligando y al citoesqueleto de la célula. En la región extracelular de las integrinas se unen a las moléculas de colágeno. Mientras en la región intracelular, la integrina se une por medio de la subunidad  $\beta$  al citoesqueleto de la célula a través de las proteínas de anclaje.

#### 2.6.4 Activación

Cuando las integrinas están inactivas, su región extracelular se encuentra plegado (doblado), mientras, sus estructuras intracelulares de sus cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  se mantienen juntas y adheridas entre sí. Cuando la integrina es activada, el dominio extracelular se despliega (endereza) y el contacto entre las porciones intracelulares de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  se rompe y las cadenas se separan (4, 16).

Existen dos mecanismos mediante los cuales las integrinas se activan (16).

En la “activación de fuera hacia adentro” cuando la integrina se adhiere a su ligando la integrina se “endereza”, las regiones intracelulares de las cadenas se

separan y la célula reacciona uniendo su citoesqueleto a la molécula de integrina (16, 21). La parte interna de la cadena  $\beta$  se une a la proteína talina y esta, se une a su vez a la vinculina, la cual se fija a los filamentos de actina del citoesqueleto con lo cual se refuerza el anclaje de la célula a su ligando (9) (figura 10).

Mientras la talina se encuentra unida a la porción intracelular de la cadena  $\beta$ , se impide la unión de esta con la porción intracelular de la cadena  $\alpha$ . Este suceso supone que la porción extracelular de la integrina se encuentre en su forma extendida (activa) (4).

Durante el proceso de “activación de adentro hacia afuera” los ligandos dentro de la célula (talina, vinculina) se unen a la región intracelular de la integrina lo que causa cambios conformacionales en las porciones extracelulares de las integrinas, haciendo que las integrinas se activen y se unan a alguna estructura de la matriz extracelular a la que sea afines (16) (figura 10).

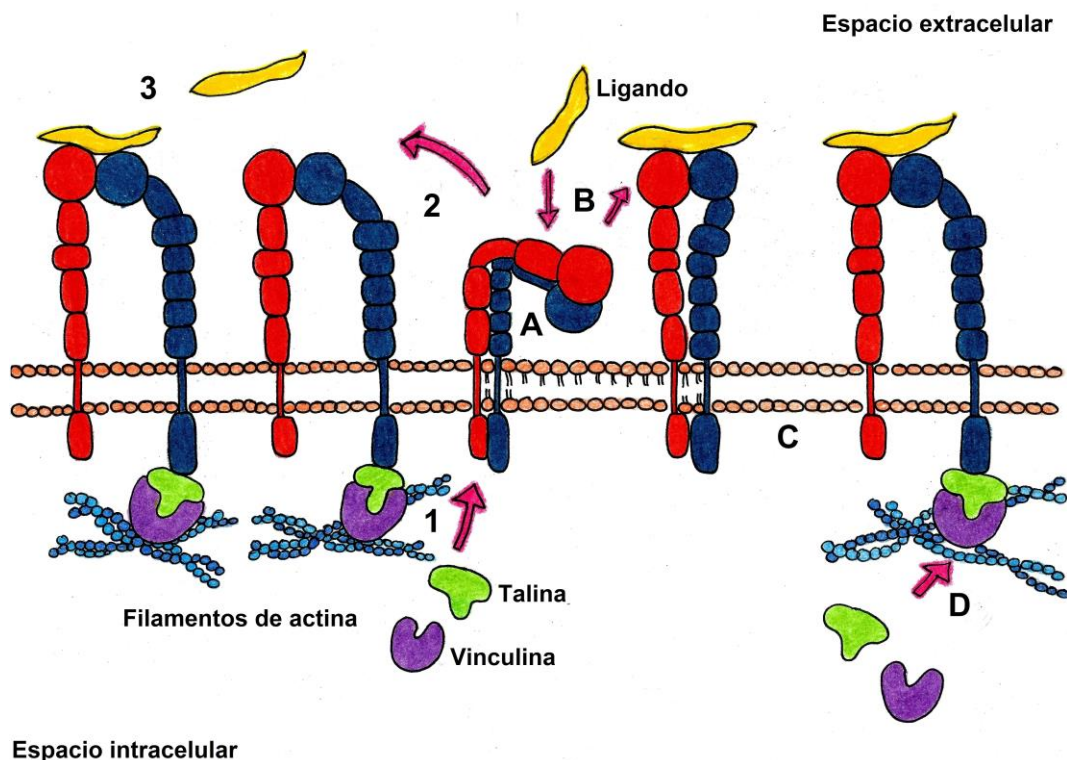


Figura 10. Vías de activación de la integrina. A) Integrina en su estado inactivo (plegado). En la “activación de afuera hacia adentro” B) El ligando se une a la integrina haciendo que esta pase a su estado activo. C) Las porciones intracelulares de la integrina se separan. D) Se refuerza la unión al unirse la integrina a los filamentos de actina por medio de las proteínas talina y vinculina. En la “activación de adentro hacia afuera”: 1) Las proteínas de anclaje talina y vinculina se unen a la subunidad B de la integrina. 2) La unión produce que la integrina pase a su estado activo. 3) El ligando se une a la integrina.



Se conocen ocho subunidades  $\beta$  y 18 subunidades  $\alpha$ , con las cuales se pueden formar distintos heterodímeros de integrinas (19, 22, 23).

El tipo de combinaciones que se formen con las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , determinará su afinidad a cierto ligando en la matriz extracelular (18, 24), como se puede ver en la tabla 2.

<b>TABLA 2. Integrinas y sus principales ligandos (16, 18, 36, 45).</b>	
<b>INTEGRINA</b>	<b>LIGANDO</b>
$\alpha 1\beta 1$	Colágena, laminina
$\alpha 2\beta 1$	Colágena, laminina
$\alpha 3\beta 1$	Colágena, laminina, fibronectina
$\alpha 4\beta 1$	Fibronectina
$\alpha 5\beta 1$	Fibronectina
$\alpha 6\beta 1$	Laminina
$\alpha 7\beta 1$	Laminina
$\alpha 8\beta 1$	Fibronectina, tenascina C, vitronectina
$\alpha 9\beta 1$	Tenascina C
$\alpha 10\beta 1$	Colágena
$\alpha 11\beta 1$	Colágena
$\alpha V\beta 1$	Fibronectina, vitronectina (RGD)
$\alpha 1\beta 2$	ICAM -1 -2 -3
$\alpha L\beta 2$	ICAM -1 -2 -3 -5
$\alpha M\beta 2$	ICAM -1, iC3b, fibrinógeno
$\alpha IIb\beta 3$	Fibrinógeno, fibronectina, vitronectina
$\alpha V\beta 3$	Vitronectina, fibrinógeno, fibronectina (RGD), tenascina C, osteoponina
$\alpha V\beta 5$	Vitronectina (RGD)
$\alpha 4\beta 7$	MadCAM-1, fibronectina, VCAM-1
$\alpha E\beta 7$	E-caderina

Se ha encontrado que las subunidades  $\beta 1$ , forman heterodímeros con las subunidades  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  o  $\alpha 3$ , cuyo ligando puede ser la colágena de la matriz extracelular (18).

