

## Revisión Bibliográfica

# Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

### *Osteo-destructive oral diseases: potential use of Dragon's Blood in tissue regeneration*

#### AUTORES

#### **MARDONES J.**

Cirujano-Dentista  
Post-título en Endodoncia  
Magíster en Ciencias Médicas, mención en Biología Celular y Molecular  
Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

#### **DÍAZ-ZÚÑIGA J.**

Cirujano-Dentista  
Magíster en Ciencias Odontológicas, mención Periodontología  
Magíster en Ciencias Médicas, mención en Biología Celular y Molecular  
Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

#### **MELGAR-RODRÍGUEZ S.**

Cirujano-Dentista  
Magíster en Ciencias Odontológicas, mención Periodontología  
Magíster en Ciencias Médicas, mención en Biología Celular y Molecular  
Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

#### AUTOR CORRESPONDIENTE

#### **SAMANTA MELGAR-RODRÍGUEZ.**

Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Santiago, Chile.  
Teléfono: +56 2 29781833, Fax: +56 2 29781813,  
E-mail: sazmero@gmail.com

#### **RESUMEN**

La medicina regenerativa tiene como rol central incrementar la velocidad de regeneración tisular utilizando sustitutos tisulares, moléculas que estimulan la migración y proliferación celular o células necesarias para la regeneración.

**Objetivo:** Analizar la evidencia científica y establecer el potencial efecto de la Dragon's Blood en la regeneración tisular y su potencial aplicación en la endodoncia y periodoncia.

**Metodología:** Se realizó un análisis bibliográfico mediante SciELO y Pubmed utilizando el patrón de búsqueda

#### **ABSTRACT**

*Regenerative medicine has a central role in increasing the speed of tissue regeneration using tissue substitutes, molecules that stimulate cell migration and proliferation or cells necessary for regeneration.*

**Purpose:** To analyze the scientific evidence and establish the potential effect of the Dragon's Blood in tissue regeneration and its potential application in Endodontics and Periodontics.

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

da [Dragon's Blood] AND ["wound healing"OR"regeneration"OR"antibacteria"OR"anti-fungic"] AND periodont\* OR endodont\*. Los criterios de inclusión fueron artículos científicos publicados en revistas indexadas en SciELO o ISI durante los años 1970-2015 en idioma castellano e inglés. Los artículos científicos seleccionados fueron analizados y con los principales resultados se desarrolló la discusión del artículo.

**Discusión:** la Dragon's Blood es una resina que ha sido utilizada por las culturas preincaicas para acelerar la regeneración de heridas, disminuir el dolor y evitar la infección.

La evidencia actual sustenta que el potencial uso terapéutico podría extenderse a otras disciplinas de la odontología y medicina, a un bajo costo y con un gran beneficio. Aunque Dragon's Blood puede ser un potente agente regenerativo, el efecto que las distintas concentraciones de esta savia pudiera ejercer en la migración y proliferación de las células involucradas en la regeneración tisular y en el tratamiento de las infecciones es aún incierto y son necesarios estudios experimentales para poder realizar terapias científicamente validadas.

### INTRODUCCIÓN

Las enfermedades osteo-destructivas que afectan a los tejidos orales son un conjunto de patologías de naturaleza inflamatoria y de etiología infecciosa producidas por la biopelícula subgingival que coloniza el surco gingivodentario, en el caso de las periodontitis, o por la biopelícula que coloniza los canales radiculares y el tejido periodontal apical, en el caso de las lesiones osteolíticas apicales (Kakehashi et al., 1965; Offenbacher, 1996; Metzger, 2000; Nair, 2004). Se caracterizan por la destrucción de la inserción periodontal, que está conformada por el ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar, y eventualmente pueden provocar la pérdida de los dientes (Offenbacher, 1996; Nair, 2004). En términos generales, las lesiones osteodestructivas -periodontitis crónica, agresiva y apical- son las patologías óseas de mayor prevalencia en los seres humanos y, además del daño local que inducen, son un factor modificante de la salud general del individuo (Tonetti et al., 1998; Figdor, 2002; Segura-Egea et al., 2015).

Mientras las bacterias periodonto-patógenas son los agentes etiológicos de las periodontitis crónica o agresiva (Socransky et al, 2002), las bacterias endodónticas son los agentes etiológicos de las periodontitis apicales (Nair, 2004).

Entre ellas, *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* han sido ampliamente asociadas al inicio, progresión y severidad de las enfermedades periodontales (Slots et al, 1986; Socransky et al, 2002; van Winkelhoff et al, 2002) y *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella* spp, *Porphyromonas endodontalis* y *Enterococcus faecalis*, con el inicio, progresión y persistencia de las patologías apicales (Haapasalo et al., 1983; Gomes et al., 2004). Aunque estas bacterias pueden causar daño directo a los tejidos, es la respuesta inmune del hospedero inducida ante los patógenos el principal determinante del carácter destructivo de la enfermedad.

### 1. Respuesta inmuno-inflamatoria del hospedero

Las células dendríticas reconocen las bacterias a través de los receptores tipo Toll (del inglés Toll-like receptor, TLR), las que identifican estructuras microbianas altamente conservadas, tal como el LPS (Perry et al., 1996a; Perry et al., 1996b; Kaplan et al., 2001; Bhattacharyya et al., 2010; Kachlany, 2010; Shao-Cong, 2011). Las células dendríticas reconocen el LPS bacteriano mediante TLR2 y TLR4 (Kikkert et al., 2007) y su vía de señalización activa los factores de transcripción NF- $\kappa$ B y AP-1, asociados a la producción

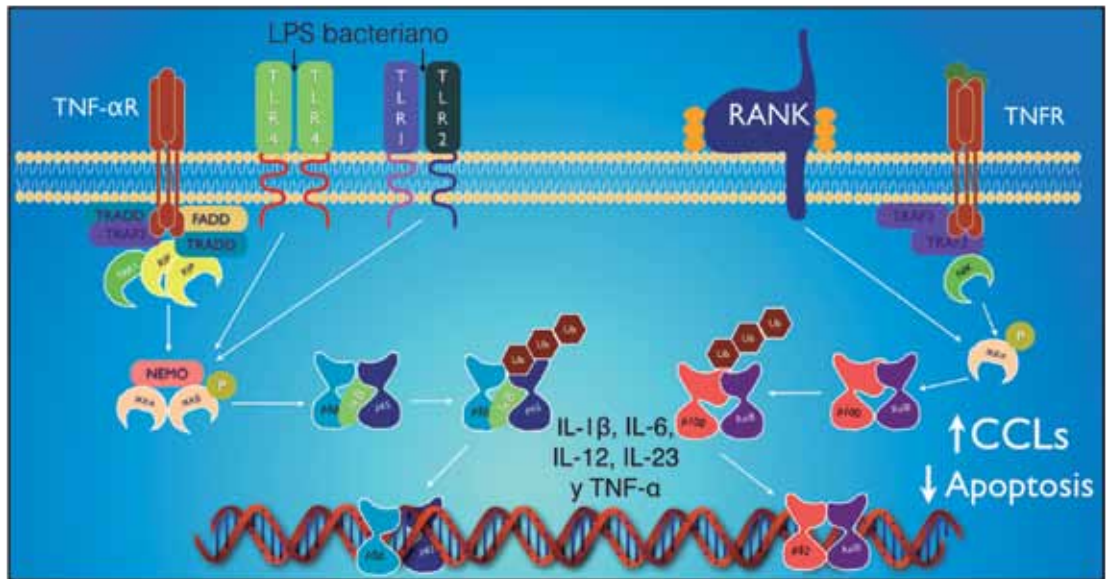
de citoquinas y quimioquinas (Bancheau et al., 2000; Wallet et al., 2005; Kikkert et al., 2007; Zhu & Paul, 2008; Nussbaum et al., 2009; Bhattacharyya et al., 2010; Palucka et al., 2010; Shao-Cong, 2011). Al ser estimuladas con LPS, las células dendríticas incrementan los niveles de expresión y secreción de las citoquinas interleuquina (IL)-1 $\beta$ , IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-23, factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$  e interferón (IFN)- $\gamma$  y de las moléculas co-estimuladoras de la presentación antigénica CD80 y CD86 (Karin et al., 1997; Jacobs-Helber et al., 1998; Brightbill et al., 1999; Bancheau et al., 2000; Gasparini et al., 2009; Lawrence, 2009; Shao-Cong, 2011) (Figura 1).

La activación de CD80 induce la expresión y secreción de IFN- $\gamma$ , la activación de CD86 induce la expresión y secreción de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-23 y TNF- $\alpha$  (Bhattacharyya et al., 2010; Shao-Cong, 2011) y la activación de CD83 es regulada por CD80 y CD86 (Lechmann et al., 2002). En un estudio in vitro se analizaron los niveles de activación de las células dendríticas estimuladas con los distintos serotipos capsulares de *Porphyromonas gingivalis*, observándose un incremento en los niveles de expresión de CD80, CD83 y CD86 y un incremento en los niveles de secreción de citoquinas proinflamatorias, depen-

Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

Figura 1



diente del serotipo bacteriano infectante (Vernal et al., 2009). Además, la cepa *P. gingivalis* 381 mostró un efecto inductor potente de secreción de IL-12 en células dendríticas (Cutler & Jowatni, 2004), en cambio, ante la cepa *P. gingivalis* O55:B5, se detectaron bajos niveles de secreción de IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12 (Kanaya et al., 2004). Finalmente, la cepa *P. gingivalis* 381 con fimbria fue más eficaz que la cepa mutante *P. gingivalis* DPG3 carente de fimbria en invadir las células dendríticas, inducir la expresión de CD80, CD83 y CD86 y la secreción de IL-6, IL-10, IL-12 y TNF- $\alpha$  (Cutler

& Jowatni, 2004). Las células dendríticas maduras secretan IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 e IL-18 (Brightbill et al., 1999), las que, durante la presentación antigénica, cumplen un rol fundamental en la activación, proliferación y diferenciación selectiva de los linfocitos TCD4+. Así, la diferenciación a los distintos fenotipos T colaboradores (del inglés T helper, Th) dependerá: (1) de la naturaleza del antígeno presentado y asociado a la molécula del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II, (2) del tipo y concentración de moléculas co-estimuladoras expresadas por las células den-

dricas y (3) del patrón de citoquinas que predomina en el territorio anatómico donde ocurre la interacción celular, muchas de ellas producidas por las células dendríticas (Galy et al., 1995). Ante un predominio de IL-12 se expresará el factor de transcripción T-bet que determinará la diferenciación selectiva hacia el fenotipo Th1, en presencia de IL-4 se expresará GATA-3 que determinará el fenotipo Th2, ante TGF- $\beta$ 1 se expresará el factor de transcripción Foxp3, determinando el fenotipo T regulador (Treg) y en presencia de TGF- $\beta$ 1 e IL-6 se expresará RORC2 que determinará

