



Determinación de sialoproteína ósea en ligamento periodontal al inducir fuerzas ortodóncicas

Determination of the bone sialoprotein in periodontal ligament with orthodontic forces

Filiberto Hernández S,* Francisco J Marichi R,§ Marco A Álvarez^{II}

RESUMEN

La sialoproteína ósea es un componente importante de la matriz mineralizada del hueso, dentina, cemento y cartílago calcificado. BSP es la fosfoproteína de la matriz extracelular de hueso que constituye el 8% aproximadamente de todas las proteínas no colágenas de hueso y cemento radicular. Esta proteína fue aislada a partir de hueso cortical con un peso aproximado de 23-kDa, sin embargo, la sialoproteína ósea presenta un peso molecular relativo de 60-80 kDa en geles de SDS-PAGE, el cual muestra una gran diferencia en peso del predicho a partir de la secuencia de ADN de aproximadamente 33 kDa. La sialoproteína ósea presenta en su estructura un alto contenido de ácido siálico el cual le da un pKa de ~ 3.9, así mismo contiene una gran cantidad de residuos de ácido glutámico (~22%). Estas características dividen a la BSP en dominios específicos cuya función son la unión a la fibra de colágena, nuclear los cristales de hidroxiapatita y permitir la unión a integrinas por el motivo RGD cerca del carboxilo terminal. Esta proteína juega un papel importante en la biomineralización y en la matriz extracelular regulando la maduración de los cristales de hidroxiapatita y se encuentra asociada a la nueva formación de tejido mineral, parte esencial durante los movimientos ortodóncicos, los cuales al aplicar fuerzas causan tensión en las células provocando una adaptación que se traduce en respuestas celulares y moleculares que pueden afectar la matriz extracelular. Por ello, el propósito de esta investigación fue determinar la expresión de la sialoproteína ósea asociada a la remodelación periodontal cuando se aplican fuerzas ortodóncicas para corregir la maloclusión. En primeros premolares superiores e inferiores se colocó aparatología fija prescripción Roth 0.022 con un arco NiTi 0.016, la cual se aplicó a todos los dientes de ambas arcadas con excepción de los premolares superiores e inferiores izquierdos. Los premolares izquierdos sin aparatología ($t = 0$) y en presencia de aparatología derechos para inducir movimientos ortodóncicos durante 1, 3, 5, 7 y 9 días; fueron extraídos para analizar la expresión de la sialoproteína ósea en la matriz extracelular del ligamento periodontal. Para determinar la expresión temporal y es-

ABSTRACT

Bone sialoprotein (BSP) is a component of mineralized tissues such as bone, dentin, cementum and calcified cartilage. BSP is a significant component of the bone extracellular matrix and has been suggested to constitute approximately 8% of all non-collagenous proteins found in bone and cementum. BSP was originally isolated from bovine cortical bone as a 23-kDa glycopeptide but the native BSP has an apparent molecular weight of 60-80 kDa based on SDS-PAGE, which is a considerable deviation from the predicted weight (based on cDNA sequence) of approximately 33 kDa. The protein is highly acidic (pKa of ~ 3.9) and contains a large amount of Glu residues, constituting ~22% of the total aminoacid. This suggests that the protein have several spatially-segmented functional domains including a hydrophobic collagen-binding domain, a hydroxyapatite-nucleating region of contiguous glutamic acid residues and a classical integrin-binding motif (RGD) near the C-terminal. This protein plays a regulatory role in the mineralization and growth of mineral hard tissues. New formation of mineral hard tissue are key role in orthodontic tooth movements characterized by applied mechanical forces that cause tension in the cells which induce a cellular adaptation and this adaptation can activate cellular and molecular responses, that affect the extracellular matrix of periodontal tissues. For this, the aim of this study was to evaluate Bone Sialoprotein expression associated to remodeling of the periodontium after applied orthodontic forces. The upper and lower first bicuspid were applied with braces 0.022 Roth System with 0.016 Nickel Titanium archwires, in all teeth, except the left upper and lower first bicuspid. The first bicuspid without braces ($t = 0$) and with braces for inducing orthodontic tooth movements during 1, 3, 5, 7 and 9 days; were extracted for analyzing the Bone Sialoprotein expression in the extracellular matrix of the periodontal ligament area. For evaluating the temporal and spatial expression of RNA messengers of Bone Sialoprotein in periodontal ligament the RT-PCR technique was carried out. The expression of Bone Sialoprotein in the experimental group was present at 1, 3 and 9 days and absent at 5 and 7 days of

* Profesor de la División de Estudios Profesionales.

