



Efectos de la mezcla de colágena-PVP, sobre el metabolismo y proliferación celular de fibroblastos gingivales humanos cultivados[§]

Izákun G Penilla Acasuso,* Ma. Guadalupe Marín González,[§] Edgar Kröttsch Gómez,^{||}
Rosa María Salgado Curiel,[¶] Saúl Cano Colín**

RESUMEN

El propósito del presente estudio fue evaluar el efecto del fibroquel en la proliferación celular y la actividad metabólica en fibroblastos gingivales cultivados, para establecer las condiciones ideales para su posterior uso en diversos procedimientos quirúrgicos, todo esto debido a que el fibroquel ha sido utilizado por más de 15 años en el tratamiento de diversos padecimientos y se han demostrado sus efectos en la aceleración del proceso de cicatrización. A fin de comprobar lo antes mencionado, se derivaron dos líneas celulares de biopsias realizadas en la zona palatina, de dos pacientes. Estas células fueron mantenidas en condiciones regulares de cultivo, una parte de la población celular fue congelada y otra parte fue utilizada para las pruebas de proliferación de actividad metabólica. Los resultados de ambas pruebas mostraron que en ninguna de las condiciones analizadas se afectó el comportamiento de las células de cultivo, en términos de proliferación o actividad metabólica, esto nos lleva a asumir que en la próxima investigación y protocolos clínicos, se usarán las concentraciones de fibroquel utilizadas en este estudio.

Palabras clave: Fibroquel, fibroblastos gingivales, proliferación y metabolismo celulares.

Key words: Fibroquel, gingival fibroblasts, cellular proliferation and metabolism.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect that the Fibroquel has over the cellular proliferation and the metabolic activity from cultivated gingival fibroblasts all this in order to established which condition would be the ideal for its posterior use in different surgical procedure, because this drug has been used over 15 years for the treatment of several fibrosant pathologies and it has been shown the effects over the acceleration of the cicatrized process. In order to reach this goals two cellular lines were derived from palatine zone biopsies from two patients. This cells were kept in standard conditions of culture, this cells were subcultivated until the fourth pass, one part of the population was frozen and another part were utilized for the proliferation and metabolic activity assays. The results of both assays shown that none of the fibroquel conditions tested affected the behavior of the culture cells, this in terms of it proliferation or metabolic activity, this lead us to assume that in the next investigation and clinical protocols the concentrations of this drug will be used like we did in this study.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad un gran porcentaje de la investigación biomédica está siendo enfocada a la regeneración de tejidos, aplicación del uso de células progenitoras; y en especial a la ingeniería de tejidos. Esto nos da como resultado numerosos estudios y líneas de investigación que son de vital importancia para desarrollar nuevas aplicaciones clínicas y brindarle al paciente nuevas alternativas de tratamiento, con el objetivo de dar un mejor pronóstico y una mejor calidad de vida.

Una de las áreas que ha tenido un gran auge en la actualidad es la medicina regenerativa, ya que con ella se ha podido lograr la formación de nuevos tejidos, la reparación y/o su regeneración; todo esto a partir de las propias células de un paciente. La medicina regenerativa se vale de diversos medios para lo-

gar su objetivo, entre los que destacan: la terapia celular, la ingeniería tisular y la inducción farmacológica para formar nuevos tejidos.

[§] El trabajo del cual se derivó este artículo ganó el Primer Lugar en Investigación Clínica del Encuentro Nacional de Investigación ISSSTE 2008.

* Médico Estomatólogo, Residente de la Especialidad de Periodoncia.

[§] Maestra en Ciencias Odontológicas y de la Salud, Coordinadora de la Especialidad de Periodoncia e Implantología, Facultad de Odontología. UNAM.

^{||} Doctor en Investigación Biomédica Básica, Jefe de la División de Investigación Biomédica, actualmente, Jefe del Laboratorio de Tejido Conjuntivo, Instituto Nacional de Rehabilitación.

[¶] QFB adscrita al Laboratorio de Tejido Conjuntivo, Instituto Nacional de Rehabilitación.

** Doctor en Investigación Biomédica Básica, Jefe del Laboratorio de Medicina Regenerativa y Terapia Celular, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE. México, D.F.

