



Injerto gingival obtenido mediante ingeniería tisular para la cobertura de recesiones gingivales. Reporte de un caso clínico

Lorena Dávila Barrios,* Lisbeth Sosa De Jesús,** Karla Padrón Durán,*** Susana Arteaga Altuve,* Daniela Olavez Cepeda,*** Siham Salmen Halabi,**** Eduvigis Solórzano Navarro*****

RESUMEN

En el tratamiento de las recesiones gingivales el injerto de tejido conectivo ofrece una alternativa a partir del cultivo celular de fibroblastos que reduce las limitaciones del uso de la técnica convencional. **Objetivo:** Evaluar el comportamiento clínico de un injerto de tejido conectivo autólogo desarrollado a partir de fibroblastos gingivales cultivados y sembrados en membranas de colágeno. **Metodología:** Se reporta el caso de una paciente de 35 años, respirador bucal que al examen clínico presentó biotipo delgado III, recesión gingival clase II de Miller en el 13 sondaje periodontal de 1 mm, malposición dentaria e índice de O'Leary de 30%. El plan de tratamiento incluyó fase inicial desinflamatoria, una semana después de la fase higiénica se planificó la obtención de una muestra de tejido gingival para un cultivo de fibroblastos gingivales autólogos incubados durante ocho semanas y sembrados en un scaffold de colágeno bovino. Posteriormente se efectuó la cobertura radicular del 13, realizando un colgajo desplazado coronal para cubrir el tejido injertado. **Resultados:** A 15 días de postoperatorio se logró una cobertura radicular de 90%, con una ganancia de 3 mm de inserción clínica y la cicatrización completa sin rechazo inmunológico evidente evaluado al año. **Discusión:** Se coincide con algunos autores en que los injertos con cultivos de tejido autólogo pueden aplicarse con éxito y sin rechazo. **Conclusión:** Este estudio demostró que la longevidad de los injertos gingivales, a partir de análogos de tejido conectivo desarrollados mediante un cultivo de fibroblastos y scaffold de colágeno, produce resultados favorables, predecibles y estéticos.

Palabras clave: Recesión gingival, injerto autólogo, ingeniería tisular.

ABSTRACT

*In the treatment of gingival recession, the connective tissue graft from fibroblast cell culture offers an alternative that reduces the limitations of using the conventional technique. **Objective:** To evaluate the clinical behavior of a graft of autologous connective tissue, developed from gingival fibroblasts, cultivated and seeded in collagen membranes. **Methodology:** The case of female patient 35 years respirator oral clinical examination showed thin biotype III, class II gingival recession Miller in the 13, 1 mm of periodontal probing, tooth malposition and O'Leary rate of 30% is reported. The treatment plan included initial phase-inflammatory, a week after the hygienic phase, obtaining a sample of gingival tissue to a culture of autologous gingival fibroblasts incubated for eight weeks and planted in a scaffold bovine collagen is planned. Later the root coverage of 13 was carried out, making a coronal displaced flap to cover the grafted tissue. **Results:** At 15 days after surgery root coverage of 90% was achieved, with a gain of clinical attachment 3mm, complete healing, with no obvious immune rejection evaluated to 1 year. **Discussion:** We agree with some authors that grafts with cultured autologous tissue can be successfully applied without rejection. **Conclusion:** This study showed that the longevity of gingival grafts from analogous connective tissue, developed by culture of fibroblasts and collagen scaffold, produces favorable, predictable and aesthetic results.*

Key words: Gingival recession, autologous graft, tissue engineering.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal, las deficiencias mucogingivales y periimplantares pueden generar secuelas que ameritan ser tratadas para restablecer y devolver la anatomía, función y estética de los tejidos periodontales perdidos. Dentro de las alteraciones mucogingivales más frecuentes se encuentran las recesiones gingivales, definidas como «la exposición de la superficie radicular del diente al medio bucal causada por la migración de la encía marginal y del epitelio de unión en sentido

* Profesor Titular Cátedra de Periodoncia. Grupo de Investigación en Bioseguridad. Facultad de Odontología.