§ Profesor de la Especialidad de Ortodoncia.

^{II} Profesor e Investigador.

pacial de los mensajeros de la sialoproteína ósea en el ligamento periodontal se llevó a cabo la técnica RT-PCR. La expresión de la sialoproteína ósea en el grupo experimental disminuyó su expresión al día 3, con nula expresión en el día 5 y 7; y nuevamente expresándose de manera importante al día 9 cuando el premolar llegó a la posición final y se inició el proceso de mineralización de la matriz orgánica del periodonto. Estos resultados nos sugieren que los movimientos ortodónticos generan cambios que son susceptibles en las concentraciones del mensajero de la proteína en el tiempo de estudio. El conocer las bases moleculares en el área de la ortodoncia nos ayudará a obtener mejores resultados en los tratamientos, sobre todo en la retención, estabilidad y salud periodontal.

Palabras clave: Sialoproteína ósea, ligamento periodontal, movimientos de ortodoncia.

Key words: Bone sialoprotein, periodontal ligament, orthodontic forces.

INTRODUCCIÓN

La matriz extracelular ocupa el espacio existente entre las células de todos los tejidos, el contenido, forma y constitución de la misma varían de uno a otro.¹⁻³ El movimiento ortodóntico de los órganos dentarios es posible gracias a la aplicación de fuerzas prolongadas y continuas que tienen como objetivo principal la corrección de la maloclusión. Sin embargo, existen fuerzas ligeras y continuas naturales como por ejemplo la de los labios, mejillas o la lengua sobre los órganos dentarios, las cuales tienen la misma capacidad que las fuerzas ortodónticas para provocar el desplazamiento de los dientes a una posición diferente.⁴⁻⁶

Durante el movimiento dental se desencadenan una serie de reacciones intra e intercelulares que en el tratamiento es una respuesta deseada, pues de esta forma inicia la aposición y reabsorción del hueso alveolar y ligamento periodontal (LPD) en la dirección dictada por las fuerzas mecánicas empleadas.⁷⁻⁹

Las fuerzas de menor intensidad son compatibles con el mantenimiento de las células del ligamento periodontal y provocan una remodelación adecuada de los alvéolos dentarios (reabsorción frontal) que en la gran mayoría no induce dolor; condiciones ideales que se buscan en todos los tratamientos de ortodoncia.¹⁰⁻¹² Las fuerzas generadas dentro del propio LPD pueden producir el movimiento de los dientes, ya que los mecanismos de la erupción dependen de acontecimientos metabólicos que se producen en el LPD, incluyendo la formación, el establecimiento de enlaces cruzados y el acortamiento durante la maduración de las fibras de colágeno.¹³⁻¹⁵ Estas fuerzas causan una adaptación celular que se traduce en la expresión de moléculas de la matriz extracelular para desencadenar diversas respuestas celulares y moleculares en el periodonto.¹⁶

La gama de proteínas de la matriz extracelular del periodonto es extensa, desde estructurales como la

experimental test, suggesting that orthodontic tooth movements will produce significant changes and these changes will be susceptible in the concentrations of the mRNA of Bone Sialoprotein.