Se han podido cultivar células con mínimas muestras de tejido, que pueden ser utilizadas en el paciente junto con biomateriales derivados de tejidos naturales (submucosa intestinal de cerdo) para la reparación o regeneración de un tejido dañado.^{1,2}

En el campo de la odontología; en especial en el área de la periodoncia, esto también ha ocurrido. Se han dado numerosas aplicaciones de la ingeniería de tejidos, sobre todo cuando se habla de cobertura radicular en recesiones gingivales; en aumento de reborde, de encía insertada, entre otras. Dentro del campo de ingeniería de tejidos la utilización de matrices para guiar la proliferación de tejidos ha incluido los procedimientos de regeneración tisular guiada (RTG), la cual busca la nueva formación de hueso, cemento y ligamento periodontal.³ La regeneración requiere la restitución de todo el periodonto perdido (formación de nuevo hueso, nuevo cemento, inserción y una nueva orientación de las fibras colagénicas periodontales del ligamento).⁴ Para lograr este objetivo se hace necesario que exista una migración selectiva de células derivadas del ligamento periodontal y el hueso alveolar, e impedir que lleguen al sitio receptor tanto las células epiteliales como los fibroblastos gingivales. En este procedimiento se utilizan biomateriales cuya función es impedir esta migración celular; entre estos biomateriales se encuentran: membranas de PTFE (politetrafluoretileno expandido) cuando las membranas no son absorbibles; y membranas de colágena, de ácido poliglicólico y poliláctico, combinaciones de ambas, esto cuando se habla de membranas absorbibles. Estos procedimientos de RTG se pueden llevar a cabo utilizando también sustitutos óseos entre los que encontramos autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y aloplásticos. Todos estos materiales se utilizan con el fin de promover la regeneración de los tejidos que conforman el aparato de inserción del diente.

Actualmente se están utilizando también inductores farmacológicos cuya función es la regeneración de tejidos, y el acelerar el proceso cicatrizal; y de esta manera brindarle al paciente un mejor tratamiento. Dentro de éstos tenemos al Emdogain (MR), que son proteínas derivadas de la matriz del esmalte, obtenido de dientes porcinos en formación. Éste imita la actividad de las células epiteliales de la vaina radicular de Hertwig, secretando proteínas de la matriz del esmalte y generando la formación de cemento acelular.⁵ Los depósitos de cemento son un prerrequisito para la formación del ligamento periodontal y de hueso alveolar, para el desarrollo del aparato de inserción periodontal. Esta es la base por la que se cree que favorece la regeneración periodontal. La formulación del EMD consta de una matriz formada por proteínas del esmalte:

amelogenina (90%), enamelinas, ameloblastina y por enzimas como la MMP-20 y la EMSP1. Se ha incorporado un vehículo para favorecer la precipitación de la amelogenina hidrofóbica, este vehículo es el Propilen Glicol Alginato (PGA), cuya función es formar una matriz extracelular tridimensional e insoluble, la cual permanece depositada sobre la superficie radicular durante 2-4 semanas, permitiendo una colonización celular selectiva, así como la proliferación y la diferenciación celulares. Este inductor se ha utilizado solo, en conjunto con sustitutos óseos con membranas o una combinación; todo esto para promover la regeneración periodontal.

Otro de los materiales utilizados en el área periodontal como inductor farmacológico es la colágena-PVP (Fibroquel, MR.). Este biomedicamento es una colágena polimerizada inyectable con propiedades inmunomoduladoras.⁶ Sus propiedades electroforéticas, físicoquímicas y farmacológicas son únicas debido a la unión covalente entre la colágena tipo I y la polivinilpirrolidona (patente #922830, México).

Este medicamento ha mostrado tener un efecto positivo sobre la reparación de heridas y la consolidación ósea a través de la inducción de macromoléculas de matriz extracelular (MEC).^{7,8}

Cuando se ha utilizado para promover la cicatrización ósea en sitios de fracturas se ha observado que existe un aumento en la expresión de osteopontina (OPN) y SPARC. La OPN se ha detectado en mayores niveles en sitios donde hay osteoblastos maduros en zonas de remodelado óseo.⁹ Esta proteína se veía aumentada en los sitios en los que se trataban con Fibroquel, lo que sugiere que pudiera estimular el proceso de mineralización y de remodelado óseo. También la osteopontina es expresada en el linaje monocítico y en linfocitos T activados;¹⁰ por lo que la alta expresión de OPN que se presenta con el tratamiento de Fibroquel pudiera estimular la reparación ósea debido a que está involucrada en la inflamación, formación y remodelado óseo. SPARC es una de las proteínas no colagénicas sintetizadas por células óseas; ésta juega un papel importante en el inicio de la mineralización, recambio cálcico y remodelado óseo.¹¹ Su expresión también se ha visto aumentada cuando se tratan los sitios con fibroquel, por lo que se infiere que este fármaco pudiera acelerar el proceso de cicatrización de la fractura. También modula el recambio de la MEC, particularmente la colágena tipo I y III, disminuye la expresión de interleucina 1-B (IL-1B), factor de necrosis tumoral (TNF- α), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1).¹² De esta manera, es evidente que la colágena-PVP tiene efectos moduladores sobre el proceso inflamatorio y

sobre el proceso fibrogénico regulando varias de las moléculas importantes en estos procesos.