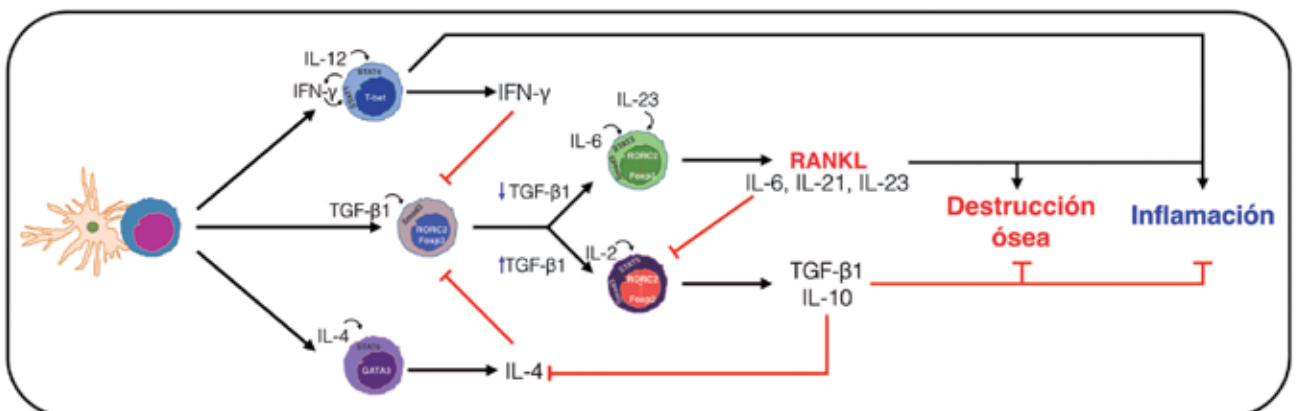
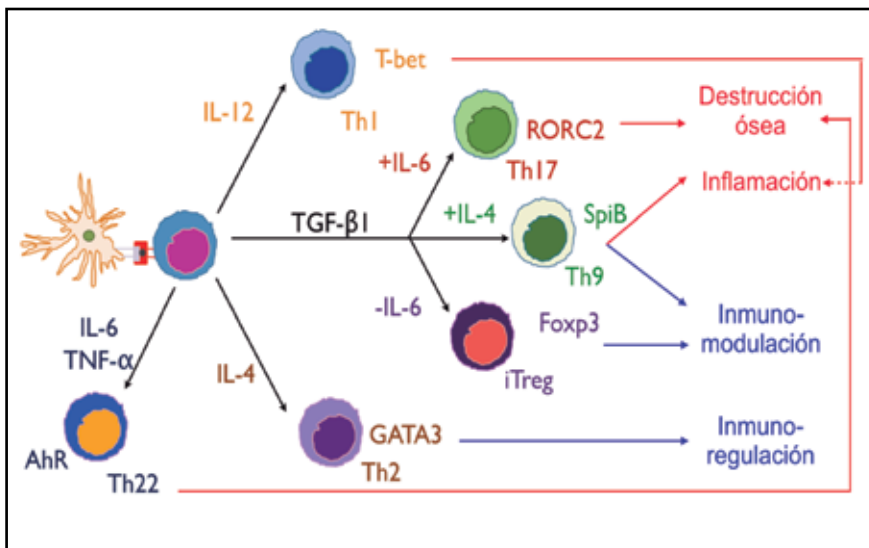


Figura 2

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;



**Figura 3**

el fenotipo Th17 (Sozzani et al., 1998; Banchereau et al., 2000; Steinman et al., 2003; Azuma, 2006; Veldhoen et al., 2008; Bluestone et al., 2009).

### Linfocitos Th1/Th2/Th17 y Treg

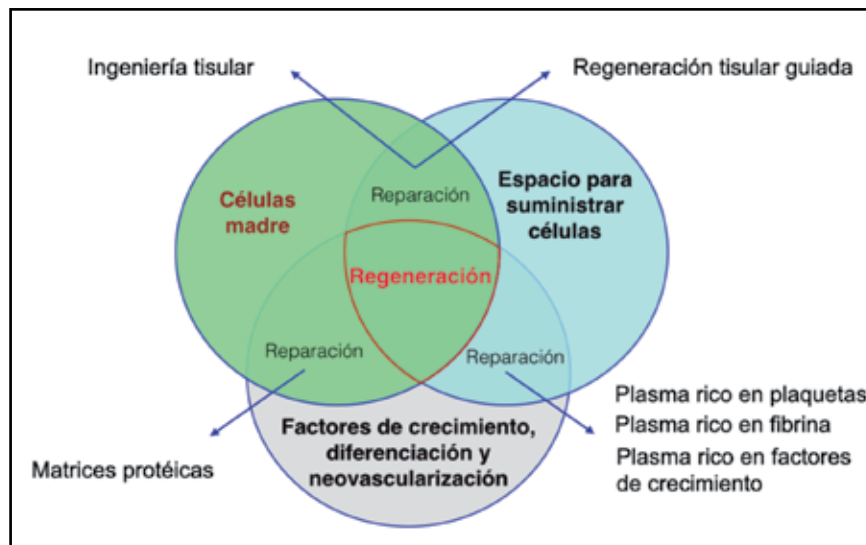
Los linfocitos Th1, Th2, Th17 y Treg secretan distintos patrones de citoquinas que determinan su función durante las periodontitis (Figura 2). El fenotipo Th1 se caracteriza por la secreción de IL-1 $\beta$ , IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ , responsables de una respuesta pro-inflamatoria, el fenotipo Th2 secreta IL-4, IL-5 e IL-13, asociados a una respuesta moduladora de la inflamación (Seder & Paul, 1994; Abbas et al., 1996; Jankovic et al., 2001; Murphy & Reiner, 2002; Reiner, 2007), el fenotipo Th17 se caracteriza por la secreción de IL-6, IL-17, IL-21, IL-23 y RANKL, considerándose un fenotipo proinflamatorio y osteo-destructivo al estimular la diferenciación de los osteoclastos y la reabsorción del hueso alveolar (Harrington et al., 2006; Stockinger & Veldhoen, 2007), y el fenotipo Treg se caracteriza por la expresión de IL-10 y TGF- $\beta$ 1, que cumplen un rol inmunosupresor (Bluestone & Abbas, 2003; Reiner, 2007; Vernal et al., 2008a; Appay

et al., 2008; Weaver & Hatton, 2009). Durante las lesiones osteo-destructivas, los linfocitos Th1 participan en la activación de la fagocitosis por parte de macrófagos y neutrófilos y estimulación de la secreción de quimioquinas y citoquinas pro-inflamatorias (Appay et al., 2008), asociándose a la inflamación y osteo-destrucción local (Baker et al., 1999; Garlet, 2010).

En efecto, IFN- $\gamma$  induce in vivo la sobre-expresión de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y RANKL (Garlet, 2010), la formación de osteoclastos y la reabsorción del hueso alveolar (Repeke et al., 2010) y se ha detectado tanto en lesiones periodontales progresivas como severas (Garlet et al., 2003) y en lesiones osteolíticas apicales (de Brito et al., 2012).

Los linfocitos Th2 secretan principalmente IL-4 y poseen una función inmunomoduladora al inhibir la producción de IFN- $\gamma$  (Appay et al., 2008; Bluestone et al., 2009) y RANKL (Ihn et al., 2002; Giannopoulou et al., 2003) y en pacientes con periodontitis crónica y agresiva los bajos niveles de IL-4 se asocian con un incremento en los niveles de IFN- $\gamma$  (Garlet et al., 2004).

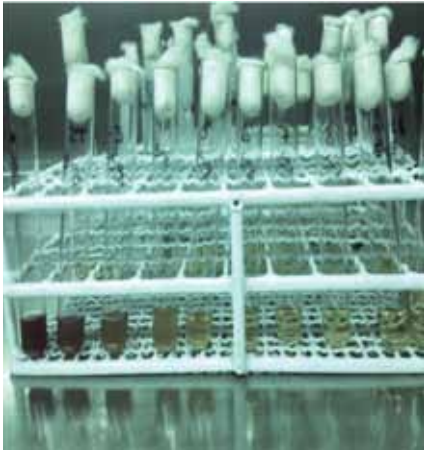
Los linfocitos Th17 se han asociado con enfermedades osteo-destructivas de carácter crónico, tal como las periodontitis crónicas, agresivas y lesiones apicales (Vernal et al., 2006b; Vernal et al., 2006a; Vernal et al., 2008b; Cardoso et al., 2009), y se ha correlacionado la producción de sus citoquinas fenotipo-específicas con la progresión de las lesiones (Takahashi et al., 2005; Vernal



**Figura 4**

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;



**Figura 5**

et al., 2005; Sato et al., 2006; Vernal et al., 2006c; Vernal et al., 2008b; Dutzan et al., 2009; Ohyama et al., 2009; Caetano-Lopes et al., 2013; Tanaka, 2013). RANKL cumple un rol fundamental en la modulación fisiológica y patológica de la reabsorción ósea (Walsh & Choi, 2003; Takahashi et al., 2005) y se ha establecido que los linfocitos Th17 inducen la osteoclastogénesis y la reabsorción ósea mediante su secreción (Taubman & Kawai, 2001; Takahashi et al., 2005; Vernal et al., 2005; Vernal et al., 2006c; Cardoso et al., 2009; Di Benedetto et al., 2013).

Los linfocitos Treg regulan la función de los linfocitos Th1, Th2 y Th17 mediante la secreción de TGF- $\beta$ 1 e IL-10, inhibiendo la expresión y secreción de IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-12, IL-17, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y RANKL (Garlet et al., 2004; Zhang & Teng, 2006; Claudino et al., 2008; Dutzan et al., 2009; Hosokawa et al., 2009; Naundorf et al., 2009; Rossato et al., 2012).

Recientemente, se han descrito 2 nuevos fenotipos linfocitarios: Th9 y Th22 (Figura 3). Los linfocitos Th9 se diferencian en presencia de TGF- $\beta$ 1 e IL-4, que activan al factor de transcripción Spi.B, se caracterizan por secretar IL-9 y tener una función proinflamatoria e inmunosupresora, dependiendo de la patología

descrita (Chang et al., 2010; Takami et al., 2012; Leng et al., 2012; Goswami & Kaplan, 2012; Baba et al., 2012). Los linfocitos Th22 se diferencian en presencia de TNF- $\alpha$  e IL-6, que activan al factor de transcripción AhR, se caracterizan por secretar IL-22 y tener una función osteodestructora (Ikeuchi et al., 2005; Honda, 2012; Kim et al., 2012; Baba et al., 2012). No obstante, el rol de los linfocitos Th9 y Th22 no ha sido establecido claramente en la etiopatogenia de las periodontitis.

