

Comportamiento clínico de análogo de mucosa bucal injertado en recesiones gingivales inducidas en modelos animales

Clinical behavior of oral mucosa analogue grafted in gingival recession induced in animal models

Presentado: 30 de junio de 2016
Aceptado: 9 de septiembre de 2016

Lorena Dávila,^a Elsy Lorena Jerez,^b Karla Padrón,^c Siham Salmen,^d Luis González,^c Susana Arteaga,^a Leonel Castillo^e

^aCátedra de Periodoncia, Grupo de Investigación de Bioseguridad, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

^bFacultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

^cGrupo de Investigaciones Biopatológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

^dInstituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

^eCátedra de Cirugía Bucal, Grupo de Investigación de Bioseguridad, Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

Resumen

Objetivo: Determinar la efectividad de un injerto basado en el cocultivo de fibroblastos gingivales y queratinocitos en membrana de colágeno comercial Mem-Lok® (BioHorizons, Alabama, Estados Unidos) en el tratamiento de recesiones gingivales.

Materiales y métodos: Esta investigación fue descriptiva y de diseño experimental. La muestra se conformó de 10 ratas Sprague Dawley a las que se indujeron recesiones gingivales. A 8 de ellas se les aplicó el injerto, y las 2 restantes no recibieron tratamiento.

Resultados: El análisis descriptivo de los resultados de-

terminó la posibilidad de obtener un cocultivo celular. Luego de la aplicación del injerto, las características clínicas periodontales indicaron salud, consistencia firme, textura a manera de puntillado, contorno festoneado, biotipo grueso, sondaje periodontal de 1 mm, y la posición de la encía a nivel del límite amelocementario.

Conclusiones: El injerto aplicado logró una cobertura radicular del 100% en todos los casos. No se observó sangrado ni contracción cicatrizal.

Palabras clave: Fibroblastos, mallas de colágeno, queratinocitos, recesión gingival.

Abstract

Aim: To determine the effectiveness of a graft based on co-cultivation of gingival fibroblast and keratinocytes in commercial collagen membrane Mem-Lok® (BioHorizons, Alabama, USA) in the treatment of gingival recessions.

Materials and methods: This research was descriptive and experimental in design. The sample was composed of 10 Sprague Dawley rats which were induced gingival recession; two of them were not treated and the graft was applied in eight of them.

Results: A descriptive analysis of the results was performed, which showed that it was possible to obtain a cell

co-culture. After the application of the graft, clinical periodontal characteristics were observed that indicated health: the consistency was firm, the texture resembled dots, scalloped and knife edge margin, a thick biotype and the depth of gingival sulcus was 1 mm.

Conclusions: The applied graft achieved a 100% radicular coverage in all cases and no bleeding or scar contraction was observed.

Key words: Collagen membrane, fibroblast, gingival recession, keratinocytes.

Introducción

En ocasiones, el periodonto de inserción del diente es difícil de localizar debido a las recesiones gingivales, las cuales se presentan como un trastorno de instalación lenta, progresiva y destructiva, en el que la encía de uno o varios dientes se desplaza apical a la unión cemento-esmalte, exponiendo la superficie radicular al medio bucal, lo que hace necesaria la intervención a fin de mejorar la salud periodontal del paciente y evitar las consecuencias negativas que ésta conlleva.¹⁻³

Se han descrito diversos procedimientos quirúrgicos, como el tratamiento de las superficies radiculares expuestas y la ganancia de encía queratinizada.¹⁻¹² Sin embargo, a pesar de los importantes avances en el área, aún son necesarios el desarrollo y la implementación de nuevas técnicas y procedimientos que permitan dar soluciones biológicas, estéticamente óptimas y accesibles a los pacientes.

Los fibroblastos han sido ampliamente utilizados para la reposición de los tejidos periodontales alterados y en casos de retracción posquirúrgica de la encía, con resultados prometedores en cuanto a la regeneración de heridas.¹³⁻¹⁶ Por su parte, los queratinocitos constituyen el tipo celular principal del epitelio gingival, cuya función primordial es proteger las estructuras profundas y permitir un intercambio selectivo con el medio bucal, lo cual se logra mediante la proliferación y la diferenciación de los queratinocitos.^{14,15,17}

El objetivo de la presente investigación fue desarrollar un injerto basado en el cocultivo de fibroblastos gingivales y queratinocitos sembrados en membrana de colágeno comercial, a fin de determinar su efectividad en el tratamiento de recesiones gingivales.