colágena tipo I, de adhesión como la fibronectina, receptoras como las integrinas y las fosfoproteínas como la sialoproteína ósea, que en conjunto ejercen la función de modular el crecimiento, migración, proliferación y diferenciación celular.¹⁷⁻²¹ La sialoproteína ósea (BSP), generalmente se considera un marcador de diferenciación celular que se codistribuye y se acumula en los frentes de mineralización del hueso alveolar, en las líneas de crecimiento del cemento radicular y entre los espacios de las fibras de colágena mineralizadas del LPD. La BSP es una fosfoproteína altamente glicosilada y sulfatada que se encuentra exclusivamente en tejidos conectivos mineralizados. Esta proteína se caracteriza por tener un dominio de arginina, glicina, aspártico (RGD); involucrado en promover la adhesión celular por medio de receptores a integrinas localizados en la superficie celular. Se propone que los aminoácidos de ácido glutámico presentes en esta proteína son los que están involucrados en la unión a calcio, a los cristales de hidroxiapatita así como a la nucleación del cristal.²²⁻²⁴

El movimiento ortodóntico solamente es posible por causa de la plasticidad que existe en la matriz extracelular del periodonto, pero es mucho más compleja que la mera remodelación. El tratamiento ortodóntico requiere la reabsorción y aposición de nuevo hueso, ligamento y probablemente de cemento radicular adyacente a la estructura radicular de los órganos dentarios, sin embargo aún son desconocidos muchos de los procesos celulares involucrados cuando existen movimientos ortodónticos. Investigaciones recientes han confirmando que cuando se aplican fuerzas ortodónticas se suele activar el reclutamiento de células pluripotenciales localizadas en la matriz extracelular del ligamento periodontal.³⁻⁶ Esta respuesta celular actualmente toma relevancia en los tratamientos de ortodoncia porque se desconocen las moléculas que intervienen en los procesos de regeneración y remo-

delación de la matriz extracelular tanto del ligamento periodontal, hueso alveolar y cemento radicular, después de que se han aplicado fuerzas ortodóncicas.^{24,25} Por ello, el objetivo de este estudio es analizar los niveles de expresión del gen de la proteína no colágena involucrada en la nucleación de los cristales de hidroxiapatita (sialoproteína ósea) cuando se someten premolares a fuerzas ortodóncicas a tiempos de 1, 3, 5, 7 y 9 días.

MATERIAL Y MÉTODOS

SELECCIÓN DE PACIENTES Y APLICACIÓN DE APARATOLOGÍA

Para realizar este estudio, se reclutaron 50 pacientes sanos de ambos sexos, mayores de edad que acudían a la Clínica de Ortodoncia de la División de Estudios de Postgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM. Su tratamiento de base contempló extracciones de primeros premolares superiores e inferiores y ellos fueron informados del estudio para su consentimiento. A los 50 pacientes, divididos en grupos de 10 para cada tiempo experimental (1, 3, 5, 7 y 9 días), se les colocó aparatología fija prescripción Roth 0.022 x 0.028, con un arco Sentalloy calibre 0.016 NiTi (GAC). La aparatología se aplicó en todos los dientes de ambas arcadas con excepción de los premolares superiores e inferiores izquierdos, los cuales actuaron como grupo control (tiempo cero). Los premolares superiores derechos fueron considerados como el grupo que fue sometido a presión ortodóncica (grupo experimental). A dichos premolares se les colocó el bracket con una angulación de 30° hacia distal respecto al plano oclusal del paciente. Dicho bracket se ligó al arco con un módulo elastomérico (marca GAC) y el diente se sometió a una presión ortodóncica constante calibrada alrededor de los 80 gramos de fuerza durante 1, 3, 5, 7 y 9 días. Al término de cada tiempo en que se dejaron actuar las fuerzas ortodóncicas de la aparatología, fueron extraídos los premolares superiores e inferiores tanto derecho (experimental) como izquierdo (control).

EXTRACCIÓN DENTAL

La extracción de los premolares de los pacientes se llevó a cabo en la Clínica de Periodoncia de la misma institución a 1, 3, 5, 7 y 9 días después de haber colocado la aparatología.

La extracción se realizó utilizando 1.8 mililitros de anestésico lidocaína con epinefrina (36 mg/0.025 mg,

Uniseal) luxando el órgano dentario con un elevador recto No. 301 m y manipulando con fórceps No.150. Los premolares extraídos se colocaron en nitrógeno líquido para su conservación y posterior utilización para el aislamiento del RNA.