### Reabsorción ósea

Las periodontitis crónica y agresiva se caracterizan por la destrucción del hueso alveolar que rodea a los dientes y las lesiones apicales, por la destrucción del hueso que rodea el ápice del diente. Esta destrucción se asocia a incrementos en la producción de RANKL, IL-6, IL-17 y el factor de transcripción RORC2, característicos de un fenotipo linfocitario Th17 (Vernal et al., 2006a; Vernal et al., 2006c). En efecto, se han observado incrementos en los niveles de RANKL e IL-17 en pacientes con periodontitis tanto crónicas como agresivas y con lesiones apicales (Kikuchi et al., 2005; Vernal et al., 2005; Vernal et al., 2006b; Vernal et al., 2006a; Vernal et al., 2008b; Ohyama et al., 2009; Garlet, 2010; Hernández et al., 2011). RANKL es un regulador clave del metabolismo óseo y es esencial en la diferenciación y activación de osteoclastos durante la reabsorción ósea patológica.

Diferentes estudios han analizado los niveles de RANKL y osteoprotegerina (OPG), su inhibidor biológico, en los tejidos periodontales de pacientes con periodontitis y sujetos sanos. En general, existe un aumento en la razón RANKL/OPG en periodontitis en comparación a salud periodontal y una disminución luego de la terapia periodontal (Taubman & Kawai, 2001; Takeichi et al., 2000; Vernal et al., 2005; Vernal et al.,

2006b; Sakellari et al., 2008; Buduneli & Kinane, 2011). Entre las células que expresan y secretan RANKL se describen los osteoblastos, fibroblastos y linfocitos Th17. Los osteoblastos reconocen el LPS bacteriano mediante TLR1, TLR2, TLR4 y TLR6 y activan NF- $\kappa$ B incrementando los niveles de expresión de RANKL (Matsumoto et al., 2012). Los fibroblastos expresan bajas concentraciones de RANKL en condiciones fisiológicas e incrementan su secreción luego del reconocimiento bacteriano-específico en condiciones patológicas (Takahashi et al., 2005; Vernal et al., 2006b; Vernal et al., 2008a; Cochran, 2008). Los linfocitos Th17 promueven la osteoclastogénesis en forma directa mediante la producción de RANKL y en forma indirecta mediante la producción de citoquinas que inducen la síntesis de RANKL en osteoblastos y fibroblastos (Vernal et al., 2006b; Vernal et al., 2008b; Vernal & Garcia-Sanz, 2008). IL-17 es una citoquina secretada por los linfocitos Th17 y es esencial en la diferenciación y activación de los osteoclastos. Diferentes estudios han analizado los niveles de IL-17 en los tejidos periodontales de pacientes con lesiones osteodestructivas (Boyle et al., 2003; Vernal et al., 2005; Sato et al., 2006; Cardoso et al., 2009). En general, IL-17 induce la expresión y secreción de RANKL en osteoblastos y linfocitos Th17 y contribuye al reclutamiento de células que secretan citoquinas proinflamatorias, como los linfocitos Th1 (Di Benedetto et al., 2013).

En términos generales, los linfocitos Th1 condicionarán un ambiente inflamatorio local y los linfocitos Th17 determinarán la reabsorción ósea durante las periodontitis crónicas, agresivas y lesiones apicales (Taubman & Kawai, 2001; Walsh & Choi, 2003; Ikeuchi et al., 2005; Takahashi et al., 2005; Vernal et al., 2005; Brand et al., 2005; Sato et al., 2006; Vernal et al., 2006b; Kramer & Gaffen, 2007; Sa et al., 2007; Ohya-

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

ma et al., 2009; de Carvalho Fraga et al., 2013), así, durante las lesiones osteo-destructivas, los microorganismos patógenos periodontales y endodontales con mayor inmunogenicidad Th1 y Th17 serían potencialmente más patogénicos.

### 2. Regeneración tisular

La regeneración normal de una herida es un proceso dinámico dividido en 3 fases esenciales después de la hemostasia: inflamación, proliferación y remodelación del tejido (Gallit & Clark, 1994a; Clark et al., 2007). La inflamación comienza después de originada la lesión y en ausencia de factores que la prolonguen. En la fase vascular existe una vasoconstricción que permite la hemostasia y continúa con la vasodilatación, consecuencia de la secreción de histamina y prostaglandinas (PG) E1 y PGE2, que inducen la migración de células del sistema inmune hacia la lesión (Binderman et al., 1984). Posteriormente, se activa la fase celular de la inflamación, caracterizada por la acción del complemento que induce la migración de neutrófilos y la opsonización de bacterias. En efecto, los neutrófilos secretan lisozimas, proteasas y defensinas para eliminar las bacterias que han invadido al hospedero, y quimioquinas, que inducen la migración de macrófagos (Mosser & Edward, 2008). Además, los linfocitos T colaboradores (del inglés T helper, Th) y los plasmocitos cumplen un rol central en la regulación de las respuestas inmuno-inflamatoria, mediante la secreción de citoquinas y anticuerpos, respectivamente (Abbas et al., 1996) (Abbas et al., 1996). En la fase proliferativa, los fibroblastos producen fibrina, tropocolágeno, fibronectina y factores de crecimiento incluyendo el factor de crecimiento transformante (del inglés transforming growth factor, TGF)- $\beta$ , factor de crecimiento de fibroblastos (del inglés fibroblast growth factor, FGF), factor de crecimiento

endotelial vascular (del inglés vascular endothelial growth factor, VEGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (del inglés platelet-derived growth factor, PDGF), y mediante la secreción de moléculas pro-inflamatorias y quimiotácticas, tales como, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, inducen la migración de células endoteliales y del sistema inmune con el objetivo de regenerar el tejido conectivo, inducir la angiogénesis y modular la respuesta inflamatoria (Binderman et al., 1984; Son & Harijan, 2014). Además, las células epiteliales y los fibroblastos secretan proteínas de matriz extracelular, tales como colágeno, que permite establecer una matriz provisional sobre la cual migrarán las células epiteliales, y proteasas, que degradarán el coágulo y remodelarán el tejido en neoformación (Revel, 1989; Medzhitov & Janeway, 2000; Hämmerle & Giannobile, 2014). Finalmente, la remodelación constituye la etapa final del proceso de regeneración y se caracteriza por el reemplazo de las fibras colágenas desorganizadas por fibras colágenas organizadas según los requerimientos biomecánicos de los tejidos y por la disminución de la vascularidad y del metabolismo celular (Hämmerle & Giannobile, 2014).

### Factores que modifican la regeneración

Alrededor de 7 millones de personas a nivel mundial desarrollan heridas crónicas relacionadas con distintas causas. Existen distintos factores locales que alteran la regeneración tisular, entre ellos: cuerpos extraños, necrosis e isquemia tisular. La presencia de un cuerpo extraño o tejido necrótico evita la migración de las células epiteliales y fibroblastos, permite el crecimiento de bacterias y modifica la respuesta inmuno-inflamatoria del hospedero (Martin, 1997; Hämmerle & Giannobile, 2014). La isquemia de la herida altera la regeneración y se caracteriza por disminuir la migración de

células y moléculas del sistema inmune, disminuir la concentración de oxígeno e incrementar el riesgo de infección (Boraldi et al., 2007; Malda et al., 2007). Además, existen factores generales que pueden interferir en el proceso de regeneración, tales como el déficit de proteínas, vitaminas, radiación, disminución de la tasa de proliferación celular como consecuencia de la edad, trastornos metabólicos o inmunológicos, como diabetes o inmuno-supresión y, el consumo de medicamentos antimetabólicos, anti-tumorales o inmuno-supresores (Martin, 1997; Werner et al., 2007; Yates et al., 2012; Hämmerle & Giannobile, 2014). En conjunto, estos factores alteran las etapas de la regeneración induciendo una mayor respuesta inmuno-inflamatoria caracterizada por un incremento en la producción de citoquinas pro-inflamatorias, mayor destrucción de los tejidos y acumulación de células en proceso de muerte por apoptosis o necrosis (Gallit & Clark, 1994b; Clark et al., 2007; Hopf & Rollins, 2007; Yates et al., 2012; Hämmerle & Giannobile, 2014). Pacientes con patologías tales como diabetes, neutropenias e inmuno-supresión presentan funciones celulares defectuosas y sus heridas tardan mayor tiempo en regenerar. Particularmente, presentan menor tasa de proliferación celular, alteración en la migración y producción de matriz extracelular y diferenciación de los miofibroblastos (Boraldi et al., 2007). En consecuencia, las heridas de los pacientes con alguna patología o condición modificante pueden tener un proceso regenerativo hipocelular, hipovascular, con disminución del tejido de granulación y, finalmente, alteración de la re-epitelización de la herida (Boraldi et al., 2007; Hämmerle & Giannobile, 2014).

La regeneración tisular es un proceso fisiológico complejo, caracterizado por una amplia variedad de señales biológicas y mecánicas (Caceres et al., 2008;

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

Werner & Grose, 2003; Mehta & Watson, 2008) (Figura 4). La adhesión, proliferación, diferenciación y migración celular, y la síntesis y remodelación de matriz extracelular son eventos fundamentales regulados por la interacción de citoquinas y factores de crecimiento (Caceres et al., 2008; Werner & Grose, 2003; Mehta & Watson, 2008; Martin, 1997). En términos generales, la presencia de células, factores de crecimiento y de matriz tridimensional adecuada son determinantes clave en la regeneración tisular (Clark et al., 2007). Utilizando la ingeniería tisular actual se han diseñado distintas terapias con células, factores de crecimiento o matrices, y de ellos, los factores de crecimiento y las matrices tridimensionales son fundamentales para desarrollar cualquier técnica quirúrgica, considerando las células del hospedero como el principal elemento a estimular (Zhang et al., 2003; Jamal et al., 2011; Ebisawa et al., 2004; Anitua et al., 2008a). Los factores de crecimiento son polipéptidos que cumplen un rol central en la comunicación inter-celular mediante la regulación de las funciones celulares (Martin, 1997; Caceres et al., 2008; Anitua et al., 2012). En efecto, las plaquetas son una fuente natural de factores de crecimiento y se utilizan como elementos coadyuvantes en la regeneración tisular (Caceres et al., 2008; Foster et al., 2009). Se considera que el plasma rico en plaquetas aporta concentraciones supra-fisiológicas de factores de crecimiento, tales como TGF- $\beta$ , PDGF, VEGF, FGF, factor de crecimiento insulínico (IGF), proteínas tales como fibrinógeno, fibronectina y vitronectina y citoquinas (Mehta & Watson, 2008; Anitua et al., 2008b; Anitua et al., 2012) y su aplicación clínica ha permitido tratar heridas crónicas en pacientes con diabetes, lesiones de tendones y ligamentos y defectos osteocondrales, pero son procedimientos caros y poco accesibles (Foster et al., 2009; Anitua et

al., 2008a; Anitua et al., 2008b; Mishra & Pavelko, 2006).

Las matrices tridimensionales varían en composición y forma y son ampliamente utilizadas como agentes transportadores de células o factores de crecimiento (Doostmohammadi et al., 2011; Lee et al., 2007; Oyonarte et al., 2013; Labbaf et al., 2011). Entre de los biomateriales utilizados se encuentran las nanofibras, definidas como fibras sólidas con un diámetro nanométrico, y que permiten la construcción y diseño de matrices tridimensionales para el transporte por ejemplo, de plasma rico en plaqueta (Bhardwaj & Kundu, 2010; Beachley & Wen, 2010). Además, las nanofibras imitan los elementos fibrilares de la matriz extracelular y proporcionan un soporte biológico y físico para la adhesión celular, la proliferación, migración y diferenciación y actualmente, se consideran una alternativa a las matrices (Alves et al., 2010).

