
Regeneración Tisular Guiada en Periodoncia. Segunda Parte

ACONDICIONADORES RADICULARES

GLORIA NANCY ARANGO HERNANDEZ*

Arango Hernández Gloria Nancy "Regeneración Tisular Guiada en Periodoncia. Segunda Parte. Acondicionadores Radiculares", *Rev. Fac. Odont. Univ. Ant.* 7 (1): 37-42, 1995.

Arango Hernández Gloria Nancy "Guided tissue regeneration in periodontics. Second part. Root conditioners", *Rev. Fac. Odont. Univ. Ant.* 7 (1): 37-42, 1995.

RESUMEN

El tratamiento de la enfermedad periodontal por los métodos tradicionales, da como resultado una cicatrización por medio de adherencia epitelial larga. La meta de la terapia periodontal es regenerar los tejidos de soporte perdidos por el proceso de la enfermedad periodontal inflamatoria.

Se han hecho esfuerzos por lograr esta meta usando barreras físicas, reabsorbibles y no reabsorbibles, para impedir la migración epitelial y tratando la superficie radicular con varios agentes: acondicionadores radiculares y factores de crecimiento.

Las investigaciones recientes se han enfocado a la regeneración del periodonto, intentando definir los factores involucrados en la formación de nueva inserción de tejido conectivo a la superficie radicular desnuda por la enfermedad periodontal.

Después de la adhesión celular al sustrato, uno de los eventos biológicos involucrados en la regeneración tisular es la migración celular dirigida específicamente o quimiotaxis, la cual es la característica principal de muchos procesos biológicos en salud y enfermedad.

Esos eventos celulares son influenciados y regulados por factores de crecimiento. Para entender el papel regulador de estos factores en la cicatrización periodontal, es importante caracterizar su influencia involucrada en los eventos celulares críticos en el proceso de cicatrización.

Los factores de crecimiento estudiados y que han demostrado repetidamente su papel en estos procesos de cicatrización son: el factor de crecimiento beta transformante, el derivado de las plaquetas, el similar a la insulina y el básico del fibroblasto.

También son importantes como acondicionadores radiculares las siguientes sustancias: la tetraciclina, el ácido cítrico, la fibronectina y la laminina.

ABSTRACT

The treatment of periodontal disease by traditional methods results in wound healing by the formation of a long junctional epithelium. The ultimate goal of periodontal therapy is to regenerate the periodontal supporting tissues lost to the inflammatory disease process. There has been a major effort to achieve this goal by using either resorbable and nonresorbable physical barriers to impede epithelial migration or to treat diseased root surfaces with various agents: root conditioning solutions or growth factors.

Recent investigations focusing on regeneration of the periodontium have attempted to define factor involved in the formation of a new connective tissue attachment to periodontally diseased or denuded root surfaces. After cell adhesion to substrate, one of the

* Odontóloga Periodoncista
Profesora Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia
Medellín, Antioquia, Colombia

biological events involved in tissue regeneration is specific cell directed migration or chemotaxis, which is an essential feature of many biological processes in both health and disease.

These cellular events are influenced and likely to be regulated by growth factors. In order to understand the regulatory role of growth factors in periodontal healing, it is important to characterize the influences of involved growth factors on critical cellular events in the healing process. The more studied growth factors are: the beta transforming growth factor, platelet derived growth factor, insuline like growth factor and fibroblast growth factor.

Tetracycline chlorhidrate, citric acid, fibronectin and laminin are too important root conditioners.

Palabras claves: Acondicionadores radiculares, factores de crecimiento, cicatrización periodontal, Ligamento periodontal.

Key words: Root conditioners, Growth factors, periodontal healing, Wound healing, Periodontal ligament.

INTRODUCCION

La periodontitis produce cambios substanciales en la superficie radicular y la raíz es comúnmente denominada como "patológicamente expuesta".

La raíz normal es rica en colágeno, con fibras intrínsecas y extrínsecas que forman una conexión renovable al hueso alveolar adyacente. La inflamación inducida por placa bacteriana destruye esas fibras de Sharpey, permitiendo la migración apical de la inserción y del epitelio de la bolsa. Así la superficie radicular empieza a exponerse a la bolsa periodontal y al medio oral. Con la pérdida del colágeno, la superficie radicular se hipermineraliza. La placa bacteriana y los cálculos penetran el cemento a la dentina de la raíz, se presenta descalcificación y caries. La raíz contaminada es inadecuada para la regeneración periodontal con el nuevo tejido conectivo que se va a insertar. (1, 2, 3).