Las integrinas más representativas son las que pertenecen a las subfamilias  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  y  $\beta 3$ . Las integrinas de la subfamilia  $\beta 1$  ayudan a la organización del tejido, a través de la unión de diversos tipos de células a elementos de la matriz extracelular como colágeno y laminina. Las integrinas de la subfamilia  $\beta 2$  facilitan a los leucocitos su unión al endotelio. Y la subfamilia  $\beta 3$  está relacionada con la agregación plaquetaria y la trombosis (4, 19, 20).

### 3 ENFERMEDADES GINGIVALES

Las enfermedades gingivales específicamente, constituyen un grupo variado de padecimientos de diversa etiología, las cuales afectan solamente a la encía. (25).

#### 3.1 Clasificación

Según el Simposio Internacional para la Clasificación de las Enfermedades y Condiciones Periodontales (1999) promovido por la Academia Americana de Periodontología, las enfermedades gingivales (de la encía) se clasifican de la siguiente manera (tablas 3 y4) (25, 26, 27):

**TABLA 3. ENFERMEDADES GINGIVALES  
INDUCIDAS POR PLACA BACTERIANA**

**- Sin otros factores locales asociados**

**- Con otros factores locales asociados:**

- Factores anatómicos
- Obturaciones desbordantes
- Fracturas radiculares
- Reabsorciones cervicales y perlas del esmalte

**- Modificadas por factores sistémicos.**

Asociadas al sistema endócrino:

- Gingivitis asociada a la pubertad
- Gingivitis asociada al ciclo menstrual
- Asociada al embarazo
- Asociada a Diabetes Mellitus

Asociadas a discrasias sanguíneas:

- Gingivitis asociada a leucemia
- Otras

**- Modificadas por medicamentos.**

Inducidas por drogas:

- Agrandamiento gingival inducido por fármacos
- Gingivitis inducidas por drogas:
  - Gingivitis asociadas a contraceptivos orales
  - Otras

**- Modificadas por malnutrición.**

- Déficit de ácido ascórbico
- Otras

**TABLA 4. ENFERMEDADES GINGIVALES  
NO INDUCIDAS POR PLACA BACTERIANA**

**- Enfermedades gingivales de origen bacteriano específico.**

- Lesiones asociadas a *Neisseria gonorrhoea*
- Lesiones asociadas a *Treponema pallidum*
- Lesiones asociadas a estreptococos
- Otras

**- Enfermedades Gingivales de origen viral.**

**Infecciones por herpesvirus:**

- Gingivoestomatitis herpética primaria
- Herpes oral recidivante
- Infecciones por varicela-zóster
- Otras

**- Enfermedades gingivales de origen fúngico.**

- Infecciones por *Cándida*
- Eritema Gingival Lineal
- Histoplasmosis
- Otras

**- Lesiones gingivales de origen genético.**

- Fibromatosis gingival hereditaria
- Otras

**- Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas.**

- Reacciones alérgicas atribuibles a materiales dentales: HG, NI, acrílico.
- Desórdenes mucocutáneos

**- Lesiones traumáticas (autolesiones, yatrógenas, accidentales).**

**- Reacciones a cuerpos extraños.**

**- Otras.**

## **3.2 AGRANDAMIENTO GINGIVAL**

### **3.2.1 Definición**

Es una patología en la cual el tamaño normal de la encía se ve afectado, resultando en el aumento de esta. Siendo característica común en la enfermedad gingival (25, 28).

La denominación correcta para esta dolencia es agrandamiento gingival o crecimiento gingival excesivo, dejando atrás los conceptos de “gingivitis hipertrófica” o “hiperplasia gingival” (1, 24).

### **3.2.2 Clasificación**

Se clasifica de la siguiente manera (tablas 5, 6 y 7) (1):

**TABLA 5. De acuerdo con los factores etiológicos y los cambios fisiológicos.**

**I- Agrandamiento inflamatorio:**

- A. Crónico
- B. Agudo

**II- Agrandamiento inducido por fármacos**

**III- Agrandamientos relacionados con enfermedades o padecimientos sistémicos.**

A. Agrandamiento condicionado:

1. Embarazo
2. Pubertad
3. Deficiencia de vitamina C
4. Gingivitis de células plasmáticas
5. Agrandamiento condicionado no específico (granuloma piógeno).

**B. Enfermedades sistémicas que provocan agrandamiento gingival.**

1. Leucemia
2. Enfermedades granulomatosas (p. ej. Granulomatosis de Wegner, sarcoidosis).

**IV- Agrandamiento neoplásico (tumores gingivales).**

- A. Tumores benignos.
- B. Tumores malignos.

**V- Agrandamiento falso.**

**TABLA 6. De acuerdo a los criterios de ubicación y distribución:**

**Localizado:** limitado a la encía adyacente a un solo diente o a un grupo de dientes.

**Generalizado:** afecta la encía en toda la boca.

**Marginal:** se confina a la encía marginal.

**Papilar:** se confina a la papila interdental.

**Difuso:** afecta la encía marginal e insertada y las papilas.

**Discreto:** un agrandamiento aislado sésil o pedunculado tipo tumor.

**TABLA 7. El grado de agrandamiento gingival se valora de la siguiente manera:**

**Grado 0:** no hay signos de agrandamiento gingival.

**Grado I:** el agrandamiento se confina a las papilas interdentales.

**Grado II:** el agrandamiento afecta las papilas y la encía marginal.

**Grado III:** el agrandamiento cubre tres cuartas partes o más de la corona.

### **3.3 AGRANDAMIENTO GINGIVAL INDUCIDO POR FÁRMACOS**

Es conocido que la administración de algunos medicamentos tiene como reacción secundaria el inducir agrandamiento gingival (1).