En cirugía periodontal y máxilo-facial es deseable el uso de biomateriales que faciliten la formación de tejido de granulación y permitan disminuir el tiempo de recuperación postoperatoria y la probabilidad de infección. Los protocolos operatorios en cirugías orales complejas establecen el uso de matrices colágenas, sustitutos óseos y suturas, sin embargo, en presencia de bacterias anaerobias facultativas o estrictas que residen en la cavidad oral, es necesario que el proceso de regeneración de los tejidos sea rápida y efectiva (Alves et al., 2010; Labbaf et al., 2011; Modglin et al., 2013; Badran et al., 2012).

Diversos estudios han evaluado distintos biomateriales y técnicas quirúrgicas para mejorar el estado post-operatorio del paciente, disminuir el tiempo de regeneración tisular, lograr la regeneración de las estructuras comprometidas y finalmente, que sea de fácil aplicación (Nuñez et al., 2009; Nuñez et al., 2010; Vignolet et al., 2011).

### Dragon's Blood

Desde la antigüedad, las distintas civilizaciones han utilizado las plantas, sus extractos y sus preparaciones con fines mitológicos, cosméticos y medicinales. El interés por las terapias alternativas y los recursos naturales para la elaboración de cosméticos y el tratamiento de enfermedades ha ido incrementándose en el siglo XXI (Gonzales & Valerio, 2006; Díaz, 2008; Huihui et al., 2013). Existen plantas medicinales con una vasta historia de propiedades curativas contra diversas enfermedades, sin embargo, su uso se basa en la tradición sin ninguna evidencia científica de su eficacia o efecto de los compuestos activos. Una planta medicinal ampliamente usada en América desde las civilizaciones preincaicas hasta el día de hoy es la Dragon's Blood o sangre de grado (Gonzales & Valerio, 2006; Díaz, 2008), que recibe su nombre de la mitología griega, cuando Hércules derrota a Landon -el dragón de 100 cabezas que protege el jardín de Hesperides- y su sangre riega la tierra originando los "árboles de dragón". Así, se conoce como Dragon's Blood a la resina de color rojo que se obtiene de diferentes especies de 4 géneros de las plantas *Croton*, *Dracaena*, *Daemonorops* y *Pterocarpus* (Gupta et al., 2008; Jia-Yi et al., 2014), de ellas, la especie *Croton lechleri* es endémica de Perú y se distribuye por la selva amazónica alta, pudiéndose encontrar ejemplares en la selva alta de Colombia y Ecuador (Williams, 2001). Entre los componentes de mayor concentración en Dragon's Blood de *Croton* se encuentran los flavonoides y biflavonoides: catequina, galocatequina, apigalocatequina, epicatequina, procianidina y los alcaloides: taspina, isoboldina, norisoboldina, magnoflorina (Gonzales & Valerio, 2006; Gupta et al., 2008; Jia-Yi et al., 2014).

La identificación de los distintos principios activos que componen la Dragon's Blood de *Croton* ha permitido susten-

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

Células	Efectos	Referencias
Células neoplásicas	Anti-inflamatorio, antioxidante y anti-mutagénico.	Gonzales y Valerio, 2006
Fibroblastos	Proliferación y migración (Acelera el cierre de herida).	Gonzales y Valerio, 2006
Células epiteliales gastro-intestinales	Efecto citotóxico a altas concentraciones. Antidiarreico y antiulceroso.	Gupta y Gupta, 2011
Endoteliositos	Induce la proliferación	Vaisberg et al., 1989; Pieters et al., 1992; Pieters et al., 1993; Chen et al., 1994
Granulocitos	Formación de tejido de granulación y neo-vascularización	Corral et al., 1999; Lee et al., 2004; Santos et al., 2007; Werner et al., 2007; Lim & Yoo, 2010; Huihui et al., 2013
Macrófagos	Evita la invasión bacteriana	Porras-Reyes et al., 1993; Chen et al., 1994; Huihui et al., 2013
Células de mucosa oral ( <i>in vivo</i> )	Cicatrización rápida y efectiva	Chen et al., 1994; Calderón, 1995; Ysla & Rosales, 2006

Tabla 1

tar teóricamente su uso para el tratamiento de diversas enfermedades. Así, se han descrito efectos antimicrobiano, antiviral, antitumoral, antihemorrágico, inmuno-modulador, anti-ulcerante, anti-diarréico, analgésico, antioxidante, anti-inflamatorio, anti-mutagénico y regenerativo (Málaga, 1985; Zaravia, 1985; Cárdenas, 1994; Chen et al., 1994; Calderón, 1995; Gonzales & Valerio, 2006; Ysla & Rosales, 2006; Gupta et al., 2008; Gupta & Gupta, 2011; Jia-Yi et al., 2014).

En odontología, en la década de los '80, se propuso utilizar la pasta de óxido de Zinc y Dragon's Blood para el tratamiento de alveolitis -complicación post-exodoncia- y para la medicación intra-canal, detectando la disminución del dolor y del tiempo de regeneración tisular (Morales, 1984; Zaravia, 1985; Puscanel, 1993). En periodoncia se ha investigado el efecto de la aplicación tópica de Dragon's Blood en pacientes con distintas condiciones para disminuir

el sangrado gingival, acelerar la regeneración y disminuir el dolor (Cárdenas, 1994; Guevara, 1995; Lazo, 1999; Espinoza, 2004).

### Dragon's Blood y regeneración tisular

En términos generales, la mayor aproximación de los efectos de Dragon's Blood en la regeneración tisular son los ensayos *in vitro* e *in vivo* donde evalúan las distintas fases de la regeneración de los tejidos en presencia de diferentes estímulos (Tabla 1). En estudios *in vitro* se ha demostrado que la Dragon's Blood estimula la migración de fibroblastos y la proliferación de endoteliositos y, en modelos *in vivo*, acelera la regeneración de heridas (Vaisberg et al., 1989; Pieters et al., 1992; Pieters et al., 1993; Chen et al., 1994). En efecto, la secreción de fibras colágenas por los fibroblastos proporciona la estructura tridimensional que induce la migración de las células que participan en la regeneración tisular

e induce la angiogénesis que permite el suministro de nutrientes, oxígeno y moléculas que promueven la formación de tejido de granulación (Shukla et al., 1999; Roy et al., 2006; Huihui et al., 2013). Así, han concluido que los factores que le otorgan la capacidad a Dragon's Blood de evitar la invasión bacteriana, disminuir los radicales libres e incrementar la expresión de proteínas de unión a matriz son los flavonoides y los polifenoles (Porras-Reyes et al., 1993; Chen et al., 1994; Huihui et al., 2013).

Las moléculas y los factores de crecimiento regulan la inflamación, la reepitelización, la formación del tejido de granulación y la neo-vascularización durante la regeneración tisular. El TGF- $\beta$ 1 y VEGF son secretados por los fibroblastos y estimulan la producción de colágeno y la neovascularización, incrementan la permeabilidad vascular y promueven la secreción de otros factores de crecimiento y, en heridas cutáneas tratadas



## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

con Dragon's Blood tienen un efecto autocrino, induciendo mayor producción de TGF- $\beta$ 1 y VEGF (Corral et al., 1999; Lee et al., 2004; Santos et al., 2007; Werner et al., 2007; Lim & Yoo, 2010; Huihui et al., 2013).

En estudios etno-farmacológicos se ha detectado que en las heridas cutáneas, la Dragon's Blood atenúa la nocicepción visceral y limita el crecimiento viral, bacteriano y fúngico (Peres et al., 1997; Gurgel et al., 2005). Estos efectos son principalmente, por la presencia de flavonoides y triterpenoides, que promueven la regeneración debido a las funciones anteriormente mencionadas (Scortichini & Rossi, 1991; Tsuchiya et al., 1996).

Así, el uso de Dragon's Blood podría acelerar la regeneración tisular, prevenir la infección por contaminación viral, bacteriana o fúngica, disminuir el dolor y ser una alternativa terapéutica. Sin embargo, la evidencia actual es insuficiente y no existen estudios in vitro e in vivo que permitan establecer una dosis terapéutica que sea eficaz y no genere efectos secundarios en los pacientes.

El avance de la ciencia en el estudio y comprensión de las células, las cascadas de señalización intra y extracelulares, las respuestas celulares y la cinética de curación de las heridas ha permitido comprender diversos aspectos de los mecanismos que regulan la regeneración tisular y han permitido el diseño de diversas aplicaciones clínicas (Núñez et al., 2009; Alves et al., 2010; Nuñez et al., 2010; Labbaf et al., 2011; Vignolet et al., 2011).

El desarrollo de matrices biológicas acelulares, terapias de heridas con presión negativa, polímeros bioabsorbibles y recientemente, la utilización de nanopartículas, son elementos esenciales en la ingeniería tisular (Beachley & Wen, 2010; Pelipenko et al., 2013; Rosic et al., 2013). Sin embargo, el tratamiento clínico de las heridas aún se encuentra

en fases experimentales y las terapias actuales no han sido capaces de entregar biomateriales o técnicas que aseguren la regeneración tisular en pacientes sometidos a cirugías lectivas o en pacientes con heridas crónicas o infectadas y que sea de acceso universal y de fácil aplicación. Las heridas crónicas son consideradas uno de los principales problemas a resolver en la salud mundial, debido a la gran morbilidad que genera y a los gastos excesivos para su resolución. En la cavidad oral, durante el proceso de regeneración, la presencia de biopelícula, tejido necrótico, hipovascularización, hipocelularidad e inmunosupresión, evitan que la fase de proliferación y migración celular logre regenerar el tejido dañado y perpetúa el proceso en la fase inflamatoria, generando complicaciones post-operatorias (Boraldi et al., 2007; Hämmerle & Giannobile, 2014).