El estudio fue realizado en animales de experimentación para garantizar la seguridad del biomaterial desarrollado, respetando los requerimientos de investigación de un nuevo material, que implican probar su inocuidad antes de aplicarlo en seres humanos.

Materiales y métodos

La presente investigación es de tipo descriptiva, ya que buscó especificar las propiedades, las características y los rasgos relevantes en cuanto a la aplicación y el comportamiento del injerto desarrollado como tratamiento de las recesiones gingivales. También es de diseño experimental, ya que se intervino en la variable tratamiento al trabajar con un grupo control (C) en el que sólo se indujo la recesión gin-

gival, y un grupo experimental (E) en el cual se evaluó el injerto basado en el cocultivo de fibroblastos y queratinocitos en membrana de colágeno comercial Men-Lok® (BioHorizons, Alabama, Estados Unidos) como tratamiento de las recesiones gingivales. De igual forma, es un estudio longitudinal, ya que durante la experimentación se realizó más de un monitoreo de los animales (antes, durante y luego de la cirugía), a fin de evaluar los cambios en el tiempo.

La muestra estuvo conformada por 10 ratas machos adultas de la cepa Sprague Dawley, con un peso promedio de 250 g cada una, provenientes del Bioterio de la Universidad de Los Andes, donde se estableció que cada animal fuera anestesiado con ketamina (100 mg/kg) y xilacina (10 mg/kg) por vía intraperitoneal.

Procedimiento para la obtención del cocultivo celular. Con la aprobación del Comité de Bioética del Bioterio Central de La Universidad de Los Andes, se procedió con la experimentación. Siguiendo el protocolo de Padrón *et al.*,¹⁶ se tomaron las muestras para el cocultivo celular. Previamente a la limpieza de la zona con clorhexidina, la muestra de tejido se obtuvo de la papila gingival correspondiente a cada uno de los incisivos centrales derechos de 4 ratas Sprague Dawley, bajo anestesia infiltrativa y supraperióstica. Los fragmentos se almacenaron en dos tubos Eppendorf que contenían medio Eagle modificado por Dulbecco completo (D-MEM) (D 5546 Sigma-Aldrich). Las muestras fueron transportadas bajo refrigeración al Instituto de Inmunología Clínica (IDIC) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes, a fin de proceder con las fases del cultivo celular, realizando primero la separación del tejido epitelial del conectivo bajo campana y con ayuda de un bisturí. Las muestras de tejido conectivo y las de tejido epitelial se manejaron por separado. Todas las muestras fueron resuspendidas en medio D-MEM suplementado con suero bovino fetal (SBF) (Sigma-Aldrich) al 10% para los queratinocitos y al 20% para los fibroblastos. La suspensión celular correspondiente a fibroblastos gingivales fue sometida a separación por gradiente de densidad con Ficol-Hypaque densidad 1077 (Sigma-Aldrich), con el objetivo de eliminar las células mononucleares presentes en el tejido. Posteriormente a la centrifugación a 400 g (gravedad) durante 30 minutos, se obtuvo el botón celular ubicado en el fondo del tubo, se lo lavó tres veces y se sembró en medio D-MEM completo. El recambio del medio se realizó 2 veces por semana.

Los fibroblastos y los queratinocitos cultivados fueron sembrados e incubados durante 4 semanas en atmósfera húmeda, a 35 °C y 5% de CO₂. Para determinar la viabilidad de la célula, se tomaron 2 µl de medio suplementado (el cual debía contener las células) y se añadieron 198 µl de azul trypan al 0,4%. Se colocó en cámara de Newbauer y se observó en el microscopio óptico (MO); el fenotipo de fibroblastos se estudió mediante citometría e inmunofluorescencia directa con el marcador específico de fibroblastos anticuerpo ER-TR7 sc-73355 PE (Santa Cruz Biotechnology, CA, Estados Unidos). En la cuarta semana, los fibroblastos fueron sembrados en un fragmento de 2 × 1,5 cm de malla de colágeno comercial de uso odontológico (Men-Lok®; BioHorizons, Alabama, Estados Unidos). La siembra de los queratinocitos sobre la membrana de colágeno se realizó en la sexta semana de cultivo celular. Se esperó 2 semanas para proceder a la fase quirúrgica de la investigación, tomando la mayor parte de tejido obtenido para ser injertado.