El aumento gingival influenciado por medicamentos clínicamente se presenta como un aumento de volumen indoloro y con aspecto de “mora” o lobulado (28, 29). Se puede observar principalmente en las papilas interdetales y en la encía libre, siendo el sector anterior el más afectado (figuras 11, 12 y 13) (30, 31). En los casos más graves, el tejido gingival puede, incluso cubrir los dientes, representando un grave problema para el paciente, ya que puede intervenir en funciones como la fonación, masticación, oclusión (32) y por su puesto afecta a nivel estético, perjudicando las relaciones sociales del individuo (33). Dificulta de igual manera la higiene bucal, haciendo que el problema sea más grave pudiendo conducir a presentar gingivitis y que esto exacerbe el volumen gingival, o en casos peores, puede conllevar a presentar periodontitis, infecciones o caries, lo cual puede repercutir en la salud sistémica del paciente (30, 34, 35, 36).

Al parecer no afecta la encía en regiones desdentadas, sin embargo, se han reportado casos excepcionales en los que el agrandamiento es general, incluyendo zonas desdentadas (1, 29, 30).

El agrandamiento gingival se presenta con más frecuencia en pacientes jóvenes (25, 33, 35).

Se reporta que no todos los pacientes que toman medicamentos relacionados con agrandamiento gingival presentan la enfermedad (33).



Figuras 11, 12 y 13. Fotografías clínicas de pacientes que padecen agrandamiento gingival causado por fármacos.

Existen tres tipos de fármacos que pueden conseguir desarrollar agrandamiento gingival los cuales son (1, 29, 32, 33, 36):

- Bloqueadores de los canales de calcio, representado principalmente por Nifedipino e indicado en pacientes con enfermedades cardiovasculares.
- Anticonvulsivantes, del cual Fenitoína es el principal medicamento, recetado para pacientes con epilepsia.
- Inmunosupresores, siendo la Ciclosporina A, el medicamento más usado, indicado principalmente en pacientes que han recibido algún trasplante de órgano.

### 3.4 CICLOSPORINA A

La Ciclosporina A (CsA) es un medicamento extraído del hongo *Tolypocladium inflantum gams* (30), de naturaleza peptídica y estructura anular formada por 11 aminoácidos (37), que pertenece al grupo de los fármacos inmunosupresores, ya que atenúa la respuesta del sistema inmunológico actuando selectivamente a nivel de los Linfocitos T, inhibiendo la acción de la calcineurina, enzima necesaria para la activación de la replicación de los linfocitos T (38).

### **3.4.1 Indicaciones**

El uso de medicamentos inmunosupresores como la Ciclosporina A está indicado principalmente para prevenir el rechazo a trasplantes. También es utilizado en otros padecimientos no autoinmunes como alergias, de carácter autoinmune tales como artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, liquen plano (30) uveítis, asma (39).

### **3.4.2 Farmacocinética**

Su administración puede ser vía oral o intravenosa. Por vía oral su absorción es lenta y su biodisponibilidad va de 20 a 50%. La administración concomitante con alimentos retrasa y disminuye su absorción. Esto depende también del paciente individualmente y de la presentación. Se absorbe en el intestino, alcanzando la concentración plasmática máxima a las 3-4 horas. Se distribuye extensamente. Es metabolizada principalmente en el hígado por el complejo enzimático P450 (cytochrome P450, CYP) 3A. Se han reconocido por lo menos 25 metabolitos en bilis, heces, sangre y orina de seres humanos. Se elimina principalmente por medio de la bilis, y 6% se elimina por la orina. Solo el 0.1% del fármaco se elimina sin cambios por medio de la orina (28, 40).

### **3.4.3 Mecanismo de acción**

La Ciclosporina A primero se une a un receptor intracelular denominado inmunofilina (ciclofilina). Este complejo a su vez se une a la calcineurina (enzima dependiente de calcio) inhibiendo así su actividad de fosfatasa.

Debido a esto, no se produce la desfosforilación del factor nuclear de activación de células T (NFAT), lo cual imposibilita su transporte al núcleo. Como resultado no se produce la activación de los linfocitos T, ni la síntesis de citosinas entre las cuales está incluida la Interleucina 2 (IL-2), la cual es un factor de proliferación. (38, 40, 41) (figura 11).