En este contexto, la Dragon's Blood ha sido utilizada para el tratamiento de heridas por las culturas pre-incaicas. Los Paracas y posteriormente los Incas, utilizaban esta resina para embeber vendas y aplicarlas directamente en las heridas, obteniendo efectos analgésicos, anti-inflamatorios, anti-infecciosos y regenerativos (Gonzales & Valerio, 2006; Díaz, 2008) (Tabla 2). El método de aplicación fue traspasado a las distintas generaciones y, en la década de los '80 en distintas facultades de odontología y medicina de universidades peruanas, la regeneración de heridas cutáneas se investigó en modelos experimentales mediante la aplicación local de apósitos con Dragon's Blood (Morales, 1984; Milla, 1985; Zaravia, 1985). Luego, en la especialidad de endodoncia y sin evidencia científica que lo sustente, comenzó a utilizarse pasta de óxido de Zinc con Dragon's Blood como medicación intra-canal y posteriormente como cemento, evidenciando resultados favorables clínicamente que, después de 2 décadas, aún no han sido

publicados (Zaravia, 1985). En este contexto, nuestro grupo de investigación está realizando ensayos in vitro para evaluar los potenciales efectos de las distintas concentraciones de Dragon's Blood en el crecimiento de bacterias patógenas periodontales y endodontales: *A. actinomycetemcomitans*, *E. faecalis*, *P. gingivalis*, entre otras, para identificar la concentración mínima inhibitoria y bactericida (Figura 5). Así, desarrollando ensayos in vitro bacteria-específico, se desarrollarán ensayos con modelos de biopelícula periodontal y endodóntica para posteriormente, realizar estudios en modelos experimentales. En efecto, se han desarrollado modelos experimentales para evaluar el rol de Dragon's Blood en la regeneración de mucosas de cobayos y piel de ratones, en la regeneración ósea de cobayos y en la cicatrización de lesiones ulcerosas de epitelio gástrico (Chen et al., 1994; Calderón, 1995; Ysla & Rosales, 2006). Además, se ha postulado que la taspina pareciera ser el determinante clave de la estimulación de la migración de fibroblastos, sin embargo, su uso en altas concentraciones podría ser causante de citotoxicidad (Milla, 1985; Pieters et al., 1993; Chen et al., 1994).

Así, la potencial regulación de los eventos celulares fundamentales para la regeneración tisular por Dragon's Blood, permiten utilizarla como alternativa terapéutica para la regeneración de heridas. Las primeras aproximaciones experimentales han logrado determinar que Dragon's Blood puede acelerar el proceso de regeneración, estimulando la migración de fibroblastos, incrementando el tejido de granulación e induciendo la expresión de TGF- $\beta$ 1 y VEGF, factores importantes en la producción de matriz extracelular y migración celular, sin embargo existen pocos estudios que evalúen el efecto anti-microbiano, anti-viral o anti-fúngico (Conant et al., 1971; Cárdenas, 1994; Chen et al., 1994; Calderón, 1995; Ta-

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

Bacterias	Efectos	Referencias
<i>Helicobacter pylori</i>	Bacteriostático y bactericida	Tamariz et al., 2003
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bacteriostático (Tintura Madre)	En ejecución
<i>Trichophyton rubrum</i>	Desorganización en esporas	Conant et al., 1971, Gurgel et al., 2005
Virus	Limitación del crecimiento	Peres et al., 1997; Gurgel et al., 2005

Tabla 2

mariz et al., 2003; Espinoza, 2004; Huihui et al., 2013) (Tabla 2). En términos generales, el potencial uso terapéutico podría extenderse a otras disciplinas de la odontología y medicina, a un bajo costo

y con un gran beneficio. No obstante la evidencia actual nos permitiría especular que Dragon's Blood podría ser un potente agente regenerativo y anti-microbiano, el efecto que las distintas concentracio-

nes de esta savia pudiera ejercer en la migración y proliferación de las células involucradas en la regeneración tisular y en la inhibición del crecimiento bacteriano, viral y fúngico, es aún incierto.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **ABBAS, A., MURPHY, K. & SHER, A. (1996)** *Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature* 383 (6603), 787-793.
2. **ALVES, N., PASHKULEVA, I., REIS, R. & MANO, J. (2010)** *Controlling cell behavior through the design of polymer surfaces. Small* 6 2208-2220.
3. **ANITUA, E., AGUIRRE, J., ALGORTA, J., AYERDI, E., CABEZAS, A., ORIVE, G. & ANDIA, I. (2008A)** *Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 84 415-421.
4. **ANITUA, E., ALKHRAISAT, M. & ORIVE, G. (2012)** *Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. Journal of Controlled Release* 157 29-38.
5. **ANITUA, E., SANCHEZ, M., ORIVE, G. & ANDIA, I. (2008B)** *Delivering growth factors for therapeutics. Trends in Pharmacological Sciences* 29 37-41.
6. **APPAY, V., LIER, R. V., SALLUSTO, F. & ROEDERER, M. (2008)** *Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues. Cytometry* 73 (A), 975-983.
7. **AZUMA, M. (2006)** *Fundamental mechanisms of host immune responses to infection. Journal of Periodontal Research* 41 (5), 361-373.
8. **BABA, N., RUBIO, M., KENINS, L., REGAIRAZ, C., WOISETSCHLAGER, M., CARBALLIDO, J. M. & SARFATI, M. (2012)** *The aryl hydrocarbon receptor (AhR) ligand VAK347 selectively acts on monocytes and naïve CD4+ T<sub>H</sub> cells to promote the development of IL-22-secreting T<sub>H</sub> cells. Human Immunology* 73 795-800.
9. **BADRAN, Z., PILET, P., VERRON, E., BOULER, J., WEISS, P., GRIMANDI, G., GUICHEUX, J. & SOUEIDAN, A. (2012)** *Assays of in vitro osteoclast activity on dentine, and synthetic calcium phosphate bone substitutes. J Mater Sci Mater Med* 23 (3), 797-803.
10. **BAKER, P., DIXON, M., EVANS, R., DUFOUR, L., JOHNSON, E. & ROOPENIAN, D. (1999)** *CD4+T Cells and the*

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

## BIBLIOGRAFÍA

- proinflammatory cytokines gamma interferon and interleukin-6 contribute to alveolar bone loss in mice. *Infection & Immunity* 67 (6), 2804-2809.
11. BANCHEREAU, J., BRIERE, F., CAUX, C., DAVOUST, J., LEBECQUE, S., LIU, Y., PULENDRAN, B. & PALUCKA, K. (2000) *Immunobiology of dendritic cells. Annual Review of Immunology* 18 767-811.
  12. BEACHLEY, V. & WEN, X. (2010) *Polymer nanofibrous structures: fabrication, biofunctionalization, and cell interactions. Progress in Polymer Science* 35 (868-892).
  13. BHARDWAJ, N. & KUNDU, S. (2010) *Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. Biotechnology Advances* 28 325-347.
  14. BHATTACHARYYA, S., BORTHAKUR, A., DUDEJA, P. K. & TOBACMAN, J. K. (2010) *Lipopolysaccharide-induced activation of NF- $\kappa$ B non-canonical pathway requires BCL10 serine 138 and NIK phosphorylations. Experimental Cell Research* 316 3317-3327.
  15. BINDERMAN, I., SHIMSHONI, Z. & SOMJEN, D. (1984) *Biochemical pathways involved in the translation of physical stimulus into biological message. Calcified Tissue International* 36 82-85.
  16. BLUESTONE, J. & ABBAS, A. (2003) *Natural versus adaptive regulatory T cells. Nature Reviews Immunology* 3 253-257.
  17. BLUESTONE, J., MACKAY, C., O'SHEA, J. & STOCKINGER, B. (2009) *The functional plasticity of T cell subsets. Nature Reviews Immunology* 9 (11), 811-816.
  18. BORALDI, F., ANNOVI, G., CARRARO, F., NALDINI, A., TIOZZO, R., SOMMER, P. & QUAGLINO, D. (2007) *Hypoxia influences the cellular cross-talk of human dermal fibroblasts. A proteomic approach. Biochimica et Biophysica Acta* 1772 (11), 1402-1413.
  19. BOYLE, W., SIMONET, W. & LACEY, D. (2003) *Osteoclast differentiation and activation. Nature* 423 337-342.
  20. BRAND, S., BEIGEL, F., OLSZAK, T., ZITZMANN, K.-., EICHHORST, S. T., OTTE, J. M., DIEPOLDER, H., MARQUARDT, A., JAGLA, W., POPP, A., LECLAIR, S., HERRMANN, K., SEIDERER, J., OCHSENKÜHN, T., GÖKE, B.-., AUERNHAMMER, C. J. & DAMBACHER, J. (2005) *IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology* 290 827-838.
  21. BRIGHTBILL, H., LIBRATY, D., KRUTZIK, S., YANG, R., BELISLE, J., BLEHARSKI, J., MAITLAND, M., NORGARD, M., PLEVY, S., SMALE, S., BRENNAN, P., BLOOM, B., GODOWSKI, P. & MODLIN, R. (1999) *Host defense mechanism triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. Science* 285 (732-736).
  22. BUDUNELI, N. & KINANE, D. F. (2011) *Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. Journal of Clinical Periodontology* 38 (Suppl 11), 85-105.
  23. CACERES, M., HIDALGO, R., SANZ, A., MARTINEZ, J., RIERA, P. & SMITH, P. (2008) *Effect of platelet-rich plasma on cell adhesion, cell migration, and myofibroblastic differentiation in human gingival fibroblasts. Journal of Periodontology* (714), 677-720.
  24. CAETANO-LOPES, J., RODRIGUES, A., LOPES, A., VALE, A. C., PITTS-KIEFER, M. A., VIDAL, B., PERPÉTUO, I. P., MONTEIRO, J., KONTTINEN, Y. T., VAZ, M.-F.-., NAZARIAN, A., CANHAO, H. & FONSECA, J. E. (2013) *Rheumatoid arthritis bone fragility is associated with upregulation of IL17 and DKK1 gene expression. Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 44 (2), 1-8 online.
  25. CALDERÓN, J. (1995) *Efecto de la sangre de grado (savia del croton palanostigma K) en la cicatrización de heridas incisionales en piel de ratones. Arequipa; UNSA; 1995.*
  26. CÁRDENAS, M. (1994) *Aplicación clínica de la sangre de grado en el tratamiento de la gingivitis crónica. Tesis Bachiller. Universidad de San Martín de Porres. Facultad de Odontología. Perú.*
  27. CARDOSO, C., GARLET, G., CRIPPA, G., ROSA, A., JÚNIOR, W., ROSSI, M. & SILVA, J. (2009) *Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. Oral Microbiology and Immunology* 24 (1), 1-6.
  28. CHANG, H. C., SEHRA, S., GOSWAMI, R., YAO, W., YU, Q., STRITESKY, G. L., JABEEN, R., MCKINLEY, C., AHYI, A. N., HAN, L., NGUYEN, E. T., ROBERTSON, M. J., PERUMAL, N. B., TEPPER, R. S., NUTT, S. L. & KAPLAN, M. H. (2010) *The transcription factor PU.1 is required for the development of interleukin 9-producing T cells and allergic inflammation. Nature Immunology* 11 (6), 527-534.
  29. CHEN, Z. P., CAI, Y. & PHILLIPSON, J. D. (1994) *Studies on the antitumor, antibacterial and Wound- Healing properties of Dragon's Blood. Planta Médica* 60 (6), 541-545.
  30. CLARK, R., GHOSH, K. & TONNESEN, M. (2007) *Tissue engineering for cutaneous wounds. Journal of Investigative Dermatology* 127 1018-1029.
  31. CLAUDINO, M., TROMBONE, A., CARDOSO, C., FERREIRA, S., MARTINS, W., ASSIS, G., SANTOS, C., TREVILATTO, P., CAMPANELLI, A., SILVA, J. & GARLET, G. (2008) *The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. Journal of Leukocyte Biology* 84 1565-1573.
  32. COCHRAN, D. L. (2008) *Inflammation and bone loss in periodontal disease. Journal of Periodontology* 79 1569-1576.
  33. CONANT, N. F., SMITH, D. T., BAKER, R. D. & CALLAWAY, J. L. (1971) *Micology of dermatomycoses. Manual of Clinical Microbiology* (3), 595-602.
  34. CORRAL, C. J., SIDDIQUI, A., WU, L., FARRELL, C. L., LYONS, D. & MUSTOE, T. A. (1999) *Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblastic growth factor during ischemic wound healing. Archives of Surgery* 134 (2), 200-205.
  35. CUTLER, C. & JOWATNI, R. (2004) *Antigen-presentation and the*

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

## BIBLIOGRAFÍA

role of dendritic cells in periodontitis. *Periodontology* 2000 35 135-157.