Evaluación clínica inicial e inducción de recesiones gingivales. En la primera semana se pesaron y se anestesiaron los animales. Logrado el efecto anestésico, se realizó el primer examen clínico, tras el que se registraron las características periodontales iniciales de ambos grupos. Posteriormente, se aplicó anestesia local con lidocaína al 2% en la superficie gingival de la zona anterosuperior derecha en todos los animales. Después, con una hoja de bisturí n° 15, se realizó una incisión intracrevicular, a fin de levantar un colgajo en el diente por tratar y exponer la tabla vestibular alveolar. Con una fresa troncocónica, empleada a baja velocidad, se efectuó una dehiscencia ósea y se reposicionó el colgajo con puntos de sutura con seda negra 4.0. Luego se procedió a lavar con solución fisiológica, y se limpió el área con una gasa seca. Los animales fueron dispuestos en sus jaulas, con agua y alimento *ad libitum* para su recuperación.

Al transcurrir 8 días, fueron anestesiados, se retiraron los puntos de sutura y se examinó la cicatrización. Se esperó durante 2 semanas a fin de continuar con la siguiente fase de la experimentación tras la completa cicatrización periodontal.

En la tercera semana, previamente anestesiados los animales, se realizó un segundo examen clínico haciendo énfasis en las recesiones gingivales, las cuales se clasificaron según Miller.

Procedimiento quirúrgico para la aplicación del injerto gingival. En la misma semana, a los animales del grupo E se les aplicó anestesia local con lidocaína al 2% en la superficie gingival de la recesión

gingival, y se levantó un colgajo a fin de colocar los fragmentos correspondientes al análogo de mucosa sobre la porción radicular expuesta. El colgajo previamente levantado se reposicionó coronalmente y se mantuvo en su lugar mediante puntos de sutura no reabsorbibles (seda negra 4.0). Luego, los animales fueron colocados en sus jaulas con agua y alimento *ad libitum* para su recuperación. A cada animal operado se le indicó Meloxican® por vía subcutánea. Tras 8 días, los animales fueron nuevamente anestesiados, se retiraron los puntos de sutura y se examinó la cicatrización, así como las características clínicas periodontales (fig. 1).

Evaluaciones clínicas del injerto gingival. El injerto gingival fue evaluado mediante el mismo procedimiento durante las semanas primera, tercera, cuarta y quinta posteriores a la aplicación, de la siguiente manera: los animales que constituyen el grupo E fueron anestesiados; en todos los casos se observaron el color, la consistencia, el contorno, la textura, el grosor y la posición de la encía; los datos obtenidos fueron registrados, y se tomaron fotografías. En la quinta semana posterior al injerto se indujo la muerte de los animales con sobredosis de Tio-pental® y se les tomó una biopsia para su respectivo análisis histopatológico.

Resultados

Durante las dos primeras semanas de cultivo, se observaron células con morfología muy variada, adheridas al fondo de la placa de manera aislada. A partir de la tercera semana, se halló una proliferación celular más uniforme, un aumento de la densidad y la maduración de ambos tipos celulares agrupados en colonias. En las semanas cuarta y quinta se vio mayor confluencia celular en ambos tipos; los fibroblastos conformaron una clara y distinguida trama de células fusiformes con largas prolongaciones, y los queratinocitos también se encontraron confluentes, con conexiones intracelulares.

Durante la sexta semana se alcanzó una confluencia celular del 80%. Las células habían formado monocapa con disposición ordenada y se diferenciaba claramente la morfología fusiforme, alargada y de núcleo redondeado en posición central, característica de los fibroblastos gingivales. Los queratinocitos se observaron como células irregularmente poliédricas con núcleo central y citoplasma de aspecto hialino.