Es por eso que el propósito del estudio fue evaluar la acción que tenían diferentes condiciones del fibroquel sobre la proliferación celular y sobre la actividad metabólica en cultivos de fibroblastos derivados de biopsias gingivales de dos donadores; todo esto con la finalidad de establecer su caracterización bioquímica y así contemplar su uso posterior en la práctica odontológica con la finalidad de acelerar la cicatrización en heridas quirúrgicas y modular el estado fibrogénico de los tejidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población celular de estudio fueron fibroblastos gingivales obtenidos a partir de una biopsia de la zona palatina de tejido conectivo, a nivel del 1er. molar y 1er. premolar. La toma de la muestra se realizó en 2 pacientes donadores sanos para tener 2 líneas celulares nombradas como LCP y LPA, por las siglas de los nombres de los donadores, y realizar las pruebas correspondientes.

Los pacientes estuvieron de acuerdo en participar en el estudio y firmaron un consentimiento informado con base en la Declaración de Helsinki de Estudios de Experimentación en Humanos de 1996.

Se procedió a tomar una biopsia gingival, se utilizó anestesia local y se tomó una biopsia excisional de 5.5 mm de diámetro a 3.3 mm de profundidad de la zona del paladar al nivel de los premolares derechos, se tomó epitelio y tejido conjuntivo (*Figura 1*).

Con fines hemostáticos se ejerció ligera presión durante 4 minutos en el sitio donador después de la toma de la muestra (*Figura 2*).

El tejido gingival obtenido en condiciones de asepsia se transportó en un tubo estéril de 50 mL con medio de cultivo (D-MEM) que contenía 10% de suero fetal bovino (SFB) y una mezcla de antibióticos (penicilina 10,000 IU/mL y estreptomicina 100 microgramos/mL).

Posteriormente se procedió a derivar los cultivos celulares de fibroblastos¹³ siguiendo el siguiente protocolo: el tejido tomado en la biopsia se fragmentó en porciones de 1 mm³ aproximadamente, con tijeras estériles para encía, dentro de una campana de flujo laminar tipo II A; derivándose dos cultivos celulares, uno para la realización de las pruebas y otra para su criopreservación a -150°C y tener células del paciente como respaldo y posterior utilización en otras pruebas.

Durante dos días las células se incubaron con una solución de 80 U/mL colagenasa tipo 1 a 37°C, 5% de CO₂ y 95% de aire. Las células se mantuvieron en D-MEM con 10% de SFB y mezcla de antibióticos y el medio de cultivo se cambió 2 veces a la semana.



Figura 1. Toma de la biopsia.



Figura 2. Apariencia del sitio donante a los 5 minutos de haberse tomado la biopsia.

Cuando las células alcanzaron la confluencia se subcultivaron por tripsinización y se resembraron a una dilución de 1:3 durante uno a tres pases subsecuentes. Hasta que se obtuvo una buena población celular (*Figura 3*), las células crecieron en botellas de cultivo de 75 cm² durante ocho días.

Al alcanzar la confluencia en uno de los cultivos (*Figura 4*), los fibroblastos se desprendieron por tripsinización, se contaron en un hemocitómetro (Cámara de Neu-Bauer) y se resuspendieron en un medio para criopreservación (5% de DMSO y 95% de SFB), a una densidad de un millón de células por mililitro en cada vial. Se congelaron tres viales en un ultracongelador a una temperatura de -80°C.

A los 8 días después del sembrado de los fibroblastos y cuando se alcanzó la confluencia y se obtuvo un conteo de alrededor de 10,000/cm² se sembraron en placas de 96 pozos para cultivo celular, a una densidad de 16,000 a 18,000 células/pozo en DMEM suplementado con 10% SFB con antibióticos y se incubaron durante 24 horas, en condiciones de cultivo. Se usaron dos placas de 96 pozos, ya que las condiciones a estudiar se incubarán por 24 y 48 horas.

Transcurridas 24 horas, a las dos líneas celulares de cada caja, se les eliminó el medio de cultivo que tenían y se colocó DMEM con 1% de SFB suplementado con antibióticos; esto se hizo con la finalidad de