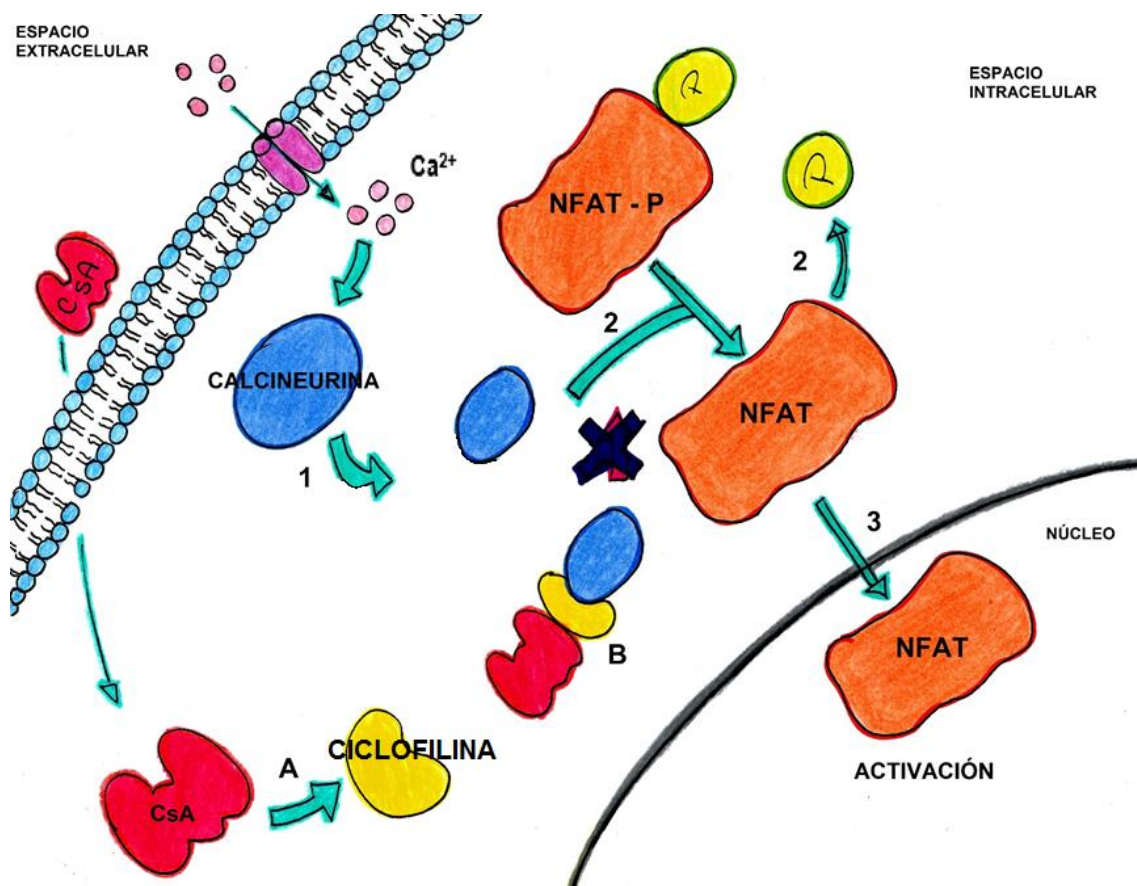


Figura 11. Mecanismo de acción de la Ciclosporina A. En el mecanismo normal, 1) El aumento de calcio citoplasmático activa a la calcineurina. 2) La calcineurina produce la desfosforilación del NFAT. 3) El NFAT desfosforizado entra al núcleo para la activación de Linfocitos T. Cuando la ciclosporina entra a la célula, A) Se une a la ciclofilina. B) El complejo ciclofilina-CsA se une a la calcineurina impidiendo la desfosforilación del NFAT con lo cual no hay activación de linfocitos T.

### 3.4.4 Efectos adversos

Entre los efectos adversos se puede incluir: hipertensión, hiperglucemia, insuficiencia hepática, nefrotoxicidad, alteración del estado psíquico, hirsutismo, convulsiones, efectos tóxicos en la médula ósea. En las personas que han recibido algún trasplante de órgano y que además han sido tratadas con este medicamento, se ha reportado mayor incidencia de linfoma y otros tipos de cáncer como sarcoma de Kaposi o cáncer de piel, por ejemplo (39).

A nivel bucal, se ha reportado agrandamiento gingival como efecto colateral (30, 35, 36), el cual suele mostrar inflamación secundaria. Los factores que al parecer actúan en el desarrollo del crecimiento gingival son dosis, nivel sérico del

medicamento, además de los microorganismos presentes en la placa dentobacteriana (30).

### **3.5 TRATAMIENTO DEL AGRANDAMIENTO GINGIVAL**

Actualmente, el único tratamiento definitivo, para remediar el agrandamiento gingival en los pacientes que están medicados con Ciclosporina A, es la cirugía (gingivectomía/gingivoplastia) pero, después de cierto tiempo, el agrandamiento se manifiesta de nuevo, teniendo que recurrir a la cirugía una vez más, lo que le causa al paciente incomodidad (cirugía y periodo de cicatrización) y mayor gasto económico (34).

Se ha sugerido realizar planes preventivos como lo son buena higiene oral, visitas recurrentes al odontólogo para monitorizar el nivel de salud bucal, raspados y alisados (en caso de ser necesarios), para así conseguir disminuir el grado de inflamación (28, 29, 31, 32, 33, 35, 36). Aunque a pesar de esto, el crecimiento no revierta totalmente.

Después de tiempo de haber sido concluido el tratamiento con CsA el volumen de la encía regresa a su estado normal (33).

Hoy en día las investigaciones van encaminadas a encontrar un fármaco que ayude a controlar o combatir este problema de salud en los pacientes.

## INTEGRINAS Y SU PAPEL EN EL AGRANDAMIENTO GINGIVAL

### 4 ANTECEDENTES

El agrandamiento gingival como efecto adverso, causado por el medicamento Ciclosporina A, ha sido reportada por varios autores en todo el mundo (28, 29, 30, 31, 33).

Han sido varias las investigaciones que se han hecho tratando de encontrar el mecanismo por el cual la CsA induce agrandamiento gingival en algunos de los pacientes que la consumen (24, 42, 43, 44, 45, 46). A pesar de esto, el mecanismo por el cual este padecimiento ocurre, aún es ciertamente desconocido.

La ciclosporina fue aislada del hongo *Tolypocladium inflatum gams*, en 1970 en Suiza, por Boel y Sandoz, durante la búsqueda de agentes contra los microorganismos fúngicos. Durante su administración se descubrió su poder como agente inmunosupresor, por lo que comenzó a utilizarse como medicamento para prevenir el rechazo a trasplantes en pacientes con este historial. (41)

Debido a esto, en la década de los años 80, con el aumento del número de pacientes que recibían un trasplante de órgano, y su manejo con CsA, se comenzaron a observar los efectos adversos. (31)

El agrandamiento gingival causado por Ciclosporina se reportó por primera vez en la literatura en 1983 por Rateitschak-Plüs et al. (31). Sin embargo, el primer caso de agrandamiento gingival causado por un fármaco, el cual era Fenitoína, fue reportado en el año de 1939 (28, 33).

A través de investigaciones posteriores, se ha propuesto que el agrandamiento gingival tiene relación con factores como: dosis, los niveles séricos de CsA, la higiene bucal, presencia de placa dentobacteriana, cálculo, factores irritantes, e inflamación gingival (31, 43, 44).

La idea de que el agrandamiento gingival es producido por un aumento en la cantidad de fibroblastos en el tejido conectivo fue refutada por varios científicos, que por medio de sus investigaciones plantearon que en el agrandamiento gingival aumenta la cantidad de elementos en la matriz extracelular, sobre todo

colágena, no la cantidad de fibroblastos. Debido a esto, el término “hiperplasia gingival” se considera incorrecto. (31, 35, 42).

Tras estos descubrimientos se planteó la hipótesis de que los fibroblastos aumentaban la producción de colágena, a la par que disminuye su degradación (28). Sin embargo, autores como Kataoka M et al. han reportado que la producción de colágena no se ve afectada en el agrandamiento gingival (42).

Los estudios más recientes sugieren que en el desequilibrio sobre la regulación de la colágena, el problema radica en la disminución de la fagocitosis de colágena por parte de los fibroblastos, además de que hay una disminución en la producción de colagenasa (12, 24, 42, 43). Estos factores tienen como consecuencia el acúmulo de colágena en la matriz extracelular.

Aunque el proceso de degradación de colágena no es aún muy claro, se sabe que está mediado por receptores en la superficie celular, principalmente por integrinas (11).

La integrina  $\alpha 2\beta 1$  es un receptor específico para la colágena tipo I (11, 18, 22, 24, 42). Esta integrina participa en el proceso de fagocitosis de la colágena por parte de los fibroblastos ya que permite la internalización de la colágena. Lee y cols. (12) describieron que el paso inicial para la fagocitosis de la colágena por parte del fibroblasto es la unión de la colágena con la integrina. En las investigaciones que se han realizado sobre este tema, se ha reportado que, si hay menor cantidad expresión de la subunidad  $\alpha 2$  de las integrinas, la fagocitosis en los fibroblastos es reducida (12, 24, 42). Concluyendo que, si no hay unión entre la integrina y la colágena, no hay internalización de colágena en el fibroblasto para su degradación.