La etapa más crítica de la terapia periodontal regenerativa, es acondicionar la superficie radicular alterada por periodontitis, para hacerla viable a las células progenitoras, permitiendo la adhesión y proliferación de ellas. Se han usado métodos químicos y mecánicos que favorecen la aparición de las características óptimas sobre la superficie radicular.

El detartraje y el alisado radicular, se usan para remover depósitos duros, blandos y la superficie de cemento y dentina que han sido contaminados por esas sustancias tóxicas. (4, 5).

Los ácidos se han usado para remover la capa de lodo dentinario (smear layer) que queda sobre la superficie radicular luego de la instrumentación mecánica y para exponer el colágeno intrínseco de la dentina radicular y factores similares a la proteína morfogénica, que posiblemente mejoran la cicatrización.

Las proteínas de unión y los factores de crecimiento se aplican a la superficie radicular para estabilizar la unión del coágulo inicial y fomentar las células pro-

genitoras que van a repoblar la superficie radicular y el coágulo adyacente. (6, 7, 8).

ACONDICIONADORES RADICULARES

I. FACTORES DE CRECIMIENTO

Son mediadores biológicos que regulan la migración de células del tejido conectivo, la proliferación y la síntesis de proteínas y otros componentes de la matriz extracelular. Los factores de crecimiento principales son: el derivado de las plaquetas FCDP, el similar a la insulina FI, el factor Beta transformante FCBT, el factor de crecimiento básico del fibroblasto FCBF, la interleukina 1 IL1, y la interleukina 1B IL1B. Estas moléculas son liberadas por las plaquetas, el endotelio, los fibroblastos, las células del músculo liso y los macrófagos en los tejidos inflamados y en la cicatrización. Los FCDP son quimioatrayentes para los fibroblastos y neutrófilos y son un mitógeno poderoso para las células mesenquimales, actuando sinérgicamente con el FI, los FCDP promueven una síntesis general de proteínas y la producción de colágeno, proteoglicanos y otros componentes de la matriz extracelular y colagenasa. (2).

La angiogénesis se estimula por el FCBT, el FCBF y otros factores secretados por los macrófagos. El FCBT induce respuestas biológicas muy diferentes a los FCDP. Además de ser quimioatrayente para los fibroblastos y neutrófilos induce también la síntesis de fibronectina y los colágenos tipo I, II y V, inhibe la colagenasa y el activado induce la producción de los inhibidores tisulares de las metaloproteínas y estimula la actividad del osteoblasto. Como es de esperarse, todas estas moléculas probablemente entran en juego en la regeneración periodontal. (3).

Inmediatamente después de una injuria el ARN mensajero para los factores de crecimiento y sus receptores, pueden ser detectados en los tejidos. En investigaciones en animales el factor de crecimiento beta transformante dio la mejor respuesta con un

incremento de 148% de volumen nuevo de tejido conectivo y de tejido colágeno, también se aceleró la angiogénesis y la maduración.

La combinación del FCDP y del FI, mostraron un aumento del 132% del colágeno y un aumento en el espesor de nueva epidermis.

Los factores de crecimiento pueden ser de gran importancia para estimular la regeneración periodontal en humanos, pero aún deben ser realizados muchos estudios al respecto. (4, 5).

La meta de la terapia periodontal clínica es lograr la regeneración de una inserción de tejido conectivo saludable. Algunos resultados indeseables ocurren luego de la terapia periodontal y han hecho que sean un fracaso los resultados clínicos obtenidos. Son ellos: la adherencia epitelial larga, la reabsorción radicular, la anquilosis de la raíz al hueso alveolar, la reparación incompleta del ligamento periodontal y el fracaso de la reinserción de nuevas fibras del ligamento periodontal a la superficie radicular.

Los fibroblastos del ligamento periodontal juegan un papel crucial en la regeneración del periodonto, de tal forma que una temprana restauración de los fibroblastos en la lesión periodontal y la formación rápida del ligamento periodontal, son eventos críticos en la regeneración periodontal.