AISLAMIENTO DE RNA

Premolares bajo movimientos ortodóncicos durante 1, 3, 5, 7 y 9 días y sin movimientos ortodóncicos fueron extraídos para analizar la expresión del gen que codifica para la sialoproteína ósea de la matriz extracelular del periodonto. Una vez extraídos los premolares, se procedió a retirar el tejido periodontal unido a las zonas, media y apical de los premolares por medio del raspado con una hoja de bisturí. El tejido fue homogeneizado en 1 µL de *trizol* (Gibco BRL) para llevar a cabo la extracción del RNA total siguiendo las instrucciones del fabricante. El RNA total se incubó con DNAasa libre de RNAasas (Boehringer Mannheim Biomedicals, IN) con el fin de garantizar que no exista contaminación de DNA genómico. El RNA fue cuantificado por densitometría óptica a 260 nm y utilizado posteriormente para la técnica de RT-PCR.

RT-PCR

Para determinar la expresión temporal y espacial del mensajero de la sialoproteína ósea de la matriz extracelular del periodonto bajo movimientos ortodóncicos durante 1, 3, 5, 7 y 9 días, llevamos a cabo la técnica de RT-PCR. Se utilizó el kit SuperScript One-Step RT-PCR (Invitrogen, Carlsbad, CA) para la transcripción de la cadena complementaria a partir de 1 µg de RNA total de cada muestra siguiendo las especificaciones del fabricante. Para generar el templeado de cDNA el RT se llevó a cabo usando los oligos específicos para la sialoproteína ósea: oligo en dirección sentido 5'AAAGTGAAGSSSGCGACGAGG3' y oligo en dirección antisentido 5'CCCCTTGTA-GCTGTATTGCG3' a una temperatura de 45 °C por 30 minutos y un ciclo de 94 °C por 2 minutos. El cDNA se amplificó bajo el siguiente programa de PCR: 94 °C durante 1 minuto (desnaturalización), temperatura de alineamiento de los oligos para la BSP a 55 °C durante 1 minuto y extensión a 72 °C por 1 minuto, hasta completar 35 ciclos. Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 1.2%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados bajo un transiluminador de luz ultravioleta. Las imágenes se fotodocumentaron con el sistema EDAS 290 (Kodak, USA).

RESULTADOS

La *figura 1* muestra una fotografía representativa de los premolares que fueron sujetos a la colocación de la aparatología (grupo experimental) para inducir la tensión ortodóncica durante 1, 3, 5, 7 y 9 días. La imagen corresponde al premolar superior derecho donde se puede apreciar el grado de angulación con respecto al plano oclusal que fue de 30° . Durante el estudio tanto en el grupo de premolares control correspondientes al tiempo cero, como en el grupo de premolares experimentales, no presentaron cambios clínicamente observados en el grosor del ligamento periodontal durante el tiempo de estudio que se aplicaron las fuerzas ortodóncicas.

En la *figura 2* se puede apreciar la expresión del gen que codifica para la sialoproteína ósea (BSP) en el ligamento periodontal al aplicar fuerzas ortodóncicas durante 1 a 9 días. El gen que codifica para la BSP se puede visualizar en el gel de electroforesis con un peso molecular de 380 pares de bases aproximadamente. Los resultados durante los días de aplicación de las fuerzas ortodóncicas indican que la BSP disminuye su expresión a los 3 días de aplicar la aparatología. La disminución en la expresión del gen que codifica para la BSP continúa alrededor del 5^{to} y 7^{mo} día del tratamiento. Posteriormente la expresión de la BSP al 9^{no} día de tratamiento aumenta incluso con una mayor presencia que al 1^{er} día del estudio, cuando aún no existe un cambio considerable en el ligamento periodontal debido al tratamiento.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio indican que al aplicar fuerzas ortodóncicas en premolares con la presencia de aparatología durante 1 a 9 días, se produce un cambio significativo en la expresión del gen que codifica para la sialoproteína ósea en el ligamento periodontal. La respuesta de ligamento periodontal ante las fuerzas ortodóncicas dependerá de la magnitud de ellas. La aplicación de fuerzas de gran intensidad provocará una rápida aparición de dolor e incluso la aparición de necrosis de algunos elementos de la membrana periodontal y en ocasiones hasta la reabsorción del hueso alveolar y cemento radicular cercano al diente afectado.^{16,23,25} En nuestro estudio, la fuerza aplicada para inducir movimientos ortodóncicos en los órganos dentarios fue de 80 gramos, la cual fue capaz de inducir cambios significativos en el LPD, sin presencia de necrosis ni dolor en los sujetos de estudio. Dichos cambios fueron analizados por determinar la expresión del gen que codifica para la sialoproteína ósea a diferentes días del tratamiento ortodóncico.