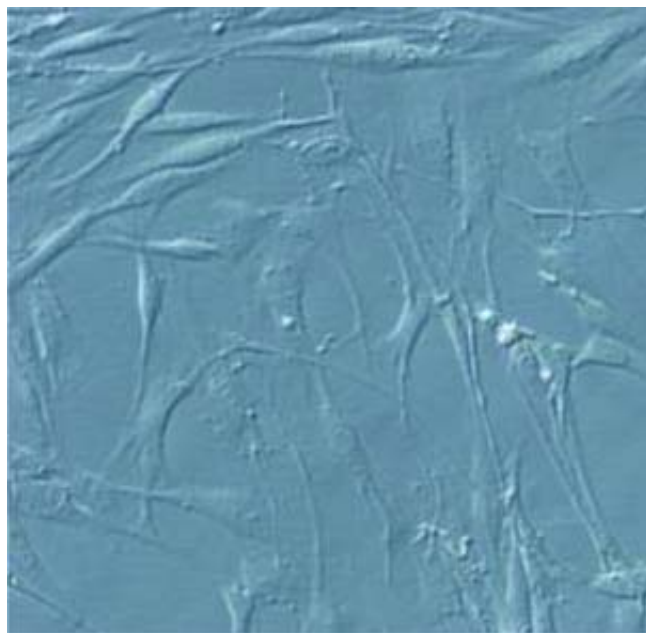


Figura 3. Población celular antes de alcanzar su confluencia.

sincronizar las células y poder medir la proliferación celular de forma adecuada. Las células se incubaron en estas condiciones durante 24 horas.

Después de este período de incubación se procedió a colocar las condiciones de nuestro estudio, esto se realizó de la siguiente manera: 3 pozos con D-MEM al 1% de SFB, como control en condiciones no proliferativas y sin el biofármaco; 3 pozos con D-MEM al 10% de SFB, como control en condiciones óptimas; 3 pozos con fibroquel al 1% y 3 pozos con fibroquel al 5%, en D-MEM al 1% de SFB, para evaluar los efectos de estas dos concentraciones, ya probadas en otros trabajos de investigación sobre la proliferación de estas células; los controles negativos que se utilizaron fueron 3 pozos con D-MEM al 1% de SFB, pero sin células. Esto se hizo con cada una de las líneas celulares. Una caja se dejó incubando por 24 horas y la otra por 48 horas.

Una vez hecho esto se realizó el ensayo de incorporación de BrdU para medir la proliferación celular. De manera tradicional la proliferación celular se ha medido mediante la incorporación de timidina tritiada para permitir el monitoreo de síntesis de DNA. La prueba de ELISA está diseñada como un método alternativo colorimétrico preciso para medir la proliferación celular basándose en la medición de incorporación de 5-bromo-2'-desoxiuridina (BrdU) durante la síntesis de DNA en células proliferativas. Esta técnica está basada en la incorporación del análogo de pirimidina de BrdU en lugar de la timidina dentro del DNA de células en proliferación.

El principio del ensayo involucra el cultivo celular con la presencia de la sustancia de prueba en una pla-



Figura 4. Células en confluencia.

ca de 96 pozos a 37°C durante 24 horas o 48 horas, dependiendo de la caja que estuviéramos trabajando. En cada uno de los pozos se tenía un volumen final de 200 μ L/pozo con una densidad de células de 16,000 aproximadamente por pozo.

La BrdU se adicionó a los cultivos y reincubaron en este caso por 24 horas. Durante el período de marcaje, el análogo de pirimidina: la BrdU se incorporará en lugar de la timidina dentro del DNA de las células en proliferación. Después de remover el medio de cultivo con BrdU, las células se fijaron con 200 μ L/pozo de solución fijadora donde el DNA es desnaturalizado. Se incuban las células por 30 minutos a temperatura ambiente. Se removió la solución fijadora por golpeteo de la caja. Se agregaron 200 μ L/pozo de solución bloqueadora amortiguada y se incubó por 30 minutos.

Se removió la solución bloqueadora y se agregaron 100 μ L/pozo de solución marcadora de peroxidasa anti-BrdU (la cual se une al BrdU incorporado en el nuevo DNA celular que fue sintetizado). Dejándolo incubarse por 120 minutos a temperatura ambiente. Se eliminó esta solución y se lavaron las placas 3 veces con solución lavadora, aproximadamente 300 μ L/pozo de solución lavadora por pozo.

Se agregaron 100 μ L de sustrato TBM en los pozos a temperatura ambiente. Se cubrieron las cajas con papel aluminio y se agitaron ligeramente durante 30 minutos.

Posteriormente se colocaron 25 μ L de ácido sulfúrico a 1M en cada pozo, ésta es la solución de paro. Los complejos inmunes son detectados por la subsecuente reacción de obtención del producto colorido, y el color resultante es leído en un espectrofotómetro para placas, a una longitud de onda de 450 nm. Este proceso se debe realizar dentro de los siguientes 5 min.

Esto se hizo también en la placa de 48 horas, sólo que en ésta las condiciones a probar se incubaron por 48 horas; el resto del ensayo se hizo igual.

Después de haber realizado este ensayo se llevó a cabo el ensayo de actividad metabólica a las mismas líneas celulares. Dichas líneas fueron cultivadas en medio DMEM suplementado con SFB al 10% y en las condiciones estándares de cultivo. Se sembraron en placas de 96 pozos con 16,000 células por pozo en 200 μ L/pozo de medio con DMEM suplementado con 10% SFB y una mezcla de antibióticos.