El uso de factores de crecimiento, los cuales funcionan como potentes mediadores biológicos, regulan numerosas actividades de la cicatrización de heridas y se sugieren para promover la regeneración periodontal. (5).

Las funciones fundamentales de los factores de crecimiento son: la mitogénesis, ser quimioatrayentes y estimulantes de la síntesis del colágeno. Se han visto estos efectos en otras células diferentes a las del ligamento periodontal y los resultados dependen del tipo de célula.

Los fibroblastos del ligamento periodontal son el único tejido conectivo con características importantes en la regeneración periodontal, diferente de los fibroblastos gingivales y de otros tejidos conectivos. En experimentos realizados en ratas, se encontró que el FCDP y el FI demostraron tener potentes efectos mitogénicos y quimiotácticos en las células del ligamento periodontal y combinados se potencian por un efecto sinérgico, por lo tanto estos factores son importantes en la promoción de la cicatrización del ligamento periodontal y puede tener aplicación clínica en la regeneración periodontal. (10).

Teniendo presente que la regeneración del aparato de inserción es el objetivo de la terapia periodontal, el potencial clínico para este tipo de terapia se ha demostrado en numerosos estudios según la migración y la proliferación de las células del ligamento periodontal. Esos eventos celulares son influenciados y deben ser regulados por los factores de crecimiento. Para entender el papel regulador de los factores de crecimiento en la cicatrización periodontal es importante caracterizar las influencias de éstos en los eventos celulares críticos en el proceso de cicatrización.

Los estudios de cicatrización han demostrado repetidamente la influencia del FCDP, la IL1, el FCBT y el FI.

El FCDP en combinación con el FI ha mejorado la cicatrización en heridas dérmicas y aumenta la regeneración del aparato de inserción en heridas periodontales. (9, 10, 11, 12).

La IL1 es un segundo factor de crecimiento que media la respuesta a las injurias y se ha visto involucrada en inflamación, proliferación y angiogénesis. La IL1 es sintetizada por una amplia variedad de células incluyendo fibroblastos del periostio, macrófagos y fibroblastos gingivales.

En tejidos de sitios activos de enfermedad periodontal, se encuentran aumentados los niveles de IL1B. En estudios in vitro se ha demostrado la habilidad de la IL1 para aumentar la proliferación de condrocitos, fibroblastos y células de músculo liso, aunque estos resultados han sido inconsistentes.

El FCBT también ha demostrado influencia en la cicatrización de heridas; es liberado en las heridas por las plaquetas y macrófagos; el tejido óseo provee uno de los mayores sitios de almacenamiento de FCBT, por lo que puede ser de especial significado en la cicatrización de heridas periodontales.

En el proceso de cicatrización el FCBT, es un modulador multifuncional de la proliferación celular, in vitro, puede estimular e inhibir diferentes tipos de células. (12, 16).

La liberación de múltiples factores de crecimiento en el sitio de la herida, permite una interacción entre ellos y provee un potencial de mecanismos reguladores en el proceso de cicatrización. Por ejemplo el FCBT y el FCDP individualmente estimulan la proliferación de fibroblastos pero en combinación inhiben la proliferación de los mismos, lo cual se puede explicar por la capacidad moduladora del FCBT sobre la respuesta proliferativa del FCDP.

Hay varios estudios que demuestran un efecto antagónico del FCBT sobre la IL1 en el estímulo de las células hematopoyéticas y linfoides, pero hay pocos estudios de este efecto sobre otras células mesenquimales y sus derivados. (12).

Teniendo la mitogénesis como un requisito inicial de la respuesta proliferativa, se hizo una investigación para caracterizar el efecto individual e interactivo de los factores: FCDP AA, FCDP BB, IL1B, FCBT sobre la mitogénesis de los fibroblastos derivados del ligamento periodontal y el resultado fue el siguiente: Se demostró que el FCDP AA y el FCDP BB, son los mayores mitógenos para esas células in vitro. El FCBT se mostró como un mitógeno relativamente débil para células del ligamento periodontal, pero modula la respuesta de las formas del FCDP. Adicionalmente la IL1 no es mitógeno para estas células en las condiciones experimentadas y en altas concentraciones es inhibitoria para la mitogénesis celular. Estos resultados sugieren que el efecto de los factores de crecimiento y sus interacciones sobre la mitogéne-

sis de las células del ligamento periodontal son complejos y pueden involucrar la regulación de la proteína y el nivel receptor.