La BSP es una proteína que constituye del 8 al 12% del total de proteínas no colágenas del hueso alveolar, cemento radicular y algunas subpoblaciones del LPD. El observar una disminución en la expresión del gen que codifica para la BSP al tercer día y su nula

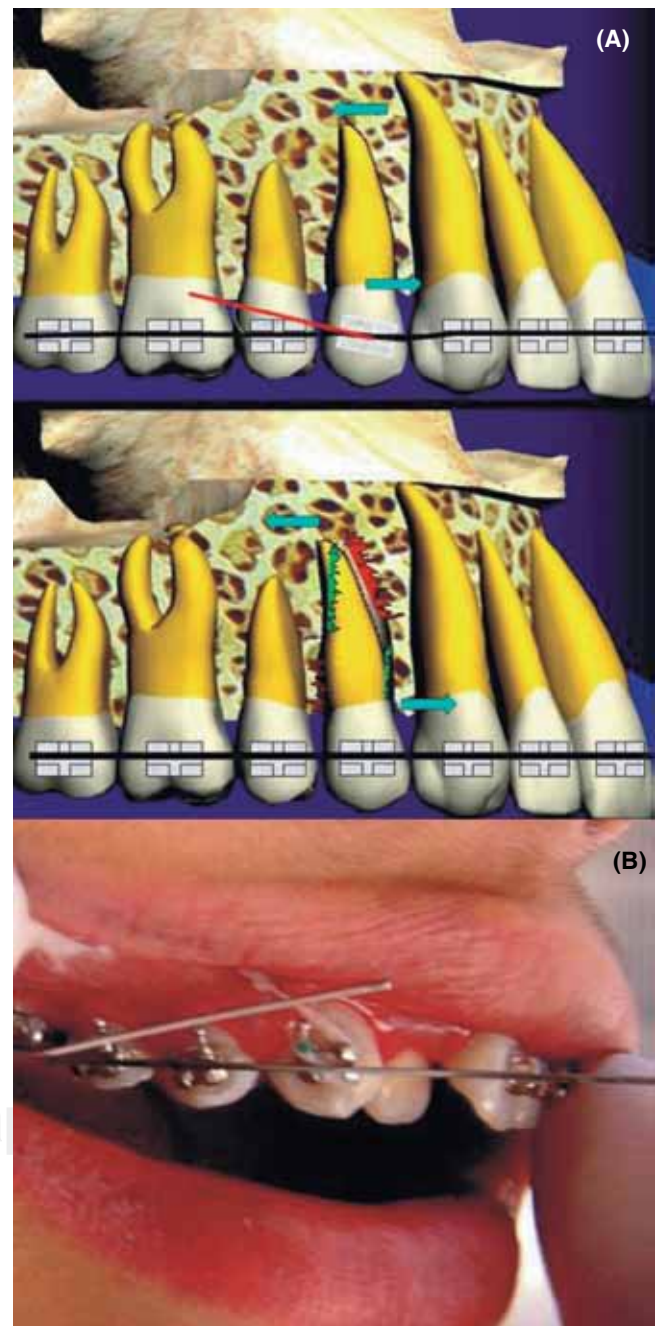


Figura 1. Esquema (A) y foto (B) que ilustra la colocación del bracket con la angulación de 30° hacia distal respecto al plano oclusal del paciente.