Basándose en los principios y las técnicas de ingeniería tisular y haciendo uso de una membrana de colágeno Mem-Lok® (BioHorizons), fue posible obtener un cocultivo celular utilizando dicha membrana

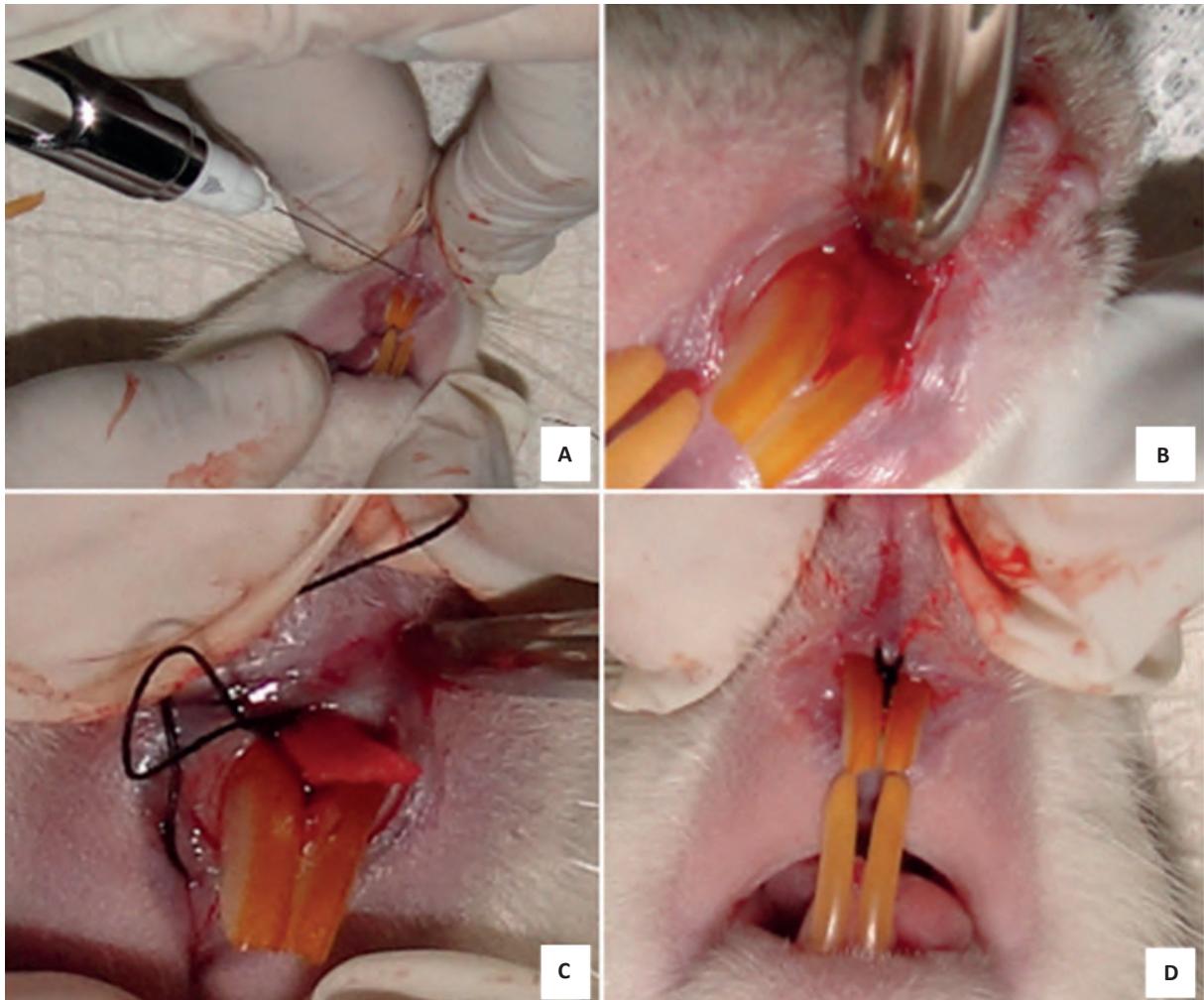


Figura 1. Colocación del injerto gingival. **A:** Aplicación de anestesia local con lidocaína al 2%. **B:** Levantamiento del colgajo. **C:** Inserción del análogo de encía sobre la superficie radicular expuesta. **D:** Fijación con puntos de sutura.

como andamio (*scaffold*) en un lapso de 4 semanas en medio de cultivo. Durante la séptima y la octava semanas de cultivo celular, se observaron con el microscopio óptico elementos celulares en estrecho contacto con la membrana, lo cual indicó que la adhesión celular y la unión intercelular se desarrollaron adecuadamente por medio de la membrana.