La evidencia in vivo o in vitro acerca de los efectos del FCBT y del FCDP sobre los tejidos periodontales es muy limitada. (12, 14).

Algunos estudios han demostrado que el FCBT produce una estimulación proliferativa mínima de los fibroblastos gingivales in vitro y del FCDP sobre las células del ligamento periodontal.

Se sugiere que usándolos combinados el FCBT modula la respuesta del FCDP y que la combinación resulta en un mayor nivel de proliferación que el observado al usarse cada factor independientemente. (12).

Las células del ligamento periodontal y los fibroblastos gingivales responden diferencialmente a los FCBT y FCDP; esto se puede explicar por varios mecanismos. Ishikawa y otros sugirieron que los fibroblastos que responden al FCDP, son regulados por el FCBT, a través de dos mecanismos. Primero, el FCBT aumenta los receptores del FCDP en algunas células. Segundo, el FCBT induce FCDP Rna mensajero. Así las células son más receptivas al FCDP a través de receptores de expresión y al mismo tiempo aumenta el nivel de FCDP a través de producción. (11, 16).

En 1986 Lawrence y otros fueron los primeros en demostrar los efectos del FCBT sobre los fibroblastos y que una combinación de FCBT y FCDP producen un mayor nivel de depósito de colágeno en modelos de cicatrización que usando solamente el FCBT. (11).

Pfeilschifer y otros en 1990 demostraron que la combinación del FCBT y el FCDP tenían un efecto agregado in vitro sobre la estimulación de la aposición de matriz ósea en cráneo de ratas y que el FCBT es quimiotáctico para células como los osteoblastos. (11, 16).

Mustoe y otros encontraron que el FCBT promueve la proliferación, aumenta la profundidad y el área de nuevo tejido de granulación, el influjo de los fibroblastos y el depósito de nueva matriz en las heridas, usando la dermis del conejo. Estos resultados confirman observaciones previas de Lynch, publicadas en 1989, que el FCBT causa un incremento en el volumen de nuevo tejido conectivo, contenido y madurez de colágeno y aumento de la angiogénesis. (10, 11).

Estos hallazgos colectivos son básicos para la aplicación de FCBT en la cicatrización de heridas particularmente en los sitios de enfermedad periodontal por tener un aparente factor de potencial osteoinductivo.

Sin embargo Lynch encontró un efecto negativo del FCBT, y fue que causó marcada inflamación, diferenciación epitelial anormal y disminución del volumen epitelial celular. (10, 11, 16).

El modelo para la regeneración periodontal es: estimular las células del ligamento periodontal, los os-

teoclastos y la inhibición de células del epitelio y fibroblastos gingivales.

El FCBT tiene estas propiedades y se mejoran por la adición de FCDP. Los factores negativos mencionados como la reepitelialización de las heridas y el aumento de la respuesta inflamatoria, no son relevantes totalmente en el modelo seguido de la cirugía periodontal:

Primero, la reposición del colgajo quirúrgico para obtener el cierre primario, minimiza la reepitelialización. En efecto, evitar la migración del epitelio hacia la superficie radicular es una condición deseable para cualquier factor de crecimiento usado en la terapia periodontal regenerativa y es el primer objetivo de la regeneración tisular guiada.

Segundo, el FCBT ha sido usado en muchos modelos de cicatrización, sin consecuencias negativas. Los efectos del FCBT en los mecanismos de defensa del huésped son contradictorios, ha mostrado ser inmunosupresivo especialmente de las células T y B.

Los efectos de FCBT en la respuesta mediada de los granulocitos se mostró en trasplantes de corazón en felinos. Estudios de perfusión de órganos transplantados han mostrado que el FCBT exógeno puede controlar los PMN inducidos en la inflamación.

Se asocia también el FCBT como mediador de la inflamación en modelos de articulación sinovial con inflamación, reducida por inyección de anticuerpos al FCBT.