35. DE BRITO, L. C., TELES, F. R., TELES, R. P., TOTOLA, A. H., VIEIRA, L. Q. & SOBRINHO, A. P. (2012) T-lymphocyte and cytokine expression in human inflammatory periapical lesions. *Journal of Endodontics* 38 (4), 481-485.

36. DE CARVALHO FRAGA, C. A., ALVES, L. R., DE SOUSA, A. A., DE JESUS, S. F., VILELA, D. N., PEREIRA, C. S., BASTISTA DOMINGOS, P. L., VIANA, A. G., JHAM, B. C., BASTISTA DE PAULA, A. M. & A.L., S. G. (2013) Th1 and Th2-like protein balance in human inflammatory radicular cysts and periapical granulomas. *Journal of Endodontics* 39 (4), 453-455.

37. DI BENEDETTO, A., GIGANTE, I., COLUCCI, S. & GRANO, M. (2013) Periodontal Disease: linking the primary inflammation to bone loss. *Clinical and Developmental Immunology Article ID 503754* 7 pages.

38. DÍAZ, R. (2008) Los primeros neurocirujanos de América: pre y postoperatorio en las trepanaciones Incas. *Revista argentina de neurocirugía* 22 (4), 1-5.

39. DOOSTMOHAMMADI, A., MONSHI, A., SALEHI, R., FATHI, M. H., SEYEDJAFARI, E., SHAFIEE, A. & SOLEIMANI, M. (2011) Cytotoxicity evaluation of 63s bioactive glass and bone-derived hydroxyapatite particles using human bone-marrow stem cells. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 155 (4), 323-326.

40. DUTZAN, N., VERNAL, R., HERNANDEZ, M., DEZEREAGA, A., RIVERA, O., SILVA, N., AGUILLON, J., PUENTE, J., POZO, P. & GAMONAL, J. (2009) Levels of interferon-gamma and transcription factor T-bet in progressive periodontal lesions in patients with chronic periodontitis. *Journal of Periodontology* 80 (2), 290-296.

41. EBISAWA, K., HATA, K., OKADA, K., KIMATA, K., UEDA, M., TORII, S. & WATANABE, H. (2004) Ultrasound Enhances Transforming Growth Factor  $\beta$ -Mediated Chondrocyte Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Eng* 10 921-929.

42. ESPINOZA, M. (2004) Estudio histológico de la evolución de la cicatrización alveolar entre un apósito experimental a base de *Croton ssp* más propolis, y *Croton ssp* más Alvogyl en lagomorfos. Tesis Bachiller. Universidad de San Martín de Porres. Facultad de Odontología. Perú.

43. FIGDOR, D. (2002) Apical periodontitis: a very prevalent problem. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 94 (6), 651-652.

44. FOSTER, T., PUSKAS, B., MANDELBAUM, B., GERHARDT, M. & RODEO, S. (2009) Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *American Journal of Sports Medicine* 37 2259-2272.

45. GALLIT, J. & CLARK, R. (1994A) Wound repair in the context of extracellular matrix. *Current Opinion in Cell Biology* 6 717-725.

46. GALLIT, J. & CLARK, R. (1994B) Wound repair in the context of extracellular matrix. *Current Opinion in Cell Biology* 6 (5), 717-725.

47. GALY, A., TRAVIS, M., CEN, D. & CHEN, B. (1995) Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity* 3 459-473.

48. GARLET, G. (2010) Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *Journal of Dental Research* 89 (12), 1349-1363.

49. GARLET, G., MARTINS, J., FONSECA, B., FERREIRA, B. & SILVA, J. (2004) Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 31 671-679.

50. GARLET, G. P., MARTINS, W., FERREIRA, B. R., MILANEZI, C. M. & SILVA, J. S. (2003) Patterns of chemokines and chemokine receptors expression in different forms of human periodontal disease. *Journal of Periodontal Research* 38 (2), 210-217.

51. GASPARINI, C., FOXWELL, B. M. J. & FELDMANN, M. (2009) RelB/p50 regulates CCL19 production, but fails to promote human DC maturation. *European Journal of Immunology* 39 2215-2223.

52. GIANNOPOULOU, C., KAMMA, J. & MOMBELLI, A. (2003) Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *Journal of Clinical Periodontology* 30 145-153.

53. GOMES, B. P., PINHEIRO, E. T., GADE-NETO, C. R., SOUSA, E. L., FERRAZ, C. C., ZAIA, A. A., TEIXEIRA, F. B. & SOUZA-FILHO, F. J. (2004) Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiology and Immunology* 19 (2), 71-76.

54. GONZALES, G. & VALERIO, L. G. J. (2006) Medicinal plants from Perú: a review of plants as potential agents against cancer. *Anti-Cancer agents in medicinal chemistry* 6 429-444.

55. GOSWAMI, R. & KAPLAN, M. H. (2012) Gcn5 is required for PU.1-dependent IL-9 induction in Th9 cells. *Journal of Immunology* 189 3026-3033.

56. GUEVARA, J. (1995) Sangre de Grado en cirugía periodontal. Tesis Bachiller. Universidad de San Martín de Porres. Facultad de Odontología. Perú.

57. GUPTA, D., BLEAKLEY, B. & GUPTA, R. (2008) Dragon's Blood: botany, chemistry and therapeutic uses. *Journal Of Ethno-pharmacology* 115 361-380.

58. GUPTA, D. & GUPTA, R. (2011) Bioprotective properties of Dragon's Bloodresin: in vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity. *BMC Complementary & Alternative Medicine* 11 13-22.

59. GURGEL, L. A., SIDRIM, J. J. C., MARTINS, D. T., FILHO, V. C. & RAO, V. S. (2005) in vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. *Journal of Ethnopharmacology* 97 (2), 409-412.

60. HAAPASALO, M., RANTA, H. & RANTA, K. T. (1983) Facultative gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. *Acta Odontologica Scandinavica* 41 (1), 19-22.

61. HÄMMERLE, C. & GIANNOBILE, W. (2014) Biology of soft tissue wound healing and regeneration - Consensus report of group 1 of the 10th European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* 41, S1-S5. 41 (Suppl 15), S1-S5.

62. HARRINGTON, L., MANGAN, P. & WEAVER, C. (2006)

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

## BIBLIOGRAFÍA

Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Current Opinion in Immunology* 18 349-356.

63. HERNÁNDEZ, M., DUTZAN, N., GARCÍA-SESNICH, J., ABUSLEME, L., DEZEREGA, A., SILVA, N., GONZÁLEZ, F., VERNAL, R., SORSA, T. & GAMONAL, J. (2011) Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *Journal of Dental Research* 90 (10), 1160-1170.
64. HONDA, K. (2012) IL-22 from T Cells: better late than never. *Immunity* 37 952-954.
65. HOPF, H. & ROLLINS, M. (2007) Wounds: an overview of the role of oxygen. *Antioxidants & Redox Signaling* 9 (8), 1183-1192.
66. HOSOKAWA, Y., HOSOKAWA, I., OZAKI, K., NAKAE, H. & MATSUO, T. (2009) Cytokines differentially regulate CXCL10 production by interferon-g-stimulated or tumor necrosis factor- $\alpha$ -stimulated human gingival fibroblasts. *Journal of Periodontal Research* 44 225-231.
67. HUIHUI, L., SHAOHUI, L., DAN, X., XIAO, Z., YAN, G. & SHANYU, G. (2013) Evaluation of the Wound Healing Potential of Resina Draconis (*Dracaena cochinchinensis*) in Animal Models. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 16 1-10.
68. IHN, H., YAMANE, K., ASANO, Y., KUBO, M. & TAMAKI, K. (2002) IL-4 up-regulates the expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in dermal fibroblasts via the p38 mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *Journal of Immunology* 168 1895-1902.
69. IKEUCHI, H., KUROIWA, T., HIRAMATSU, N., KANEKO, Y., HIROMURA, K., UEKI, K. & NOJIMA, Y. (2005) Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis. Potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis and Rheumatism* 52 (4), 1037-1046.
70. JACOBS-HELBER, S. M., WICKREMA, A., BIRRER, M. J. & SAWYER, S. T. (1998) AP1 regulation of proliferation and initiation of apoptosis in erythropoietin-dependent erythroid cells. *Molecular and Cellular Biology* 18 3699-3707.
71. JAMAL, M., CHOGLE, S., GOODIS, H. & KARAM, S. M. (2011) Dental stem cells and their potential role in regenerative medicine. *J Med Sci* 4 53-61.
72. JANKOVIC, D., LIU, Z. & GAUSE, W. (2001) Th1 and Th2 cell commitment during infectious disease: asymmetry in divergent pathways. *TRENDS in Immunology* 22 (8), 450-457.
73. JIA-YI, F., TAO, Y., CHU-MEI, S.-T., LIN, Z., WAN-LING, P., YA-ZHOU, Z., ZHONG-ZHEN, Z. & HU-BIAO, C. (2014) A systematic review of the botanical, phytochemical and pharmacological profile of *Dracaena cochinchinensis*, a plant source of the ethnomedicine "Dragon's Blood". *Molecules* 19 10650-10669.
74. KACHLANY, S. C. (2010) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: from threat to therapy. *Journal of Dental Research* 89 (6), 561-570.
75. KAKEHASHI, S., STANLEY, H. R. & FITZGERALD, R. J. (1965) The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulp in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral Surgery Oral Medicine & Oral Pathology* 20 (3), 340-349.
76. KANAYA, S., NEMOTO, E., OGAWA, T. & SHIMAUCHI, H. (2004) *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharides induce maturation of dendritic cells with CD14+CD16+ phenotype. *Eur J Immunol* 34 (5), 1451-1460.
77. KAPLAN, J., PERRY, M., MACLEAN, L., FURGANGA, D., WILSON, M. & FINE, D. (2001) Structural and genetic analyses of O polysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype f. *Infection & Immunity* 69 (9), 5375-5384.
78. KARIN, M., LIU, Z. & ZANDI, E. (1997) AP-1 function and regulation. *Current Opinion in Cell Biology* 9 240-246.
79. KIKKERT, R., LAINE, M., AARDEN, L. & WINKELHOFF, A. V. (2007) Activation of toll-like receptors 2 and 4 by gram-negative periodontal bacteria. *Oral Microbiology and Immunology* 22 (3), 145-151.
80. KIKUCHI, T., WILLIS, D., LIU, M., SUKUMAR, S., BARBOUR, S., SCHENKEIN, H. & TEW, J. (2005) Dendritic-NK cell interactions in *P. gingivalis*-specific responses. *Journal for Dental Research* 84 (9), 4.
81. KIM, K. W., KIM, H. R., PARK, J. Y., PARK, J. S., OH, H. J., WOO, Y. J., PARK, M. Y., CHO, M. L. & LEE, S. H. (2012) Interleukin-22 promotes osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis through induction of RANKL in human synovial fibroblasts. *Arthritis and Rheumatism* 64 1015-1023.
82. KRAMER, J. & GAFFEN, S. (2007) Interleukin-17: A new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. *Journal of Periodontology* 78 1083-1093.
83. LABBAF, S., TSIGKOU, O., MÜLLER, K. H., STEVENS, M. M., PORTER, A. E. & JONES, J. R. (2011) Spherical bioactive glass particles and their interaction with human mesenchymal stem cells in vitro. *Biomaterials* 32 (4), 1010-1018.
84. LAWRENCE, T. (2009) The nuclear factor NF- $\kappa$ B pathway in inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 1 1651-1661.
85. LAZO, J. L. (1999) Extracto de *Croton lechleri* y extracto de *depelargonium robertianum* en el tratamiento de la gingivitis asociada al embarazo. Estudio comparativo. Tesis Bachiller. Universidad de San Martín de Porres. Facultad de Odontología. Perú.
86. LECHMANN, M., ZINSER, E., GOLKA, A. & STEINKASERER, A. (2002) Role of CD83 in the immunomodulation of dendritic cells. *International Archives of Allergy and Immunology* 129 113-118.
- Lee, H. J., Choi, B. H., Min, B. H. & Park, S. R. (2007) Low intensity ultrasound inhibits apoptosis and enhances viability of human mesenchymal stem cells in three-dimensional alginate culture during chondrogenic differentiation. *Tissue Eng* 13 1049-1057.
87. LEE, P. Y., CHESNOY, S. & HUANG, L. (2004) Electroporatic delivery of TGF- $\beta$ 1 gene works synergistically with electric therapy to enhance diabetic wound healing in db/db mice. *Journal of Investigative Dermatology* 123 (4), 791-798.
88. LENG, R. X., PAN, H. F., YE, D. Q. & XU, Y. (2012) Potential roles of IL-9 in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *American Journal of Clinical and Experimental Immunology* 1 (1), 28-32.