Con base en estos resultados se plantea la hipótesis de que en el agrandamiento gingival inducido por Ciclosporina A existe una disminución en la expresión de la integrina  $\alpha 2\beta 1$  en los fibroblastos de los pacientes medicados con este fármaco.

## **5 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La ciclosporina A es administrada como fármaco principal para evitar el rechazo a trasplantes de órganos. Entre los años 2007 y 2014 se realizaron 41,906 trasplantes de órganos en México (47). Aproximadamente el 25 a 84% de los pacientes tratados con Ciclosporina A presentan agrandamiento gingival (33), con lo que se calcula que aproximadamente 22,629 pacientes en México, presentan el problema de agrandamiento gingival, afectando su calidad de vida. Si le sumamos a esto la cantidad de pacientes que están con este régimen de tratamiento por otras enfermedades, como las autoinmunes, cuyas cifras no están registradas, la cantidad de pacientes que padecería agrandamiento gingival aumenta considerablemente.

El agrandamiento gingival a pesar de ser relativamente frecuente, aún no está muy bien entendido a nivel celular y molecular. Por lo que, en este trabajo se tratará de investigar si la recaptura de colágena está afectada en el agrandamiento gingival inducido por Ciclosporina A.

## **6 HIPÓTESIS**

Los fibroblastos derivados de la encía de pacientes con agrandamiento gingival inducido por Ciclosporina A, expresan menor cantidad de integrinas  $\alpha 2\beta 1$ , que los fibroblastos derivados de encía de individuos sanos.

## **7 OBJETIVOS**

### **7.1 OBJETIVO GENERAL**

Medir la expresión de la integrina  $\alpha 2\beta 1$  en fibroblastos derivados de un paciente medicado con Ciclosporina A y de un individuo sano.

### **7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Evaluar la expresión de las subunidades  $\alpha 2$  y  $\beta 1$  de integrinas, en fibroblastos gingivales derivados de la encía de un individuo sano por citometría de flujo.
- 2) Evaluar la expresión de las subunidades  $\alpha 2$  y  $\beta 1$  de integrinas, en fibroblastos gingivales derivados de la encía de un paciente con agrandamiento gingival inducido por CsA por citometría de flujo.

## **8 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **8.1 Líneas celulares**

Las líneas celulares utilizadas en este trabajo fueron proporcionadas por la Doctora Eileen Uribe Querol del posgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las líneas celulares provienen de cultivos primarios de fibroblastos aislados de un paciente bajo tratamiento de Ciclosporina A (CsA), y de un paciente periodontalmente sano (Con).

Los cultivos celulares fueron mantenidos en medio de cultivo DMEM (Dubecco's Modified Eagle Medium, Gibco, Grand Island, NY) suplementado con 10% de suero fetal bovino, 20 mM L-Glutamina, 50,000 U de penicilina, 50,000 U de estreptomina y 125 µg de anfotericina B, a temperatura de 37°C, en una atmósfera húmeda con 5% de CO<sub>2</sub>.

Los estudios fueron realizados cuando las líneas celulares se encontraban entre los pases 6 y 12 de los cultivos.

Se utilizó el anticuerpo monoclonal (mAb) P1D6 contra la subunidad de integrina α2, mAb E11 contra subunidad β1 de integrina y el anticuerpo monoclonal (mAb) 15/7 contra la subunidad β1 activada.

### **8.2 Citometría de flujo o FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorting)**

La citometría de flujo es una técnica que permite analizar las características físicas y químicas de poblaciones celulares. Características tales como tamaño, forma, componentes celulares, o funciones que se puedan marcar con un fluorocromo. Las células, las cuales se encuentran en una solución isotónica, pasan a través de un pequeño orificio y forman una fila. De esta forma una a una las células van pasando por un haz de luz. Mediante esto se producen 2 tipos de información: la información generada por la dispersión de la luz y la información generada por la emisión de luz que producen los fluorocromos presentes en la célula. Estas señales luminosas se transforman en impulsos eléctricos que se convierten en señales digitales que posteriormente son procesadas por un ordenador para su posterior análisis

Cultivos confluentes de las líneas Con y CsA se despegaron con tripsina. Las células se contaron con un hemocitómetro y se usaron 1,000,000 de células para cada ensayo de citometría. Las células se marcaron con los anticuerpos

monoclonales contra las subunidades de integrinas correspondientes, a una concentración final de 10 µg/ml, se incubaron en hielo por 30 min y se lavaron 3 veces con 1 ml de amortiguador para FACS frío (PBS + 0,5% albúmina de suero bovino + 1% sacarosa) y se centrifugó a 5000 rpm durante 1 minuto. Posteriormente se retiró el sobrenadante y se le añadió al botón de células el segundo anticuerpo F'(ab)<sub>2</sub> de cabra anti-ratón IgG conjugado con FITC (1/400), y se incubó en hielo por 30 min. Se volvieron a lavar con 1 ml de amortiguador para FACS, se centrifugaron a 5000 rpm durante 1 min y después se retiró el sobrenadante. Los botones de células se fijaron agregando a cada tubo 300 µl de buffer de fijación (PBS + 1% paraformaldehído). Se almacenaron protegiéndolos de la luz, a temperatura de 4°C para su posterior lectura en el citómetro de flujo.



## 9 RESULTADOS

Para medir la cantidad de expresión de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  de integrinas en los fibroblastos gingivales fue utilizada la técnica de tinción de FACS o citometría de flujo.

### Expresión de la subunidad $\alpha 2$

La subunidad  $\alpha 2$  se expresa en la línea celular de los fibroblastos derivados del paciente sano (Con). El desplazamiento de las líneas verde y rosa en el histograma hacia la derecha muestra una mayor fluorescencia, es decir mayor presencia de la molécula  $\alpha 2$  (Figura 14 A). Sin embargo, la subunidad  $\alpha 2$  no se expresa en los fibroblastos derivados del paciente tratado con Ciclosporina A (CsA) (Figura 14 B).