Hay numerosos hallazgos que sustentan investigaciones adicionales del FCBT y del FCDP, como factores coadyuvantes en la regeneración del periodonto. Con el soporte de muchos estudios anteriores, se deben hacer más investigaciones del FCBT y FCDP en modelos animales de enfermedad periodontal, para determinar la reacción de estos factores de crecimiento, cuando se usen en el medio ambiente de la cavidad oral, antes de que sean asumidas respuestas negativas, como se ha reportado anteriormente en el uso del FCBT en heridas abiertas. (12, 14, 16, 20).

CONCLUSIONES

Aún falta mucho por conocer sobre los mecanismos reguladores de los factores de crecimiento en la cicatrización periodontal, que pueden ser críticos en la optimización de la terapia periodontal regenerativa, pero revisando la literatura actual de los factores de crecimiento, se puede concluir lo siguiente:

Son muy prometedores los hallazgos que se han visto en los modelos de investigación, in vitro y en animales, aún siendo inconsistentes algunos estudios y a veces contradictorios.

El estudio de los factores de crecimiento tiene un papel importante como mediadores en la regeneración periodontal, que es lo que en primer término se busca con el tratamiento.

Debemos seguir pendientes de los resultados obtenidos en las investigaciones con estos factores, porque,

aunque no están disponibles en el medio para utilizarlos en la práctica clínica, siguen siendo objeto de investigación y se espera que en el futuro se logren buenos resultados y puedan aplicarse clínicamente en el tratamiento regenerativo de las patologías periodontales.

II. OTRAS SUSTANCIAS CON POTENCIAL REGENERATIVO

1. TETRACICLINA

La tetraciclina se ha usado en procedimientos regenerativos periodontales.

Se han encontrado muchos tipos de bacterias causantes de las enfermedades periodontales susceptibles a la tetraciclina.

La tetraciclina puede actuar reduciendo la actividad colagenolítica gingival, incrementa la adherencia de fibroblastos y su dispersión por la raíz, disminuye la adherencia de células epiteliales, descalcifica la superficie dentinal y remueve el lodo dentinario abriendo los túbulos. (13).

Se ha sugerido en diferentes estudios que el acondicionamiento de la superficie radicular con tetraciclina puede facilitar la cicatrización de la interfase tejido duro - tejido blando. El clorhidrato de tetraciclina posee la propiedad de la sustantividad que le da la capacidad de unirse a la dentina y al esmalte. (22).

Es adsorbida al esmalte y a la dentina y liberada lentamente durante la cicatrización inicial, lo cual puede contribuir a la formación de nueva inserción de tejido conectivo. Esta mejora en la cicatrización se da por el logro de una superficie radicular más apropiada como sustrato para las células mesenquimales y por la actividad antimicrobiana del antibiótico. (23).

Diferentes estudios histológicos han concluido que el acondicionamiento radicular con ácido cítrico o tetraciclina, con o sin aplicación de fibronectina, mejoran la cantidad de tejido conectivo de reparación, pero con ninguno de ellos se encuentra diferencia en el patrón de anquilosis y reabsorción radicular en animales. Por lo tanto se requiere investigación adicional para determinar el verdadero lugar del acondicionamiento radicular con tetraciclina y ácido cítrico en los procedimientos de regeneración periodontal. (13, 15, 16).

2. ACIDO CITRICO

El principio del aumento de la cementogénesis en las superficies radiculares supracrestales después de la desmineralización con ácido cítrico fue introducido por Register y Burdick en 1975, ellos demostraron que los túbulos dentinarios se ampliaron o abrieron por medio de una solución saturada de ácido cítrico ph 1 aplicada de 1 a 3 minutos, facilitando el anclaje de las fibras colágenas expuestas de la superficie radicular, con las fibras de tejido conectivo de la encía

o el anclaje mecánico de las fibras de la encía en estos túbulos abiertos lo que denominaron pines cementarios. (15).

El alisado radicular antes del acondicionamiento con ácido cítrico se consideró esencial para exponer las fibras colágenas, las cuales supuestamente facilitan la adhesión de fibrina y de los componentes del coágulo sanguíneo a la superficie radicular. El ácido cítrico también ha demostrado la capacidad de remover el "lodo dentinario", detoxificar la raíz y ser antibacterial. (6, 7, 8).