Este ensayo de actividad metabólica se llevó a cabo a través de la reducción del 3-[4, 5-dimetiltiazol-2-1-il] bromuro de difeniltetrazolio (MTT, Sigma Chemical Co, St. Louis MO) el cual genera un precipitado de formazán insoluble en agua de color azul-violeta cuando es metabolizado por la mitocondria.⁷

Se incubaron las cajas por 24 horas a 37°C y 5% de CO₂ después de ese tiempo se retiró el medio de cada uno de los pozos y se agregaron 100 μ L de medio condicionado y se incubaron por 24 horas (placa de 24 horas o 48 horas si era la placa de 48 horas) a 37°C y 5% de CO₂.

Después del período de incubación se agregaron 10 μ L de MTT estéril a cada pozo a una concentración de 5 mg/mL (Figura 5). Se cubrió la placa con papel aluminio y se incubó por 4 horas más. Con el fin de solubilizar el precipitado de azul de formazán generado por la actividad mitocondrial, se agregaron 100 μ L de alcohol-ácido a cada pozo (0.04 N HCl en isopropanol) y esta mezcla fue agitada vigorosamente hasta su disolución completa.

Se valoró la actividad celular a través de la conversión de MTT a azul de formazán con un espectrofotómetro para placas (ELX808 Ultra Microplate Reader, Bio-Tek Instruments, INC, Winooski, VT, USA) a una longitud de onda de 450 nm.⁸

RESULTADOS

Como se puede observar en las figuras 6 y 7, ninguna de las dos concentraciones de fibroquel probadas afectó los niveles de proliferación celular en ambas líneas celulares. Observándose que a las 48 horas hubo un descenso en todas las condiciones de las dos líneas, probablemente porque los cultivos a este tiempo ya se encontraban en la fase de meseta de su crecimiento.

Por otro lado, podemos observar que nuevamente, ninguna de las condiciones de fibroquel probadas afectó la actividad metabólica de las células (Figuras 8 y 9).

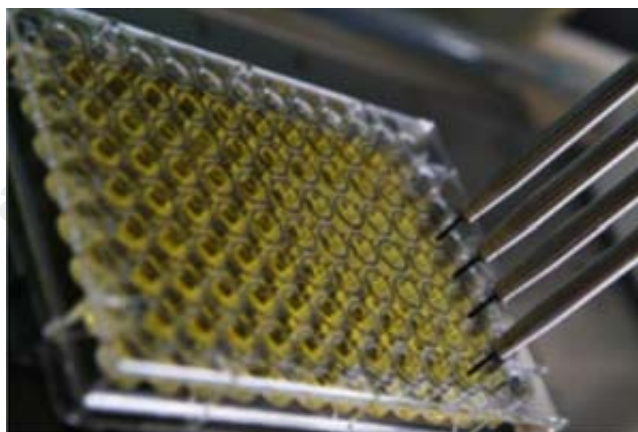


Figura 5. Adición de MTT.

DISCUSIÓN

El fibroquel es un líquido viscoso preparado a base de colágena “nativa” obtenida de la piel de porcino, en

solución amortiguadora de citratos que estabiliza el pH y polivinilpirrolidona que potencializa su efecto.

El fibroquel tiene numerosas indicaciones y aplicaciones entre las que se encuentran: pérdidas cutá-

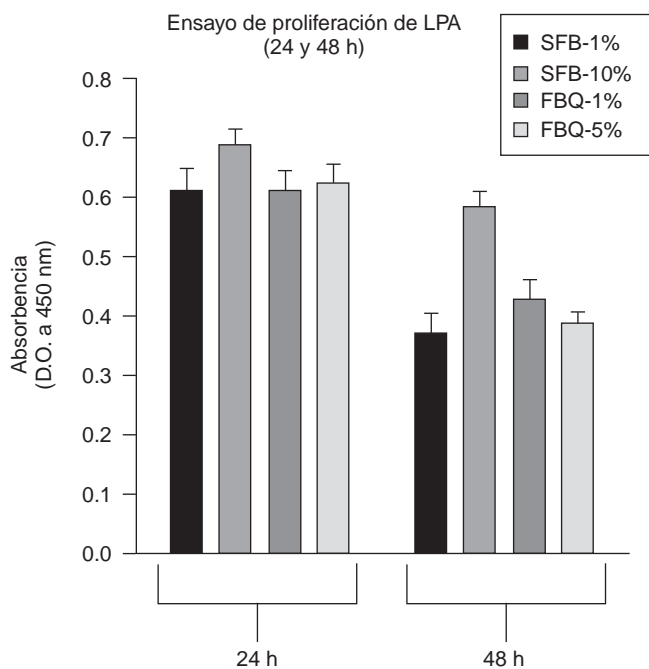


Figura 6.