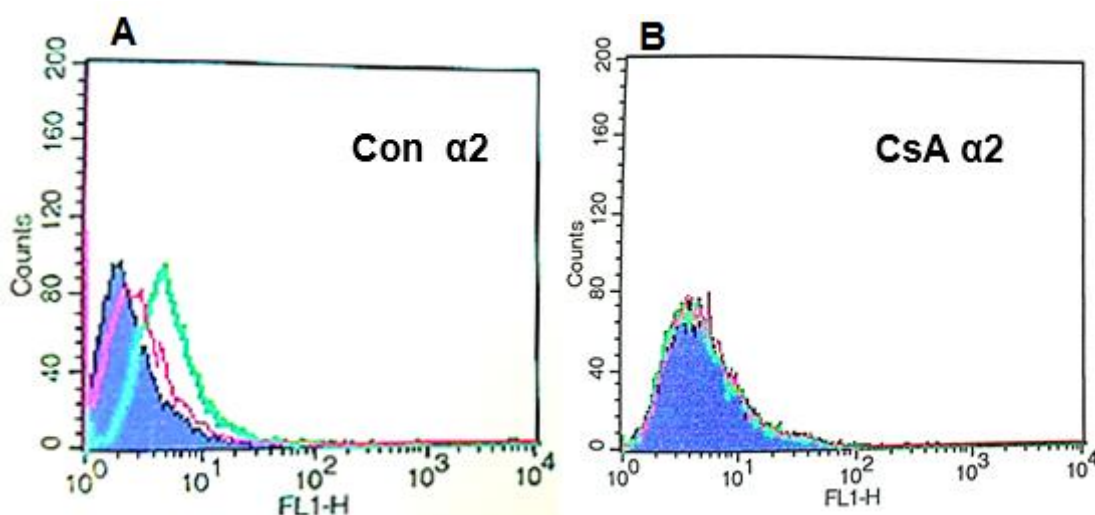


Figura 14. Expresión de la subunidad de integrina  $\alpha 2$ . Histogramas representativos de la expresión de la subunidad  $\alpha 2$  en fibroblastos de A) Paciente sano B) Paciente en tratamiento con CsA, por medio de citometría de flujo. La región azul representa la fluorescencia emitida por los fibroblastos (fluorescencia basal). Las líneas rosa y verde representan la expresión de la subunidad  $\alpha 2$ . n= 4 Con y n=7 CsA.

De un total de 4 experimentos que se hicieron con la línea celular Con, el porcentaje de expresión de la subunidad  $\alpha$  fue de 75% (Tabla 8).

Por otro lado, se realizaron 7 experimentos con la línea celular CsA, obteniendo que la expresión de la subunidad  $\alpha$  fue solo del 28.57% (Tabla 9).

TABLA 8. Porcentaje de expresión de la subunidad  $\alpha$  en fibroblastos derivados de paciente sano.

SUBUNIDAD $\alpha$			
LÍNEA CELULAR	+	-	TOTAL
Con	3 (75%)	1 (25%)	4 (100%)

TABLA 9. Porcentaje de expresión de la subunidad  $\alpha$  en fibroblastos derivados de paciente medicado con CsA.

SUBUNIDAD $\alpha$			
LÍNEA CELULAR	+	-	TOTAL
CsA	2 (28.57%)	5 (71.42%)	7 (100%)

### Expresión de la subunidad $\beta$ 1

Como se muestra en la figura 15-A, la expresión de la subunidad  $\beta$ 1 en los fibroblastos derivados de paciente sano es positiva. Sin embargo, como se puede apreciar en la figura 15-B en los fibroblastos derivados de paciente tratado con CsA, la expresión de la subunidad  $\beta$  se muestra disminuida.

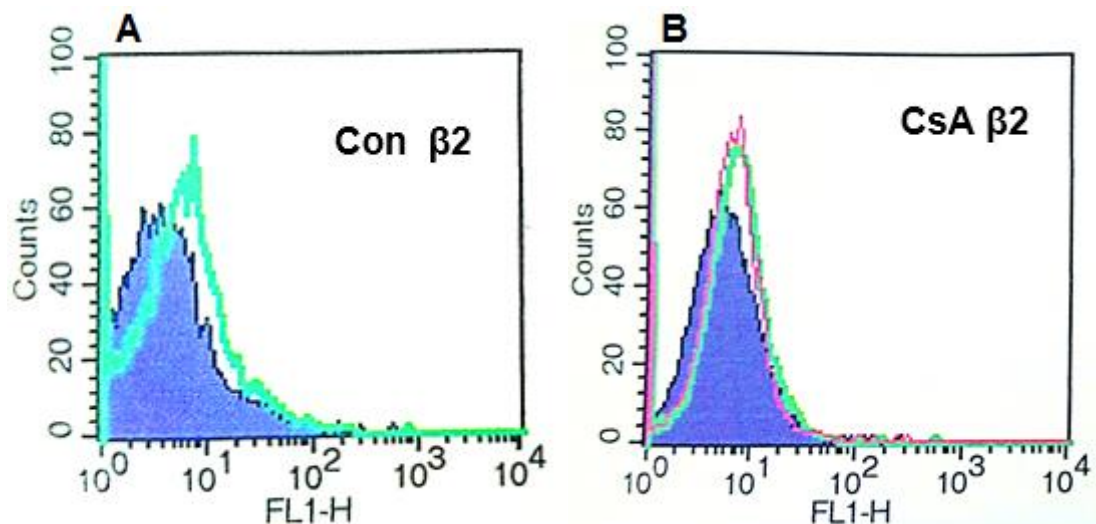


Figura 15. Expresión de la subunidad de integrina  $\beta$ 1. Histogramas representativos de la expresión de subunidad  $\beta$ 1 en fibroblastos de A) Paciente sano B) Paciente en tratamiento con CsA, por medio de citometría de flujo. La región azul representa la fluorescencia emitida por los fibroblastos (fluorescencia basal). Las líneas rosa y verde representan la expresión de la subunidad  $\beta$ 1. n= 8 Con y n=5 CsA.

Fueron 8 los experimentos que se hicieron con la línea celular Con, obteniendo un 62.5% de expresión de las subunidades  $\beta$ 1 de integrinas (tabla 10). Con la Línea celular CsA de un total de 5 experimentos, la subunidad  $\beta$  se expresó solamente en un 20% (tabla 11).

TABLA 10. Porcentaje de expresión de la subunidad  $\beta$  en fibroblastos derivados de paciente sano.

<b>SUBUNIDAD <math>\beta</math></b>			
<b>LÍNEA CELULAR</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Con</b>	5 (62.5%)	3 (37.5%)	8 (100%)

TABLA 11. Porcentaje de expresión de la subunidad  $\beta$  en fibroblastos derivados de paciente medicado con CsA.

<b>SUBUNIDAD <math>\beta</math></b>			
<b>LÍNEA CELULAR</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>TOTAL</b>
<b>CsA</b>	1 (20%)	4 (80%)	5 (100%)

## 10 DISCUSIÓN

El agrandamiento gingival es un problema de salud, que se presenta en los pacientes medicados con fármacos inmunosupresores como lo es la Ciclosporina A (además de otros medicamentos) (1, 29, 32, 33, 36).