El injerto fue aplicado en 8 ratas Sprague Dawley. En todos los casos, se integró adecuadamente al sitio receptor y no manifestó clínicamente ningún signo de rechazo. Se evaluaron las características clínicas periodontales iniciales luego de la inducción de recesiones y en las semanas primera, tercera, cuarta y quinta después de la aplicación del injerto.

Todos los animales presentaron las siguientes características clínicas periodontales iniciales: color de la encía rosado, consistencia firme, textura puntillada, contorno festoneado, biotipo grueso, posición de la encía a nivel del límite amelocementario, ancho

de encía insertada de 1 mm, sondaje de 1 mm. Esto indica que se encontraban en estado de salud y normalidad para recibir el injerto desarrollado.

Luego de la inducción de recesiones gingivales, todos los animales presentaron 1 mm de recesión gingival de clase I de Miller. Asimismo, su biotipo periodontal cambió de grueso a delgado, y la textura se observó lisa en todos los ejemplares biológicos. El sondaje periodontal fue de 0,5 mm. El resto de las características periodontales no sufrieron alteraciones con respecto a la evaluación inicial.

En la primera semana posterior a la aplicación del injerto se evidenciaron eritema e inflamación en la zona injertada. Sin embargo, a partir de la segunda semana se registró un aumento del biotipo periodontal, que pasó de delgado a grueso. La cobertura radicular también fue notoria, ya que la encía en todos los casos se ubicó nuevamente a nivel del límite amelocementario. Cabe destacar que la zona injertada se

observó ligeramente más blanquecina que el tejido circundante, lo cual indica la presencia de queratina en el epitelio desarrollado.

En las semanas cuarta y quinta posinjerto, las características clínicas periodontales que indican normalidad y salud se encontraron absolutamente manifestadas en todos los animales injertados. La consistencia fue firme, la textura se presentó a modo de puntillado, el contorno festoneado, el biotipo grueso en todos los casos, el sondaje periodontal fue de 1 mm, y la posición de la encía se mantuvo a nivel del límite amelocementario, todo lo cual revela que el injerto aplicado logró una cobertura radicular del 100%, y no se observó sangrado ni contracción cicatrizal (fig. 2).

Con respecto a la evaluación histológica del injerto gingival, la tinción con hematoxilina-eosina demostró una mucosa con tejido conectivo semidenso y tejido epitelial queratinizado correctamente posicionados e integrados con el tejido circundante. Asimismo, el injerto mantuvo características histológicas similares a las de la muestra control (fig. 3).

No se evidenciaron infiltrado inflamatorio ni células gigantes, por lo cual se descarta la posibilidad de rechazo. Además, tanto los fibroblastos como los queratinocitos presentaron características funcionales, estructurales y morfológicas semejantes a las de la mucosa intacta.

Se observó un epitelio plano estratificado queratinizado, fácilmente distinguible en cada una de sus capas. La membrana basal también se observó de manera íntegra en todos los casos. El tejido conectivo presentó material eosinofílico y abundantes vasos sanguíneos, lo cual evidencia procesos de angiogénesis y neovascularización en el tejido desarrollado.

En todas muestras analizadas, se registraron elementos de conexión entre el tejido conectivo y la pieza dental, lo cual es signo de reestructuración de la adherencia epitelial.

En algunos casos, se observaron perlas córneas; esto pone de manifiesto que los queratinocitos se encontraban ejerciendo su papel como elementos celulares responsables de la formación de queratina.