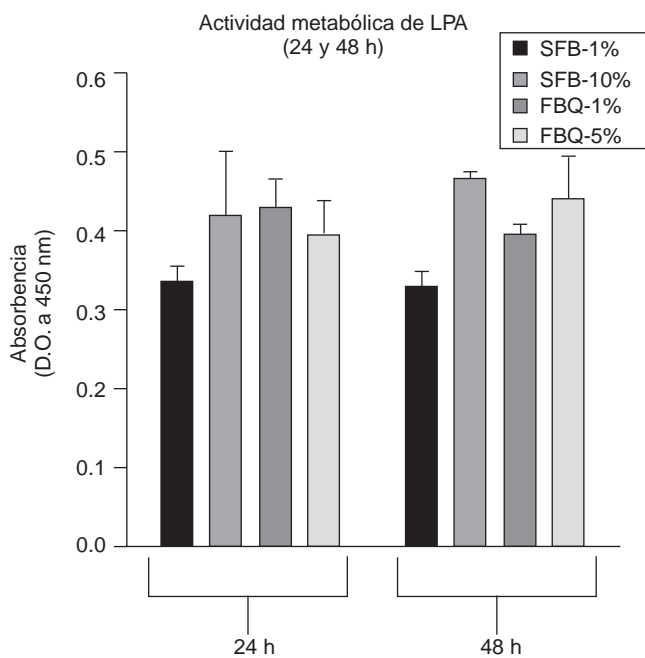


Figura 8.

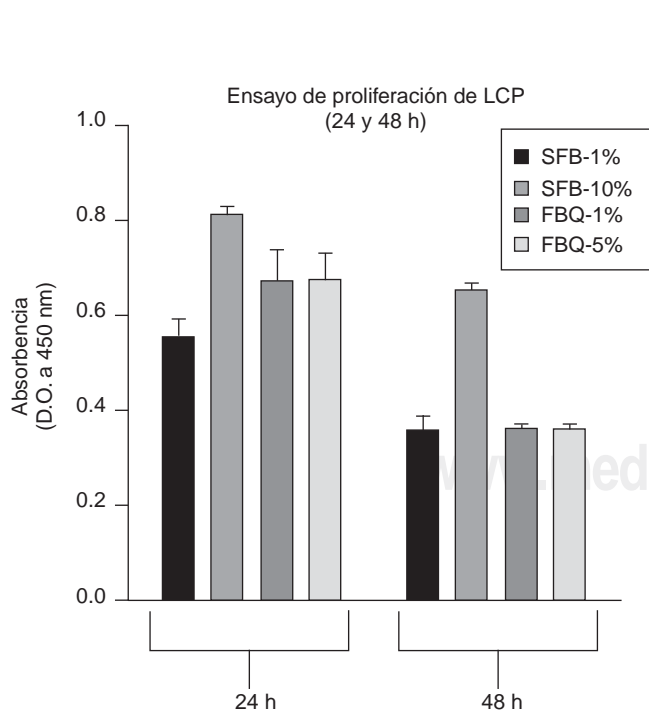


Figura 7.

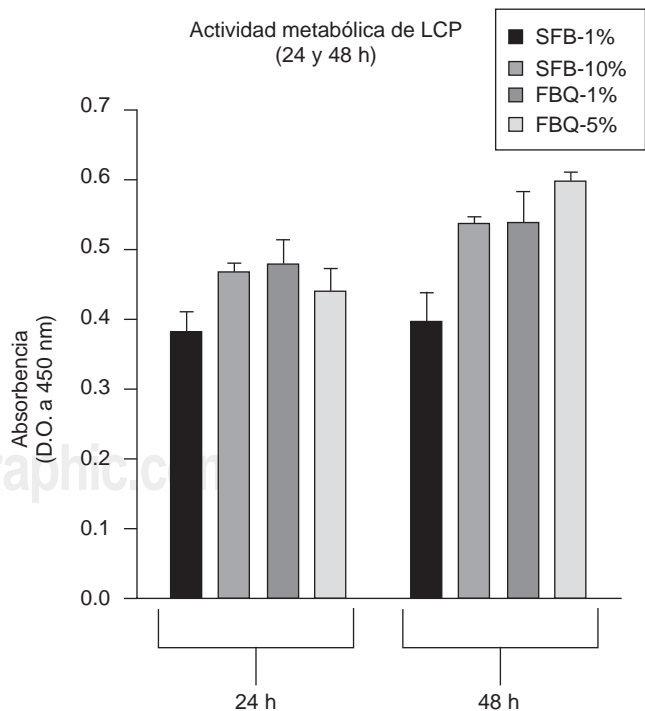


Figura 9.

neas, úlceras, quemaduras de 2º y 3er grado, áreas donadoras de injertos, heridas, raspones y abrasiones así como en los sitios de sutura, debido a sus propiedades hemostáticas y cicatrizantes. Se utiliza también en la prevención de la recidiva de la cicatriz hipertrófica y queloides posterior a la resección, debido a sus efectos antifibróticos; así como en el tratamiento de cicatrices hipertróficas y queloides y fibrosis localizadas por su participación en la eliminación del exceso de colágena depositada y la remodelación del tejido conjuntivo relacionado.