Frecuentemente se ha encontrado nueva inserción de tejido conectivo en estudios en animales. En humanos los resultados han sido contradictorios. Aunque el uso del ácido cítrico es seguro hay posibilidades de encontrar reabsorción radicular, así pues, su uso debe ser cuidadoso por ser aún inciertos sus beneficios. (17, 18).

3. FIBRONECTINA

Las glicoproteínas específicas de unión y los factores plasmáticos pueden ser el sustrato esencial para las interacciones celulares y moleculares básicas entre los fibroblastos y las superficies radiculares. La fibronectina es una glicoproteína no colágena del plasma sanguíneo que parece tener el potencial de retardar la migración epitelial. Actúa en diferentes funciones celulares como adhesividad, morfología, locomoción y difusión celular. Estas funciones son moderadas parcialmente por la combinación y unión cruzada de la fibronectina con ciertas macromoléculas extracelulares como el colágeno, el fibrinógeno y la fibrina. (1, 19, 20).

En investigaciones recientes se ha involucrado la fibronectina en el tratamiento de raíces expuestas y en defectos de bi y trifurcaciones y se ha mostrado su papel fisiológico en la morfogénesis tisular que permite la unión inicial de la matriz extracelular a las células.

Se ha visto que in vitro, la fibronectina es probablemente necesaria para la adhesión de fibroblastos y la organización del tejido conectivo en la cicatrización de heridas.

Han habido muy buenos resultados combinando el uso de fibronectina y el acondicionamiento radicular con ácido cítrico, pero aún se deben hacer más investigaciones clínicas para determinar el uso de esta combinación en la terapia periodontal. (8, 9, 16).

4. LAMININA

Se ha demostrado que es un potente quimioatrayente para el epitelio gingival, el colágeno tipo IV y el factor epidermal de crecimiento. Se ha propuesto como una de las sustancias junto con la fibronectina que juegan un papel importante en la quimiotaxis diferencial y en la cicatrización de heridas periodontales. (1, 21).

CONCLUSIONES GENERALES

La periodoncia en los últimos años, ha tenido como objetivo principal lograr la regeneración de los tejidos perdidos por la enfermedad periodontal, el hueso, el cemento radicular y el ligamento periodontal.

Se ha desarrollado la regeneración tisular guiada, orientando el crecimiento de las células del ligamento periodontal, sobre la superficie radicular, ya que éste posee las células precursoras de los tejidos que forman la nueva inserción: cemento y hueso nuevos.

Se puede ver en la literatura, cómo los acondicionadores radiculares con potencial regenerativo, como los factores de crecimiento, la tetraciclina, el ácido cítrico, la fibronectina y la laminina, se están investigando y han mostrado resultados alentadores.

En vivo e in vitro, en modelos de laboratorio, se ha demostrado la efectividad de estas sustancias, pero aún falta más investigación y su aplicación y resultados satisfactorios en humanos.

Se puede esperar que en un futuro no muy lejano podamos contar con estas sustancias, que sumadas a los otros procedimientos de regeneración periodontal como injertos de diferentes tipos y el uso de membranas reabsorbibles y no reabsorbibles en la regeneración tisular guiada, nos den el resultado ideal que es la reconstrucción adecuada del periodonto perdido o afectado por las enfermedades periodontales y otras patologías.

CORRESPONDENCIA

Doctora Gloria Nancy Arango Hernández
Facultad de Odontología
Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia

BIBLIOGRAFIA

1. Terranova, V. P., Aumailley, M., Sultan, L. H., Martin, G. R. and Kleinman H. K. Regulation of cell attachment and cell number by fibronectin and laminin. *J. Cell. Physiol.*, 127 (5): 473 - 481, May, 1986.
2. Terranova, V. P. and Wikejö, U. M. Extracellular matrices and polipeptide growth factors as mediator of functions of cells of the periodontium. A review., *J. Periodont.*, 58 (6): 371 - 380, June, 1987.
3. Polson, A. M. and Caton, J. Factors influencing periodontal repair and regeneration. *J. Periodont.*, 53 (10): 617 - 625, October 1982.
4. Cercek, J. F., Kiger, R. D., Garret, S. and Egelberg, J. Relative effects of plaque control and instrumentation on the clinical parameters of human periodontal disease. *J. Clin. Period.*, 10 (1): 46 - 56, January, 1983.
5. Proye, M., Caton, J. and Polson, A., Initial healing of periodontal pockets after a single episode of root planing monitored by controlled probing forces., *J. Periodont.*, 53 (5): 296 - 301, May, 1982.
6. Garret, J. S., Crigger, M. and Egelberg, J. Effects of citric acid on diseased root surfaces. *J. Periodont. Res.*, 13 (2): 155 - 163, March, 1978.