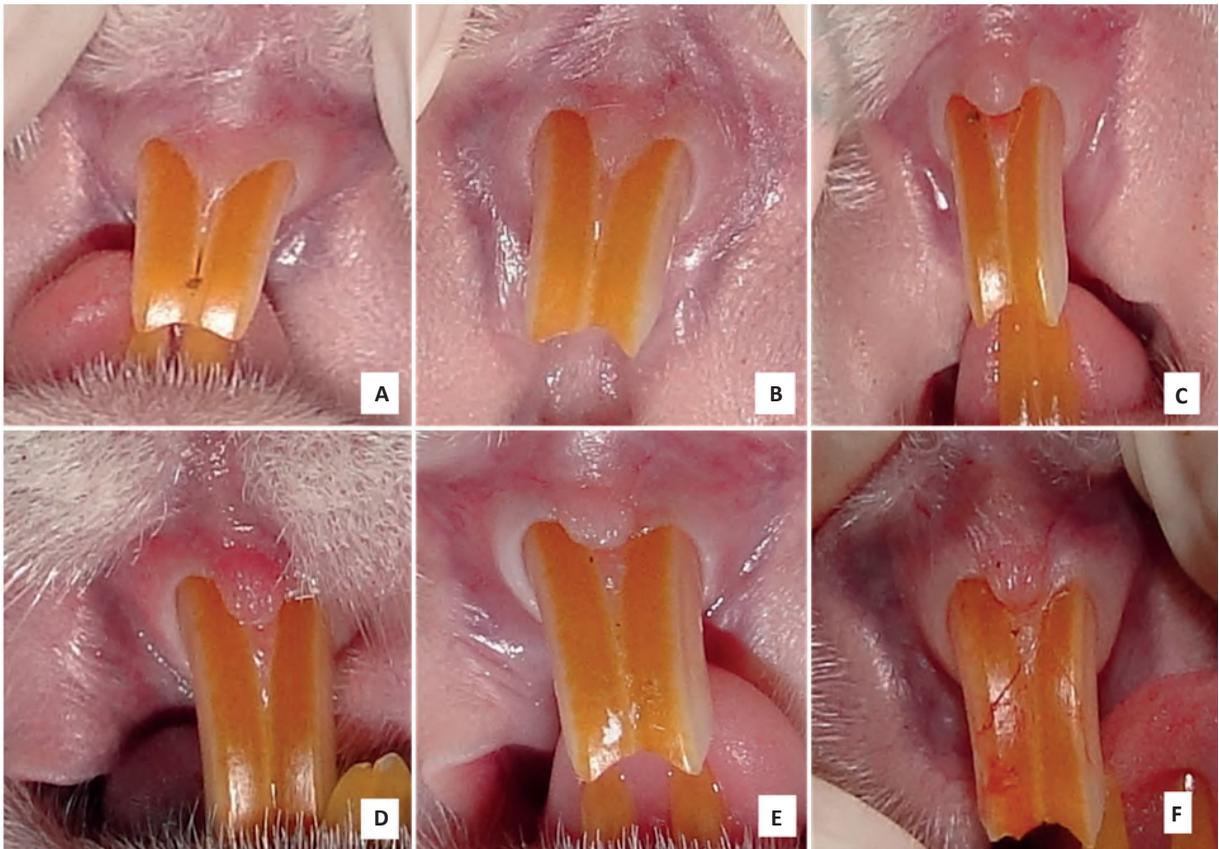


Figura 2. Registro fotográfico del modelo animal. **A:** Estado inicial. **B:** Estado posterior a la inducción de recesiones gingivales. **C:** Posinjerto, primera semana. **D:** Posinjerto, tercera semana. **E:** Posinjerto, cuarta semana. **F:** Posinjerto, quinta semana.

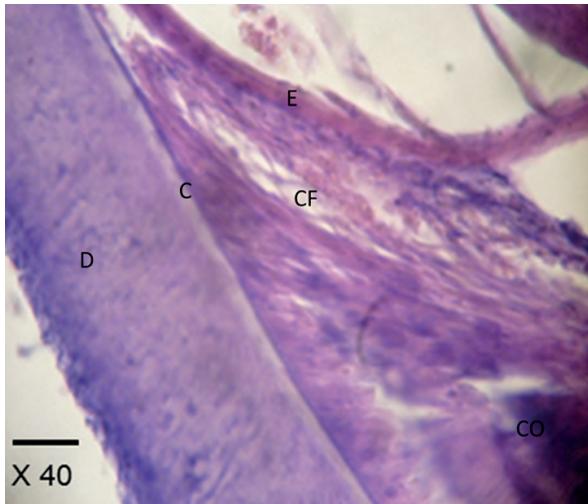


Figura 3. P/H por desmineralización de un diente con su periodonto de protección (C: cemento dental; CF: tejido conectivo fibroso de la mucosa bucal; CO: cresta ósea alveolar; D: dentina; E: tejido epitelial de la mucosa bucal).