Dentro de su farmacocinética se puede establecer que la colágena administrada por vía intramuscular, cutánea o subcutánea se metaboliza de la misma manera que la colágena endógena, degradándose en el espacio extracelular principalmente por medio de las colagenasas intersticiales, y los péptidos de degradación generados son rápidamente metabolizados por las enzimas gelatinasas y por otras enzimas inespecíficas. Dada la fuente de obtención de la colágena empleada en fibroquel y su antigenicidad característicamente baja, se considera un material prácticamente inocuo, excepto en pacientes que manifiesten hipersensibilidad a ella. Por su parte, la polivinilpirrolidona es un polímero inerte prácticamente no metabolizable que se excreta principalmente por vía urinaria (95%) en un período menor a 24 h.⁶

Dentro de la farmacodinamia encontramos que los datos generados de los estudios *in-vitro* sugieren que fibroquel actúa a nivel de fibroblastos y macrófagos modulando el metabolismo de la colágena, de tal forma que dicha regulación participa en los procesos reparativos con una mejor calidad y tiempo de la respuesta en la cicatrización. Por su parte, los estudios *in vivo* han mostrado que Fibroquel® modula el proceso inflamatorio crónico de la fibrosis al disminuir factores proinflamatorios como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de necrosis tumoral α , (TNF- α), la interleucina 1 β (IL-1 β), así como moléculas de adhesión celular que favorecen la diapédesis leucocitaria, como son la molécula de adhesión de los leucocitos al endotelio (ELAM-1) y la molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1), hasta alcanzar niveles semejantes a los normales, lo que favorece el recambio de los componentes del tejido conjuntivo, con la consecuente eliminación del exceso de proteínas fibrosas.

Al ponerse en contacto con los tejidos, fibroquel crea una capa protectora sobre áreas cruentas, siendo hemostático e inductor de la cicatrización favorece una rápida epitelización. Si se coloca intralesional en el sitio de la sutura provoca hemostasia y una rápida epitelización. Puede aplicarse internamente en áreas

de sangrado en capa donde efectúa una hemostasia adecuada.

Cuando se aplica en regiones fibrosas, fibroquel promueve la remodelación del tejido, disminuyendo la fibrosis y normalizando la zona previamente dañada. Tal es el caso de las cicatrices hipertróficas y queloides, en donde se ha demostrado su participación en el control del proceso inflamatorio crónico asociado a la patología, lo que conlleva a la remodelación de la zona afectada para su posterior "normalización"; esto implica la eliminación de signos y síntomas patognomónicos de estos padecimientos. Utilizado postresección de la cicatriz queloides impide la recidiva de la misma.^{7,8,12} En algunos tipos de fibrosis internas, como las que se presentan en el tendón de Aquiles asociadas a las contracturas, fibroquel reduce la fibrosis y permite la movilidad de la articulación, además de favorecer a la elasticidad del tendón.

Por todo lo anterior es que se utiliza también en zonas donde se requiera la aceleración del proceso cicatrizal. Dentro de la cirugía periodontal esto tendría un gran impacto ya que se disminuirían los tiempos de cicatrización y de esta manera el período posterior a la cirugía sería mucho más comfortable para el paciente.

En numerosos estudios se ha encontrado que el fibroquel no produce reacciones antigénicas, debido a la gran homología que existe entre la colágena porcina tipo I y la colágena humana;¹⁵ debido a esto es un inductor farmacológico seguro que puede ser usado en humanos y su uso ha sido aprobado por la FDA. También se encontró que no es un fármaco genotóxico y no induce a reacciones de hipersensibilidad localizada, fibroproliferación, linfoproliferación o anticuerpos humanos colágena antiporcina o anticuerpos anticólágena-polivinilpirrolidona.¹²