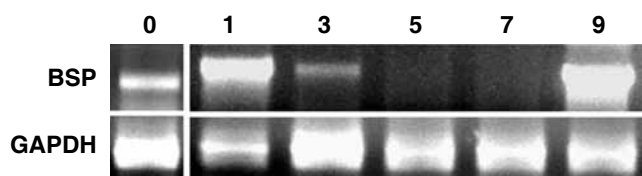


Figura 2. Expresión del gen que codifica para sialoproteína ósea a diferentes días de tratamiento ortodóncico. Control interno del gen que codifica para la GAPDH.

expresión en el quinto y séptimo día se puede asociar a la remodelación que sufre la matriz extracelular del periodonto como consecuencia de la aplicación de la fuerza de 80 gramos. La remodelación de la matriz extracelular es necesaria para que el órgano dentario cambie de posición, lo cual indica una disminución en el proceso de biomineralización de la matriz extracelular. Sin embargo, la expresión de BSP aumenta de manera significativa al noveno día, lo cual nos habla que en esta etapa el órgano dentario está llegando a la posición final que le fue inducida por la aplicación de la fuerza ortodóncica y dictada por la aparatología (arco y bracket). Dicho aumento en la expresión puede asociarse a la fase primaria del proceso de mineralización para mantener los elementos de anclaje del órgano dentario en su alvéolo. Esta expresión nos indica el papel tan importante que juega la BSP en el proceso de mineralización debido a que es una molécula que puede estar involucrada en el reclutamiento de células progenitoras que darán origen a los linajes periodontales por medio de su secuencia RGD (Arg-Gly-Asp) involucrada en la adhesión celular por medio de receptores a integrinas. Así mismo durante este tiempo experimental puede estar jugando su papel más destacado, llevar a cabo la nucleación de cristales de hidroxiapatita y la fijación de iones de Ca^{++} en los frentes de mineralización de la matriz extracelular del hueso alveolar, cemento radicular y de las fibras de Sharpey del ligamento periodontal para darle mayor sostén al diente. Esto nos indica el periodo en el que se encuentra el proceso de mineralización debido a que la BSP se expresa en los periodos iniciales de la mineralización. Por otro lado, se puede establecer una relación entre el periodo de expresión de la BSP y la fase de movimiento del órgano dentario que involucraría el área de tensión del ligamento periodontal, así como la reabsorción y formación ósea. En la literatura existen pocos reportes que han demostrado el efecto de las fuerzas ortodóncicas sobre el ligamento periodontal y la expresión del mensajero de la BSP. Sin embargo, estos estudios están realizados en cortes de tejidos y en especies distintas al ser humano (xxx).

Nuestros resultados concuerdan con lo reportado con los modelos animales (ratón) donde por medio de hibridación *in situ* observan un cambio en la expresión del mensajero de la BSP al inducir movimientos ortodóncicos.^{22,23}

CONCLUSIONES

Nuestros estudios indican que existen cambios a nivel molecular en la matriz del periodonto sensible al tiempo de inducción del movimiento del órgano dentario cuando se utiliza aparatología fija y una fuerza de 80 gramos.

Los cambios a nivel molecular fueron determinados por la técnica de RT-PCR para el gen que codifica a la sialoproteína ósea, la cual refleja que la matriz del periodonto puede responder de manera similar entre las subpoblaciones celulares del ligamento periodontal, hueso alveolar y cemento radicular.