Actualmente el único método existente para tratar esta enfermedad es el proceso quirúrgico conocido como gingivectomía combinado con la gingivoplastia. Pero este no es un método del todo eficaz ya que el agrandamiento gingival ocurre de nuevo después de la cirugía, si el paciente está todavía bajo tratamiento con CsA (34).

Se ha reportado que el agrandamiento gingival tiene relación con la dosis de medicamento que toma el paciente, duración del tratamiento, tipo de medicamento, los niveles séricos de CsA, higiene bucal, presencia de placa dentobacteriana y/o cálculo, factores irritantes, e inflamación gingival (31, 43, 44).

A pesar de ser un padecimiento relativamente común, las bases moleculares del desarrollo del agrandamiento gingival aún no son claras.

A través de varias investigaciones, se ha encontrado que el agrandamiento gingival es causado por el acúmulo de colágena en la matriz extracelular, ya que no se está degradando completamente (31, 35, 42).

Este proceso está vinculado con los receptores de membrana para colágena, los cuales no están siendo activados para la internalización de la colágena (12, 24, 42, 43).

Las integrinas son receptores que se encuentran en la membrana celular de los fibroblastos (4).

La integrina  $\alpha 2\beta 1$  es un receptor específico para colágena la cual participa activamente en la fagocitosis de la colágena para su posterior degradación (11, 18, 22, 24, 42).

La baja expresión de la integrina  $\alpha 2\beta 1$  reduce la cantidad de fagocitosis de colágena, causando que se acumule en el espacio extracelular, siendo causante del agrandamiento gingival (12, 24, 42).

Para el estudio de la expresión de las integrinas  $\alpha 2\beta 1$  utilizamos fibroblastos derivados de encía de un paciente sano y fibroblastos derivados de la encía de un paciente bajo tratamiento con Ciclosporina A.

Nuestros resultados indican que en los fibroblastos derivados del paciente tratado con CsA decrece la expresión de la integrina  $\alpha 2\beta 1$  en comparación con la cantidad de integrinas  $\alpha 2\beta 1$  que expresan los fibroblastos derivados del paciente sano.

Estos resultados son compatibles con los estudios que indican la baja expresión de la subunidad  $\alpha 2$  en el agrandamiento gingival inducido por Ciclosporina A (Lee & Kataoka). Lee et al. (12) demostraron mediante la técnica de citometría de flujo, y utilizando fibroblastos gingivales de humano cultivados in vitro, que la subunidad de integrina  $\alpha 2$ , es el primordial receptor de colágena que permite la internalización de colágena a la célula y que la baja expresión de esa subunidad causa que haya disminución en la fagocitosis de colágena, aumentando la concentración de colágena en la matriz extracelular.

Kataoka et al (24) en uno de sus artículos reportaron sus hallazgos de que en el agrandamiento gingival causado por CsA hay un menor porcentaje de fagocitosis, causando que haya acumulación de colágena en la matriz extracelular. Para esto utilizaron fibroblastos de rata y el método de análisis inmunohistoquímico.

Sus resultados son semejantes a los reportados por McCulloch et al (46), quienes utilizando fibroblastos humanos cultivados in vitro y haciendo el análisis por medio de citometría de flujo, reportaron que en las lesiones fibróticas hay una reducción en la cantidad de internalización de colágena por parte de los fibroblastos, teniendo como consecuencia la acumulación de colágena en el medio extracelular.

Así mismo Kataoka et al, en otro artículo (43), por medio de citometría de flujo y utilizando fibroblastos provenientes de ratas medicadas con CsA, demostraron, que la Ciclosporina A causa la baja expresión de las integrinas  $\alpha 2$  receptoras de colágena, teniendo como consecuencia el bajo porcentaje de internalización de colágena en la célula para su posterior degradación.

## 11 CONCLUSIONES

En los fibroblastos derivados del paciente tratado con CsA decrece la expresión de la cantidad de integrinas  $\alpha 2\beta 1$  en comparación con los fibroblastos derivados de paciente sano.

Por lo tanto la Ciclosporina A reduce la expresión de la integrina  $\alpha 2\beta 1$ , teniendo como consecuencia la acumulación de colágena en la matriz extracelular, causando así agrandamiento gingival.

A pesar del avance obtenido con estos resultados y con investigaciones anteriores, aún falta por descubrir el mecanismo exacto por el cual las integrinas no se están expresando en los pacientes medicados con ciclosporina A, por lo cual se deben continuar haciendo investigaciones sobre este tema.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. Carranza. Periodontología clínica. 10° ed. México: McGraw-Hill; 2010.
2. Lindhe J. Periodontología clínica e implantología odontológica. 4° ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2005.
3. Vargas Castillas AP, Yañez Ocampo BR, Monteagudo Arrieta CA. Periodontología e Implantología. 1° ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2016.
4. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Biología molecular de la célula. 5° ed. Barcelona, España: Ediciones Omega; 2008.
5. Ponce Bravo S. Histología básica: fundamentos de biología celular y del desarrollo humano. México: Editorial Médica Panamericana; 2016.
6. Gartner LP, Hiatt JL. Texto atlas de histología. 3° ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2008.
7. Álvaro Naranjo T, Noguera-Salvá R, Fariñas Guerrero F. La matriz extracelular: morfología, función y biotensegridad (parte I). Rev Esp Patol. 2009; 42 (4):249-61.
8. Manson AL. Lo esencial en célula y genética. 2° ed. Madrid, España: Elsevier; 2003.
9. Geneser F, Brüel A, Christensen EI, Trandum-Jensen J, Qvortrup K. Geneser Histología. 4° ed. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2015.
10. Ross MH, Pawlina W. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. 6° ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2012.
11. McKleroy W, Lee T-H, Atabay K. Always cleave up your mess: targeting collagen degradation to treat tissue fibrosis. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2013; 304 (11):L709-L721.
12. Lee W, Sodek J, McCulloch CA. Role of integrins in regulation of collagen phagocytosis by human fibroblasts. J Cell Physiol. 1996; 168 (3):695-704.
13. Junqueira LC, José C. Histología básica. 6° ed. España: Elsevier Masson; 2005.