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

## BIBLIOGRAFÍA

89. LIM, J. S. & YOO, G. (2010) Effects of adipose-derived stromal cells and of their extract on wound healing in a mouse model. *Journal of Korean Medical Science* 25 (5), 746-751.
90. MÁLAGA, G. E. (1985) Efecto del clorhidrato de taspina sobre la curación de úlcera gástrica inducida en ratos. Tesis Bachiller. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Facultad de Biología. Perú 1985.
91. MALDA, J., KLEIN, T. & UPTON, Z. (2007) The roles of hypoxia in the in vitro engineering of tissues. *Tissue Engineering* 13 (9), 2153-2162.
92. MARTIN, P. (1997) Wound healing—aiming for perfect skin regeneration. *Science* 276 75-81.
93. MATSUMOTO, C., ODA, T., YOKOYAMA, S., TOMINARI, T., HIRATA, M., MIYAURA, C. & INADA, M. (2012) Toll-like receptor 2 heterodimers, TLR2/6 and TLR2/1 induce prostaglandin E production by osteoblasts, osteoclast formation and inflammatory periodontitis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 428 (1), 110-115.
94. MEDZHITOV, R. & JANEWAY, C. J. (2000) Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunological Reviews* 173 89-97.
95. MEHTA, S. & WATSON, J. (2008) Platelet rich concentrate: basic science and current clinical applications. *Journal of Orthopaedic Trauma* 22 432-438.
96. METZGER, Z. (2000) Macrophages in periapical lesions. *Endodontic Dental Traumatology Journal* 16 (1), 1-8.
97. MILLA, M. E. (1985) Estudio sobre el mecanismo de acción del principio activo de la "Sangre de Grado". Tesis para optar el Grado de Bachiller en ciencias con mención en biología. UPCIL Perú.
98. MISHRA, A. & PAVELKO, T. (2006) Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *American Journal of Sports Medicine* 34 1774-1778.
99. MODGLIN, V. C., BROWN, R. F., JUNG, S. B. & DAY, D. E. (2013) Cytotoxicity assessment of modified bioactive glasses with MLO-A5 osteogenic cells in vitro. *J Mater Sci Mater Med* 24 (5), 1191-1199.
100. MORALES, M. (1984) Estudio Clínico de los efectos del Croton Draco-noide en el tratamiento de la alveolitis seca dolorosa. Tesis Bachiller. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Facultad de Odontología. Perú.
101. MOSSER, D. & EDWARD, J. (2008) Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology* 8 (12), 958-969.
102. MURPHY, K. & REINER, S. (2002) The lineage decision of helper T cells. *Nature Reviews Immunology* 2 933-944.
103. NAIR, P. N. (2004) Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 15 (6), 348-381.
104. NAUNDORF, S., SCHRÖDER, M., HÖFLICH, C., SU-MAN, N., VOLK, H. & GRÜTZ, G. (2009) IL-10 interferes directly with TCR-induced IFN- $\gamma$  but not IL-17 production in memory T cells. *European Journal of Immunology* 39 1066-1077.
105. NÚÑEZ, J., CAFFESSE, R., VIGNOLETTI, F., GUERRA, F., SAN ROMAN, F. & SANZ, M. (2009) Clinical and histological evaluation of an acellular dermal matrix allograft in combination with the coronally advanced flap in the treatment of Miller class I recession defects: an experimental study in the mini-pig. *Journal of Clinical Periodontology* 36 (6), 523-531.
106. NÚÑEZ, J., SANZ-BLASCO, S., VIGNOLETTI, F., MUÑOZ, F., CAFFESSE, R. G., SANZ, M., VILLALOBOS, C. & NÚÑEZ, L. (2010) 17beta-estradiol promotes cementoblast proliferation and cementum formation in experimental periodontitis. *Journal of Periodontology* 81 1064-1074.
107. NUSSBAUM, G., BEN-ADI, S., GENZLER, T., SELA, M. & ROSEN, G. (2009) Involvement of toll-like receptor 2 and 4 in the innate immune response to *Treponema denticola* and its outer sheath components. *Infection & Immunity* 77 3939-3947.
108. OFFENBACHER, S. (1996) Periodontal diseases: pathogenesis. *Annals in Periodontology* 1 (1), 821-878.
109. OHYAMA, H., KATO-KOGOE, N., KUHARA, A., NISHIMURA, F., NAKASHO, K., YAMANEGI, K., YAMADA, N., HATA, M., YAMANE, J. & TERADA, N. (2009) The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. *Journal of Dental Research* 88 (7), 633-638.
110. OYONARTE, R., BECERRA, D., DÍAZ-ZÚÑIGA, J., ROJAS, V. & CARRIÓN, F. (2013) Morphological effects of mesenchymal stem cells and pulsed ultrasound on condylar growth in rats: a pilot study. *Aust Orthod J* 29 (1), 3-12.
111. PALUCKA, K., UENO, H., ROBERTS, L., FAY, J. & BANCHEREAU, J. (2010) Dendritic cells: are they clinically relevant? *Cancer Journal* 16 (4), 318-324.
112. PELIPENKO, J., KOCBEK, P., GOVEDARICA, B., ROŠIĆ, R., BAUMGARTNER, S. & KRISTL, J. (2013) The topography of electrospun nanofibers and its impact on the growth and 768 mobility of keratinocytes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 84 401-411.
113. PERES, M. T. L. P., DELLE MONACHE, F., CRUZ, A. B., PIZZOLATTI, M. G. & YUNES, R. A. (1997) Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 56 (3), 223-226.
114. PERRY, M., MACLEAN, L., BRISSON, J. & WILSON, M. (1996A) Structures of the antigenic O-polysaccharides of lipopolysaccharides produced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a, c, d and e. *European Journal of Biochemistry* 242 628-634.
115. PERRY, M., MACLEAN, L., GMÜR, R. & WILSON, M. (1996B) Characterization of the O-polysaccharide structure of lipopolysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype b. *Infection & Immunity* 64 (4), 1215-1219.
116. PIETERS, L., DE BRUYNE, T., CLAEYS, M., VLIETINCK, A., CALOMME, M. & VANDEN BERGHE, D. (1993) Isolation of a dihydrobenzofuran lignan from South American Dragon's Blood (*Croton* spp.) as an inhibitor of cell proliferation. *Journal of Natural Products* 56 (6), 899-906.
117. PIETERS, L., DE BRUYNE, T., MEI, G., LEMIERE, G., VANDEN BERGHE, D. & VLIETINCK, A. J. (1992) In vitro and