La expresión de la BSP sugiere una doble participación en los procesos ortodóncicos, participando en los procesos de reclutamiento de células progenitoras y en la formación de nueva matriz mineralizada del periodonto. Además, este estudio pretende contribuir a unir los eslabones sueltos sobre la comprensión del mecanismo exacto del remodelado de los tejidos periodontales que involucra a moléculas de la matriz extracelular del periodonto, para que en un futuro próximo se puedan diseñar estrategias terapéuticas que ayuden a facilitar los movimientos dentales, disminuyendo los riesgos de resorción radicular y lograr una buena estabilidad y retención de los órganos dentarios, pues estos factores (proteínas de matriz extracelular) pueden ser los determinantes en el éxito de los tratamientos en todos los casos, independientemente de la filosofía o técnica empleada.

REFERENCIAS

1. Hassel T. Tissues and cells of the periodontum. *Periodontologi* 2000; 3: 9-38.
2. Quian H et al. The influence of PDL principal fibers in a 3 - dimensional analysis of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* September 2001; 120 (3): 272-279W.
3. Garant PR. *Oral cells and tissues*. Editorial Quintessence Canada 2003.
4. Proffit. *Ortodoncia contemporánea*. 3ª Edición. Ed. Harcourt. España 2001.
5. Norton LA. *The biology of tooth movement*. Editorial CRC Press. Florida 1989.
6. Grieve WG. Prostaglandin E (PGE) and interleukin- 1 (IL-1) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1994; 105: 369-74.
7. Abbas HM. Leukotrienes in orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1989; 95: 321-329.
8. Mayumi S, Shigeru S. Interleukina 1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical

- stress *in vivo* and *in vitro*. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1991; 99: 226-40.
9. Najat A, Lars F. Orthodontic tooth movement and de novo synthesis of proinflammatory cytokines. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 2001; 119: 307-12.
 10. Davidovitch Z, Shanfeld L. Cyclic AMP in alveolar bones of orthodontically- treated cats. *Arch Oral Biol* 1975; 20: 567-574.
 11. Kui FM. Study of the effects of PGE CH! On orthodontic tooth movement. *J Jpn Orthod Soc* 1992; 51: 148-152.
 12. Collins MK. The local use of vitamin D t increase the rate of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1988; 94: 278-284.
 13. Bumman A et al. Collagen synthesis from human PDL cells following orthodontic tooth movement. *Eur J Orthod* 1997 Feb; 19(1): 29-37.
 14. Meir R et al. Expression of trophoelastin in human periodontal ligament fibroblasts after stimulation of orthodontic force. *Archives of Oral Biology* 2004; 49: 119-124.
 15. Deguchi T et al. Galanin-immunoreactive nerve fibers in the periodontal ligament during experimental tooth movement. *J Dent* 2003; 82 (9): 677-681.
 16. Reyna J, Grageda E et al. *Gene expression induced by orthodontic tooth movement and/or root resorption. Biological mechanisms of tooth eruption and movement*. Edited by Davidovitch 2006.
 17. Ong MMA. Periodontic and orthodontic treatment in adults. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 2002; 122: 420-428.
 18. Uematsu S, Mogi M. Interleukin (IL-1 IL-6), tumor necrosis factor-alfa, epidermal growth factor, and microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 1996; 75 (1): 562-567.
 19. Keigo H. Involvement of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 2002; 112: 306-9.
 20. Holliday LS, Vakani A. Effects of matrix metalloproteinase inhibitors on bone resorption and orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2003; 82 (9): 687-691.
 21. Magdalena CM. c-fos expression in rat brain nuclei following incisor tooth movement. *J Dent Res* 2004; 83 (1): 50-54.
 22. Ganss B, Kim RH. Bone sialoprotein. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10 (1): 79-98.
 23. Domon S, Shimokawa H. Temporal and spatial mRNA expression of bone sialoprotein and type I collagen during rodent tooth movement. *European Journal of Orthodontics* 2001; 23: 339-348.
 24. Spurrier SW. A comparison of apical root resorption during orthodontic treatment in endodontically treated and vital teeth. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1190; 97: 130-4.
 25. Jerome J, Grageda E et al. Celebrex offer a small protection from root resorption associated with orthodontic movement. *CDA Journal* Vol. 33 No. 12 Diciembre 2005.

Dirección para correspondencia:
Filiberto Hernández
 herfili@yahoo.com.mx