14. Acosta Gómez A. El fibroblasto: su origen, estructura, funciones y heterogeneidad dentro del periodonto. *Univ Odontol.* 2006; 25 (57):26-33.
15. Eynard AR, Valentich MA, Rovasio RA. *Histología y embriología del ser humano: bases celulares y moleculares.* 4°ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2008.
16. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky SL, Darnell J. *Biología celular y molecular.* 5° ed. Buenos Aires: Editorial Médica panamericana; 2006.
17. Sanguineti AC, Rodríguez-Tafur JM. Moléculas de adhesión. *Dermatología Peruana.* 1999; 9(1).
18. Macías Abraham C. Moléculas de adhesión. Importancia en la respuesta inmune e inflamatoria. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [internet]. 2006 [citado Jun 2016]; 22 (2). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol22\\_2\\_06/hih03206.html](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol22_2_06/hih03206.html)
19. López Lerma I. Moléculas de adhesión celular en dermatología. *Piel.* 2003; 18 (10):541-7.
20. Jaitovich A, Jaim Etcheverry G. Adhesion molecules. Their role in cardiovascular physiopathology. *Medicina (B Aires).* 2004; 64 (5):455-62.
21. Nelson DL, Cox MC. *Lehninger: Principios de bioquímica.* 6° ed. Barcelona, España: Omega; 2015.
22. Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D. Integrins. *Cell Tissue Res.* 2010; 339 (1):269-80.
23. Johnson MS, Lu N, Denessiouk K, Heino J, Gullberg D. Integrins during evolution: evolutionary trees and model organisms. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1788 (4):779-89.
24. 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.
25. Matesanz-Pérez P, Matos-Cruz R, Bascones-Martínez A. Enfermedades gingivales: una revisión de la literatura. *Av Periodoncia.* 2008; 20 (1):11-25.
26. Dias LZS, Piol SAC, de Almeida CSL. Atual classificação das doenças periodontais. *UFES Rev Odontol.* 2006; 8 (2):59-65.
27. Armitage GC. Diagnóstico y clasificación de las enfermedades periodontales. *Periodontol 2000.* 2005; 9:9-21.



28. González AC, Castañeda LN, Romano PR, Schneider AR, Toro MDLÁF, Hofer FD. Agrandamiento gingival por ciclosporina: reporte de un caso. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral* [internet]. 2015 [citado Jun 2016]. Disponible en:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S071853911500052X>
29. Bahamondes C, Godoy J. Cyclosporine-induced gingival hyperplasia: report of one case. *Rev Med Chil.* 2007; 135 (3):370-4.
30. Algozaín Acosta Y, Capote Leyva E, Capote Pereira L, Rodríguez Apolinario N, Traviesas Herrera E, Doncel Pérez C. Crecimiento gingival por el uso de ciclosporina A y nifedipino en un paciente con trasplante renal. . *Rev Cuba Med Mil* [internet]. 2008 [citado Jun 2016]; 37 (2):0-0. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572008000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572008000200009)
31. Auad RM, de Souza Quirino MR. Crescimento gengival induzido pela ciclosporina. *Rev biociênc.* 2003; 6 (2):55-60.
32. Mendes TEB, Cerqueira LB, Azoubel MCF. Aumento gengival influenciado por drogas: uma revisão de literatura. *Revista Bahiana de Odontologia* [internet]. 2014 [citado jun 2016]; 5 (1):29-37. Disponible en:  
<https://www5.bahiana.edu.br/index.php/odontologia/article/view/300>
33. Gusmão ES, Cimões R, Coelho RS, Milhomens Filho JA, dos Santos RL, de Farias Sales GC. Diagnóstico e tratamento do aumento gengival induzido por drogas. *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-fac.* 2009; 9 (1):59-66.
34. Trackman PC, Kantarci A. Molecular and clinical aspects of drug-induced gingival overgrowth. *J Dent Res.* 2015; 94 (4):540-6.
35. Ramalho VL, Ramalho HJ, Cipullo JP, Burdmann EA. Hiperplasia gengival induzida por ciclosporina A. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2003; 49 (2):210-3.
36. Trackman PC, Kantarci A. Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15 (3):165-75.
37. Saldaña Bernabeu A, García Triana BE, Enamorado Casanova A, García Piñeiro JC. La ciclosporina A y el daño oxidativo en el trasplante. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2002; 21 (3):197-200.
38. Fonseca E. Inhibidores tópicos de la calcineurina. *Med Clin (Barc).* 2003;120 (7):255-6.

39. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Farmacología básica y clínica. 11° ed. México: McGraw-Hill; 2010.
40. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman. Las Bases farmacológicas de la terapéutica. 11° ed: McGraw-Hill; 2007.
41. Marchese ML, Eimer L, Stringa O. Ciclosporina y su uso en dermatología. Arch Argent Dermatol. 2014; 64 (3):89-97.
42. Kataoka M, Kido J, Shinohara Y, Nagata T. Drug-induced gingival overgrowth--a review. Biol Pharm Bulletin. 2005; 28 (10):1817-21.
43. Kataoka M, Shimizu Y, Kunikiyo K, Asahara Y, Yamashita K, Ninomiya M, et al. Cyclosporin A decreases the degradation of type I collagen in rat gingival overgrowth. J Cell Physiol. 2000; 182 (3):351-8.
44. Brown RS, Beaver WT, Bottomley WK. On the mechanism of drug-induced gingival hyperplasia. J Oral Pathol Med. 1991; 20 (5):201-9.
45. Arora PD, Silvestri L, Ganss B, Sodek J, McCulloch CA. Mechanism of cyclosporin-induced inhibition of intracellular collagen degradation. J Biol Chem. 2001; 276 (17):14100-9.
46. McCulloch CA, Knowles GC. Deficiencies in collagen phagocytosis by human fibroblasts in vitro: a mechanism for fibrosis?. J Cell Physiol. 1993; 155 (3):461-71.
47. Grupo Nacional Provincial S.A.B. [Internet]. México: GNP seguros; 2014 [citado ago 2016]. GNP seguros impulsa la cultura de donación de órganos en México a través de su campaña: amigo secreto; 3 págs. Disponible en: [https://www.gnp.com.mx/wps/wcm/connect/75d3e97b-1c9f-4a70-ba9d-265691982144/2014-11-24+GNP+SEGUROS+IMPULSA+LA+CULTURA+DE+DONACION+DE+ORGANOS+EN+MEXICO+A+TRAVES+DE+SU+CAMPA%C3%91A+AMIGO+SECRETO.pdf?MOD=AJPERES&CONVERT\\_TO=url&CACHEID=75d3e97b-1c9f-4a70-ba9d-265691982144](https://www.gnp.com.mx/wps/wcm/connect/75d3e97b-1c9f-4a70-ba9d-265691982144/2014-11-24+GNP+SEGUROS+IMPULSA+LA+CULTURA+DE+DONACION+DE+ORGANOS+EN+MEXICO+A+TRAVES+DE+SU+CAMPA%C3%91A+AMIGO+SECRETO.pdf?MOD=AJPERES&CONVERT_TO=url&CACHEID=75d3e97b-1c9f-4a70-ba9d-265691982144)