7. Polson, A. and Proye, M. P. Effect of root surface alterations on periodontal healing II. Citric acid treatment on the denuded root. *J. Clin. Period.*, 9 (6): 441 - 450, November, 1982.
8. Caffesse, R. G., Holden, M. J., Kon, S. and Nasjleti, C. The effect of citric acid and fibronectin application on healing following surgical treatment of naturally occurring periodontal disease in beagle dogs. *J. Clin. Period.*, 12 (7): 578 - 590, August, 1985.
9. Trombelli, Leonardo; Schinoglia, Gianpietro; Checchi, Luigi and Calura, Giorgio. Combined guided tissue regeneration root conditioning and fibrin-fibronectin system application in the treatment of gingival recession. A 15 case report. *J. Periodontol* 65: 796 - 803, 1994.
10. Giannobile, William V., Finkelman, Richard D., and Lynch, Samuel E. Comparison of canine and non human primate animal models for periodontal regenerative therapy: Results following a single administration of PDGF / IGF1. *J. Periodontol* 65: 1158 - 1167, 1994.
11. Dennisson, David K., Vallone, Dominic R., Pinero, Gerald J., Rittman, Barry and Caffesse, Raul G. Differential effect of TGF B1 y PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J. Periodontol* 65: 641 - 648, 1994.
12. Oates, Thomas W., Rouse, Cheryl A., and Cochran, David L. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J. periodontol* 64: 142 - 148, 1993.
13. Parashis, Andreas O. and Mitsis, Fotis J. Clinical Evaluation of the effect of tetracycline root preparation of guided tissue regeneration in the treatment of class II furcation defects. *J. Periodontol* 64: 133 - 136, 1993.
14. Blom, Soren; Holmstrup, Palle and Dabelsteen, Erik. The effect of insuline-like growth factor I and human growth hormone on periodontal ligament fibroblast morphology, growth pattern, DNA synthesis and receptor binding. *J. Periodontol* 63: 960 - 968, 1992.
15. Labahn, Roland; Fahrenbach, Wolf H., Clark Stephen M., Lie and Adams, Donald F. Root dentin morphology after different modes of citric acid and tetracycline hydrochloride conditioning. *J. Periodontol* 63: 303 - 309, 1992.
16. Caffesse, R. G. and Nasjleti, C. E. Clinical and histologic results of regenerative procedures. *Periodontal regeneration*. Chicago Quintessence Publ. Co., Chapt 7 y 11, 1994.
17. Register, A. and Burdick, F. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin demineralized in situ I. Optimun range. *J. Periodont.*, 46 (11): 646 - 655, November, 1975.
18. Tan, Albert, E. S., New ideas and advancing technologies in periodontology: surgical options with advancing technologies. *Int. Dent. J.*, 43 (6): 567 - 577, December, 1993.
19. Fernyhough, W. and Page, R. C. Attachment growth and sintesis by human gingival fibroblast on demineralized or fibronectin treated normal and diseased tooth roots, *J. Periodont.*, 54 (3): 133 - 140, March, 1983.
20. Terranova, V. P. and Martin, G. R. Molecular factors determining gingival tissue interaction with tooth structure. *J. Periodont. Res.*, 17 (5): 530 - 533, September, 1982.
21. Terranova, V. P. and Lyall, R. M. Chemotaxis of human gingival epithelial cells to laminin. A mechanism for epithelial cell apical migration. *J. Periodont.*, 57 (5): 311 - 317, May, 1986.
22. Wikesjo, U. et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J. Periodontal Research*. 21 (4): 322 - 329, 1986.
23. Frantz, B. and Polson, A. Tissue interactions with dentin specimens after desmineralizations using tetracycline. *J. Periodont.* 59 (11): 714 - 721, November 1988.