** Profesor Asistente Cátedra de Periodoncia. Grupo de Investigación en Bioseguridad. Facultad de Odontología.

*** Profesor Agregado Cátedra de Histología. Grupo de Investigación Biopatológica. Facultad de Odontología.

**** Profesor Titular Directora del Instituto de Inmunología Clínica Dr. Luis Pasteur ULA, Facultad de Medicina.

***** Profesor Titular Cátedra de Histología. Grupo de Investigación Biopatológica. Facultad de Odontología.

apical». ^{1,2} La prevalencia de condiciones clínicas como recesiones gingivales, biotipos delgados y poca cantidad de encía insertada requieren tratamientos destinados a incrementar el grosor del tejido gingival para aumentar el ancho de encía insertada y cubrir raíces expuestas por migración del margen gingival. En este sentido, las técnicas quirúrgicas más utilizadas en el tratamiento de recesiones gingivales son los injertos gingivales autólogos. ²⁻⁴

Los injertos gingivales autólogos pueden ser libres o injertos de tejido conectivo subepitelial, en los que el paciente es intervenido en dos áreas distintas (zona donante y zona receptora), siendo la mucosa palatina por lo regular la zona donante. ³ Una de las limitaciones reportadas en estudios clínicos es la necesidad de que exista un adecuado espesor de la mucosa donante, ⁵ en algunas situaciones clínicas esta condición puede no presentarse, lo que reduce las posibilidades de cubrir áreas extensas en pacientes afectados por recesiones gingivales múltiples. Estas limitaciones han motivado que muchas investigaciones ^{6,7} estén orientadas a generar sustitutos de tejido gingival de tipo aloinjertos, lo que ha permitido el desarrollo de alternativas como la matriz dérmica acelular (MDA), ^{3,4} láminas de queratinocitos cultivados, ⁸ tejido conectivo *in vitro* ⁶ y análogos de mucosa bucal. ⁹

En Venezuela se ha desarrollado un sustituto biológico de conectivo gingival como una alternativa de tratamiento aplicable que emplea técnicas de ingeniería tisular, aportando de esta manera una terapéutica de vanguardia en aquellos casos en los que las condiciones clínicas del paciente limiten el uso de técnicas convencionales. En este sentido, se presenta un reporte de caso clínico cuyo objetivo es evaluar el comportamiento clínico de un injerto de tejido conectivo autólogo desarrollado a partir de fibroblastos gingivales cultivados y sembrados en membranas de colágeno.

DESCRIPCIÓN DEL CASO www.medigraphic.com

Se reporta el caso de una paciente de 35 años de edad, caucásica, que acude a la Cátedra de Periodoncia en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela. Se encontraba sana sistémicamente, refirió tener habito de respirador bucal y sufrir de hipersensibilidad dentinaria en zona anterosuperior. Al examen clínico presentó biotipo delgado III en ambos maxilares, con recesión

gingival de 4 mm en el órgano dentario #13 correspondiente a clase II según la clasificación de Miller y compatible con RT1 A⁺ de acuerdo con la clasificación de Cairo. ⁶ Se registró un sondaje periodontal realizado con una sonda periodontal Carolina del Norte (*Hu-Friedy*®) de 1 mm en la unidad dental 13 y entre 2 y 4 mm en el resto de los cuadrantes, presentó además malposición dentaria y un índice de biopelícula dental de O'leary de 30% (*Figura 1*). Cabe destacar la existencia de una translucidez de la eminencia radicular hacia apical del canino. Igualmente, se indicó un examen radiográfico periapical completo con técnica paralela, el cual reveló pérdida ósea localizada en sector anteroinferior (*Figura 2*).

Tratamiento

Luego de la evaluación clínica-radiográfica y previo consentimiento informado por parte de la paciente, según lo establecido en la declaración de Helsinki (2008) promulgada por la Asociación Médica Mundial (AMM) como una propuesta de principios éticos para la investigación médica en seres humanos, se solicitaron exámenes paraclínicos (perfil hemático, plaquetas, glicemia, tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina, VDRL, VIH, los cuales resultaron normales y/o negativos). El tratamiento



Figura 1. Foto inicial. Recesión gingival clase II de Miller de 4 mm.