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el biofármaco estudiado no tiene efectos sobre la proliferación ni la actividad metabólica de los fibroblastos; es decir, que el compuesto no tiene efectos mitogénicos, lo cual es fundamental para asegurarnos que durante su uso en humanos no conlleve a un fenómeno de hiperplasia indeseable, y por otro lado, encontramos que no tiene efectos deletéreos sobre el metabolismo celular, permitiendo que las células se mantengan viables y en condiciones óptimas en el cultivo. Estos datos son congruentes a los obtenidos por otros autores en los que se demuestra que no es un fármaco genotóxico y no induce a reacciones de hipersensibilidad localizada, fibroproliferación, linfoproliferación o anticuerpos humanos colágena antiporcina o anticuerpos anticólágena-polivinilpirrolidona.¹²

Este biofármaco ha mostrado tener un efecto positivo sobre la reparación de heridas y la consolidación

ósea a través de la inducción de macromoléculas de matriz extracelular. También modula el recambio de la MEC, particularmente la colágena tipo I y III, disminuye la expresión de interleucina 1- β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral (TNF- α), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1).⁹ Esto es benéfico en zonas donde existe un proceso inflamatorio, ya que de esta manera se disminuyen las citocinas involucradas en este proceso, dando como resultados un proceso cicatrizal más rápido. Esta característica que presenta el biofármaco es de utilidad en procedimientos quirúrgicos periodontales donde existe un daño a los tejidos y la respuesta de éstos es desencadenar un proceso inflamatorio.

CONCLUSIONES

En este estudio se puede concluir que el fibroquel no tiene efectos mitogénicos sobre las células estudiadas, ni afecta el metabolismo celular normal de las mismas, mantenidas en las condiciones óptimas de cultivo, lo que permite augurar un buen uso en zonas donde se lleven a cabo procedimientos quirúrgicos, entre los que podríamos incluir: procedimientos de cirugía plástica periodontal y reconstructiva, RTG, o procedimientos periodontales convencionales que involucren una inflamación, producto del mismo procedimiento, ya que este biofármaco ha mostrado regular el proceso inflamatorio y acelerar el proceso cicatrizal.

REFERENCIAS

- Hode. Naturally Occurring Scaffolds for Soft Tissue Repair and Regeneration. *Int Health Science Cente* 2002; 4: 295-308.
- Myers A. Hyaluronic acid membrane delivery system for cultured keratinocytes: Clinical take rates in the porcine kerato dermanl model. *J Burn Care Rehabil* 1997; 18: 214-222.
- Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration—animal and human studies. *Periodontol* 2000. 1993; 1: 26-35.
- Isaka J. Participation of periodontal Ligament cells with regeneration of alveolar bone. *J Clin Periodontol* 2001; 72: 314-323.
- Hammarström L, Heijl L, Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 669-677.
- Furuzawa-Carballeda J, Rojas E, Valverde M, Castillo I, Díaz de León L, Krötzsch E. Cellular and humoral responses to collagen-polyvinylpyrrolidone administered during short and long periods in humans. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81: 1029-1035.
- Chimal-Monroy J, Bravo-Ruiz T, Furuzawa-Carballeda GJ, De la Cruz JC, Almazán DA, Krötzsch-Gómez FE, Arrellín G, Díaz de León L. Collagen-PVP accelerates new bone formation of experimentally induced bone defects in rat skull and promotes the expression of osteopontin and SPARC during bone repair of rat femora fractures. *Ann NY Acad Sci* 1998; 857: 232-236.
- Rodríguez-Calderón R, Furuzawa-Carballeda J, Corchado A, Krötzsch E. *Wound Rep Reg* 2001; 9(2): 166.
- Chen J et al. Developmental expression of osteopontin (opn) mrna in rat tissues: evidence for a role of opn in bone formation and resorption. *Matrix* 1993; 13: 113-123.
- Miyazaki Y et al. The mouse osteopontin gene. Expression in monocytic lineages and complete nucleotide sequence. *J Biol Chem* 1990; 265: 14432-14438.
- Termine JD et al. Osteonectin a bone specific protein linking mineral to collagen. *Cell* 1981; 26: 99-105.
- Krötzsch-Gómez FE, Furuzawa-Carballeda J, Reyes-Márquez R, Quiróz-Hernández E, Díaz de León L. J Cytokine expression is down regulated by collagen-polyvinylpyrrolidone in hypertrophic scars. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 828-834.
- Freshny RI. *Culture of the animal cells. A manual of basic technique.* Willey-Liss Publications. USA 2000: 336: 178-180.
- Arjan AL, Nennie E, Ossenkoppele G, Beelen R, Langenhuisen M. Cell mediated cytotoxicity against U 937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. A methodological study. *J Immunol Methods* 1991; 141: 15-21.
- Paradis K, Langford G, Long Z, Heneine W, Sandstrom P, Switzer WM, Chapman LE, Locky C, Onions D, Otto E. Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. The XEN 111 Study Group. *Science* (Washington, D.C.), 1999; 285: 1236-1241.

Correspondencia:
Izákun G Penilla Acasuso
 saulcc@servidor.unam.mx