Discusión

La posibilidad de generar nuevos órganos no está en duda. Una de las más comunes aplicaciones de estas novedosas técnicas se da en el campo de la dermatología. En esos casos, el cultivo celular autólogo con el uso de acarreadores, membranas y matrices ha incrementado el pronóstico favorable de lesiones con grandes exposiciones de tejido de granulación en heridas dermatológicas, acelerando, obteniendo y favoreciendo la regeneración del tejido dañado en lugar de aguardar la cicatrización. Tal es el caso de la investigación realizada por Arango *et al.*,¹⁷ en la cual se cultivaron fibroblastos y queratinocitos a fin de obtener un equivalente cutáneo. Al igual que en este estudio, los investigadores lograron sembrar y mantener las características de tejido epitelial y conjuntivo normal. Estos resultados coinciden con los revelados por González *et al.*,⁴ quienes obtuvieron láminas de tejido oral mediante cultivo *in vitro* de fibroblastos y queratinocitos. Sin embargo, a diferencia de lo demostrado en este estudio, los investigadores no probaron el comportamiento de dichas láminas *in vivo*.

Con respecto a las recesiones gingivales, el injerto aplicado en esta investigación logró una cobertura radicular del 100% en todos los casos. Considerando que todas las recesiones fueron de clase I de Miller, estos resultados son similares a los reportados por Köseoğlu *et al.*,¹⁸ cuyos pacientes tratados presentaron la misma clasificación de recesiones y alcanzaron una cobertura radicular completa por medio de

un injerto basado en fibroblastos y membrana de colágeno en combinación con colgajo de avance coronal. No obstante, nuestros resultados difieren de los expresados por Monteagudo *et al.*,¹ quienes no lograron la cobertura radicular a pesar de haber trabajado con fibroblastos sembrados en matriz biológica. Los resultados anteriormente expuestos concuerdan con el estudio de González *et al.*,² en el cual se alcanzó una cobertura radicular completa con un injerto de tejido conectivo subepitelial en túnel, a diferencia del estudio de Magalhães *et al.*,⁵ en el que sólo se logró un 80% de cobertura radicular mediante la aplicación de un tejido conectivo subepitelial.

Conclusiones

En esta investigación fue posible aislar y cultivar exitosamente los dos principales tipos celulares que constituyen la mucosa bucal, a partir de muestras tomadas de ratas Sprague Dawley. El cocultivo celular obtenido se llevó a cabo en un período de 10 semanas, momento en el cual constituyó –anatómica, estructural y funcionalmente– un análogo de encía apto para ser injertado.

Tanto los fibroblastos gingivales como los queratinocitos presentaron un alto porcentaje de viabilidad y pureza. Se utilizó una membrana de colágeno comercial que permitió la adhesión y el crecimiento de los elementos celulares. Dicha membrana permitió con facilidad la manipulación y la inserción en el tejido afectado. Asimismo, el cocultivo de fibroblastos gingivales y queratinocitos *in vitro* demostró la biocompatibilidad del material.

El injerto desarrollado en esta investigación logró una cobertura radicular del 100% en todos los casos de recesiones gingivales de clase I de Miller. Además, se logró aumentar la cantidad de tejido queratinizado, lo cual se puso en evidencia al observar el cambio de biotipo periodontal, de delgado a grueso, luego de aplicar el injerto. Por lo tanto, este injerto representa una opción de tratamiento no sólo para pacientes portadores de recesiones gingivales, sino también para aquellos con necesidad de engrosamiento del biotipo.

Agradecimientos: Al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico Tecnológico y de las Artes (CDCHTA), al Instituto de Inmunología Clínica (IDIC) y al Bioterio Central de la Universidad de Los Andes. A la Dra. Rosalba Florido, médica patóloga, profesora de la cátedra de Anatomía Patológica, por su colaboración en el informe histológico.