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

## BIBLIOGRAFÍA

- In vivo biological activity of South American Dragon's Blood and its constituents. Planta Medica Supplement 58 582-583.*
118. PORRAS-REYES, B. H., LEWIS, W. H., ROMAN, J., SIM-CHOWITZ, L. & MUSTOE, T. A. (1993) *Enhancement of wound healing by the alkaloid taspine defining mechanism of action. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 203 18-25.*
119. PUSCANEL, B. (1993) *Alternativa de tratamiento de la alveolitis buccal con sangre de grado. Tesis Bachiller. Universidad de San Martín de Porres. Facultad de Odontología. Perú.*
120. REINER, S. (2007) *Development in motion: helper T cells at work. Cell 129 33-36.*
121. REPEKE, C. E., FERREIRA, S. B., CLAUDINO, M., SILVEIRA, E. M., ASSIS, G. F. D., AVILA-CAMPOS, M. J., SILVA, J. S. & GARLET, G. P. (2010) *Evidences of the cooperative role of the chemokines CCL3, CCL4 and CCL5 and its receptors CCR1+ and CCR5+ in RANKL+ cell migration throughout experimental periodontitis in mice. Bone 46 (4), 1122-1130.*
122. REVEL, M. (1989) *Host defense against infections and inflammations: role of the multifunctional IL6/IFN-beta cytokine. Experientia 45 (6), 549-558.*
123. ROSIC, R., KOCBEK, P., PELIPENKO, J., KRISTL, J. & BAUMGARTNER, S. (2013) *Nanofibers and their biomedical use. Acta Pharmaceutica 63 295-304.*
124. ROSSATO, M., CURTALE, G., TAMASSIA, N., CASTELLUCCI, M., MORI, L., GASPERINI, S., MARIOTTI, B., LUCA, M. D., MIROLO, M., CASSATELLA, M. A., LOCATI, M. & BAZZONI, F. (2012) *IL-10-induced microRNA-187 negatively regulates TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-12p40 production in TLR4-stimulated monocytes. Proceedings of the National Academy of Sciences 3101-3110.*
125. ROY, H., BHARDWAJ, S. & YLÄ-HERTTUALA, S. (2006) *Biology of vascular endothelial growth factors. FEBS Letters 580 (12), 2879-2887.*
126. SA, S. M., VALDEZ, P. A., WU, J., JUNG, K., ZHONG, F., HALL, L., KASMAN, I., WINER, J., MODRUSAN, Z., DANILENKO, D. M. & OUYANG, W. (2007) *The effects of IL-20 subfamily cytokines on reconstituted human epidermis suggest potential roles in cutaneous innate defense and pathogen adaptive immunity in psoriasis. Journal of Immunology 178 2229-2240.*
127. SAKELLARI, D., MENTI, S. & KONSTANTINIDIS, A. (2008) *Free soluble receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand in gingival crevicular fluid correlates with distinct pathogens in periodontitis patients. Journal of Clinical Periodontology 35 938-943.*
128. SANTOS, S. C. R., MIGUEL, C., DOMINGUES, I., CALADO, A., ZHU, Z., WU, Y. & DIAZ, S. (2007) *VEGF and VEGFR-2 (KDR) internalization is required for endothelial recovery during wound healing. Experimental Cell Research 313 (8), 1561-1574.*
129. SATO, K., SUEMATSU, A., OKAMOTO, K., YAMAGUCHI, A., MORISHITA, Y., KADONO, Y., TANAKA, S., KODAMA, T., AKIRA, S., IWAKURA, Y., CUA, D. & TAKAYANAGI, H. (2006) *Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. Journal of Experimental Medicine 203 (13), 2673-2682.*
130. SCORTICHINI, M. & ROSSI, M. P. (1991) *"Preliminary in vitro evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids towards Erwinia amylovora (Burrill) Winslow et al. Journal of Applied Bacteriology 71 (2), 109-112.*
131. SEDER, R. & PAUL, W. (1994) *Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+ T cells. Annual Review of Immunology 12 635-673.*
132. SEGURA-EGEA, J. J., MARTIN-GONZALEZ, J. & CASTELLANOS-COSANO, L. (2015) *Endodontic medicine: connections between apical periodontitis and systemic diseases. International Endodontic Journal 48 (10), 933-951.*
133. SHAO-CONG, S. (2011) *Non-canonical NF- $\kappa$ B signalling pathway. Cell Research 21 71-85.*
134. SHUKLA, A., RASIK, A. M. & DHAWAN, B. N. (1999) *Asiaticoside-induced elevation of antioxidant levels in healing wounds. Phytotherapy Research 13 (1), 50-54.*
135. SON, D. & HARIJAN, A. (2014) *Overview of surgical scar prevention and management. Journal of Korean Medical Sciences 29 751-757.*
136. SOZZANI, S., ALLAVENA, P., D'AMICO, G., LUINI, W., BIANCHI, G., KATAURA, M., IMAI, T., YOSHIE, O., BANCHECCHI, R. & MANTOVANI, A. (1998) *Cutting edge: differential regulation of chemokine receptors during dendritic cell maturation: a model for their trafficking properties. Journal of Immunology 161 1083-1086.*
137. STEINMAN, R., HAWIGER, D. & NUSSENZWEIG, M. (2003) *Tolerogenic Dendritic Cells. Annual Review of Immunology 21 685-711.*
138. STOCKINGER, B. & VELDHOEN, M. (2007) *Differentiation and function of Th17 T cells. Current Opinion in Immunology 19 (281-286).*
139. TAKAHASHI, K., AZUMA, T., MOTOHIRA, H., KINANE, D. & KITETSU, S. (2005) *The potential role of interleukin-17 in the immunopathology of periodontal disease. Journal of Clinical Periodontology 32 369-374.*
- TAKAMI, M., LOVE, R. B. & IWASHIMA, M. (2012) *TGF- $\beta$  converts apoptotic stimuli into the signal for Th9 differentiation. Journal of Immunology 188 (9), 4369-4375.*
140. TAKEICHI, O., HABER, J., KAWAI, T., SMITH, D., MORO, I. & TAUBMAN, M. (2000) *Cytokine profiles of T lymphocytes from gingival tissues with pathological pocketing. Journal of Dental Research 79 (8), 1548-1555.*
141. TAMARIZ, J., CAPCHA, R., PALOMINO, E. & AGUILAR, J. (2003) *Actividad antimicrobiana de la Sangre de Grado (Croton lechleri) frente a Helicobacter pylori. Revista Médica Herediana 14 (2), 81-88.*
142. TANAKA, S. (2013) *Regulation of bone destruction in rheumatoid arthritis through RANKL-RANK pathways. World Journal of Orthopaedics 4 (1), 1-6.*
143. TAUBMAN, M. & KAWAI, T. (2001) *Involvement of T-lymphocy-*

## Patologías orales osteo-destructivas: potencial uso de Dragon's Blood en la regeneración tisular

Mardones J.; Díaz Zúñiga J.; Melgar Rodríguez S.;

## BIBLIOGRAFÍA

tes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 12 (2), 125-135.

144. TONETTI, M. S., IMBODEN, M. A. & LANG, N. P. (1998) Neutrophil migration into the gingival sulcus is associated with transepithelial gradients of interleukin-8 and ICAM-1. *Journal of Periodontology* 69 (1), 1139-1147.

145. TSUCHIYA, H., SATO, M., MIYAZAKI, T., FUJIWARA, S., TANIGAKI, S., OHYAMA, M., TANAKA, T. & IINUMA, M. (1996) Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology* 50 (1), 27-34.

146. VAISBERG, A. J., MILLA, M., AS, M. C., CÓRDOVA, J. L., ROSAS DE AGUSTI, E., FERREYRA, R., MUSTIGA, M. C., CARLIN, L. & HAMMON, G. B. (1989) *Taspine* is the cicatrizant principle in Sangre de Grado extracted from *Croton lechleri*. *Planta Medica* 55 140-143.

147. VELDHOEN, M., UYTENHOVE, C., SNICK, J. V., HELMBY, H., WESTENDORF, A., BUER, J., MARTIN, B., WILHELM, C. & STOCKINGER, B. (2008) Transforming growth factor-B "reprograms" the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nature Immunology* 9 (12), 1341-1346.

148. VERNAL, R., DEZEREGA, A., DUTZAN, N., CHAPARRO, A., LEÓN, R., CHANDÍA, S., SILVA, A. & GAMONAL, J. (2006A) RANKL in human periapical granuloma: possible involvement in periapical bone destruction. *Oral Diseases* 12 (3), 283-289.

149. VERNAL, R., DUTZAN, N., CHAPARRO, A., PUENTE, J., VALENZUELA, M. & GAMONAL, J. (2005) Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 32 383-389.

150. VERNAL, R., DUTZAN, N., HERNÁNDEZ, M., CHANDÍA, S., PUENTE, J., LEÓN, R., GARCÍA, L., VALLE, I. D., SILVA, A. & GAMONAL, J. (2006B) High expression levels of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand associated with human chronic periodontitis are mainly secreted by CD4<sup>+</sup> T lymphocytes. *Journal of Periodontology* 77 (10), 1772-1780.

151. VERNAL, R., DUTZAN, N., HERNÁNDEZ, M., CHANDÍA, S., PUENTE, J., LEÓN, R., GARCÍA, L., VALLE, I. D., SILVA, A. & GAMONAL, J. (2006C) High expression levels of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand associated with human chronic periodontitis are mainly secreted by CD4<sup>+</sup> T lymphocytes. *Journal of Periodontology* 77 (10), 1772-1780.

152. VERNAL, R. & GARCIA-SANZ, J. (2008) Th17 and Treg cells, two new lymphocyte subpopulations with a key role in the immune response against infection. *Infectious Disorders Drug Targets* 8 (4), 207-220.

153. VERNAL, R., LEÓN, R., HERRERA, D., GARCÍA-SANZ, J., SILVA, A. & SANZ, M. (2008) Variability in the response of human

dendritic cells stimulated with *Porphyromonas gingivalis*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Journal of Periodontal Research* 43 689-697.

154. VERNAL, R., LEON, R., SILVA, A., VAN WINKELHOFF, A., GARCIA-SANZ, J. & SANZ, M. (2009) Differential cytokine expression by human dendritic cells in response to different *Porphyromonas gingivalis* serotypes. *Journal of Clinical Periodontology* 36 (10), 823-829.

155. VIGNOLETT, F., NUÑEZ, J., DISCEPOLI, N., DE SANC-TIS, F., CAFFESSE, R., MUÑOZ, F., LOPEZ, M. & SANZ, M. (2011) Clinical and histological healing of a new collagen matrix in combination with the coronally advanced flap for the treatment of Miller class-I recession defects: an experimental study in the minipig. *Journal of Clinical Periodontology* 38 (9), 847-855.

156. WALLEY, M. A., SEN, P. & TISCH, R. (2005) Immunoregulation of dendritic cells. *Clinical Medicine & Research* 3 166-175.

157. WALSH, M. & CHOI, Y. (2003) Biology of the TRANCE axis. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 14 251-263.

158. WEAVER, C. & HATTON, R. (2009) Interplay between the Th17 and Treg cell lineages: a (co-) evolutionary perspective. *Nature Reviews Immunology* 9 883-889.

159. WERNER, S. & GROSE, R. (2003) Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiology Review* 83 835-870.

160. WERNER, S., KRIEG, T. & SMOLA, H. (2007) Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *Journal of Investigative Dermatology* 127 (5), 998-1008.

161. WILLIAMS, J. (2001) Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian rainforest with a particular emphasis on *Una de Gato* and *Sangre de Grado*. *Alternative Medicine Review* 6 567-579.

162. YATES, C., HEBDA, P. & WELLS, A. (2012) Skin wound healing and scarring: fetal wounds and regenerative restitution. *Birth Defects Research. Part C, Embryo Today* 96 (4), 325-333.

163. YSLA, R. & ROSALES, J. (2006) Efectos clínicos e histológicos de la aplicación tópica de sangre de grado en el hueso alveolar de cobayos. *Meeting Odontológico* 4 (12), 41-47.

164. ZARAVIA, M. A. (1985) Reacción antiinflamatoria del tejido conjuntivo al cemento de obturación de conductos a base *C. lechleri* ("Sangre de Grado") en ratas de cepa *Holtzman*. Tesis para optar el Grado de Bachiller. UPCIL. Facultad de Estomatología. Perú.

165. ZHANG, X. & TENG, Y. (2006) Interleukin-10 inhibits gram-negative-microbe-specific human receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand-positive CD4<sup>+</sup>-Th1-Cell associated alveolar bone loss in vivo. *Infection & Immunity* 74 (8), 4927-4931.

166. ZHANG, Z. J., HUCKLE, J., FRANCOMANO, C. A. & SPENCER, R. G. (2003) The effects of pulsed low-intensity ultrasound on chondrocyte viability, proliferation, gene expression and matrix production. *Ultrasound Med Biol* 29 1645-1651.

167. ZHU, J. & PAUL, W. (2008) CD4 T cells: fates, functions and faults. *Blood* 112 (5), 1557-1569.