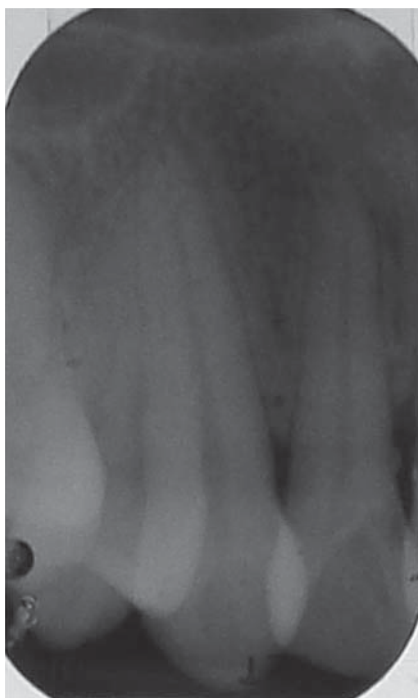


Figura 2. Imagen radiográfica periapical con técnica paralela zona canino superior.

consistió en una fase inicial (fase I o higiénica) que incluía controles de biopelícula dental, enjuagues con clorhexidina (peridont®), tartrectomía supragingival, raspado y alisado radicular, profilaxis y férula oclusal nocturna; reevaluación de la fase I, una fase quirúrgica en la cual se planifica un injerto gingival a partir de un cultivo de fibroblastos autólogos y una fase de mantenimiento periodontal (terapia de soporte) cada dos meses, con un diagrama de riesgo de recidiva bajo.

Toma de la muestra para cultivo celular de fibroblastos gingivales

Al cabo de ocho días de finalizar la fase inicial se planificó la obtención de una muestra de tejido gingival para la realización de un cultivo celular de fibroblastos gingivales autólogos, previamente se premedicó con amoxicilina de 500 mg vía oral, cuyo esquema consistió en una toma de 2 g una hora antes del procedimiento, con la finalidad de reducir la carga bacteriana antes de la toma de la muestra del tejido que sería posteriormente cultivado y así evitar el crecimiento bacteriano creando las condiciones

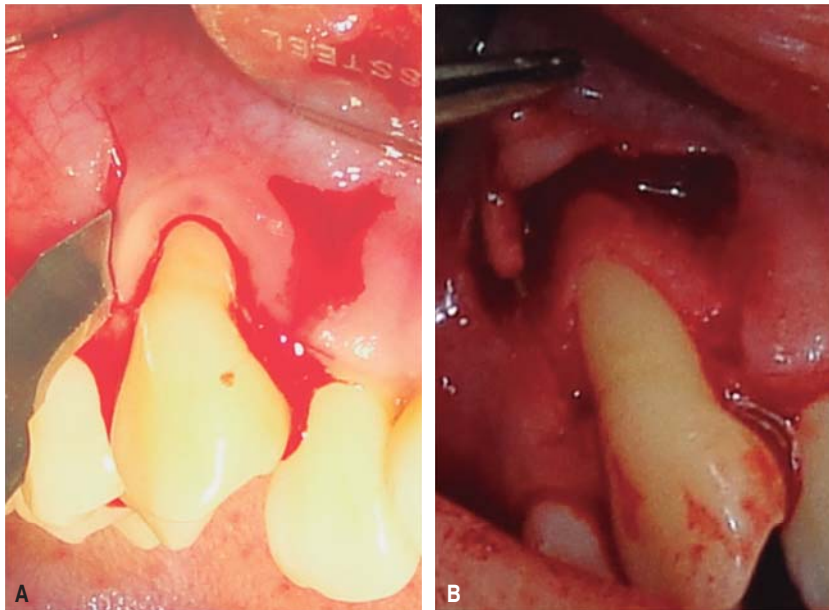
más apropiadas para la siembra celular. Para el procedimiento de obtención del tejido, la paciente se enjuagó con 7.5 mL de clorhexidina al 0.12% durante dos minutos, a continuación se colocó anestesia infiltrativa lejos de la zona a intervenir con lidocaína al 2% (rapicaine®) y se procedió a la escisión de un fragmento de encía mediante una cuña distal de la zona retromolar en la unidad dental 18, siguiendo el protocolo establecido por Padrón et al.¹⁰ La muestra de tejido obtenida fue lavada con solución fisiológica, se eliminó la capa de tejido epitelial y fue almacenada en microtubos de 1.5 mL con medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) para ser transportada hasta el laboratorio de cultivo.

En el laboratorio del Instituto de Inmunología Clínica de la Universidad de Los Andes «Dr. Luis Pasteur» se procedió al protocolo de aislamiento, purificación y cultivo de fibroblastos durante seis semanas hasta obtener confluencia, se llevaron a cabo ensayos de viabilidad, pureza y caracterización por inmunofluorescencia y citometría, previamente estandarizados en estudios realizados por este mismo equipo de investigadores^{10,11} para posteriormente ejecutar la siembra de los fibroblastos cultivados en una malla (*scaffold*) de colágeno bovino tipo I de uso odontológico (membracel®) durante dos semanas, permitiendo la proliferación e integración de los fibroblastos al *scaffold*.^{7,11,12}

Injerto de conectivo gingival obtenido mediante ingeniería tisular

Obtenido el análogo de tejido conectivo, se planificó la fase quirúrgica para la cobertura radicular de la unidad dental 13 mediante colocación del injerto y se indicaron los exámenes paraclínicos correspondientes. Bajo anestesia infiltrativa con lidocaína al 2% se procedió a la cirugía mucogingival que consistió en el levantamiento de un colgajo desplazado coronal de espesor parcial, mediante dos incisiones horizontales en la base de cada papila y dos incisiones verticales de alivio en mesial y distal del 13, técnica descrita en 1985 por Langer y Langer, para lo cual se utilizó una hoja de bisturí de Bard-parker N° 15 (Gaesca®) (*Figura 3A y 3B*).

Posteriormente, se preparó la superficie radicular mediante la colocación de tetraciclina (doxiciclina® 100 mg) en polvo durante dos minutos, luego se irrigó la zona con solución fisiológica, a continuación se colocó en un vaso *dappen* el injerto de fibroblastos gingivales (*Figura 4*), mismo que se posicionó en la

**Figura 3.**

A. Colgajo desplazado coronal, incisiones horizontal y vertical. **B.** Levantamiento de colgajo de espesor parcial.

zona receptora (*Figura 5*), en seguida se reposicionó el colgajo hacia coronal y se suturó con seda negra 3-0 (SEDA-SILK ETHICON®) (*Figura 6*). Debido a que ésta posee elevada resistencia tensil, no se utilizó sutura reabsorbible para controlar la estabilidad del colgajo y del *scaffold* en los próximos 15 días. Para controlar la acumulación de biopelícula se indicó al paciente enjuagues con clorhexidina durante el postoperatorio. Finalmente se explicaron y entregaron al paciente las indicaciones postquirúrgicas.

Seguimiento clínico

Finalizado el procedimiento, se programó un seguimiento clínico que se describe a continuación: en la *figura 7* se observa una cobertura completa de la recesión después de 15 días, con ganancia de 3 mm de inserción clínica, ligero edema en encía marginal hacia mesial, textura lisa, puntilleo de la encía disminuido y no existe evidencia clínica de rechazo del injerto. En la valoración clínica realizada a 30 días (*Figura 8*) se aprecian ligeros cambios clínicos inflamatorios y una cobertura radicular de 90%.

Al cabo de 60 días (*Figura 9*) se observa la encía a nivel del límite amelo cementario, presenta características clínicas de normalidad en relación con los tejidos circundantes en cuanto a color, textura y consistencia. Luego de 90 días se evidencia que la posición de la encía marginal sufrió de una contracción



Figura 4. Membrana de colágeno cargada con fibroblastos autólogos.

clínica de 0.5 mm, la encía mostró características clínicas compatibles con normalidad, a excepción de un ligero edema en papila mesial ocasionado por acúmulo de placa dental (*Figura 10*). Al año de control clínico es posible constatar que la posición de la encía se conserva igual a la evidenciada después

de 90 días, el biotipo periodontal mantiene su grosor sin dejar transparentar la eminencia radicular. Asimismo, persiste un ligero edema en mesial, producto del acúmulo de biopelícula dental.

DISCUSIÓN

El caso clínico presentado demuestra el recubrimiento radicular satisfactorio de una recesión de 4

mm, en el que se logró aumentar el grosor de biotipo periodontal y la anchura de la encía insertada. Es importante destacar la longevidad del injerto gingival que en el caso reportado y bajo las condiciones de este ensayo produjo resultados favorables predecibles y estéticos, ya que el tejido injertado conservó las características clínicas normales en cuanto al color, contorno, consistencia y textura



Figura 5. Posicionamiento del injerto de fibroblastos gingivales.



Figura 6. Postoperatorio inmediato.



Figura 7. Postoperatorio 15 días.



Figura 8. Postoperatorio 30 días.

hasta el año de evaluación; además, la presencia de tejidos clínicamente sanos permitió inferir que no hubo reacción inmunitaria contra el nuevo tejido injertado, lográndose la adaptación inicial del injerto en el lecho receptor y su posterior cicatrización, lo que implica la formación de una nueva inserción alrededor del diente.

Lo anteriormente expuesto permite establecer que el proceso de cicatrización del injerto gingival obtenido mediante ingeniería tisular se ve favorecido cuando las células del propio paciente son cultivadas *in vitro*, tal y como lo demostraron algunos estudios



Figura 9. Postoperatorio 60 días.



Figura 10. Postoperatorio 90 días.

en los cuales se comprobó el comportamiento clínico de una mucosa totalmente desarrollada con queratinocitos humanos sembrados en Alloderm®¹³ y el comportamiento clínico de un tejido desarrollado sobre malla de colágeno bovino,¹⁴ mismos que fueron injertados en defectos inducidos en la mucosa bucal de perros, sus resultados, al igual que en el caso presentado no mostraron clínicamente reacción de tipo cuerpo extraño.

Estos resultados coinciden con ensayos clínicos en los que se ha demostrado que los cultivos de tejido autólogo pueden aplicarse con éxito en la reconstrucción oral y maxilofacial sin rechazo.¹⁵ Corroborados por estudios en los que se evaluaron variables como biocompatibilidad, bioestabilidad, porosidad y la capacidad para imitar la morfología normal de la mucosa bucal humana, al igual que el presente estudio se encontró que el conectivo gingival obtenido mediante ingeniería de tejido es similar a la mucosa circundante del defecto, mismo que es capaz de ser reproducible y carece de inmunotoxicidad, por lo tanto puede utilizarse como un tejido biocompatible desarrollado *in vitro*.

En el tratamiento de las recesiones gingivales existe una variedad de procedimientos quirúrgicos bien documentados, en ocasiones los resultados no cumplen con todas las expectativas deseadas. Al respecto, un reporte de varios casos¹⁴ confirma que no siempre se logra el recubrimiento radicular completo, ya que al correlacionar varias técnicas quirúrgicas para el tratamiento de recesiones gingivales y comparar el porcentaje de recubrimiento radicular entre cada técnica, el porcentaje de cobertura total varía entre 8.3 y 86%. Lo anterior puede deberse a la contracción que sufre el injerto durante la fase de maduración de la cicatrización, ya que las fibras colágenas que se han formado dentro del nuevo tejido se orientan paralelas entre sí, brindándole mayor resistencia, lo que provoca una contracción y posterior retracción del tejido injertado en comparación con su posición postoperatoria inicial.¹⁶⁻¹⁸ Lo anteriormente expuesto concuerda con las evidencias clínicas reportadas en este caso, en el que se produjo una recesión de 0.5 mm al cabo de 90 días. Al cumplir el año de control postratamiento se constató en las valoraciones clínicas sucesivas que el proceso de contracción se detuvo completamente y la encía se mantuvo a 0.5 mm del límite amelocementario.

Consideraciones finales

Para el tratamiento de alteraciones o defectos gingivales es posible utilizar sustitutos de tejido autólogo.¹⁹ En este estudio se demuestra que la ingeniería de tejidos es una opción viable para la regeneración de tejidos bucales, por lo que el cultivo de fibroblastos gingivales representa un paso inicial en la implementación de nuevas estrategias terapéuticas en nuestra región, a fin de ofrecer a los pacientes una alternativa para la restitución del tejido perdido por diversas causas.

Los cultivos celulares y siembra sobre andamios de colágeno constituyen una opción más dentro de la amplia gama de posibilidades para el tratamiento de recesiones gingivales que, bajo las condiciones de este estudio, ofrece resultados satisfactorios, estéticos y predecibles sin signos de rechazo inmunológico.

REFERENCIAS

1. Monteagudo AC, Marín GM, Habib HF, Penilla AI, Krötzsch E, Cano CS. Caracterización clínica de injertos autólogos a partir de fibroblastos gingivales crecidos sobre una matriz biológica para el tratamiento de recesiones gingivales: reporte de un caso clínico. *Rev Odont Mex.* 2009; 13 (2): 115-121.
2. Henriques P. Estética en periodoncia y cirugía plástica periodontal. Editorial Amolca; 2006.
3. Sueldo E. Aloinjerto de matriz dérmica acelular como sustituto de tejido dador palatino. *Odontología Sanmarquina.* 1998; 1(2). Recuperado el 11/11/2008, Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVrevistas/odontologia/1998_n2/aloinjerto.htm
4. Ardila CM. Recesión gingival: una revisión de su etiología, patogénesis y tratamiento. *Av Periodon Implantol.* 2009; 21 (2): 35-43.
5. Duarte C. Cirugía periodontal preprotésica, estética y periimplantar. 2da ed., Editorial Santos; 2009.
6. Bello S, Pereira R, Fontanilla M. Elaboración de tejido conectivo autólogo de mucosa oral y evaluación de su desempeño como cobertura biológica en lesiones mucosas inducidas en conejos. *Revista de la Federación Odontológica Colombiana.* 2004;20. Recuperado el 01/11/2007. Disponible en: <http://fmc.encolombia.com/odontologia/Foc-Elaboracion.htm>
7. Yamada K, Yamaura J, Katoh M, HataK, Okuda K, Yoshie Y. Fabrication of cultured oral gingiva by tissue engineering techniques without materials of animal origin. *J Periodontol.* 2006; 77 (4): 672-677.
8. Arenholt BD, Jepsen A, MacCallum DK, Lillie JH. The growth and structure of human oral keratinocytes in culture. *J Invest Dermatol.* 1987; 88 (3): 314-319.
9. Lauer G, Otten J, Von B, Schilli W. Cultured gingival epithelium: a possible suitable material for pre-prosthetic surgery. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* 1991; 19: 21-26.
10. Padrón K, Salmen S, Berrueta L, González E, Dávila L, Rojas J y cols. Purificación de fibroblastos gingivales a partir de tejido de la mucosa bucal. *Avances en Biomedicina.* 2012; 1 (1): 4-8.
11. Oláñez D, Sosa L, Padrón K, Salmen S, Berrueta L, **Dávila L** y cols. Análogo de tejido conectivo a partir de fibroblastos gingivales sembrados en membranas de colágeno comercial. *Act Biocl.* 2013; 3 (5): 83-97.
12. Hou LT, Yan JJ, Lui CM, Huang JF, Jenny SM, Wong MG, Lin P. Treatment of the gingival recession—literature review of current progress. 2005; Chin Den J. 4 (2). Recuperado el 11/11/2007. Disponible en: <http://www.ads.org.tw/newweb/UserFiles/download/244.pdf>
13. Yoshizawa M, Koyama T, Kojima T, Kato H, Ono Y, Saito C. Keratinocytes of tissue-engineered human oral mucosa promote re-epithelialization after intraoral grafting in athymic mice. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012; 70 (5): 1199-1214.
14. Sedon CL, Breault LG, Covington LL, Bishop BG. The subepithelial connective tissue graft. Part II Histologic healing and clinical root coverage. *J Contemp Dent Pract.* 2005; 6 (2): 139-150.
15. Sauerbier S, Gutwald R, Wiedmann-Al-Ahmad M, Lauer G, Schmelzeisen R. Clinical application of tissue-engineered transplants. Part I: mucosa. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17 (6): 625-632.
16. Lindhe J, Karring T, Lang N. Periodontología clínica e implantología odontológica. 2a. ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina, 2000.
17. Miller MJ, Patrick CW Jr. Tissue engineering. *Clin Plast Surg.* 2003; 30 (1): 99-103. vii.
18. Nevins M, Mellonig J. Periodontal therapy: clinical approaches and evidence of success. 1998.
19. Maynard JG Jr, Wilson RD. Physiologic dimensions of the periodontium significant to the restorative dentist. *J Periodontol.* 1979; 50 (4): 170-174.

Correspondencia:

Lisbeth Sosa De Jesús

Cátedra de Periodoncia Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes. Calle 24 entre Av. 2 y 3 edificio central, El Rectorado, Mérida-Venezuela. Tel. +58-2742402378 E-mail: lissosa25@gmail.com