Los autores declaran no tener conflictos de intereses en relación con este estudio. Esta investigación ha sido financiada por el Consejo de Desarrollo Científico Humanístico Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes, bajo el código O-311-15-07-B.

Referencias

- Monteagudo C, Marín M, Habit F, Acasuso I, Colín S. 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. *Revista Odontológica Mexicana* 2009;13:115-21.
- González D. El injerto de tejido conectivo subepitelial en túnel para cobertura de recesiones gingivales múltiples en el sector anterior superior. Resultado a 5 años. *Gaceta Dental* 2010;213:144-53.
- Castillo R, Torres G, Grados S, Velázquez S. Injerto de tejido conectivo subepitelial para recubrimiento radicular en recesiones gingivales de Miller clase II: Reporte de un caso. *Revista de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos* 2011;2:1-7.
- Ramírez K. Cubrimiento de recesiones gingivales con dermis deshidratada humana. *Rev Cient Odontol* 2009;5:50-4.
- Magalhães C, Goulart I, Barquero E, Bianchini M, De Sousa R. Injerto de tejido conjuntivo sub-epitelial para el tratamiento de recesiones gingivales. Reporte de un caso clínico. *Acta Odontol Venez* 2010;48:3.
- Heras M, Torres D, Gutiérrez J. Tratamiento quirúrgico de una recesión gingival mediante injerto de tejido conectivo con banda epitelial. *Revista de la Universidad de Sevilla* 2005;3:1-17.
- Deepalakshmi D, Arunmozhi U. Root coverage with free gingival autografts. A clinical study. *Indian J Dent Res* 2006;17:126.
- Horning G, Vernino A, Towle H, Baccaglioni L. Gingival grafting in periodontal practice: results of 103 consecutive surgeries in 82 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:327-35.
- Remya V, Kishore K, Sudharsan S, Arun KV. Free gingival graft in the treatment of class III gingival recession. *Indian J Dent Res* 2008;19:247-52.
- Khuller N. Coverage of gingival recession using tunnel connective tissue graft technique. *J Indian Soc Periodontol* 2009;13:101-5.
- Scarano A, Barros R, Iezzi G, Piatte A, Novaes A. Acellular dermal matrix graft for gingival augmentation: a preliminary clinical, histologic, and ultrastructural evaluation. *J Periodontol* 2009;80:253-9.
- Prasanth T. Management of localized gingival recession by two-stage surgical procedure: double pedicle flap with CTG and coronally advanced flap. A novel technique. *J Indian Soc Periodontol* 2009;13:44-7.
- Saczko J, Dominan M, Kulbacka J, Chwilkowska A, Krawczykowska H. A simple and established method of tissue culture of human gingival fibroblasts for gingival augmentation. *Folia Histochem Cytobiol* 2008;46:117-9.
- González S, Junquera M, Peña I, García V, Gallego L, García E. Cultivo in vitro con colágeno y fibroblastos humanos de un equivalente de mucosa oral de espesor total. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial* 2009;31:98-106.
- Marañez C, Licerias E, Alaminos M, Fernández R. Generación de un sustituto de mucosa oral humana y comprobación de su viabilidad mediante ingeniería tisular. *Cir Pediatr* 2011;24:13-8.
- Padrón K, Dávila L, Salmen S, Berrueta L, González E. Purificación de fibroblastos gingivales a partir de tejido de la mucosa bucal. *Avances en Biomedicina* 2012;1:4-8.
- Arango M, Chamorro C, Restrepo R, Correa L, Henao J. Características histológicas de piel cultivada in vitro. *Rev Argent Dermatol* 2009;90:190-200.
- Köseoğlu S, Duran I, Sağlam M, Bozkurt S, Kirtiloğlu O, Hakki SS. Efficacy of collagen membrane seeded with autologous gingival fibroblasts in gingival recession treatment: a randomized, controlled pilot study. *J Periodontol* 2012;84:1416-24.

Contacto:

ELSY LORENA JEREZ

lorenajerez@hotmail.com

Calle 24, entre avenidas 2 y 3,

Edificio Rectorado, Cátedra de Periodoncia,

Departamento de Medicina Oral,

Facultad de Odontología,

Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela