

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Postgrados

**Análisis histológico *in situ* del uso de las Proteínas Morfogenéticas Óseas
como alternativa terapéutica de injertos en Regeneración Ósea Guiada**

Od. Manuela Cecilia Castillo Galicia

Dr. Fernando Sandoval Vernimmen

Director de trabajo de titulación

Trabajo de titulación de postgrado presentado como requisito para la obtención del
título de Cirujano Oral y Maxilofacial

Quito, 11 de diciembre de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**COLEGIO DE POSTGRADOS****HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

Análisis histológico *in situ* del uso de las Proteínas Morfogenéticas Óseas como alternativa terapéutica de injertos en Regeneración Ósea Guiada

Manuela Cecilia Castillo Galicia

Firmas

Dr. Fernando Sandoval Vernimmen

Director del Trabajo de Titulación

Dr. Fernando Sandoval Portilla

Director del Programa de Cirugía Maxilofacial

Dra. Paulina Aliaga Sancho

Decano del Colegio Escuela de Odontología

PhD. Hugo Burgos

Decano del Colegio de Postgrados

Quito, 11 de diciembre de 2018

© Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombre: Od. Manuela Cecilia Castillo Galicia

Código de estudiante: 00129699

C.I.: 175745511-6

Lugar, Fecha Quito, 11 de diciembre de 2018

DEDICATORIA

A Dios y al Universo por haberme dado la fortaleza de mente, cuerpo y corazón, la perseverancia y el valor para poder culminar mi especialidad.

A mi mami, por su apoyo y amor incondicional, porque sin ella, no podría ser lo que soy hoy.

A las personas que me he encontrado en este camino, por convertirse en ángeles y por la ayuda brindada para poder cumplir esta meta.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a la Universidad San Francisco de Quito, por brindarme el conocimiento teóricos y prácticos necesarios para el desempeño de la especialidad y así poder brindarle el mejor tratamiento a los pacientes. Estamos para servir a ellos.

A mi Director de trabajo de titulación Dr. Fernando Sandoval Vernimmen, por ser un gran maestro y compartir sus conocimientos y experiencia en la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Byron Sigcho y al Dr. Marcelo Toro Arias por su tiempo, ayuda, sugerencias y conocimientos brindados en el proceso de experimentación, gracias a ellos se pudo desarrollar de manera exitosa esta investigación.

RESUMEN

La insuficiencia de altura y anchura de la cresta alveolar para colocación de implantes se restaura mediante procedimientos de Regeneración Ósea Guiada (ROG). La osteointegración de los implantes depende de la interacción de los derivados óseos con el tejido del huésped, por lo que la vitalidad ósea es importante. En este estudio experimental *in vivo*, en 17 pacientes candidatos para colocación de implantes, se comparó histológicamente: un grupo con Injerto en bloque de cresta ilíaca + PRP (Plasma Rico en Plaquetas) + PRF (Plasma Rico en Fibrina), un grupo de regeneración ósea guiada con aloinjerto corticoesponjoso con BMP (Bone Morphogenetic Proteins) + PRP + PRF + y el grupo control positivo: hueso con cicatrización ósea espontánea. Las biopsias fueron tomadas a los 6 meses luego de la aplicación del injerto o de la extracción dental para ser analizadas histológicamente en un microscopio de luz óptica para la medición de áreas de hueso maduro y para el conteo de osteocitos. El análisis estadístico muestra una diferencia estadísticamente significativa en el grupo C con respecto a la formación de lagunas óseas y la diferencia en la formación de hueso maduro entre grupos, con el mayor porcentaje de formación en el grupo C. Se concluyó en este estudio que el injerto alogénico con BMP y factores de crecimiento, tienen mejores condiciones histológicas óseas en injertos alveolares para ROG.

Palabras claves: Regeneración Ósea Guiada, histología ósea, injerto óseo autólogo, aloinjerto, Proteína Morfogenética Ósea Humana Recombinante (rhBMP-2), Factores de crecimiento.

ABSTRACT

The insufficient height and width of the alveolar ridge for implant placement is restored by means procedures of Guided Bone Regeneration (ROG). The osseointegration of the implants depends on the interaction of bone substitutes with the tissue of the host and implant surface, so bone vitality is important. In this experimental *in vivo* study, on 17 candidate patients for implant placement, were compared histologically: a group with ROG with iliac crest block graft + PRP (Platelet Rich Plasma) + PRF (Fibrin Rich Plasma), a group guided bone regeneration with corticocancellous bone allograft and BMP (Bone Morphogenetic Proteins) + PRP + PRF + and the positive control group with spontaneous bone healing. The biopsies were taken 6 months after the procedures and analyzed histologically with an optical light microscope measuring areas of mature bone and osteocytes count. The analysis shows a statistically significant difference in group C with respect to the formation of bone lacunae and the difference that have formation of mature bone between groups, with the highest percentage of bone formation in group C. It was concluded that the allogenic graft with BMP and growth factors, have better bone histological conditions in alveolar grafts for ROG.

Keywords: Guided Bone Regeneration (ROG), bone histology, autologous bone graft, allograft, Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein (rhBMP-2), Growth factors.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
TABLA DE CONTENIDO.....	8
ÍNDICE DE IMAGENES.....	11
ÍNDICE DE TABLA.....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 Justificación.....	16
1.2 Objetivos.....	18
1.2.1 Objetivo general.....	18
1.2.2 Objetivos específicos.....	19
1.3 Hipótesis.....	19
2. MARCO TEÓRICO.....	20
2.1 Tejido óseo.....	20
2.1.1 Embriología de los huesos maxilares.....	20
2.1.1.1 Osificación endocondral.....	21
2.1.1.2 Osificación intramembranosa.....	22
2.1.2 Matriz ósea.....	23
2.1.2.1 Componentes orgánicos.....	24
2.1.2.2 Componentes inorgánicos.....	26
2.1.3 Células óseas.....	27
2.1.3.1 Osteoblastos.....	27
2.1.3.2 Osteocitos.....	30
2.1.3.3 Osteoclastos.....	34
2.1.3.4 Células de revestimiento.....	39
2.1.4 Estructura macroscópica y microscópica.....	40
2.1.4.1 Hueso cortical o compacto.....	39
2.1.4.2 Hueso esponjoso o trabecular.....	42
2.1.4.3 Estructura del hueso alveolar.....	43
2.1.4.4 Periosteo.....	45

2.1.4.5 Endosteo.....	46
2.2 Remodelación ósea.....	46
2.2.1 Remodelación del hueso alveolar.....	48
2.3 Cicatrización ósea.....	49
2.3.1 Etapas de la cicatrización ósea.....	50
2.3.2 Etapas de la cicatrización ósea en implantes dentales.....	52
2.4 Condiciones óseas para la colocación de un implante.....	53
2.4.1 Clasificación de los rebordes edéntulos.....	56
2.5 Regeneración Ósea.....	57
2.5.1 Indicaciones de Regeneración Ósea Guiada.....	59
2.5.2 Mecanismos biológicos de la cicatrización ósea.....	59
2.5.2.1 Osteogénesis.....	59
2.5.2.2 Osteoinducción.....	60
2.5.2.3 Osteoconducción.....	61
2.5.3 Métodos de regeneración ósea.....	61
2.5.4 Injertos óseos.....	65
2.5.4.1 Autoinjerto: hueso autólogo.....	66
2.5.4.1.1 Injerto de cresta ilíaca.....	67
2.5.4.1.1.1 Indicaciones.....	69
2.5.4.1.1.2 Anatomía quirúrgica y complicaciones.....	70
2.5.4.2 Aloinjerto.....	73
2.5.4.2.1.1 Inmunogenicidad y conservación de los Aloinjertos.....	76
2.5.4.3 Xenoinjertos.....	77
2.5.4.4 Biomateriales.....	79
2.5.5 Cicatrización de los injertos.....	79
2.6 Proteínas Morfogenéticas.....	82
2.7 Factores de crecimiento óseo.....	87
3. METODOLOGÍA.....	97
3.1 Tipo de estudio.....	97
3.2 Universo de estudio.....	97
3.3 Lista de materiales.....	99
3.3.1 Material quirúrgico.....	100

3.3.2 Material e instrumental para el procesado histológico.....	100
3.4 Procedimiento quirúrgico.....	100
3.5 Recolección de la muestra.....	102
3.5.1 Toma de biopsia.....	102
3.6 Estandarización de la muestra.....	103
3.7 Procesamiento histológico.....	104
3.8 Análisis histológico.....	105
4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	110
4.1 Análisis descriptivo.....	110
4.1.1 Histología.....	110
4.2 Análisis estadístico.....	114
5. DISCUSIÓN.....	118
6. CONCLUSIONES.....	127
7. BIBLIOGRAFÍA.....	128

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. LINAJE CELULAR A PARTIR DE CÉLULAS MESENQUIMALES.....	21
FIGURA 2.OSIFICACIÓN ENDOCONDRALE DE EPÍFISIS DE HUESO DE SER HUMANO.....	23
FIGURA 3. OSIFICACIÓN INTRAMEMBRANOSA DE UNA MANDÍBULA DE CERDO FETAL.....	24
FIGURA 4. DIAGRAMA QUE MUESTRA LA RELACIÓN DE LOS OSTEÓBLASTOS CON LA MATRIZ OSTEÓIDE Y OSTEÓCITOS.....	30
FIGURA 5. FOTOMICROGRAFÍA DE HUESO, NO DESCALCIFICADA, NI SECCIONADA PARA MOSTRAR LAGUNAS ÓSEAS.....	31
FIGURA 6. FOTOGRAFÍA QUE MUESTRA OSTEÓCLASTO	35
FIGURA 7. FOTOGRAFÍA DE HUESO MOLIDO QUE MUESTRA OSTEÓNAS O SISTEMAS DE HAVERS, LAMINILLAS INTERSTICIALES Y LAMINILLAS CIRCUNFERENCIALES.....	41
FIGURA 8. HUESO CORTICAL O COMPACTO Y HUESO ESPONJOSO O TRABECULAR.....	42
FIGURA 9. DIBUJO DE PORCIÓN ALVEOLAR DE MANDÍBULA HUMANA.....	44
FIGURA 10. CONO DE CORTE O UNIDAD DE REMODELADO	50
FIGURA 11. MEMBRANA DE PLASMA RICO EN FIBRINA.....	64
FIGURA 12. CRESTA ILÍACA ANTERIOR.....	68
FIGURA 13. TOMA DE INJERTO DE CRESTA ILÍACA ANTERIOR.....	68
FIGURA 14. ANATOMIA DE CRESTA ILÍACA ANTERIOR.....	70
FIGURA 15. INJERTO ALOGÉNICO DE TIPO CORTICAL PARTICULADO (PUROS).....	75
FIGURA 16. INFUSE. RH BMP -2 /ACH.....	84
FIGURA 17. OBTENCIÓN DE PRP DE SEGUNDO CENTRIFUGADO.....	89
FIGURA 18. GELIFICACIÓN DE CONCENTRADO DE PRP CON INJERTO ALOGÉNICO Y CON INJERTO AUTÓGENO DE CRESTA ILÍACA.....	89
FIGURA 19. CENTRIFICADO DE PRF.....	90
FIGURA 20. CORTE DE COAGULO DE PRF EN LA UNION A GLOBULOS ROJOS.....	91
FIGURA 21. CAJA ZIMMER PARA COLOCACIÓN DE IMPLANTES.....	99

FIGURA 22. MOTOR NSK PARA COLOCACIÓN DE IMPLANTES.....	99
FIGURA 23. EXPOSICIÓN DE CAMPO ÓSEO.....	101
FIGURA 24. PROTOCOLO DE FRESADO PARA COLOCACIÓN DE IMPLANTES.....	102
FIGURA 25. TOMA DE HUESO DE LAS ESPIRAS DE LA FRESA.....	103
FIGURA 26. MUESTRAS NUMERADAS PREVIO A PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO.....	103
FIGURA 27. PORTAOBJETOS NUMERADO E IDENTIFICADO.....	105
FIGURA 28. MICROSCOPIO ZEUSS PRIMO STAR.....	106
FIGURA 29. MICROSCOPIO NIKON ECLIPSE CI.....	106
FIGURA 30. CÁMARA DE MICROSCOPIO MSHOT.....	107
FIGURA 31. MUESTRAS ROTULADAS DELIMITANDO EL ÁREA DE ESTUDIO AL MICROSCOPIO.....	107
FIGURA 32. FOTO MICROSCÓPICA DE REPRESENTATIVA DE HUESO CON CICATRIZACIÓN ÓSEA ESPONTÁNEA A 4 X, 10 X Y 40X DE AUMENTO.....	108
FIGURA 33.FOTO MICROSCÓPICA REPRESENTATIVA DE HUESO AÚTOLOGO DE CRESTA ILÍACA + PRP + PRF A A 4 X, 10 X Y 40X DE AUMENTO.....	108
FIGURA 34. FOTO MICROSCÓPICA REPRESENTATIVA DE HUESO AÚTOLOGO DE CRESTA ILÍACA + PRP + PRF A 4 X, 10 X Y 40X DE AUMENTO.....	108
FIGURA 35. FOTO MICROSCÓPICA DE HUESO CON CICATRIZACIÓN ÓSEA ESPONTÁNEA A 10 X DE AUMENTO.....	111
FIGURA 36. FOTO MICROSCÓPICA DE HUESO AÚTOLOGO DE CRESTA ILÍACA + PRP + PRF A 10X DE AUMENTO.....	113
FIGURA 37. FOTO MICROSCÓPICA DE HUESO CON ALOINJERTO CON BMP+ PRP + PRF A 10X.....	114

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA 1. TIPOS DE INJERTO SEGÚN SU ORIGEN.....	66
TABLA 2. TIPOS DE AUTOINJERTOS.....	67
TABLA 3. DIAGRAMA DE FLUJO DEL DISEÑO DEL ESTUDIO Y DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.....	98
TABLA 4. GRÁFICA DE BARRAS DE LOS PROMEDIOS DE LAGUNAS ÓSEAS EN CADA GRUPO EXPERIMENTAL.....	115
TABLA 5. GRÁFICA DE BARRAS DE LOS PORCENTAJES DE ÁREA DE HUESO MADURO Y PROPORCIÓN DE PRESENCIA DE TEJIDO FIBROSO.....	116

1. INTRODUCCIÓN

El uso de implantes dentales es cada vez más reconocido; la American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (2018), informa que: 3 millones de personas en los Estados Unidos de América tienen implantes y ese número aumenta en 500.000 cada año. Los implantes dentales son una opción de restauración para los dientes perdidos (Simmons et al., 2017). Las estadísticas proporcionadas por la American Academy of Implant Dentistry (2018), muestran que: 7 de cada 10 personas han perdido aunque sea un diente en la edad adulta y que 1 de 4 personas a los 70 años ya presenta edentulismo total.

El objetivo de los implantes dentales es proporcionar comodidad, función masticatoria, mejorar la ingesta nutricional y estética y, por ende, mejora la calidad de vida y la interacción social de los pacientes. (Goncalves, Campos, & Garcia, 2015). La tasa de éxito de los implantes dentales varía entre 95% a 98,9%. (Griggs, 2017) (AAOMS, 2018) (AAID, 2018). El proceso de osteointegración y el éxito a largo plazo de los implantes varia de muchos factores (Vootla & Reddy, 2017), dentro de los cuales la osteointegración no solo depende de las características del implante, sino de variables relacionadas con el paciente como el estado y la morfología del lecho implantario en cuanto a la calidad y cantidad ósea. (Gaviria, Salcido, Guda, & Ong, 2014)

No todos los pacientes presentan características ideales para la colocación de implantes (Pietrokovski, 1975) (Barone & Nannmark, 2015) por lo que se emplean técnicas de Regeneración Ósea Guiada para crear las condiciones óseas adecuadas en los rebordes alveolares. Esta consiste en la combinación de derivados o sustitutos óseos y de una membrana para restaurar el hueso perdido. Los tipos de injertos

consisten en autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos e injertos aloplásticos. (Kao & Scott, 2007). El triángulo clásico de la ingeniería tisular sugiere que una fuente celular, una señal y una matriz deben estar presentes para la regeneración de cualquier tejido. (Marx, 2013) (Barone & Nannmark, 2015). El injerto óseo autólogo ha sido considerado el “gold estándar” para procedimientos de regeneración ósea ya que cumple con los tres componentes de la tríada de la regeneración (C. M. Misch, 2010): propiedades osteoinductivas, osteoconductoras y propiedades osteogénicas. (Acocella, Bertolai, Colafranceschi, & Sacco, 2010), (Jimi et al., 2012), (Bowler & Dym, 2015), (García-gareta, Coathup, & Blunn, 2015), (Troeltzsch et al., 2016), (Xavier et al., 2016). A pesar de su demostrada efectividad, la toma de injertos autólogos implica riesgos y aumento de la morbilidad del sitio donante durante los procedimientos quirúrgicos. (Tayapongsak, Wimsatt, LaBanc, & Dolwick, 1994)(Marx, 2013)(Fretwurst, Wanner, et al., 2015). Por estas razones, continúan siendo investigadas otras alternativas de tratamiento para la regeneración alveolar con el objetivo de colocación de implantes dentales, como cirugías mínimamente invasivas y como procedimientos ambulatorios.

La Proteína -2 Morfogénica Ósea Humana Recombinante (rhBMP-2) en una esponja de colágeno absorbible (ACS), ha demostrado intervenir en las vías de señalización que afectan la proliferación celular, la diferenciación celular y la formación de matriz extracelular (Nauth, Ristevski, Li, & Schemitsch, 2011), mostrando su efectividad en la formación de hueso para aumentos de rebordes alveolares y de seno maxilar (Marx, 2013)(Bowler & Dym, 2015). Con fines implantológicos, se ha utilizado el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y el Plasma Rico en Fibrina (PRF) en combinación con injertos autólogos y sustitutos óseos, siendo considerados un biomaterial de cicatrización autólogo (Choukroun, 2001)(Choukroun et al., 2006), además de

proporcionar estabilidad estructural a la ROG como la malla fibrina. Los aloinjertos son usados como una matriz osteoconductiva para la formación de hueso nuevo (Borg & Mealey, 2014) con propiedades osteoinductivas (Kao & Scott, 2007). Son materiales biocompatibles y presentan una adecuada respuesta al postoperatorio, sin morbilidad del sitio donante (Sakkas, Wilde, Heufelder, Winter, & Schramm, 2017). Ofrecen beneficios al reducir el tiempo quirúrgico y el tiempo de anestesia en comparación con los injertos óseos autógenos, además de presentar mayor disponibilidad y cantidad de injerto y evitar una segunda cirugía (Xavier et al., 2016). Estos componentes rhBMP-2, los aloinjertos y factores de crecimiento complementan esta triada de ingeniería tisular.

Los estudios que han comparado *in vivo* la eficacia del BMP en defectos alveolares, con el injerto autólogo, son escasos en la literatura. Dada la importancia de la búsqueda de nuevas técnicas menos invasivas, el objetivo de este estudio fue comparar histológicamente la capacidad regenerativa ósea del aloinjerto con BMP y el injerto autólogo, para determinar la vitalidad y las mejores condiciones histológicas al momento de colocación de implantes dentales. La hipótesis nula fue que no hay diferencias significativas de los grupos experimentales.

1.1 Justificación

La decisión de la técnica de colocación de injerto óseo para la regeneración alveolar presenta indicaciones, además de la relación costo – beneficio, en la que el paciente tiene poder de elección. Tanto el paciente, como el cirujano, podrán conocer las características óseas a nivel microscópico al momento de la colocación del

implante dental, lo que da como resultado la seguridad al facultativo y su paciente de que el hueso está en las condiciones adecuadas histológicamente para la perfecta osteointegración del implante y así garantizar el éxito del tratamiento.

Al comparar histológicamente bloques de injerto autólogo de cresta ilíaca, aunado a factores de crecimiento como PRP + PRF y muestras de rebordes alveolares regenerados con BMP como señal y fuente atrayente celular, junto a la combinación a aloinjertos como matriz para crear la triada de ingeniería tisular, se busca determinar cuáles de estos métodos proporciona las mejores condiciones celulares de los injertos óseos para la colocación de los implantes, a través de la formación de hueso maduro y cantidad de lagunas osteocíticas para la formación de hueso vital comparado a un grupo control con muestras óseas de rebordes alveolares con cicatrización ósea espontánea.

Se busca la formación de hueso maduro y en constante recambio óseo, a través de procedimientos menos invasivos y sin aumento de morbilidades del paciente, logrando como resultado una adecuada estabilidad primaria y por tanto la aplicación de una carga inmediata de la corona a rehabilitar. La decisión de qué tipo de injerto usar aumenta la tasa de supervivencia y éxito. Una carga inmediata se traduce en la reducción del tiempo para rehabilitación del implante por lo que el paciente estaría menos tiempo en tratamiento odontológico y cumpliría el objetivo de restablecer su función masticatoria y estética en el menor tiempo posible.

Este estudio ayudará a toda la comunidad quirúrgica odontológica, sobre la toma de decisión de qué injerto óseo aplicar para la regeneración de los rebordes maxilares, basando el criterio de elección, en las mejores características histológicas de

cada uno de los injertos, las cuales forman una de las bases del éxito de la integración de un implante.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general.

- Comparar histológicamente muestras óseas de rebordes alveolares con cicatrización ósea espontánea (sin injerto), con regeneración ósea guiada mediante la aplicación previa de injerto óseo autólogo de cresta ilíaca anterior más factores de crecimiento e injertos alogénicos con BPM más factores de crecimiento, para determinar cuáles son las mejores condiciones histológicas de los injertos óseos para la colocación de los implantes.

1.2.2 Objetivos específicos.

- Observar microscópicamente las características de la cicatrización ósea espontánea en rebordes maxilares previo a la colocación de implantes.
- Describir histológicamente las características de los diferentes tipos de injertos óseos en rebordes alveolares.
- Analizar y comparar las características histológicas del hueso alveolar al momento de colocación de implantes, ya sea mediante cicatrización ósea o con regeneración ósea guiada.
- Determinar las mejores condiciones histológicas de los diferentes tipos de injertos alveolares al momento de colocación de implantes dentales.

1.3 Hipótesis

La hipótesis nula es: las características histológicas del injerto autólogo no son diferentes a las del aloinjerto con BMP.

Hipótesis alternativa: las características histológicas del injerto autólogo son diferentes a las del aloinjerto con BMP.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Tejido óseo

2.1.1 Embriología de los huesos maxilares.

El origen de los tejidos empieza con la fecundación del huevo u ovocito, que ocurre cuando el espermatozoide contacta con el ovocito. El óvulo fecundado crece y recibe el nombre de cigoto. Cuando la masa celular crece forma una masa celular interna, adhiriéndose al útero, por lo que se produce la implantación. Luego de que el disco embrionario se convierta en embrión, se forman las capas ectodérmicas, que formarán la cubierta externa del cuerpo, endodérmicas, que formarán el tracto gastrointestinal. Entre estas dos capas se desarrollan células, formando el mesodermo, las cuales desarrollarán los músculos, el esqueleto y las células sanguíneas del embrión (Chiego, 2014).

En el tejido conectivo, las células mesenquimatosas, se convierten en osteoblastos, condroblastos y fibroblastos (Figura 1). El componente inicial esquelético en el embrión es el cartílago. Los condroblastos forman cartílago en los miembros, el cráneo y la cara, apareciendo primero durante la quinta semana de gestación. Las células cartilaginosas sufren un crecimiento aposicional (exógeno) e intersticial (endógeno). La mayoría del cartílago se muestra claro y semejante al cristal y se denomina cartílago hialino. El cartílago combina las propiedades de elasticidad y resistencia. Los términos endocondral e intramembranoso describen sus orígenes (Chiego, 2014).

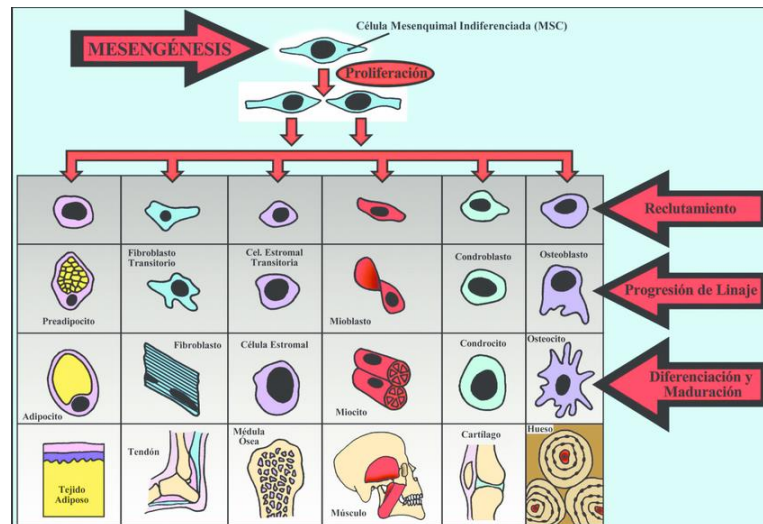


Figura 1. Linaje celular a partir de células mesenquimales. Se logra expresar el resultado final celular derivado de la diferenciación y maduración

Fuente: Cano J, Campo J, Palacios B, Bascones A. (2007). *Mecanobiología de los huesos maxilares. I. Conceptos generales. Av. Odontostomatol*; 23 (3): 115-126 (Cano-Sánchez, Campo-Trapero, Sánchez-Gutiérrez, & Bascones-Martínez, 2008)

Se forman arcos faríngeos, en un total de cinco. Dentro de la faringe, los surcos se llaman bolsas faríngeas. El primer arco se denomina arco mandibular porque posteriormente formará la mandíbula y los músculos asociados a la masticación, nervios y el aporte sanguíneo. El segundo o arco hioideo, forma músculos faciales, nervios y el hueso hioides. Los arcos faríngeos se desarrollan como unas barras cartilagosas. En el primer arco aparecen bilateralmente los cartílagos de Meckel. El cartílago en forma de varilla del segundo arco o hioideo se conoce con cartílago de Reichart (Chiego, 2014).

2.1.1.1 Osificación endocondral.

El hueso reemplaza al cartílago por un proceso denominado desarrollo óseo endocondral. En este caso, un pequeño vaso sanguíneo penetra en el cuerpo cartilaginoso (diáfisis), el cartílago se calcifica y se desintegra en el centro, formándose un espacio medular. Los osteoblastos se diferencian dentro del pericondrio, que es la transición hacia el periostio, alrededor del cartílago (Mescher, 2016) (Figura 2). El hueso nuevo se desarrolla sobre la superficie de las espículas de cartílago que limitan

el espacio medular. Pequeños vasos sanguíneos penetran por los extremos de los huesos largos, apareciendo centros de osificación secundarios, repitiéndose el proceso que tuvo lugar en el cuerpo del hueso largo. Durante el período de crecimiento, en los extremos del cuerpo de cada hueso largo se mantiene un disco de cartílago en desarrollo, formándose hueso a cada lado. Este disco se denomina línea o placa epifisaria, que se mantendrá durante todo el tiempo en el que el hueso se vaya formando. El cartílago se desarrolla y se expande mediante un crecimiento intersticial, que es un crecimiento en el interior de la matriz del cartílago por medio de cada célula de cartílago que aumenta de tamaño y forma una matriz alrededor de ella. Después de que el hueso reemplace la epífisis, el cartílago se limita al recubrimiento de los extremos de los huesos largos, el tabique nasal, las orejas, la articulación temporomandibular y otras localizaciones más (Chiego, 2014).

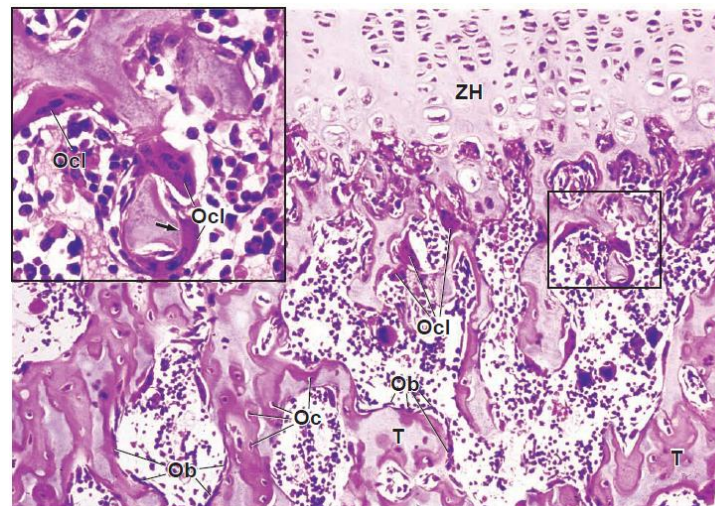


Figura 2. Osificación endocondral de epífisis de hueso de ser humano, con tinción de Hemataxilina y eosina a 380X. Se observan espículas de cartílago calcificado. En la parte inferior de la foto, las espículas ya han crecido para crear cordones (T) óseos que se anastomosan. Los osteoblastos (Ob) están alineados en la superficie de las espículas. El recuadro revela en mayor aumento varios osteoclastos (Ocl)

Fuente: Ross MH, Pawlina W (2016) Histología Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular, 7ma ed. Ed Panamericana

2.1.1.2 Osificación intramembranosa

Se produce la transformación directa de tejido conectivo en hueso. Las fibras de colágeno del tejido conectivo se organizan en una red compacta; esta matriz se

calcifica gradualmente en hueso. Se inicia en los centros de osificación, áreas en las células osteoprogenitoras surgen, proliferan y forman capas incompletas de osteoblastos alrededor de una red de capilares en desarrollo (Figura 3). El osteoide es secretado por los osteoblastos, se va calcificando y forma áreas irregulares de tejido óseo con osteocitos en sus lagunas y canalículos (Mescher, 2016). Estos cartílagos solo actúan como un andamio para las células de la cresta neural para formar el hueso (Roden, 2010).

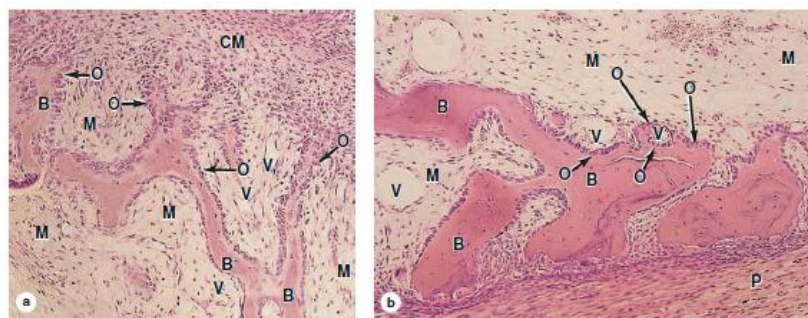


Figura 3. Osificación intramembranosa de una mandíbula de cerdo fetal, con tinción de Hematxilina y eosina a 40X. Áreas de mesénquima (M) y condensación de mesénquima (CM), adyacentes a capas de nuevos osteoblastos (O). Algunos de ellos tienen matrices adyacentes de nuevo hueso formado entre los cuales hay vasos sanguíneos (V). (B) Fotografía a 100X, que incluye periostio (P). Hay masas de tejido óseo que pronto se fusionarán para formar una placa continua de hueso. El mesénquima en la parte superior (M), formara la cavidad medular. En la matriz ósea se pueden ver osteocitos

Fuente: Anthony L Mescher (2016). Junqueira's Basic Histology Text & Atlas, 14th ed. Ed McGraw-Hill Medical

La mayoría de los huesos planos de la cara y del cráneo se desarrollan de este modo. Porciones escamosas del temporal, parietal y occipital, además de la premaxila, el maxilar, cigomático y porción petrosa del hueso temporal. Estos huesos aparecen inicialmente como unos centros de osificación diminutos en la cara; luego incrementan su diámetro, expandiéndose en sentido anterior, superior y posterior en los tejidos que circundan la órbita. El cuerpo de la mandíbula y el cóndilo cartilaginoso reemplazan al cartílago de Meckel (Chiego, 2014).

2.1.2 Matriz ósea.

El tejido óseo es un tejido conjuntivo que se caracteriza por una matriz extracelular mineralizada (Ross, Pawlina 2015). Aunque es uno de los tejidos

conectivos más duros y resistentes a la deformación, responde a la compresión y a la tensión (Chiego, 2014). Consiste en dos tercios de materia inorgánica y un tercio de matriz orgánica.

2.1.2.1 Componentes orgánicos

La matriz orgánica consiste principalmente en colágeno tipo I y en menor medida colágeno tipo V, con pequeñas cantidades de proteínas no colágenas (Newman & Takei, 2018). En la matriz también se han encontrado vestigios de otros tipos de colágeno, como los tipos III, XI, XIII. Todas las moléculas de colágeno constituyen alrededor del 90 % del peso total de las proteínas de la matriz ósea (Ross, Pawlina 2015).

Estas proteínas no colágenas, que componen la *sustancia fundamental* del tejido óseo, la cual ocupa el espacio entre las células y las fibras. Se incluye a todos los factores de crecimiento, las citoquinas y a las proteínas de la matriz extracelular. No hacen grandes contribuciones al volumen total de hueso pero aportan enormemente a su función biológica, desarrollo, crecimiento, remodelado y la reparación ósea. Tanto el colágeno como los componentes de la sustancia fundamental se mineralizan para formar el tejido óseo (Ross, Pawlina 2015).

Esta sustancia fundamental está formada por carbohidratos y proteoglicanos: condroitín sulfato y ácido hialurónico y por otras moléculas proteicas secretadas por los osteoblastos: osteocalcina, sialoproteína ósea y osteonectina, osteopontina, factores de crecimiento, proteína morfogenética ósea, fosfoproteínas y proteoglicanos (Ross, Pawlina 2015)(Newman & Takei, 2018)

Los proteoglicanos, son macromoléculas de gran tamaño compuestas por un núcleo proteínico central con cantidades diversas de cadenas laterales de

glucosaminoglucanos (hialuronano, condroitín sulfato, y querantán sulfato) unidos en forma covalente. Contribuyen a que el hueso ofrezca resistencia a la compresión. También son responsables de la fijación de los factores de crecimiento y pueden inhibir la mineralización (Ross, Pawlina 2015).

Están las glucoproteínas multiadhesivas, que intervienen en la adhesión de las células óseas y las fibras colágenas a la sustancia fundamental mineralizada. Algunas de las glucoproteínas más importantes son la osteonectina, que sirve como adhesivo entre el colágeno y los cristales de hidroxiapatita; la podoplanina (E11), que es producida exclusivamente por los osteocitos en respuesta al estrés mecánico; sialoproteínas, como la osteopontina (conocida como BSP-1), que media la adhesión de las células a la matriz ósea y la BSP-2, que media la adhesión celular e inicia la formación de fosfato de calcio durante el proceso de mineralización (Ross, Pawlina 2015). La osteopontina se une a los osteoclastos; posee sitios de fijación para calcio, hidroxiapatita y receptores de integrina en la membrana del osteoclasto. Desempeña un papel importante en el secuestro del calcio y en la promoción de la calcificación de la matriz extracelular (Newman & Takei, 2018).

Las proteínas dependientes de la vitamina K osteoespecíficas, incluida la osteocalcina y la proteína S, contribuyen a la eliminación de las células que sufren apoptosis y la proteína Gla de la matriz, participa en el desarrollo de las calcificaciones vasculares (Ross, Pawlina 2015). La osteocalcina se sintetiza por los osteoblastos maduros pero está presente en pequeña cantidad en el torrente sanguíneo. Captura el calcio de la circulación y atrae y estimula los osteoclastos en el remodelado óseo (Camassa et al., 2017) y diversos factores de crecimiento y citocinas, que son pequeñas proteínas reguladoras, como el factor de crecimiento similar a la insulina

(IGF), el factor de necrosis tumoral α (TNF α), el factor de crecimiento transformante B (TGF- β), los factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), las proteínas morfogénicas óseas (BMP), la esclerostina (antagonista de BMP) y las interleucinas (IL-1, IL-6). Los osteoblastos expresan otras proteínas involucradas en la modulación de la osteoclastogénesis: osteoprotegerina, RANKL (de la familia del Factor de Necrosis Tumoral (TNF) y el Factor Estimulante de Colonias de Macrófagos (M-CSF).

2.1.2.3 Componentes inorgánicos

La materia inorgánica está compuesta principalmente por minerales de calcio y fósforo, junto con hidroxilo, carbonato, citrato y trazas de otros iones como sodio, potasio, magnesio, flúor, cloro y hierro (Roden, 2010)(Newman & Takei, 2018). También están presentes cantidades significativas de fósforo de calcio no cristalino (Mescher, 2016). Las sales minerales están compuestas de 65 al 70% en forma de cristales de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10} [\text{PO}_4]_6 [\text{OH}]_2$) de tamaño ultramicroscópico y constituyen aproximadamente dos tercios de la estructura ósea (Newman & Takei, 2018). Los depósitos cristalinos de fósforo de calcio, son casi idénticos a los del mineral de hidroxiapatita y están dispuestos en estrecha relación con las fibras colágenas y dan al tejido óseo la dureza, rigidez y resistencia a la compresión (Guadilla González, 2010).

Cuando un histólogo descalcifica un hueso, su forma se conserva pero se vuelve suave y flexible como cualquier otro tejido conectivo por su alto contenido en colágeno descalcificado. La matriz ósea suele ser acidófila (Mescher, 2016).

2.1.3 Células óseas.

2.1.3.1 Osteoblastos

Son las células responsables de la formación de hueso, ya que sintetizan componente orgánico e inorgánico de la matriz ósea. Surgen de las células osteoprogenitoras, células foliculares pluripotentes (Mescher, 2016)(Newman & Takei, 2018). La célula se puede diferenciar en una amplia línea mesenquimal celular como los osteoblastos, los adipocitos, condrocitos y mioblastos (Jimi et al., 2012). El adipocito y el osteoblasto presentan una íntima relación hasta el último momento de diferenciación dado por las BMP-2, así como el Factor de Crecimiento Transformante beta 1 (TGF- β 1), los cuales dirigirán la osteogénesis en preferencia a la adipogénesis (Guadilla González, 2010). Los linajes están determinados por diferentes factores transcritores. Los factores de transcripción Runx2, Osterix o β -catenina regulan la diferenciación de osteoblastos, la familia de transcritores Sox (Sox9, Sox5 y Sox6), regulan la diferenciación de los condrocitos. Runx2 dirige las células mesenquimales multipotentes a un linaje osteoblástico, y β -catenina y Osterix, dirige a los preosteoblastos a la diferenciación de osteoblastos maduros (Jimi et al., 2012). Las células de la serie osteoblástica *in vivo* se pueden diferenciar en preosteoblastos, osteoblasto maduro, osteocito y células de revestimiento o *lining cells* (Guadilla González, 2010) y conservan la capacidad de dividirse (Ross, Pawlina 2015).

Los osteoblastos se localizan exclusivamente en las superficies de la matriz ósea, a la que están unidas por integrinas, formando una sola capa de células cuboidales unidas por uniones adherentes. Se encuentran en el hueso trabecular, así como en la superficie interna del periostio que recubre la superficie externa del hueso cortical (Mescher, 2016). Los osteoblastos producen la *matriz osteoide* para la

formación ósea, que es una capa de material rico en colágeno, principalmente por colágeno tipo 1 y es un término microscópico para la matriz ósea no mineralizada cercana al osteoblasto. La formación de fibrillas de colágeno en el hueso se inicia cuando los filamentos de colágeno liberados por los osteoblastos se ensamblan extracelularmente dentro de las fibrillas estriadas para formar el osteoide (Sodek & McKee, 2000)(Mescher, 2016). Esta matriz osteoide es el área donde tiene lugar la calcificación (Spagnoli & Marx, 2011). Luego secretan minerales de apatita y fosfatasa alcalina localizada dentro de vesículas secretoras llamadas vesículas de matriz. El polipéptido dependiente de la vitamina K secreta Osteocalcina, que junto con diversas glicoproteínas une los iones Ca^{2+} y concentra este mineral a nivel local. Los osteoblastos también liberan vesículas de matriz encerradas en membranas ricas en fosfatasa alcalina y otras enzimas cuya actividad aumenta la concentración local de iones de PO_4 . Este microambiente con altas concentraciones de estos dos iones, sirven como focos para la formación de cristales de hidroxapatita, el primer paso visible en la calcificación. Estos cristales crecen rápidamente por incremento de más mineral y producen una masa de material calcificado con las fibras de colágeno y proteoglicanos (Mescher, 2016)(Ross, Pawlina 2015)(Camassa et al., 2017).

Se caracterizan por su tamaño y morfología cúbica o ligeramente alargada (Figura 4). Sus núcleos están polarizados hacia la parte superior de la célula (opuesta a la superficie del hueso en nueva formación) (Spagnoli & Marx, 2011), el citoplasma es fuertemente basófilo debido a una isoenzima específica de la fosfatasa alcalina y rico en orgánulos sintetizadores. Esto funciona como marcador para la formación de nuevo hueso, así como de la actividad temprana de los osteoblastos, considerándose una célula crítica en la iniciación de la mineralización. Su retículo endoplasmático presenta

amplias cisternas por ser una célula netamente secretora y su aparato de Golgi es prominente y ubicado hacia el ápice celular (Sodek & McKee, 2000).

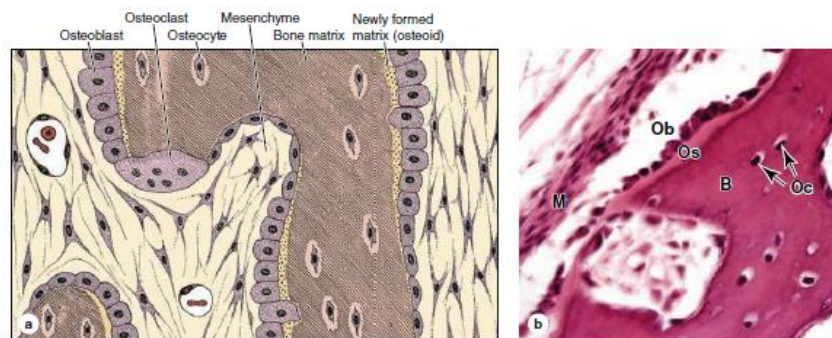


Figura 4. Diagrama que muestra la relación de los osteoblastos con la matriz osteoide y osteocitos. Los osteoblastos y osteoclastos cubren el endostio. La fotomicrografía, con tinción de Hemataxilina y eosina a 300X, del hueso en desarrollo del lado derecho muestra la ubicación y las diferencias morfológicas entre osteoblastos activos (Ob) y osteocitos (Oc). Los osteoblastos redondeados se ubican sobre el tejido osteoide (Os) y son derivados de células progenitoras en el mesénquima adyacente (M). La superficie de la más teñida es la matriz ósea (B).

Fuente: Anthony L Mescher (2016). Junqueira's Basic Histology Text & Atlas, 14th ed. Ed McGraw-Hill Medical.

Después de la maduración, los osteoblastos pueden sufrir apoptosis y quedar atrapados dentro de la matriz como osteocitos o permanecer en la superficie del hueso como células de recubrimiento óseo. En este punto no producen matriz osteoide (Sodek & McKee, 2000)(Mescher, 2016). Sólo del 10 % al 20 % de los osteoblastos se diferencian en osteocitos (Ross, Pawlina 2015). El tiempo de vida de un osteoblasto es de más o menos 12 días.

Apenas se tiñe, si es que lo hace, en comparación con la matriz madura mineralizada, que es teñida fuertemente por la eosina. Debido a esta propiedad de tinción de la matriz recién formada, los osteoblastos parecen estar separados del hueso por una banda clara. Esta banda representa al osteoide, la matriz no mineralizada (Ross, Pawlina 2015).

2.1.3.2 Osteocitos

Algunos osteoblastos quedan rodeados por el material que secretan y luego diferencian como osteocitos, encerrados individualmente dentro de las lagunas

espaciadas a lo largo de la matriz mineralizada (Figura 5) (Mescher, 2016). La evolución de osteoblasto a osteocito dura entre 3 a 5 días (Ross, Pawlina 2015). Son las células más abundantes en el hueso.

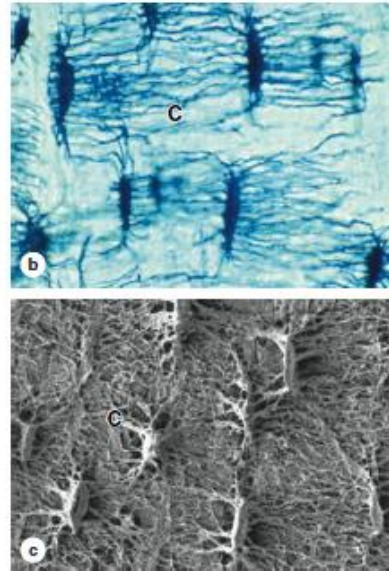


Figura 5. Fotomicrografía de hueso a 400X (B), no descalcificada, ni seccionada. Las lagunas y los canaliculos (C) aparecen oscuros y muestran comunicación entre ellos. Fotografía de microscopio electrónico a 400x (C) de hueso no descalcificados, seccionado y grabados con ácido, mostrando lagunas y canaliculos.

Fuente: Anthony L Mescher (2016). Junqueira's Basic Histology Text & Atlas, 14th ed. Ed McGraw-Hill Medical.

El osteocito es la célula más madura de la línea osteoblástica. Tiene forma estrellada o de almendra y son bastante parecidos al osteoblasto, con la diferencia que tienen menos organelas. Exhiben significativamente menos retículo endoplasmático rugoso, aparato de Golgi más pequeño y más cromatina nuclear condensada que los osteoblastos (Mescher, 2016). Los osteocitos son generalmente más pequeños que sus precursores por la cantidad reducida de citoplasma perinuclear (Ross, Pawlina 2015). El cuerpo permanece en cavidades llamadas *lagunas osteocitarias* que se adaptan a la forma de la célula. Una de las características principales de los osteocitos es la presencia de procesos celulares numerosos alrededor de 50 y se extienden a través de los *canaliculos* de 250-300nm de diámetro (Mescher, 2016), los cuales se ramifican a lo largo del hueso y hacen contacto con otros osteocitos o con procesos

similares que se extienden desde los osteoblastos o células de revestimiento óseo en la superficie del hueso (Sodek & McKee, 2000). El tejido óseo depende de los osteocitos para mantener su viabilidad (Ross, Pawlina 2015).

Son osteoblastos diferenciados terminalmente y son los mecanorreceptores primarios del hueso, son células metabólicamente activas y multifuncionales. La disminución de los estímulos provoca la pérdida ósea, mientras que el aumento de estos estímulos promueve la formación de hueso (Ross, Pawlina 2015). Funcionan como el regulador del recambio óseo controlando el flujo de fluido a través de su sistema de red lacunar - canalicular (Roden, 2010). Sin embargo, juegan un papel crucial en la remodelación ósea adaptativa. Los osteocitos pueden estar involucrado en el reclutamiento de osteoclastos o en la modulación de su actividad mediante la secreción de factores de señalización, como óxido de nitrógeno, prostaglandinas, osteoprotegerina, Factor Estimulante de Colonias de Macrófagos y activador del receptor de la energía nuclear ligando factor kappa B (RANKL) o factores relacionados con la vía de apoptosis inducido por isquemia. Estos factores se comunican con la superficie del hueso y controlan la actividad de las células de la superficie del hueso como los osteoblastos, osteoclastos y células de revestimiento óseo (Acocella et al., 2010)(Ross, Pawlina 2015).

Debido a la poca flexibilidad ósea, las fuerzas mecánicas aplicadas, causan el flujo de líquido intersticial de los canaliculos y lagunas hacia el lado comprimido del hueso. El movimiento del líquido intersticial a través del sistema canalicular genera un potencial eléctrico transitorio (potencial de flujo) en el momento en que se aplica la fuerza. El potencial de flujo abre los conductos de calcio dependientes del voltaje en las membranas de los osteocitos, sobre las que fluye el líquido tisular. Los aumentos

resultantes en el calcio intracelular, la adenosina trifosfato (ATP), la concentración de óxido nítrico y la síntesis de prostaglandina E2 (PGE2), alteran la expresión de los genes c-fos y cox-2 responsables de la formación de hueso. Además, la expresión del gen IGF-1 genera un aumento de la producción de sí mismo, que promueve la conversión de células osteoprogenitoras en osteoblastos (Ross, Pawlina 2015). Por lo tanto, las regiones óseas sobre las que se aplica más fuerza, son las que tendrán una mayor deposición de hueso nuevo.

Un osteocito responde a una fuerza mecánica reducida al secretar metaloproteinasas de la matriz (MMP). El espacio vacío que rodea los osteocitos es el resultado de la degradación enzimática de la matriz ósea por las metaloproteinasas de la matriz. El aumento de la fuerza mecánica activa los mecanismos moleculares similares a los encontrados en los osteoblastos productores de matriz ósea. Por lo tanto, los osteocitos son responsables del remodelado reversible de su matriz ósea pericanalicular y perilagunar. Este proceso se denomina remodelado osteocítico u osteolisis osteocitaria (Barone & Nannmark 2015). Dado que el área de superficie de las lagunas y canalículos dentro del hueso es varias veces más grande que el área de superficie del hueso mismo, la eliminación de cantidades minúsculas de matriz mineralizada por cada osteocito tendría efectos significativos sobre las concentraciones de calcio y fosfatos en la circulación (Ross, Pawlina 2015)

Se han identificado tres estadios funcionales para los osteocitos: latentes, formativos: exhiben indicios de formación de matriz y presentan ciertas características similares a las de los osteoblastos y se observa osteoide en el espacio pericelular dentro de la laguna y resorptivos: participan también en el proceso de degradación ósea o degradación ósea por las MMP secretadas por los osteocitos.

Los osteocitos son incapaces de renovarse. Poseen como marcador específico el CD44, receptor de membrana que se expresa fuertemente en osteocitos y es negativo en osteoblastos y células limitantes. Los osteocitos son células de larga vida y su muerte podría atribuirse a la apoptosis, a la degeneración/necrosis, a la senescencia (vejez) o a la actividad de remodelado óseo por los osteoclastos. La vida media natural de los osteocitos en los seres humanos se estima en alrededor de 10 años a 20 años (Ross, Pawlina 2015). Su muerte es seguida por una rápida reabsorción de matriz (Mescher, 2016).

En los cortes teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) los canalículos y sus evaginaciones no se logran observar. En cambio, en los preparados de hueso realizado con el método de desgaste, los canalículos son muy visibles. Con frecuencia, en los preparados microscópicos de rutina la célula está muy distorsionada por la retracción y otros artefactos, producto de la descalcificación de la matriz antes de realizar los cortes del hueso. En estos casos, el núcleo puede ser el único elemento característico observable. En muestras bien conservadas, los osteocitos exhiben menos basofilia citoplasmática que los osteoblastos (Ross, Pawlina 2015).

2.1.3.3 Osteoclastos

Son células grandes con un diámetro de hasta $100\mu\text{m}$. Se originan a partir de tejido hematopoyético. Deriva de la familia monocito macrófago, a partir de la célula madre de los granulocitos y macrófagos en la medula ósea. Esta primera línea llega hasta el tejido óseo por medio del torrente sanguíneo, para diferenciarse en preosteoclastos, células mononucleadas y se activan a través de una serie de señales para pasar a ser osteoclastos multinucleados maduros (Roden, 2010). Por esta razón son de gran tamaño, poseen varios aparatos de Golgi y son ricos en mitocondrias

(Figura 6). También es abundante en enzimas lisosomales, las cuales le confieren al citoplasma su característica acidófila (Ross, Pawlina 2015).

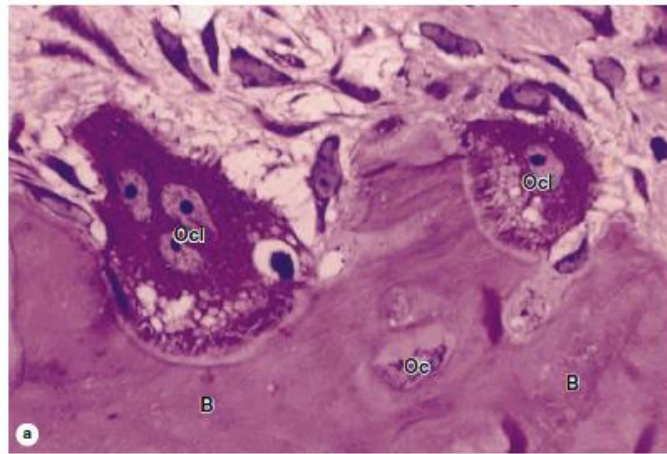


Figura 6. Fotografía con tinción de Hemataxilina y eosina a 400, que muestra osteoclasto (Ocl), que digieren y reabsorben matriz ósea (B) en las laguna de Howship. También se ve osteocito (Oc).

Fuente: Anthony L Mescher (2016). Junqueira's Basic Histology Text & Atlas, 14th ed. Ed McGraw-Hill Medical.

Son células responsables de la reabsorción del hueso, además de dar la capacidad al hueso para responder a factores reguladores biológicos y la capacidad de responder a fuerzas funcionales (Sodek & McKee, 2000). A través de regulación hormonal, los osteoclastos una vez en la médula, empiezan a reabsorber hueso y en estas zonas se encuentran dentro de forma depresiones enzimática o cavidades grabadas en la matriz conocidas como lagunas de resorción o *lagunas de Howship* (Roden, 2010). En un osteoclasto activo, la membrana que contacta el hueso forma una zona de sellado circular que se ajusta firmemente a la matriz ósea y rodea un área con numerosas proyecciones de superficie llamado el *borde rizado*. Esta zona crea un microambiente especializado entre el osteoclasto y la matriz justo donde se produce la resorción ósea (Mescher, 2016). Se cree que de estos bordes rizados se secretan enzimas hidrolíticas para acidificar y promover la disolución de la hidroxiapatita adyacente. Estas enzimas digieren la porción orgánica del hueso. La actividad de los

osteoclastos y esa morfología del borde ondulado se puede modificar y regular por las hormonas paratiroidea (PTH), indirectamente y por la calcitonina, que tiene receptores en la membrana del osteoclasto (Newman & Takei, 2018), además de M-CSF, RANKL (Mescher, 2016). La PTH tiene un efecto indirecto sobre los osteoclastos. Los receptores de PTH se producen en los osteoblastos, que responden por secreción de RANKL y otros factores paracrinos que estimulan la formación y la actividad de los osteoclastos (Mescher, 2016). La calcitonina, secretada por las células parafoliculares de la glándula tiroides, puede reducir los niveles elevados de calcio en sangre por oponerse a los efectos de la PTH en el hueso. Tiene el efecto de reducir la actividad de los osteoclastos (Ross, Pawlina 2015).

El desarrollo de los osteoclastos requiere dos polipéptidos producidos por osteoblastos: factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) y el receptor activador del factor nuclear- κ B ligando (RANKL) (Mescher, 2016) que interactúa con el RANK. El mecanismo de señalización RANK-RANKL es esencial para la diferenciación y maduración de los osteoclastos. Esta vía puede ser bloqueada por la osteoprotegerina (OPG), que funciona como un receptor “señuelo” para RANKL. La falta de ligando disponible afecta el mecanismo de señalización de RANK-RANKL y actúa como un inhibidor poderoso de la formación de osteoclastos. Los osteoblastos son los productores principales de la OPG, que está regulada por muchos reguladores metabólicos óseos, como la IL-1, el TNF, el TGF- β y la vitamina D. La PGE2 es secretada por osteocitos estresados y estimula la producción de RANKL; sin embargo, los osteoblastos activos en la región de deposición ósea producen la OPG que inactiva el RANKL. Por lo tanto, las regiones donde los osteoblastos depositan hueso nuevo tendrán poca o ninguna actividad osteoclástica en contraste con las regiones

circundantes con mayor actividad osteoclástica. Todas las sustancias que promueven el remodelado óseo por diferenciación de los osteoclastos y la resorción ósea actúan a través del sistema OPG/RANKL en la médula ósea (Ross, Pawlina 2015).

Hay varias regiones especializadas:

- Borde festoneado: que es la porción de la célula en contacto directo con el hueso. Contiene abundantes pliegues profundos de la membrana plasmática que forman estructuras del tipo de las microvellosidades y son responsables del aumento de la extensión de la superficie para la exocitosis de enzimas hidrolíticas y la secreción de protones por las bombas dependientes de ATP, al igual que para la endocitosis de los productos de degradación y los detritos óseos.

- Zona clara (zona de sellado): es un perímetro de citoplasma en forma de anillo contiguo al borde festoneado que delimita la superficie ósea en resorción. Es un compartimento a la altura del borde festoneado donde se produce la resorción y degradación de la matriz. La membrana plasmática a la altura de la zona clara contiene moléculas de adhesión célula-matriz extracelular que son responsables de proporcionar un sello hermético entre la membrana celular y la matriz ósea mineralizada.

- Región basolateral: interviene en la exocitosis del material digerido. Las vesículas de transporte que contienen material óseo endocitado y degradado a la altura del borde festoneado, se fusionan aquí con la membrana celular para liberar su contenido. Los materiales digeridos del hueso resorbido, se transportan en vesículas endocíticas por todo el osteoclasto. El contenido de las vesículas endocíticas que se originan en el borde festoneado se libera en la membrana basal, que por lo general, está en contacto con los vasos sanguíneos (Ross, Pawlina 2015).

Los osteoclastos reabsorben el tejido óseo mediante la liberación de protones e hidrolasas lisosómicas hacia el microambiente restringido del espacio extracelular. Una vez liberadas, estas enzimas hidrolíticas, que incluyen la catepsina K y las metaloproteinasas de la matriz, degradan el colágeno y otras proteínas de la matriz ósea (Ross, Pawlina 2015). La reabsorción de hueso ocurre en un compartimento de matriz extracelular acidificada como resultado de la acción de enzimas asociadas a la membrana del borde: tartrato resistente, adenosina trifosfatasa ácida sensible a vanadato, anhidrasa carbónica isozima II la cual produce ácido carbónico (H_2CO_3) a partir de dióxido de carbono y agua (Sodek & McKee, 2000). A continuación, el ácido carbónico se disocia en bicarbonato (HCO_3^-) y un protón (H^+). Con la ayuda de las bombas de protones dependientes de ATP, los protones se transportan a través del borde festoneado, generando un pH bajo (de 4 a 5) en el microambiente de la laguna de resorción. Este ambiente ácido local, creado en el espacio extracelular entre el hueso y el osteoclasto, está protegido por la zona clara. Los conductos de cloro, junto con las bombas de protones facilitan la electroneutralidad de la membrana del borde festoneado. El exceso de bicarbonato se elimina por intercambio pasivo con iones de cloro a través de proteínas intercambiadoras de clorocarbonato ubicadas en la membrana basolateral. El medio ácido inicia la degradación del componente mineral del hueso (principalmente hidroxapatita) para convertirlo en iones de calcio, fosfatos inorgánicos solubles y agua. Cuando la resorción del tejido óseo se ha completado, los osteoclastos sufren apoptosis. La vida media es de 3 días (Ross, Pawlina 2015).

2.1.3.4 Células de revestimiento

La transición de osteoblastos a células de revestimiento óseo implica una serie de cambios morfológicos y funcionales graduales que culminan en la disminución de la secreción de proteínas.

La relativa escasez de orgánulos de estas células indica que están menos involucradas en la secreción de proteína de la matriz ósea. La transformación de los osteoblastos en las células del revestimiento óseo representa el fenotipo final de este linaje de osteoblastos, antes de la activación de la remodelación ósea. El último destino de las células de revestimiento óseo es la muerte por apoptosis (Sodek & McKee, 2000).

Las células de revestimiento óseo ubicadas en las superficies externas del hueso reciben el nombre de células del periosteo y las que tapizan las superficies internas con frecuencia se denominan células del endostio. (Ross, Pawlina 2015).

Un gran porcentaje de las superficies óseas está cubierto por una capa contigua de células de revestimiento de hueso, de forma aplanada con un papel importante homeostático, en la influencia del metabolismo del calcio y fósforo y en la iniciación de eventos de la secuencia de remodelación ósea. Junto con los osteocitos, las células de revestimiento y sus conexiones, parecen formar una extensa red homeostática, capaz de regular la concentración de calcio en plasma a través de mecanismos parcialmente independientes de los relacionados con el sistema de remodelación ósea (Sodek & McKee, 2000)(Ross, Pawlina 2015).

2.1.4 Estructura macroscópica y microscópica.

Macroscópicamente existen dos formas fundamentales de organización ósea; el hueso trabecular en el interior y el hueso cortical en el exterior, dispuestos en diferentes cantidades y distribuciones.

2.1.4.1 Hueso cortical o compacto

El hueso compacto o cortical es un hueso denso, compacto, sin espacios visibles. Está compuesto por matriz ósea que contiene una serie de *sistemas haversianos* u *osteonas*, la cual refiere al complejo de láminas concéntricas, presentes de 4 a 20 láminas y de 100-250 μm de diámetro que comunica con la cavidad medular y el periostio (Ross, Pawlina 2015), rodeando un canal central que contiene endostio, pequeños vasos, sangre, nervios y tejido conjuntivo laxo (Figura 7) (Roden, 2010) (Barone & Nannmark, 2015) (Ross, Pawlina 2015). También llamadas las *unidades funcionales del hueso*. En secciones transversales son redondas u ovaladas y circulan en dirección longitudinal. Generalmente son más anchas en dirección de la carga para ofrecer mayor resistencia a la compresión (Barone & Nannmark, 2015) (Newman & Takei, 2018).

Entre las laminillas sucesivas se encuentran las lagunas, cada una con un osteocito, todos interconectados por los canalículos que contienen los procesos dendríticos de las células. Cada osteona es un cilindro largo, a veces bifurcado, generalmente paralela al eje largo de la diáfisis (Ross, Pawlina 2015)

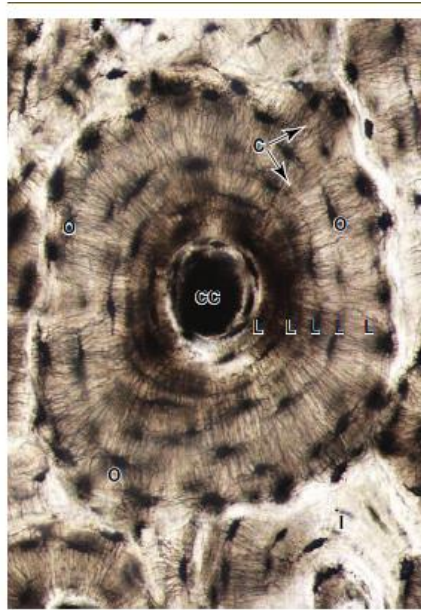


Figura 7. Fotografía de hueso molido a 500X. Los osteonas o sistemas de Havers, constituyen la mayor parte del hueso compacto. Se muestra una osteona con cuatro o cinco laminillas concéntricas (L), las cuales rodean el canal central (CC). Los osteocitos (O) en sus lagunas, se comunican entre sí y con el canal central a través de cientos de filopodos. También se muestran las laminillas intersticiales (I).

Fuente: Anthony L Mescher (2016). Junqueira's Basic Histology Text & Atlas, 14th ed. Ed McGraw-Hill Medical.

Las osteonas se comunican con la cavidad medular, con el periosteo y entre ellas mismas a través de conductos transversos u oblicuos que son los *canales de Volkmann* (Ross, Pawlina 2015).

Los osteocitos se organizan alrededor del canal central, en forma circular, paralelamente a las láminas, interconectándose por filopodos, que son procesos citoplasmáticos del osteocito. Hay presencia de áreas irregulares de hueso lamelar entre los sistemas haversianos, o *laminillas intersticiales*, formados por restos de sistemas haversianos previos que han sido remodelados (Figura 7) (Barone & Nannmark, 2015). Es cuando los osteocitos y fibras colágenas están organizadas pero no están dispuestos alrededor de un conducto de Havers ni de forma circular (Ross, Pawlina 2015). Cada osteona limita con su vecino por medio de estas laminillas intersticiales que tienen un recubrimiento de cemento que adquiere un tono oscuro con la hematoxilina. Las capas más internas y externas del hueso cortical no tienen

canales haversianos y las láminas están orientadas paralelamente a la superficie endoósea, conformando las *laminillas circunferenciales* (Figura 7) (Barone & Nannmark, 2015) (Ross, Pawlina 2015).

2.1.4.2 Hueso esponjoso o trabecular

Está formado por una serie de placas de hueso interconectadas, llamadas *trabéculas* (Figura 8). Cada trabécula ósea contiene fibras de colágeno organizadas en laminillas paralelas. La superficie de las trabéculas está cubierta por una capa de células aplanadas, osteoblastos de sostén (Barone & Nannmark, 2015). Las células en el hueso trabecular incluyen osteoblastos, osteoclastos y células hematopoyéticas. (Roden, 2010).

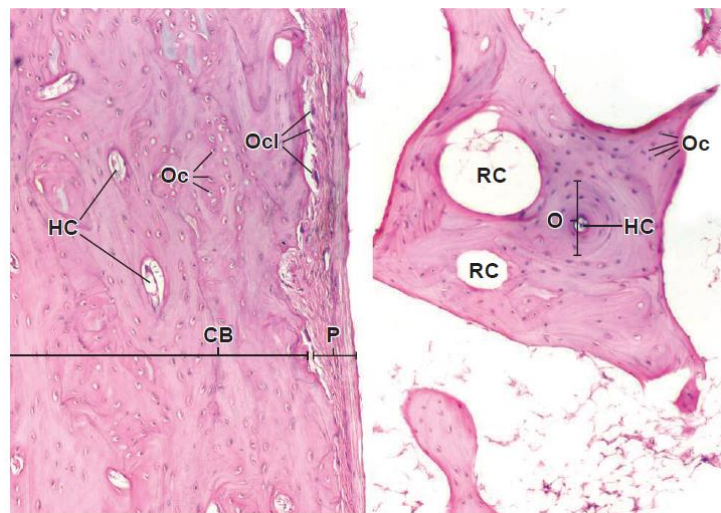


Figura 8. Lado izquierdo hueso compacto, con tinción de Hematoxilina y Eosina a 135X. La superficie externa del hueso está cubierta por tejido conjuntivo denso conocido: periostio (P). Todo el tejido es hueso compacto (CB). Los conductos de Havers (HC) están rodeados por osteocitos (Oc). También se observa osteoclastos (Ocl). Lado derecho hueso esponjoso o trabecular, con organización estructural y componentes iguales a los observados en el hueso compacto. Están presentes los osteocitos (Oc). A medida que el hueso madura, el tejido óseo se reorganiza y forma osteonas (O), que consisten en conductos de Havers (HC) y capas circundantes (laminillas) de la matriz ósea.

Fuente: Ross MH, Pawlina W (2016) Histología Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular, 7ma ed. Ed Panamericana.

Generalmente la mandíbula está compuesta por médula grasa o amarilla, por lo que radiográficamente pueden ser visibles zonas de radiolucencia en la tuberosidad

maxilar, la región molar maxilar y áreas de premolares en mandíbula, en la sínfisis y ángulo mandibular (Newman & Takei, 2018).

Además de estar involucrado en el metabolismo óseo, esta estructura también aporta fortaleza mecánica. Las trabéculas más fuertes se orientan hacia las zona sometidas a mayor cantidad de presión (Barone & Nannmark, 2015).

A nivel microscópico el hueso suelen mostrar dos tipos de organización: hueso maduro lamelar y tejido óseo inmaduro, recién formado con componentes dispuestos al azar (Ross, Pawlina 2015).

- Tejido óseo primario (Hueso no lamelar): se conoce como hueso de fibra gruesa, reticular o inmaduro. Se caracteriza por la presencia de fibras colágenas gruesas. Constituye el primer tejido óseo en ser depositado en la matriz de cartílago calcificado en la osificación endocondral y es también el primer tejido que aparece en el proceso de reparación ósea (Barone & Nannmark, 2015) (Ross, Pawlina 2015). Presentan una mayor proporción de osteocitos del hueso laminar maduro.

- Tejido óseo secundario (Hueso lamelar): es el hueso maduro. Se caracteriza por la presencia de fibras de colágeno orientadas en capas paralelas o laminillas de 3 a 7 micras de espesor. Las lamelas están organizadas como hojas paralelas o concéntricamente alrededor de un canal central (Ross, Pawlina 2015). Está presente en tipos estructurados de hueso adulto, hueso cortical y en el hueso medular (Barone & Nannmark, 2015).

2.1.4.3 Estructura del hueso alveolar

El hueso alveolar es la porción del hueso maxilar y de la mandíbula que soporta a las raíces dentales y a los alveolos dentarios (Figura 9). El hueso alveolar se forma durante el crecimiento fetal por osificación intramembranosa. Se forma cuando

los dientes erupcionan para proveer una inserción ósea al ligamento periodontal y desaparecen gradualmente luego de la pérdida dental. Los procesos alveolares se someten a remodelación con el desarrollo, la formación y erupción de los dientes, por lo tanto el hueso es dependiente de las estructuras dentales; el tamaño, la forma, la ubicación y la función de los dientes determinan su morfología (Sodek & McKee, 2000)(Newman & Takei, 2018).

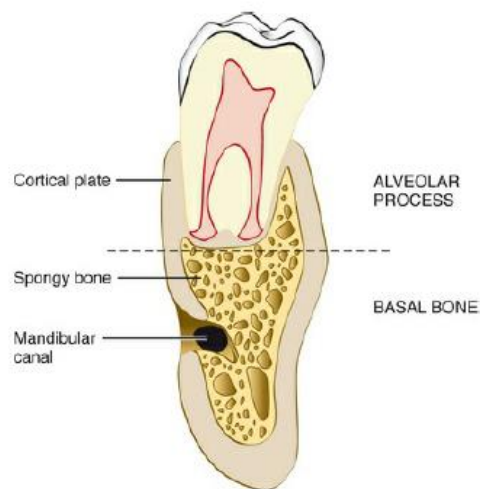


Figura 9: Dibujo de porción alveolar de mandíbula humana. La línea punteada indica la separación entre el hueso basal y el hueso alveolar.

Fuente: Newman, M. G., and Takei, H. H. (2018). Newman and Carranza's Clinical Periodontology. Thirteenth edition. Pág. 260

El hueso alveolar está compuesto de hueso alveolar propiamente dicho y hueso de soporte. Está en proceso de renovación continua, lo que permite al tejido reaccionar frente a la manipulación, como ocurre en el movimiento de un diente debido a una función fisiológica normal o a un tratamiento ortodóntico (Chiego, 2014).

El proceso alveolar consiste en: 1) Una placa externa de hueso cortical que está formada por laminillas Haversianas. 2) La pared interna del alveolo está compuesta por un hueso delgado y compacto llamado propiamente hueso alveolar y que representa la lámina dura en las radiografías. Este hueso o bien contiene fibras perforantes del ligamento periodontal o es similar al hueso compacto que se encuentra en el resto del organismo. Estas fibras perforantes o fibras de Shapey son

haces de fibras de colágeno incluidas en el hueso alveolar (Chiego, 2014). Histologicamente, contiene una serie de aberturas, que es la placa cribiforme, a través del cual se unen los paquetes neurovasculares del ligamento periodontal con el componente central del hueso alveolar, que es el hueso esponjoso. 3) Las trabéculas esponjosas entre estas dos capas compactas actúan como soporte del hueso alveolar (Newman & Takei, 2018)

El hueso compacto de soporte de la apófisis alveolar es similar al hueso haversiano que se encuentra en otras partes del organismo. Contiene osteonas con laminillas concéntricas resaltadas por lagunas, que contienen los osteocitos en el hueso vivo, conductos de Havers y de Volkmann. Las células óseas u osteocitos se encuentran en muchas de las lagunas y se encargan del mantenimiento y viabilidad del hueso (Chiego, 2014).

El hueso trabecular o esponjoso que proporciona soporte al hueso alveolar propiamente dicho de la apófisis alveolar está compuesto por lo general de fuertes trabéculas o láminas de hueso con espacios medulares entre sí. La médula ósea contiene elementos hematopoyéticos, células osteogénicas y tejido adiposo. El hueso de soporte de los maxilares en especial está relleno de tejido medular, que contiene eritrocitos inmaduros y leucocitos. (Chiego, 2014) (Monje et al., 2015)

2.1.4.4 Periosteo

Es una capa de tejido conectivo denso de gran capacidad osteogénica que recubre la superficie externa de del hueso (Newman & Takei, 2018). Consiste en una capa interna compuesta de osteoblastos rodeados de células osteoprogenitoras, que tienen el potencial de diferenciarse en osteoblastos, células de revestimiento óseo y células madre mesenquimales células osteoprogenitoras (Mescher, 2016) y una capa

externa rica en vasos sanguíneos y nervios y compuesta de fibras de colágeno y fibroblastos (Newman & Takei, 2018).

Las fibras de colágeno penetran en el hueso para unir el periostio al hueso llamadas fibras perforantes o de *Sharpey*. Penetra en la matriz ósea y une el periostio al hueso. Los vasos sanguíneos periósticos se ramifican y penetran en el hueso para transportar metabolitos hacia y desde las células óseas (Mescher, 2016).

2.1.4.5 Endosteo

Es el tejido conectivo rico en células que recubre las cavidades internas del hueso. Está en íntimo contacto con el hueso y contiene células osteoprogenitoras osteoblastos y células de revestimiento (Mescher, 2016). Está compuesto de una sola capa de osteoblastos (Newman & Takei, 2018).

2.2 Remodelación ósea

La remodelación es la principal vía de cambios en la forma ósea, en la resistencia a las fuerzas, reparación de heridas y en la homeostasis de calcio y fósforo en el cuerpo. La estabilidad entre la resorción y la formación ósea constituye uno de los principios fundamentales del remodelado a lo largo de la vida. Implica la coordinación de actividades de dos distintos linajes celulares como los osteoblastos y los osteoclastos (Camassa et al., 2017). La regulación de la remodelación ósea es un proceso complejo que implica hormonas y factores locales que actúan de manera autocrina y paracrina (Jimi et al., 2012). Las influencias locales incluyen función y cargas funcionales del diente y cambios en las células óseas relacionados con la edad. Las influencias sistémicas son probablemente hormonales como la hormona paratiroidea, calcitonina, vitamina D3 (Newman & Takei, 2018). La sialoproteína ósea,

como componente de la matriz extracelular, regula la aposición y remodelación ósea. Juega roles funcionales importantes en la inducción de la resorción osteoclástica de superficies mineralizadas. (Tetè et al., 2011). Las fuerzas de tensión y el estrés conducen a la remodelación mediada por los osteoclastos y la eventual formación de hueso maduro. (Spagnoli & Marx, 2011).

La principal fuente de liberación de calcio cuando los niveles de sangre de calcio disminuyen, es la remodelación ósea, regulada por la glándula paratiroides. La disminución del calcio en la sangre está mediada por receptores en las células principales de las glándulas paratiroides, que luego liberan la hormona paratiroidea. La hormona paratiroidea estimula los osteoblastos para liberar IL-1 e IL-6, que estimulan a los monocitos a migrar hacia el área ósea. El Factor Inhibidor de Leucemia, es secretado por los osteoblastos y fusiona a los monocitos dentro de los osteoclastos multinucleados, liberando iones de calcio desde la hidroxiapatita en la sangre. Un mecanismo de retroalimentación de los niveles sanguíneos normales de calcio, desactiva la secreción de la hormona paratiroidea. Mientras tanto, los osteoclastos han reabsorbido la matriz orgánica junto con la hidroxiapatita. La descomposición del colágeno de la matriz orgánica libera diversos sustratos osteogénicos, que están unidos covalentemente al colágeno. Esto a su vez estimula la diferenciación de los osteoblastos, que finalmente depositan hueso. Se llama *acoplamiento* a esta interdependencia de los osteoblastos y los osteoclastos en la remodelación ósea (Newman & Takei, 2018).

La matriz ósea que se establece por los osteoblastos es osteoide no mineralizado. Mientras se deposita nuevo osteoide, el osteoide viejo ubicado debajo de la superficie se mineraliza. La resorción ósea es un proceso complejo que es

morfológicamente relacionado con la apariencia de superficies óseas erosionadas, es decir, lagunas Howship y células multinucleadas grandes: los osteoclastos (Newman & Takei, 2018).

Otro mecanismo de resorción ósea implica la creación de un ambiente ácido en la superficie del hueso, lo que conduce a la disolución del componente mineral del hueso. Esto puede darse por una bomba de protones a través de la membrana celular del osteoclasto, tumores óseos y presión local.

2.2.1 Remodelación del hueso alveolar.

Los osteoblastos comienzan a producir vesículas de matriz antes de la mineralización. Estas vesículas contienen enzimas, como la Fosfatasa alcalina, que ayudan al comienzo de la nucleación de los cristales de hidroxiapatita. Estos van creciendo y desarrollándose, para formar nódulos de hueso a partir de partículas, que con las fibras de colágeno de crecimiento no orientadas, son la subestructura del tejido óseo y el primer hueso que se forma en el alvéolo. Luego se va formando el hueso laminar maduro a través de la deposición ósea, la remodelación y la secreción de fibras de colágeno organizadas (Newman & Takei, 2018).

Los cristales de hidroxiapatita generalmente están alineados en su eje más largo con las fibras colágenas y se depositan sobre y dentro de las fibras de colágeno en el hueso laminar maduro. Así la matriz ósea es capaz de soportar tensiones mecánicas de alto impacto aplicadas durante la función (Newman & Takei, 2018). En el hueso alveolar los osteoblastos forman filas contiguas para producir matriz ósea alveolar, además de lidiar con la remodelación continua del ligamento periodontal en zonas bastante precisas (Sodek & McKee, 2000).

Con respecto a los cambios morfológicos en el hueso alveolar relacionados con la edad, esta es un factor de riesgo para la reducción de la masa ósea en individuos con osteoporosis y por lo tanto debe ser diferenciada de los procesos de envejecimiento fisiológico (Newman & Takei, 2018). Durante el envejecimiento hay pocas células activas en las lagunas y los espacios medulares se encuentran infiltrados con células adiposas (Chiego, 2014).

Los eventos celulares y moleculares involucrados en la remodelación del hueso en general, tienen gran similitud con muchos aspectos de la inflamación, la reparación y por lo tanto la cicatrización.

2.3 Cicatrización ósea

Es la respuesta local a la injuria, que se presenta como un conjunto de procesos celulares, vasculares y bioquímicos hasta completar el proceso de cicatrización en el tiempo. Se puede dar a través de dos procesos (Mellonig, 1992):

- **Reparación:** es el proceso mediante el cual el tejido lesionado es reemplazado por células diferentes, que no cumplen la misma función de las células o el tejido al cual reemplazan.
- **Regeneración:** es la capacidad de respuesta a la agresión de un tejido, mediante la sustitución del tejido lesionado por tejido morfológicamente y funcionalmente similar al alterado.

La cicatrización ósea se puede clasificar en primaria y cicatrización secundaria. Como en la curación de tejidos blandos, la curación primaria del hueso implica contacto directo o un espacio de menos de 1 mm entre los fragmentos de hueso. Este proceso de curación se produce por un grupo de osteoclastos, creando los *conos de*

corte o unidad de remodelado óseo, que es la creación de un espacio en forma de túnel por actividad de los osteoclastos, con vasos sanguíneos junto con su tejido conjuntivo circundante que ocupan su luz (Figura 10). El extremo del cono de corte está formado por osteoclastos que avanzan, y a los que les siguen de cerca un asa capilar y pericitos, los cuales perforan un conducto de unos 200 μ m de diámetro para establecer el diámetro del futuro sistema de Havers (Ross, Pawlina 2015). Los osteoblastos siguen este corte cono de corte liderado y secretan matriz osteoide para una futura mineralización (Roden, 2010).

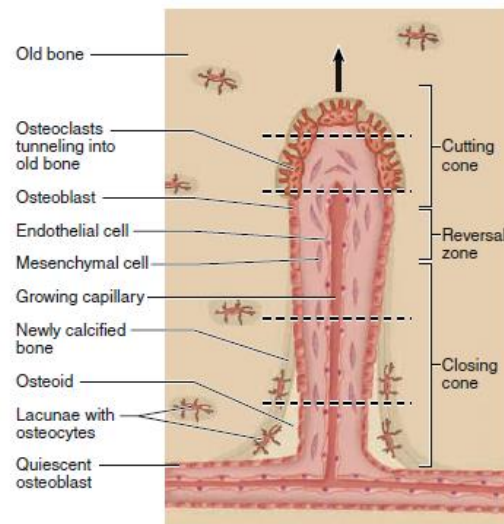


Figura 10. Cono de corte o unidad de remodelado óseo. Los osteoclastos actúan como un cono de corte que se tuneliza hacia la matriz ósea. Detrás le siguen osteoblastos que secretan osteoide de forma cíclica. Así se producen nuevas capas de matriz, formando las laminillas y se van quedando los futuros osteocitos en sus lagunas.

Fuente: Anthony L Mescher (2016). Junqueira's Basic Histology Text & Atlas, 14th ed. Ed McGraw-Hill Medical

La cicatrización secundaria del hueso ocurre a través de la formación de un callo dentro del cual se produce la matriz osteoide, produciendo la mineralización. Este tipo de cicatrización ósea se puede dividir en fases. La primera fase es la fase inflamatoria, de reparación y la de cicatrización (Roden, 2010).

2.3.1 Etapas de la cicatrización ósea.

La curación ósea directa (primaria) se produce cuando el hueso fracturado se estabiliza quirúrgicamente con placas y se restringe por completo el movimiento entre

los fragmentos fracturados del hueso. Los conos de corte formados por los osteoclastos cruzan la línea de fractura y generan conductos de resorción longitudinales, que después se llenan con osteoblastos productores de hueso.

La curación ósea indirecta (secundaria) implica respuestas del periostio y de los tejidos blandos circundantes, así como la formación de hueso endocondral e intramembranoso.

La respuesta inicial a la fractura ósea es similar a la respuesta frente a cualquier lesión que produce destrucción de tejido y hemorragia. Inicialmente, se forma un hematoma de fractura y se observa necrosis ósea en los extremos de los fragmentos del hueso fracturado. La lesión de los tejidos blandos y la degranulación de las plaquetas de los coágulos sanguíneos, son responsables de la secreción de citosinas: TNF- α , IL-1, IL-6, IL-11, IL-18 y del inicio de la respuesta inflamatoria aguda, en la que la infiltración de neutrófilos es seguida de la migración de macrófagos. Esta fase puede durar 1 semana. Estos coágulos de sangre se sustituyen en forma gradual por tejido de granulación, compuesto por un tejido conjuntivo laxo recién formado que contiene fibras de colágeno de tipo III y tipo II. Las células madres mesenquimatosas específicas derivan de los tejidos circundantes y vasos sanguíneos. El callo blando se forma en unas 2 a 3 semanas después de la fractura. El tejido conjuntivo laxo se transforma en un callo óseo, que reemplaza al fibrocartílago formado. Mientras el callo se está formando, las células osteoprogenitoras del periostio se dividen y se diferencian en osteoblastos, los cuales empiezan a depositar osteoide. Los brotes osteogénicos de este nuevo hueso invaden el callo y comienzan a depositar tejido óseo dentro del mismo, con lo que se reemplaza gradualmente el callo fibroso y cartilaginoso original

por un callo duro para dar estabilidad mecánica al sitio de la fractura, el cual requiere de 3 a 4 meses de formación (Ross, Pawlina 2015).

El callo duro se somete al remodelado óseo a fin de transformar el depósito de nuevo tejido óseo en un hueso maduro lamelar. Mientras se está formando hueso compacto, se eliminan los restos del callo duro por la acción de los osteoclastos y el remodelado óseo gradual restaura el hueso a su forma original (Ross, Pawlina 2015).

2.3.2 Etapas de la cicatrización ósea en los implantes dentales

La cicatrización ósea y la fijación de la superficie ósea a un implante, sigue dos vías diferentes, denominadas osteogénesis a distancia o de contacto (Osborn, Newsely, 1980)

En la osteogénesis a distancia, la regeneración ósea se extiende a través de la deposición progresiva de la superficie de la osteotomía hacia la superficie del implante. Un coágulo sanguíneo que incluye fibrina y plaquetas, se forma dentro del espacio y sigue con el proceso normal de cicatrización ósea. (Park & Davies, 2000). La respuesta inflamatoria, que incluye a los monocitos, conduce al desarrollo de osteoclastos, los cuales se adhieren a las superficies óseas dañadas. Los receptores de BMP-2 se encuentran en los monocitos.

La osteogénesis de contacto más se basa en los procesos normales de formación de hueso de nuevo. La perforación y la preparación quirúrgica ósea para la colocación del implante resulta en una cascada de eventos que imitan la cicatrización ósea normal. La superficie del implante es inicialmente recubierta con proteínas de la sangre y plasma que se adhieren a la superficie del implante. En el sitio de curación, la fibrina se adhiere al implante, actuando como una matriz temprana para la reclusión de las células. Las plaquetas se adhieren a la superficie del implante casi

inmediatamente, para activarse y liberar citoquinas y factores de crecimiento dentro del lecho quirúrgico del implante. (Masuda T, Salvi GE, et al.1997)

2.4 Condiciones óseas para la colocación de un implante

La osteointegración, luego del concepto introducido por Branemarck en la década de los años 50, es el éxito de un implante cuando se somete a una carga funcional, (Brånemark et al., 1969), Albrektsson, en 1981 la define como el reemplazo del tejido óseo inmaduro por hueso laminar, el cual posee una resistencia adecuada para soportar las cargas funcionales de un implante.

El proceso de osteointegración y el éxito a largo plazo de los implantes, no solo depende de factores relacionados con el implante, como el material, la forma, la topografía y la química de la superficie, sino también la carga mecánica, la técnica quirúrgica y las variables del paciente, como el estado médico del paciente o la calidad y cantidad del hueso (Vootla & Reddy, 2017). Los implantes endoóseos se integran al hueso a través de tres mecanismos: osteoconducción, formación de nuevo hueso y por remodelación ósea (Spagnoli & Marx, 2011). La biocompatibilidad de los materiales se evalúa mediante el estudio de las interacciones directas entre el implante y los tejidos, que es una medida del grado de osteointegración (Gaviria et al., 2014)

Los factores clave para la osteointegración exitosa del implante: (Albrektsson, 1986)

- Biocompatibilidad del material del implante.
- Naturaleza macroscópica y microscópica de la superficie del implante.
- El estado del lecho del implante en cuanto a salud (libre de infección) y en cuanto a morfología (calidad ósea).

- La técnica quirúrgica.
- La fase de cicatrización ininterrumpida.
- El posterior diseño protésico y la fase de carga a largo plazo.

Solo nos enfocaremos en este trabajo en el lecho del implante en cuanto a la morfología o calidad ósea. Las características óseas influyen fuertemente en el grado de estabilidad primaria para la colocación de implantes. La estabilidad primaria está dada por la presencia de tejido óseo mineralizado y su porción cortical y medular; con sus células progenitoras mesenquimales, precursores mononucleares, células endoteliales y vasos sanguíneos (Davies, 1998).

Los implantes dentales son una técnica muy común y bien conocida, pero todavía se encuentran fallas de hasta el 10%. Las tasas de fracaso se pueden asociar a una mala calidad ósea y / o cantidad, lo que conduce a un anclaje y estabilidad del implante deficiente. (Gulsahi, 2011).

La calidad y la cantidad de hueso se relaciona con el grado de densidad ósea presente, espesor del hueso cortical, así como las características y patrones de huesos trabeculares. Se han utilizado varios enfoques, como las mediciones densitométricas, la tomografía computarizada (TC) y la TC de haz cónico dental para medir la densidad de los maxilares. La mayoría de las revisiones de la literatura presentan alguna indicación de correlación positiva entre la estabilidad primaria de los implantes dentales y la densidad ósea del sitio del receptor. (Gaviria et al., 2014)(Rozé et al., 2009)

La calidad ósea alrededor de un implante dental osteointegrado funcional puede mejorar debido a la estimulación ósea positiva. Esto quiere decir que mientras más hueso esté presente en el lugar del implante, mayor será la posibilidad de éxito

del implante. La calidad ósea no es solo una cuestión de contenido mineral, sino también de estructura. La calidad ósea también se define por el tamaño del esqueleto, la arquitectura y la orientación tridimensional de las trabéculas, las propiedades de la matriz, la mineralización y la estructura.(Gaviria et al., 2014). La cantidad de hueso alveolar puede influir directamente en el plan de tratamiento de colocación de implantes como en el aumento de hueso, el tipo y la longitud del implante y el ángulo de inserción (Wakimoto et al., 2012).

El remodelado óseo empieza desde el mismo momento de la pérdida dentaria y la reabsorción es inevitable como consecuencia de la falta de estimulación funcional, creando una insuficiencia de altura y anchura de la cresta alveolar que podría evitar la adaptación de un implante (Pietrokovski, 1975) (Barone & Nannmark, 2015) por lo que se emplean técnicas de Regeneración Ósea Guiada para crear las condiciones óseas adecuadas en los rebordes alveolares.

Una importante consideración es que la naturaleza vascular y vital del hueso es esencial para la cascada de eventos que conduce a la osteointegración (Spagnoli & Marx, 2011)

El hueso y el espacio medular adyacente a un sitio de colocación de un implante, es la fuente de células madres, de factores de crecimiento y diferenciación, de proteínas solubles en hueso y plasma y de vasos que contribuyen a la respuesta de cicatrización ósea (Spagnoli & Marx, 2011). La vitalidad del hueso luego de la regeneración se determina por la presencia de osteocitos en sus lagunas, signos de remodelación por la presencia de osteoblastos y osteoclastos y la madures del hueso comparando el tejido óseo versus el tejido laminar (Meijer & Bone, 2005)(Acocella et al., 2010). (Borg & Mealey, 2015).

Tras la colocación de aloinjertos óseos congelados se ha demostrado la aparición de anticuerpos específicos contra el donante e inmunidad mediada por células, así como signos histológicos sugerentes de rechazo inmunológico (Calvo, Gaya, & Puig, 2000), por lo tanto la presencia de infiltrado inflamatorio en estudios histológicos son señal de un defecto en la regeneración ósea.

Los aloinjertos muestran células osteoblásticas en estrecho contacto con la matriz osteoide, conectadas a través de puentes entre las partículas de hueso del aloinjerto y nueva formación de hueso. El grupo de mineral óseo bovino mostró partículas de hueso bovino en contacto cercano con hueso nuevo, con puentes visibles de matriz osteoide y células osteoblásticas alrededor. Ninguno mostró signos de infiltrado inflamatorio agudo o crónico. (Xavier et al., 2016)

2.4.1 Clasificación de los rebordes edéntulos.

Para restaurar un defecto de reborde maxilar o alveolar, la literatura presenta diferentes clasificaciones basadas en los patrones de pérdidas óseas clínica o radiográficamente. Según Seibert (Seibert, 1983), realiza la clasificación del defecto alveolar en función de la pérdida de dimensión vestíbulo - lingual o apicocoronaria. (Lekhom y Zarb 1985) se basa en la densidad ósea y (Mish, 1989) propuso una clasificación de densidad ósea por lectura de la densidad del hueso en la tomografía computada. De acuerdo con esta clasificación, el hueso tipo D3-D4 está caracterizado por una capa delgada porosa de hueso cortical y hueso trabecular fino, se encuentra principalmente en el maxilar posterior; mientras que el hueso tipo D1-D2 representa un hueso más denso ubicado comúnmente en las crestas mandibulares anteriores y posteriores. (Mish y Judy, 1987) presenta su clasificación rebordes alveolares

parcialmente edéntulos que caracteriza el remanente óseo en 4 categorías: abundante, suficiente, comprometido y deficiente.

Cadwood y Howell, (Cadwood, 1988), aplica una clasificación en la que sugiere que el patrón de pérdida ósea varía con los sitios anatómicos. En la mandíbula anterior y en el maxilar anterior y posterior: la pérdida ósea es vertical y horizontal (desde el aspecto labial) y en la mandíbula posterior: la pérdida ósea es principalmente vertical. Según esto la clasificación sería:

- Clase I: dentado
- Clase II: post extracción inmediato
- Clase III: forma de la cresta bien redondeada, ancho y altura adecuado.
- Clase IV: cresta en filo de cuchillo, adecuado en altura pero ancho reducido.
- Clase V: cresta plana. Inadecuado ancho y altura
- Clase VI: cresta deprimida, con algo de pérdida basal.

Para definir un estándar de tratamiento para cada tipo de atrofia en rebordes maxilares nos basamos en esta última clasificación, sin embargo hay que tomar en cuenta múltiples factores para la toma de decisión y que la aplicación de un injerto varía en cada paciente.

2.5 Regeneración ósea

Los defectos óseos son el resultado de múltiples causas, como una resección tumoral, una malformación congénita, trauma, fracturas, cirugía o enfermedad periodontal, así como de otras enfermedades sistémicas como la osteoporosis o la artritis (Jimi et al., 2012).

El concepto de la Regeneración Ósea Guiada (ROG) y el uso de membranas de barrera se introdujeron en el campo de la periodontología y la implantología hace casi 30 años (Richard & Joseph, 2017). Fomenta el crecimiento de nuevo hueso para reemplazar áreas de daño en los maxilares y se puede usar junto con la Regeneración Tisular Guiada (RTG) para reconstruir el tejido blando (Jimi et al., 2012). El concepto de Regeneración Ósea Guiada es regenerar un volumen óseo, basado en la exclusión celular y la proliferación celular. La exclusión celular implica el uso de una membrana reabsorbible o no reabsorbible para limitar el crecimiento interno de células epiteliales. (Aghaloo & Hadaya, 2017). Se disponen de muchas técnicas, que no es solo la preservación alveolar luego de la extracción de un diente, sino el aumento de la cresta alveolar vertical y horizontalmente, expansión maxilar o aumento de piso de seno maxilar (Morelli, Neiva, & Wang, 2009).

Las membranas de barrera han desempeñado un papel importante en la odontología regenerativa desde mediados de los años ochenta, al evitar la infiltración de tejidos blandos que es de más rápido crecimiento, al tejido óseo que es de crecimiento más lento y mineralizado (Miron & Choukroun 2017).

La mayoría de los procedimientos de ROG utiliza injertos óseos, que pueden consistir en utilizar autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y aloplásticos (Richard & Joseph, 2017).

Los criterios para tomar una decisión con respecto a la selección del injerto se basa en la morfología del defecto y si es necesario aumentar el contorno de la cresta alveolar (Teixeira & Carroquino, n.d.). Estos defectos se producen a nivel transversal y vertical.

2.5.1 Indicaciones de Regeneración Ósea Guiada.

Las indicaciones más comunes para realizar la regeneración ósea guiada son:

- Aumento de reborde alveolar
- Colocación simultánea de implantes post extracción inmediata
- Defectos de dehiscencia
- Levantamiento de seno del maxilar
- Corrección de defectos óseos
- Restaurar altura vertical del reborde alveolar
- Recuperar anchura del reborde alveolar
- Pacientes que presentan atrofas severas en procesos alveolares (edentulismo parcial o total), con la finalidad de colocar implantes
- Defectos de resecciones oncológicas

Para definir un estándar de tratamiento para cada tipo de atrofia en rebordes maxilares nos basamos en la clasificación de Cadwood y Howell, (Cadwood, 1988), sin embargo hay que tomar en cuenta múltiples factores para la toma de decisión y que la aplicación de un injerto varía en cada paciente. Las condiciones económicas influyen en la toma de decisiones.

2.5.2 Mecanismos biológicos de la cicatrización ósea para la ROG.

2.5.2.1 Osteogénesis

La osteogénesis implica el trasplante de células osteocompetentes al sitio receptor. (Aghaloo & Hadaya, 2017). Se refiere a la habilidad del hueso de regenerarse a sí mismo mediante la producción de nuevo hueso, función debida a los osteoblastos (Calvo et al., 2000). Solamente el hueso autógeno tiene propiedades osteogénicas

El éxito de cualquier procedimiento de aplicación de injerto óseo depende de tener suficientes células osteogénicas o formadoras de hueso en la zona (Bowler & Dym, 2015).

2.5.2.2 Osteoinducción

La osteoinducción es el reclutamiento de células mesenquimales del entorno, quimiotaxis, que se diferencian hacia células formadoras de hueso y de cartílago (Calvo et al., 2000), a través de los factores de crecimiento para atraer, proliferar y diferenciar a las células madre primitivas o las células óseas inmaduras para crecer y madurar, formando tejido óseo sano (Bowler & Dym, 2015). El hueso autógeno, las BMP y ciertos aloinjertos desmineralizados, poseen propiedades osteoinductivas. (Aghaloo & Hadaya, 2017).

El método de reclutamiento y diferenciación, se produce a través de una cascada de eventos desencadenados por las BMP. Además, una lista de otros factores vitales también están presentes: factores de crecimiento derivados de las plaquetas, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento similares a la insulina, factores estimulantes de colonias de granulocitos, mitógenos y las interleuquinas y factores angiogénicos, tales como factor de crecimiento derivado del endotelio vascular (Kao & Scott, 2007).

Un material osteoinductivo debe inducir la formación de hueso después de la implantación (Barradas, Yuan, Blitterswijk, Habibovic, & Medicine, 2011)(García-gareta et al., 2015).

2.5.2.3 Osteoconducción

La osteoconducción es la capacidad del injerto óseo de servir como molde o estructura para la incorporación de capilares, tejido perivascular y células

osteoprogenitoras del receptor (Calvo et al., 2000). Se refiere a la capacidad de algunos materiales para servir como andamio para guiar a las células a unirse al hueso, migrar, crecer y dividirse en un sitio específico (Bowler & Dym, 2015), o de la unión del huésped y el material de injerto (Giannoudis, Dinopoulos, & Tsiridis, 2005)

Las células osteogénicas generalmente funcionan mucho mejor cuando tienen una matriz o andamio al cual adjuntarse. (Bowler & Dym, 2015)

2.5.3 Métodos de regeneración ósea.

La ubicación y el tamaño de los defectos óseos alveolares determinan la necesidad de planificar la reparación de estas deficiencias. La poca disponibilidad de hueso para la estabilización de los implantes es una de las condiciones que se da más frecuentemente en la implantología.

Hay requisitos fundamentales para los biomateriales utilizados en ROG. Estos son: biocompatibilidad del material para evitar una reacción adversa del huésped y ciertas propiedades de degradabilidad para permitir una adecuada regeneración ósea y el reemplazo eventual con el hueso nativo del huésped. Idealmente, los materiales de ROG deben proporcionar la resistencia mecánica adecuada para garantizar el mantenimiento de espacio para que las células que migran del tejido óseo circundante, faciliten la regeneración ósea (Elgali et al., 2016).

El injerto óseo debe proporcionar osteoinducción como característica principal para el crecimiento de hueso tridimensional. Por lo tanto el injerto debe combinar células osteogénicas o células madre mesenquimales o factores de crecimiento bioactivos (Richard & Joseph, 2017). Las BMP son las que tienen la mayor capacidad de formación de hueso y pueden usarse solo o en conjunto con otros materiales de injerto óseo (Bowler & Dym, 2015).

Las membranas de barrera cumplen la función de prevenir la infiltración del tejido fibroso (propiedades de oclusión celular), para evitar influenciar negativamente en la cicatrización ósea, mientras que el material de injerto óseo debe facilitar la migración de células osteogénicas como los osteoblastos a la superficie del material (Richard & Joseph, 2017). Se han utilizado membranas biorreabsorbible y no reabsorbibles para contener biomateriales implantados.

Las mayas de titanio actúan como una matriz protectora para mantener el espacio y facilitar el crecimiento interno del hueso, además de tener biocompatibilidad y resistencia. Han demostrado proporcionar tanto como un espacio para la formación ósea, así como direccionar geométricamente el hueso formado. Dentro de las ventajas es que no ocluyen las células que pueden contribuir al proceso de formación de hueso o la vascularización derivada del colgajo de tejido blando. Se recomienda que sea de un espesor especialmente delgado (0.2 mm), para resistir la flexión y los micro movimientos durante el proceso de curación y así se moldea fácilmente. (Ribeiro Filho et al., 2015)(Richard & Joseph, 2017)

Las membranas no reabsorbibles de politetrafluoroetileno expandido ePTFE o de politetrafluoroetileno reforzadas con titanio Ti-e-PTFE fueron de las primeras en utilizarse. La principal desventaja de las membranas sintéticas no reabsorbibles es el requisito de una segunda intervención quirúrgica para eliminar la membrana ya que no son biodegradables. A menudo se asocian con retrasos en la curación de heridas y posterior contaminación bacteriana, necrosis de los tejidos y fallo en la regeneración (Corso, 2012). Aunque el uso de membranas de ePTFE han demostrado niveles más altos en la nueva formación ósea y mayores niveles de adaptación alrededor de los dientes, el requisito de una segunda intervención quirúrgica para eliminar la barrera de

4 a 6 semanas después de la implantación, es un inconveniente significativo que a menudo resulta en una nueva lesión de los tejidos. Además, esto conduce a un tiempo quirúrgico extra y por lo tanto incurre un costo adicional y la incomodidad del paciente. Por lo expuesto, cada vez van más en desuso (Richard & Joseph, 2017).

Las membranas reabsorbibles a base de colágeno presentan la principal ventaja es que permiten un procedimiento de un solo paso, evitando la incomodidad del paciente y la por lo tanto disminuyendo el daño tisular causado por una segunda cirugía. Inicialmente, una de las principales desventajas de las membranas reabsorbibles era el tiempo de resorción impredecible, que afecta directamente la formación de hueso nuevo. Además, no son suficientemente fuertes mecánicamente para proteger el compartimento regenerado de hueso, y por lo tanto, se requiere siempre de injerto óseo debajo de la membrana para mantener el espacio y la morfología regenerativa (Corso, 2012). Pueden ser derivados de la piel humana, tendones, bovinos o piel porcina y se han caracterizado por su excelente afinidad celular y biocompatibilidad. Si bien son las más utilizadas, presentan inconvenientes por su falta de capacidad de mantenimiento de espacio, rigidez, altos costos, potencial para crear una reacción de cuerpo extraño y riesgo de infección si queda expuesto a la cavidad oral (Richard & Joseph, 2017).

Las membranas reabsorbibles sintéticas son fabricadas de poliésteres por ejemplo: ácido poli glicólico (PGA), ácido poli láctico (PLA), poli caprolactona (PCL). Su principal ventaja es que el poliglicólido o polilactida se puede fabricar en grandes cantidades a bajo costo con diferentes propiedades físicas, químicas y mecánicas. Su principal desventaja es que son más propensos a reacciones de cuerpo extraño que

influyen en las propiedades de cicatrización de la herida. Por estas razones, las membranas de barrera de colágeno son más utilizadas (Richard & Joseph, 2017)

Las membranas de Plasma Rico en Fibrina y factores de crecimiento, derivados del coágulo de PRF también pueden ser comprimidas para servir como una membrana de barrera durante los procedimientos de ROG (Figura 11). Este andamio de fibrina puede ser utilizado como una membrana de barrera natural sola o posteriormente cortada y combinada con injertos óseos (Richard & Joseph, 2017). Cuando se usan membranas de Plasma Rico en Fibrina y Leucocitos (L-PRF), se puede llamar Regeneración ósea Natural, la cual no solo regenera el hueso sino el tejido gingival que recubre a este (Corso, 2012). Las membranas de L-PRF, estimulan fuertemente la proliferación y la diferenciación de muchos tipos de células diferentes, en particular células epiteliales, fibroblastos gingivales, osteoblastos y Células madre mesenquimales óseas (Corso, 2012).



Figura 11. Membrana de Plasma Rico en Fibrina. Coágulo de fibrina sometido a prensa durante 1 minuto.

Dentro del compartimento regenerativo óseo, el LPRF juega el mismo papel que el coágulo de sangre natural utilizado en la ROG bajo la membrana, la principal diferencia es que el coágulo de L-PRF es mucho más estable. Al igual que el coágulo de

sangre natural, la matriz de L-PRF es un material blando y por lo tanto el hueso regenerado tiene que estar protegido de las fuerzas mecánicas. El método más simple es mezclar el L-PRF con un material óseo para luego cubrir el compartimiento regenerado con membranas de L-PRF. La membrana entonces, se convierte en la nueva interfaz entre el hueso y los compartimentos gingivales y estimula tanto a los tejidos blandos como al crecimiento de su nueva barrera perióstica; desempeña la función de cubierta de tejido blando transitorio. Esta técnica se puede utilizar en cualquier tipo de pacientes y en la práctica diaria, dando excelentes resultados y siendo aplicado para regeneración ósea periimplantes, levantamiento de senos maxilares, o aumentos laterales de cresta alveolar (Corso, 2012).

2.5.4 Injertos óseos.

Los injertos deberían cumplir con las siguientes propiedades: debe ser biomimética; debería tener la capacidad de inducir la diferenciación de las células apropiadas para la formación de hueso nuevo (es decir, células endoteliales y osteoblásticas), debe ser sintetizado fácilmente, debería ser reabsorbido fácil y rápidamente a medida que se produce la respuesta osteogénica; no debería provocar reacciones inmunitarias, deben ser transportados y almacenados fácilmente, deben ser razonablemente rentables; debe ser capaz de lograr resultados consistentes y predecibles sin verse afectados por las diferentes técnica aplicables.(Aghaloo & Hadaya, 2017)

Material	Origen	Capacidad	Inconvenientes
Autoinjerto	Hueso del paciente	Osteogénica Osteoinductiva Osteoconductiva	Morbilidad del donante
Alloinjerto: DFDBA: hueso	Hueso de la misma especie	Osteoinductiva Osteoconductiva	Riesgo de transmisión de

deshidratado congelado desmineralizado FDA: hueso deshidratado congelado			enfermedades ?
Xenoinjerto	Hueso de otra especie	Osteoconductiva	Riesgo de transmisión de enfermedades?
Biomateriales aloplásticos	Material inerte	Osteoconductiva	Encapsulamiento. Reacción a cuerpo extraño

TABLA 1. TIPOS DE INJERTO SEGÚN SU ORIGEN

2.5.4.1 Autoinjerto: hueso autólogo

El estándar de oro para la reconstrucción de defectos óseos es la aplicación de injertos óseos autógenos (Calvo et al., 2000), (Faria et al., 2008), (Acocella et al., 2010), (Contar et al., 2011), (Jimi et al., 2012), (Bowler & Dym, 2015), (Xavier et al., 2016), (Richard & Joseph, 2017) ya que en sus propiedades incluyen los mecanismos implicados en la regeneración ósea ideal (osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción), además de osteointegración (Kao & Scott, 2007), proporcionando células óseas, así como angiogénesis (Xavier et al., 2016). El hueso autólogo es histocompatible y no inmunogénico, por lo que reduce al mínimo las inmunoreacciones y transmisiones de infecciones (Dimitriou, Mataliotakis, Angoules, Kanakaris, & Giannoudis, 2011)

En el 2016, (Burk, Del Valle, Finn, & Phillips, 2016) cita que se realizan 200.000 injertos autógenos por año en Estados Unidos. Los sitios de injerto pueden ser intraorales o extraorales. Los primeros de la sínfisis mandibular, tuberosidad del maxilar, rama mandibular y algunas exostosis o torus. Los sitios extraorales pueden ser de cresta ilíaca, bóveda craneal y meseta tibial. (Acocella et al., 2010). También el

fémur y el peroné (Fretwurst, Wanner, et al., 2015) o escápula (Listrom & Symington, 1988), costillas y radio distal (Dimitriou et al., 2011)

Extraoral	Cresta ilíaca, calota, tibia, fémur, escápula y peroné, costillas y radio distal.
Intraoral	Mentón, rama ascendente mandibular, tuberosidad del maxilar.

TABLA 2. TIPOS DE AUTOINJERTOS

Los injertos autólogos, en general, tienen limitaciones significativas, como la falta de disponibilidad suficientes para el injerto, morbilidad del sitio donante, inflamación y resorción del hueso implantado (Jimi et al., 2012)(García-gareta et al., 2015)(Xavier et al., 2016), calidad impredecible de hueso, aumento de pérdida de sangre, aumento en el tiempo de cirugía, infección en el sitio donante. (Contar et al., 2011), aumentando en si morbilidad posquirúrgica (Froum, Wallace, Elian, Cho, & Tarnow, 2006)(Hawthorne, Salvador, Antunes, Antunes, & Salata, 2012)

2.5.4.1.1 Injerto de cresta ilíaca

La cresta ilíaca anterior es una de las fuentes más comunes de hueso autógeno extraoral ya sea esponjoso, cortical o hueso corticoesponjoso (Fretwurst, Wanner, et al., 2015). (Aghaloo & Hadaya, 2017), es por eso que en este estudio, la zona elegida para la extracción del injerto autólogo es la cresta ilíaca anterior (Figura 12 y 13). (Bowler & Dym, 2015).



FIGURA 12. Cresta ilíaca anterior



FIGURA 13. Toma de injerto Cresta ilíaca anterior

La cresta ilíaca se puede dividir en dos porciones tanto anatómica como quirúrgicamente: anterior y posterior. A pesar de que la posterior puede proporcionar una mayor cantidad de hueso, el acceso a ella requiere del decúbito prono del paciente. Esto imposibilita trabajar simultáneamente en las zonas donante y receptora, lo que prolonga el tiempo quirúrgico. La cresta ilíaca anterior es el sitio donante de

elección para reconstrucciones maxilofaciales, ya que el paciente requiere estar en posición decúbito supino (Hall, Vallerand, Thompson, & Hartley, 1991) (Hernández Alfaro, 2015).

Las principales ventajas incluyen la disponibilidad de hueso esponjoso, cortico-esponjoso, con células progenitoras y factores de crecimiento y soporte estructural (Dimitriou et al., 2011)

2.5.4.1.1.1 Indicaciones como injerto

Las indicaciones de toma de hueso de cresta ilíaca anterior para injertos maxilares, son: (Marx, 2010)

- Defectos de continuidad de la mandíbula, que van desde pequeños defectos hasta defectos de menos de 5 cm de longitud. Se indican para defectos de falta de continuidad, defectos que no requieren de tejido blando o para reconstrucción secundaria. En defectos o atrofas de rebordes alveolares, se utiliza para defectos de clase V y VI (Bowler & Dym, 2015)(Felice et al., 2009)(Osborn, Helal, and Mehra, 2018).
- Para elevaciones de seno (especialmente los casos bilaterales) o fisuras alveolares.
- Para aumento de la cresta horizontal y vertical del maxilar o de la mandíbula. Generalmente es la elección en atrofas de rebordes alveolares de gran tamaño.

Es de importancia crítica para el cirujano oral y maxilofacial tener los conocimientos adecuados de la anatomía quirúrgica de la cresta ilíaca para facilitar su obtención segura con la menor morbilidad del sitio donante (Kademani & Keller, 2006)

2.5.4.1.1.2 Anatomía quirúrgica

El ilion anterior tiene una superficie anterosuperior cóncava y un borde cortical grueso. El tubérculo ilíaco está ubicado 2 a 3 cm posterior a la espina ilíaca anterosuperior, este es el sitio de la toma del injerto. (Figura 14) (Hernández Alfaro, 2015)

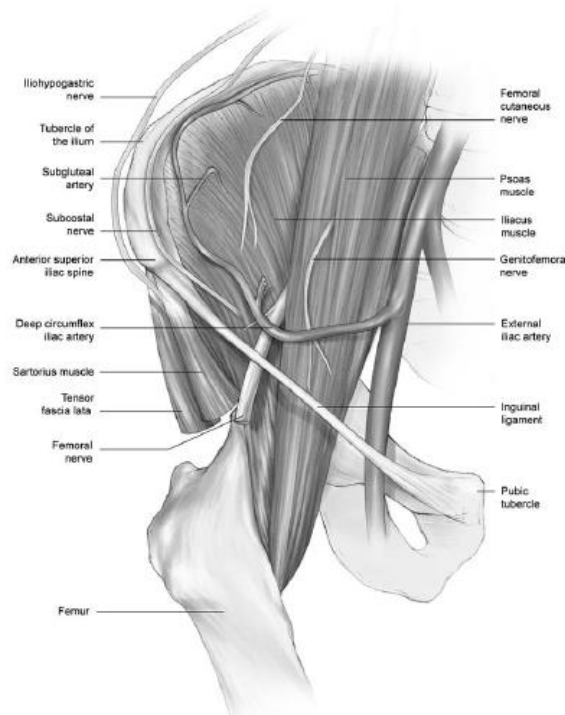


FIGURA 14. Anatomía de cresta ILÍACA anterior. Muestra las relaciones de las estructuras musculares, neurales y vasculares en relación con la cresta ilíaca anterior.

Fuente: Kademani D, Keller E.(206). Iliac Crest Grafting for Mandibular Reconstruction. Atlas Oral Maxillofacial Surg Clin N Am 14; 161–170 (Kademani & Keller, 2006)

Varios músculos se insertan en este hueso: músculo tensor de la fascia lata, músculo oblicuo abdominal externo e interno, músculo transverso del abdomen, musculo glúteo menor (Marx, 2010) (Hernández Alfaro, 2015). El musculo ilíaco se inserta medialmente en la porción anterior de la cresta. El músculo oblicuo abdominal externo se adhiere a la altura de la cresta media y debajo de este está el músculo oblicuo abdominal interno y el músculo transverso del abdomen, que se inserta en el

borde medial de la cresta ilíaca. El músculo tensor de la fascia lata, se fija al borde lateral de la cresta ilíaca anterior hasta el borde lateral de la tibia, el tubérculo de Gerdy. También el músculo glúteo medio se inserta en esta cara lateral. En la superficie anterior e inferior de esta cara lateral, se inserta el músculo glúteo menor. La importancia de esta anatomía es que los hematomas en el músculo ilíaco pueden causar reversible parestesia temporal, conocido como meralgia parestésica, en la distribución de este nervio (Marx, 2010). La morbilidad de este procedimiento se debe primordialmente a la lesión de los músculos glúteos medios y mayor, debido a la incomodidad y molestias al caminar durante un período de tiempo variable, tras la cirugía (Hernández Alfaro, 2015).

Los nervios relacionados a las complicaciones quirúrgicas están las ramas cutáneas laterales del nervio iliohipogástrico, rama lateral del nervio subcostal y el nervio cutáneo femoral lateral (Marx, 2010) (Hernández Alfaro, 2015). Estos nervios sensoriales son evitables excepto el nervio iliohipogástrico, que se encuentra en la trayectoria de la incisión de la cresta anterior y cursa anterior y lateralmente sobre el tubérculo del hueso ilíaco anterior para inervar la piel sobre el hueso ilíaco anterior lateral. El nervio subcostal inerva la piel de la ingle. El nervio cutáneo femoral lateral inerva la cara lateral del muslo por debajo del ilion. La lesión del nervio iliohipogástrico es esperada. Si la incisión se extienden sobre la espina ilíaca anterior puede seccionar el nervio sub costal (Kademani & Keller, 2006)(Marx, 2010).

Dentro de los ligamentos está el ligamento inguinal se extiende hasta el hueso púbico y se inserta en la espina ilíaca anterior.

El suministro de sangre la espina ilíaca anterior, se basa en las ramas perforantes de la Arteria y vena circunfleja ilíaca profunda, que se localizan en el ilion

medial. La arteria glútea es la más común fuente de sangrado durante la toma de injerto (Kademani & Keller, 2006).

Se ha informado que las tasas de complicaciones mayores son del 0,7% al 25% (Kademani & Keller, 2006). Las complicaciones más frecuentes de la toma de injerto de cresta ilíaca anterior son: dolor crónico, trastorno de la marcha, cambios sensoriales de la zona donadora como lesiones nerviosas con hiperestesia o parestesia, seroma, hematoma, dehiscencia (Osborn et al., 2018). El hematoma u otras colecciones de fluidos se han informado hasta en un 10% de los casos y es más común en la cresta ilíaca anterior que en la posterior (Kademani & Keller, 2006). Otras complicaciones mayores se describen como cicatrices hipertróficas, infecciones, fracturas ilíacas, inestabilidad de la articulación sacroilíaca, peritonitis, hernias, lesión uretral además del aumento en costos por tiempo de anestesia general y gastos de hospitalización (Dimitriou et al., 2011), (Nkenke & Neukam, 2014), (Fretwurst, Wanner, et al., 2015)(Bowler & Dym, 2015). La alteración de la marcha generalmente es causada por un excesivo desprendimiento lateral del músculo tensor de la fascia lata y del glúteo medio. La lesión intra abdominal ocurre por retracción excesiva o falla en la protección medial durante la recolección. La formación de hernias puede ocurrir, aunque es rara. Los factores de riesgo para el desarrollo de la hernia incluyen injerto cortical de espesor total mayor a 4 cm de longitud anterior-posterior, obesidad y género femenino. La inestabilidad sacroilíaca se produce debido a la desestabilización posterior de la articulación sacroilíaca. Los pacientes pueden describir dolor de la espalda baja o las ramas púbicas durante varios meses (Kademani & Keller, 2006).

Se asocian múltiples factores médicos y quirúrgicos con el resultado del injerto. Estos factores incluyen pérdida de sangre, hábitos como el tabaco, presencia de

diabetes, aplicación de antibióticos postoperatorios, complicaciones del sitio quirúrgico, fijación intermaxilar y fijación del injerto y colocación de drenaje (Osborn et al., 2018).

2.5.4.2 Aloinjerto

El Aloinjerto u homoinjerto de hueso esponjoso mineralizado, es un producto óseo obtenido de cadáveres que es procesado y esterilizado (Froum et al., 2006), generalmente de secciones de pelvis o de cabezas de fémur (García-gareta et al., 2015). Los aloinjertos se utilizan ampliamente en cirugías traumáticas y ortopédica, maxilofacial en paladar hendido, injertos para anomalías dentofaciales, reborde alveolar atrófico, patologías tumorales (Glowacki, 1962), neurocirugía, etc.(Calvo et al., 2000).

La osteoconducción es la propiedad de mayor actividad en los aloinjertos óseos mineralizados (Borg & Mealey, 2014). Las propiedades de osteoinducción de los aloinjertos siguen siendo controvertidos en la literatura. Las proteínas osteoinductivas no son destruidas en la preparación de los injertos frescos congelados, por lo que también se describen como osteoinductores. (Contar et al., 2011).

Los injertos se preparan como frescos, congelados, liofilizados, mineralizado y desmineralizado. Cada preparación puede comprarse como virutas, gránulos o cuñas de cortical y polvo esponjoso. Las propiedades del aloinjerto son relacionadas directamente con el procesamiento del material (Kao & Scott, 2007). Son varias las opciones de presentación de los materiales alogénicos: hueso fresco congelado (FFBA), hueso liofilizado (FDBA) y el aloinjerto de hueso liofilizado desmineralizado (DFDBA), ya sea de individuos vivos o donadores fallecidos (Kao & Scott, 2007)

Por su presentación el aloinjerto de hueso liofilizado mineralizado, (FDBA freeze-dried bone allograft), básicamente actúa como un andamio para la conducción ósea. Un andamio ideal debería permitir que las células osteoprogenitoras del huésped produzcan hueso nuevo mientras se mantiene el espacio, antes de la reabsorción del injerto (Borg & Mealey, 2014). FDBA contiene BMP dentro de su matriz. Al requerir de la desmineralización de la matriz, las BMP están disponibles cuando se aplica FDBA (Borg & Mealey, 2014). El tamaño de los poros van desde 150 a 500 μm , proporcionan una óptima incorporación del injerto (Moghadam, Sandor, 2004), además la liofilización disminuye la antigenicidad. El aloinjerto óseo congelado descalcificado desmineralizado (DFDBA Demineralized freeze-dried bone allograft), por su parte tiene una capacidad osteoinductiva debido a la expresión de las BMP (Morelli et al., 2009)(Borg & Mealey, 2014). Sin embargo las BMP solo están disponibles en el momento de la colocación del injerto y no a largo plazo (Borg & Mealey, 2014). El proceso de fabricación del DFDBA, se produce por desmineralización ácida en ácido clorhídrico molar de 0,5 a 0,6. Para que las propiedades osteoinductivas adecuadas estén presentes, al menos el 40% del contenido mineral debe ser eliminado (Khan, 2005). La matriz ósea desmineralizada (DBM) es una opción como material de aloinjerto para reparación de defectos, es osteoinductivo, conserva la mayor parte de los Factores de crecimiento óseos tras la eliminación de la fase mineral (Kao & Scott, 2007).

Según el fabricante, el PUROS (División Dental Centerpulse, Carlsbad, California) es una matriz ósea desmineralizada que retiene las propiedades osteoconductoras debido a la preservación de la matriz del hueso natural, la composición mineral y patrón trabecular, permitiendo el crecimiento interno del tejido conectivo vascular y

celular. Está disponible en varias cantidades. Se han estudiado más de 500 000 casos quirúrgicos, sin un solo caso documentado de transmisión de enfermedades. (Borg & Mealey, 2015)(Zimmer, Biomet,2011). (Figura 15)

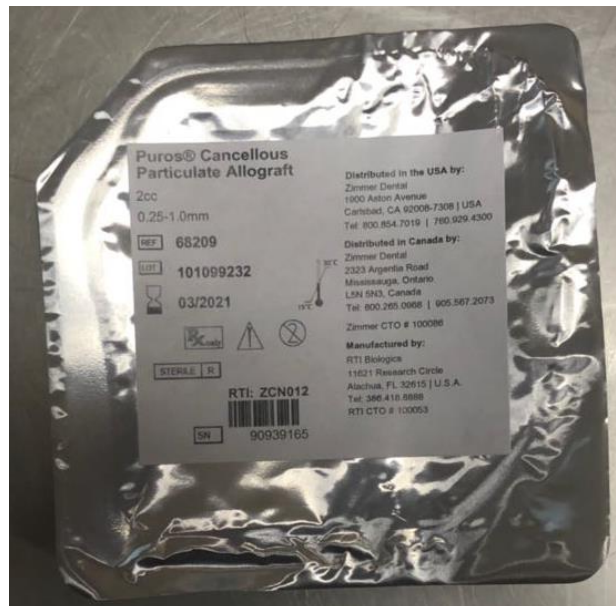


FIGURA 15. Injerto alogénico de tipo cortical particulado (PUROS)

La mayor de las ventajas es la disminución de la morbilidad quirúrgica (Barone, Varanini, Orlando, Tonelli, & Covani, 2009)(Hawthorne et al., 2012)(Xavier et al., 2016). La elección de aplicación para el aloinjerto es que evita una segunda cirugía para la obtención de hueso en cualquier paciente o en aquellos con problemas médicos tales como hipercalcemia congénita (Glowacki, 1962). Además se dispone de mayor disponibilidad y cantidad comparada con el hueso autógeno (Xavier et al., 2016). Reduce el tiempo quirúrgico, de anestesia general, menos molestias y menos riesgos para el paciente, como riesgo de sangrado y es de fácil manejo (D'Aloja, Santi, Aprili, & Franchini, 2008)(Contar et al., 2011)

Las desventajas asociadas con los injertos óseos alogénicos son transmisión de enfermedades o infecciones bacterianas (García-gareta et al., 2015). No se ha

reportado que el Virus de Inmunodeficiencia Humana se haya transmitido por hueso congelado (Cornell, 1999). Gracias a la evolución de las técnicas de biología molecular la seguridad viral ha mejorado (D'Aloja et al., 2008).

2.5.4.2.1 Inmunogenicidad y conservación de los Aloinjertos

La respuesta inicial a los aloinjertos frescos es inflamación seguida de la reabsorción del injerto o un marcado retraso en su incorporación, esto sucede en la medula ósea mediante las células presentadoras de antígeno específicas. Los injertos frescos inducen esta respuesta de manera eficiente, los injertos congelados lo hacen con menor eficiencia y los injertos liofilizados no resultan inmunogénicos (Calvo et al., 2000).

Para la selección de pacientes donadores de aloinjertos y prevenir la transmisión de enfermedades la Asociación Americana de Bancos de Tejidos (Kao & Scott, 2007), ha desarrollado estándares para los bancos de tejido, mediante historias clínicas detalladas y pruebas de sangre. Los donantes a bancos de huesos deben ser sometidos a pruebas para anticuerpos contra VIH-1, HN-2, Hepatitis C y antígeno de superficie de la hepatitis B, o pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Además Pruebas serológicas para sífilis, enfermedad de Chagas, Virus linfotrópico de células T humano 1 (HTLV-1) y cultivo para hongos y bacterias aeróbicos y anaerobias(Contar et al., 2011)

Los aloinjertos óseos osteocondrales, son los de mayor riesgo y son utilizados por los ortopedistas por incluir las metafisis de los huesos largos, los cuales no procesan la parte medular ósea. Entre los de menor riesgo son aquellos injertos que se procesan para retirar la médula, como los chips esponjosos o porciones corticales (Tomford & Mankin, 1999)

Algunos autores han descrito la respuesta inmunitaria a este tipo de injerto, por lo que es preciso someter a los aloinjertos óseos a un procesamiento previo con el fin de disminuir su inmunogenicidad (D'Aloja et al., 2008). Los métodos más comunes de procesamiento son métodos físicos incluyendo desbridamiento, lavado ultrasónico, tratamiento con óxido de etileno, lavado antibiótico e irradiación gamma para la eliminación de esporas (Kao & Scott, 2007). El objetivo de estos pasos es eliminar antígenos y reducir la respuesta inmune del huésped conservando las características biológicas del injerto (Khan, 2005).

El hueso alogénico almacenado a -80°C hasta -280°C , anula el potencial de inmunogenicidad, evitando la respuesta de anticuerpos a los principales antígenos del complejo de histocompatibilidad y hasta 4 meses de tiempo de almacenamiento (Contar et al., 2011)(Xavier et al., 2016). La técnica de procesamiento TUTOPLAST, es aprobada por la Asociación Americana de Normas de Bancos de Tejido y consiste en la delipidación en acetona osmótica, tratamiento en baños alternos con concentraciones variables de solución salina y agua destilada, tratamiento oxidativo en baños de soluciones de peróxido de hidrógeno, deshidratación en baños secuenciales de acetona y tratamiento con dosis limitadas de rayos gamma a 17.8 Gy (Froum et al., 2006).

2.5.4.3 Xenoinjertos

Los xenoinjertos se derivan de una especie genéticamente diferente que el huésped. Es osteoconductor por poseer una estructura porosa, lo cual ayuda a la angiogénesis. *Bio-Oss*, es mineral óseo bovino desproteínizado, con propiedades osteoconductoras. Ha sido tratado para eliminar toda su material orgánico, por lo que su estructura prácticamente coincide con la estructura del hueso esponjoso humano

(Kao & Scott, 2007), por lo que es biocompatible, osteoconductor y es lentamente reabsorbible (Simion, Fontana, Rasperini, & Maiorana, 2007).

Está indicado para la cirugía de elevación del seno maxilar, lo que resulta en la formación de hueso nuevo y altas tasas de supervivencia del implante. (Xavier et al., 2016)

Otra alternativa popular al xenoinjerto es la hidroxiapatita coralina que está hecha de coral de océano. Fue creada con la intención de producir un material de injerto con un tamaño de poro más consistente. EL coral se compone principalmente de carbonato de calcio, que es procesado para eliminar la mayor parte del contenido orgánico. Luego se somete a alta presión y calor en presencia de una solución acuosa de fosfato. Cuando el proceso se completa, el carbonato de calcio, que es el esqueleto de coral es totalmente reemplazado por un esqueleto de fosfato de calcio (Kao & Scott, 2007)

2.5.4.4 Biomateriales

El uso de sustitutos óseos o injertos sintéticos tiene como objetivo superar las desventajas de usar hueso autólogo e injertos alogénicos (García-gareta et al., 2015). Son sustancias inertes, de origen natural o sintético, que posee propiedades de osteoconducción y osteointegración (Giannoudis et al., 2005). Debe reunir características para la regeneración tales como: debe ser biocompatible y provocar cambios fibróticos mínimos. Además se busca que no solo sea biocompatible, sino que sea bioactivo, lo que quiere decir que reaccione con el huésped para favorecer las respuestas tisulares. No debe provocar acción alérgica y debe facilitar el uso y la manipulación

El injerto debe soportar el crecimiento de hueso nuevo y someterse a remodelaciones (Kao & Scott, 2007). Otras características incluyen dureza similar con la cortical o hueso esponjoso del huésped, módulo de elasticidad y compresión (Gross, Brandes, Strunz, Bab, & Sela, 1981).

Muchos materiales sintéticos están disponibles: lentes bioactivos ionómeros de vidrio, óxido de aluminio, sulfato de calcio, fosfatos de calcio, fosfato tricálcico A y B (TCP) e hidroxiapatita sintética (Gross et al., 1981)

2.5.5 Cicatrización de los injertos.

Los principios de la cicatrización ósea primaria y secundaria se pueden aplicar a la cicatrización del injerto óseo. El tipo de material de injerto utilizado y el tipo, ya sea en bloque o partículas, dicta el proceso de curación. (Roden, 2010)

Los injertos óseos en bloque cortical se cicatrizan mediante un proceso llamado sustitución progresiva o *creeping substitution* (Ham & Gordon, 1952)(Glowacki, 1962) (Hernández Alfaro, 2015). Este proceso es similar a la cicatrización ósea primaria. Una vez que el injerto óseo no vascularizado es transferido al defecto, los osteoclastos comienzan a reabsorber el injerto, permitiendo el crecimiento de fibroblastos y la creación de una matriz para la vascularización del injerto. Los osteoclastos crean vacíos en el injerto que se llenan de material osteoide proveniente de los osteoblastos. Este material osteoide luego se mineraliza. Una vez que el material de injerto se reabsorbe, el hueso recién formado se somete a remodelación y maduración. (Demetter, Calahan, & Mealey, 2017).

En comparación, el proceso de cicatrización de injertos óseos particulados o cortico esponjosos comienza por aposición de hueso. Este tipo de injertos proporcionan un andamio necesario para el crecimiento de osteoblastos y células

precursoras. Esta aposición de hueso es seguida por la reabsorción del material de injerto, la cual es completa y se reemplaza por hueso maduro (Roden, 2010). Contienen osteocomponentes medulares como células madre y osteoblastos. Estas células inicialmente sobreviven en el sitio injertado a través de difusión plasmática de oxígeno y nutrientes.

En general, los eventos en la cicatrización de los injertos empiezan durante la primera semana, donde las plaquetas se degranulan y liberan factores de crecimiento quimiotácticos, mitogénicos y angiogénicos. El inicio de la regeneración ósea comienza con la liberación de PDGF y TGF- β por la desgranulación de las Plaquetas en el injerto. El PDGF estimula la mitogénesis. El TGF- β inicialmente activa fibroblastos y preosteoblastos para mitigar y aumentar su número, así como promover su diferenciación hacia la madurez. También comienza la angiogénesis con brotes capilares en el injerto induciendo a una mitosis celular endotelial. Al tercer día se pueden ver a los capilares penetrar en el injerto y a los 14 días la revascularización total del injerto (Marx, 1998). La revascularización sigue durante la segunda y tercera semana, provocando que los osteoblastos funcionales depositen la matriz ósea y los fibroblastos depositen la matriz de colágeno como soporte. Este proceso se extiende hasta la octava semana. La secreción de matriz osteoide libera factores de crecimiento que estimulan la actividad osteoclástica, llevando a la fase de remodelación de la cicatrización ósea, que dura aproximadamente desde la octava semana a lo largo de la vida ósea. Aproximadamente el 90% de los sitios injertados serán hueso maduro a los 6 meses (Roden, 2010). Después de la inserción del injerto, el huésped reacciona con una respuesta inflamatoria, que podría ser reconocible hasta 4 meses después de la colocación del injerto (Faria et al., 2008).

El suministro de sangre proviene del hueso propio y de los tejidos blandos adyacentes. La vascularización del material injertado se da en la fase temprana de la reparación en la cicatrización, por lo que la estabilización del injerto es importante. El movimiento en el sitio del injerto dará lugar a la formación de un fibrocartílago y por lo tanto la falta de unión del injerto (Roden, 2010). Los nuevos vasos crecen en el hueso después de la degradación de la matriz extracelular. Este crecimiento es apoyado por VEGF, el cual juega un papel importante en el mantenimiento, desarrollo y en supervivencia endotelial. (Winder & Lenz, 2010)

2.5.6 Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMP)

El nombre de Proteínas Morfogenéticas Óseas fue denominado en 1971 por Urist, quien seis años antes inició estudios donde demostró que la matriz ósea desmineralizada podía inducir formación ósea ectópica por vía subcutánea en ratas debido a proteínas inductoras del hueso (Urist, 1965)(Filho, Francischone, Oliveira, Ribeiro, & X, 2015) (Schmidt-Bleek, Willie, Schwabe, Seemann, & Duda, 2016). Desde el 2002, la Food and Drug Administration (FDA) de los EE. UU, aprobó el uso de rhBMP-2. La aprobación en Europa fue igualmente en el 2002, a través de la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMA), basándose en 450 pacientes (Schmidt-Bleek et al., 2016). En el 2007, las rhBMP-2 se usó para el aumento de cresta alveolar y del seno maxilar.

Varias hormonas y citoquinas, como la Proteína Morfogenética Ósea (BMP), TGF- β , FGF- β y estrógenos, están involucrados en la regulación de la diferenciación de la célula mesenquimal mediante la estimulación de vías de señalización intracelular. Juegan un papel fundamental en los procesos de señalización asociados con la morfogénesis esquelética, reguladores multifuncionales del crecimiento celular,

diferenciación y apoptosis (Calvo et al., 2000). La BMP es una de las citoquinas más poderosas para inducir la formación de hueso ectópico y promueve la diferenciación de las células mesenquimales en osteoblastos (Bowler & Dym, 2015)(Wikesjö, Huang, Polimeni, & Qahash, 2007).

Las BMP se agrupan en la superfamilia del TGF- β debido a sus similitudes en estructura y secuencia proteica (Barradas et al., 2011). Su mecanismo de acción es a través de la señalización de la quimiotaxis, proliferación y la diferenciación de las células osteoprogenitoras, y en última instancia, la inducción de la formación ósea por parte de estas células (Nauth et al., 2011). Según Meditronic (2018) estos mecanismos son los siguientes:

- Implantación: Cuando la rhBMP-2 se coloca en un ACS y se implanta en el cuerpo, se produce nuevo tejido óseo en el lugar de la implantación.
- Quimotaxis: Las células formadoras de hueso migran hacia el área del injerto de rhBMP-2 / ACS. Las células madre mesenquimales se mueven desde el hueso sangrante, el músculo y el periostio para infiltrarse en el implante.
- Proliferación: Las células madre mesenquimales alrededor del injerto rhBMP-2 / ACS aumentan en número.
- Diferenciación: de las células madre mesenquimáticas en osteoblastos. Un estudio in vitro, realizado en 2003 comparó la formación ósea por la actividad de 14 proteínas morfogenéticas óseas humanas recombinantes: BMP-2, BMP-6 y BMP-9.
- Formación ósea: y angiogénesis se observa al mismo tiempo. El proceso de formación ósea se desarrolla desde el exterior del material rhBMP-2 / ACS, hacia el centro, hasta que todo el implante es reemplazado por hueso trabecular. Estudios preclínicos respaldan que la formación ósea iniciada por rhBMP-2 / ACS es autolimitada, formando una cantidad predecible de hueso en el sitio de implantación.

- Remodelación: la remodelación del hueso trabecular inducida por la rhBMP-2 es consistente con las fuerzas biomecánicas colocadas en él. La evaluación radiográfica, biomecánica e histológica del hueso inducido indica que funciona biológica y biomecánicamente como hueso propio. Los estudios preclínicos también indican que el hueso inducido puede repararse a sí mismo, si se fractura, de una manera indistinguible de la cicatrización ósea propia.

La mayoría de las BMP comprenden tres porciones: señal péptido, propéptido y una región madura. El propéptido y la región madura contienen siete cisteínas conservadas, características de la superfamilia TGF- β . Las señales de las BMP son traducidas desde los receptores de la membrana plasmática al núcleo y son reguladas por muchas moléculas extracelulares e intracelulares que interactúan con las BMP (Wikesjö et al., 2007). Runx2 es el factor de transcripción esencial para la respuesta de genes de BMP. Pertenece a la familia Runt de factores de transcripción y juega un papel crítico en determinar el linaje de las células de osteoblastos e iniciar la diferenciación. La expresión de Runx2 también regula genes proteicos en la matriz extracelular ósea que codifican a la sialoproteína ósea, la osteocalcina y el colágeno tipo I por lo que podrían ser un objetivo posterior de eventos celulares tales como la mediación de la señalización a la adhesión de la matriz extracelular, cambios en la forma de las trabéculas y respuestas al estrés (Spagnoli & Marx, 2011).

Para la obtención, tecnologías recombinantes se han utilizado para producir BMP, en donde el ADN humano es clonado y empaquetado en un vector de expresión viral, para que se conviertan en transportadores, como células de ovario de hámster chino o *Escherichia coli*, para producir grandes cantidades de BMP. (Israel, Nove, Kerns, Moutsatsos, & Kaufman, 1992). El BMP producido de esta manera proporciona una compatibilidad óptima para la aplicación clínica y sin posibles reacciones

inmunológicas o transmisión de material infeccioso inherente a tecnologías que dependen de extractos purificados de fuentes de cadáveres humanos o animales (Wikesjö et al., 2007).

Las más estudiadas son las Proteínas Morfogénicas Óseas-2 (rh-BMP-2), estando comercialmente disponibles el INFUSE (Infuse TM, Medtronic Sofamor Danek Inc., Minneapolis, MN) (Nauth et al., 2011) (Figura 16). Las rhBMP-2, rhOP-1 y rhBMP-7, han sido aprobadas para indicaciones ortopédicas e introducidas en la práctica clínica, siendo las rhBMP-2 aprobadas como indicación de reconstrucción craneofacial, incluidos defectos por resección y defectos congénitos (Boyne, 1996).

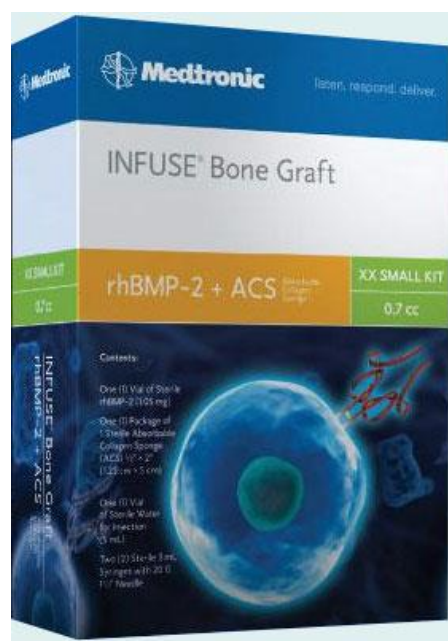


Figura 16. INFUSE (Infuse TM, Medtronic Sofamor Danek Inc. Minneapolis, MN) Presentación de 0,7cc de Proteínas Morfogénicas Óseas 2 y membrana de colágeno reabsorbible (ACS). Caja contiene solución estéril de 5ml, jeringuilla desechable, frasco estéril de rhBMP-2 y ACS.

Dentro de los sistemas de administración de BMP están biomateriales inorgánicos de fuentes naturales o sintéticas y materiales orgánicos como colágenos o hueso autógeno y coágulos de fibrina. Es esencial para cualquier material de transporte que mantenga su integridad física en el sitio de destino mientras libera BMP

a la concentración deseada a través del tiempo. Por lo tanto, el material de transporte, debería reabsorberse de una manera oportuna para no obstruir la formación de hueso. La esponja de colágeno absorbible (ACS), es una matriz de colágeno bovino tipo I, la cual se irriga con la solución de BMP antes de la implantación quirúrgica. (Wikesjö et al., 2007). La Food and Drug Administration (FDA) aprobó esta esponja como portador de rhBMP-2. (Schmidt-Bleek et al., 2016).

El objetivo final es inducir hueso para el desarrollo de la regeneración ósea (Wikesjö et al., 2007). Varios estudios han demostrado que se puede dar características de osteoinductividad al agregar BMP a materiales usados durante la regeneración ósea (Barradas et al., 2011). En Meditronic (2018), se afirma que: “es el producto premium para el reemplazo de autoinjertos debido a su alta osteoinductividad”.

Las BMP tienen indicaciones clínicas craneofaciales además de reconstrucción de defectos de discontinuidad congénitos o inducidos, como para elevación de seno maxilar, aumento de cresta alveolar para colocación de implantes o regenerar defectos por periimplantitis (Wikesjö et al., 2007). Al inducir la formación de hueso fisiológico normal, permite la osteointegración y carga funcional a largo plazo de implantes endóseos (C. Misch & Wang, 2011).

Los hallazgos histológicos muestran el desarrollo de hueso propio a través de una vía intramembranosa que replica el desarrollo óseo. Se observan condensaciones de preosteoblastos en asociación con vasos sanguíneos. Los osteoblastos forman nuevas trabéculas óseas a través de la secreción aposicional de osteoide y matriz mineralizada. También hay remodelación de las trabéculas por osteoclastos. El hueso maduro presenta sistemas Haversianos normales dentro de las trabéculas y médula

celular vascular normal (Spagnoli & Marx, 2011). En sí, las características histológicas muestran que el resultado óseo es exactamente igual al hueso propio.

Las contraindicaciones según la marca Infuse™ Bone Graft / Medtronic Interbody Fusion, según (Medtronic, 2018), son para pacientes con hipersensibilidad conocida a la Proteína Morfogenética Ósea Humana Recombinante 2, colágeno bovino de tipo I y/o otros componentes de la formulación. No se debe utilizar cerca de tumores o neoplasias maligna activa, o pacientes en tratamiento, en pacientes que no han completado su período de crecimiento, en mujeres embarazadas, en pacientes con infección activa en el sitio quirúrgico o con alergia al titanio, aleación de titanio o polietereetercetona (PEEK).

La capacidad de rhBMP-2 para inducir la formación de hueso nuevo depende de su concentración. La velocidad de formación ósea, la cantidad de hueso formado y la densidad del hueso resultante, se correlacionan positivamente con la concentración de rhBMP-2 y la cantidad de tiempo que el rhBMP-2 está presente en el sitio del implante. Se ha estudiado el potencial de carcinogénesis de las BMP. El riesgo de cáncer puede ser dependiente de la dosis; altas concentraciones de rhBMP-2 existe un mayor riesgo de cáncer. Las dosis recomendadas son 1-2 mg de BMP / kg, por lo que se considera que entre menos dosis, hay mayor regeneración. La dosis mínima posible de rhBMP2 para tratar defectos óseos se tratan con una o más unidades de la concentración de 0,7 o 1,5 mg / ml de rhBMP-2 (Schmidt-Bleek et al., 2016). No se ha demostrado asociación de metástasis o tumorogénesis en revisión de estudios clínicos y de ciencias básicas (Bowler & Dym, 2015).

2.5.7 Factores de crecimiento óseo

El uso de factores de crecimiento para la regeneración de tejidos depende de la capacidad de estos factores exógenos para estimular las células propias y el sistema inmunológico de un paciente (Aghaloo & Hadaya, 2017). Los factores de crecimiento polipeptídicos son mediadores biológicos que regulan las actividades celulares, incluyendo la migración celular, la proliferación, diferenciación y síntesis de matriz ósea. Han demostrado tener efectos pleiotrópicos que apoyan a la regeneración en varios entornos y aceleran los procesos de curación (Wikesjö et al., 2007).

Ejercen sus efectos uniéndose a receptores de una membrana celular específica e inician cascadas complejas con el objetivo de alcanzar un gen nuclear para generar señales para la expresión de un fenotipo específico (Peterson et al., 1998).

Las concentraciones plaquetarias son difíciles de caracterizar y se agrupan en el término de Plasma Rico en Plaquetas (PRP). Estos son coágulos de sangre manipulados donde no hay un factor de crecimiento específico. El principal componente de la matriz, de todos los concentrados de plaquetas es la fibrina, pero esta matriz puede variar considerablemente en términos de arquitectura (Mosesson, Siebenlist, & Meh, 2006). Las células que están en mayor cantidad en los concentrados leucoplaquetarios son los leucocitos (Everts, Van Zundert, Schönberger, Devilee, & Knape, 2008). Se definieron así cuatro familias (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, & Albrektsson, 2009): P-PRP (Plasma puro rico en plaquetas) y L-PRP (Leucocitos y Plasma Rico en Plaquetas) son suspensiones de plaquetas, respectivamente sin o con leucocitos, que se pueden usar en forma líquida o en forma de gel después de la activación con trombina y cloruro de calcio (Fernández-Barbero et al., 2006). La red de fibrina de estas familias es siempre ligera y no muy bien estructurada. Por el contrario, P-PRF

(plaquetas puras ricas en fibrina) y L-PRF (leucocitos y plaquetas ricas en fibrina) son biomateriales de fibrina densa, respectivamente sin o con leucocitos (Dohan Ehrenfest, Del Corso, Diss, Mouhyi, & Charrier, 2010).

La transmisión de enfermedades en el PRP y de reacciones inmunogénicas son bajas por ser una preparación autóloga, estando más asociadas con aloinjertos o preparaciones xenogénicas (Marx et al., 1998). Ha demostrado promover la proliferación y expresión celular de marcadores osteogénicos en osteoblastos humanos in vitro (Uggeri et al., 2007), pero in vivo debido al rápido desvanecimiento del nivel de proteínas bioactivas, se ha buscado utilizar diferentes activadores que prolonguen más este efecto (Zhang et al., 2012).

El protocolo de centrifugado del PRP requiere de sangre venosa mezclada con anticoagulante para evitar la activación plaquetaria y la degranulación. Se realiza una primera centrifugación, la cual permite hacer la división de la sangre en tres partes: la parte inferior del tubo, donde están los glóbulos rojos de la sangre y constituyen el 55% del volumen total. En la parte superior del tubo, está la capa de plasma acelular que se compone principalmente de moléculas plasmáticas circulantes y poca concentración de plaquetas y constituye el 40% del volumen total. Entre estas dos capas esta una capa intermedia donde la concentración de plaquetas es mayor. En este punto, el Plasma Pobre en Plaquetas (PPP), el PRP y algunos glóbulos rojos, se aspira con una jeringa estéril, para someter a un segundo tubo a una segunda centrifugación y obtener una vez más, 3 capas distintas: algunos glóbulos rojos residuales atrapados en la parte inferior del tubo y el (PPP) (Figura 17). Entre las dos capas, se recolecta el PRP con una jeringa y se mezcla con trombina bovina y cloruro de calcio en el

momento de la aplicación. Es aquí cuando la gelificación del concentrado de plaquetas ocurre (Dohan et al., 2006a). (Figura 18).



FIGURA 17. Obtención de PRP de Segundo centrifugado.



FIGURA 18. Gelificación de concentrado de PRP con injerto alógeno y con injerto autógeno de cresta ilíaca

La técnica de L- PRF, se considera la segunda generación de concentrados plaquetarios, su preparación es fácil y requiere solo de la centrifugadora y unos minutos. El protocolo es simple, tomando una muestra de sangre sin anticoagulante en tubos de 10 ml, los cuales son centrifugados inmediatamente a 3000 rpm durante 10

minutos (Dohan et al., 2006a) (Figura 19). Puede ser considerado un biomaterial de cicatrización autólogo, siendo un simple coágulo de sangre centrifugada con una matriz autóloga de fibrina más leucocitos, plaquetas y factores de crecimiento (Choukroun, 2001). La ausencia de anticoagulantes, ni trombina bovina ni ningún otro agente gelificante, implica la activación en pocos minutos de la mayoría de las plaquetas de la muestra de sangre al contacto con las paredes del tubo de vidrio y la liberación de la cascada de coagulación. El fibrinógeno se concentra inicialmente en la parte alta del tubo, antes que la trombina circulante la transforme en fibrina. Luego se obtiene un coágulo de fibrina en la mitad del tubo, justo entre los glóbulos rojos del fondo y el plasma acelular en la parte superior (Dohan et al., 2006a). Es necesario preservar una pequeña capa de células rojas sanguíneas con tijeras en el extremo del coágulo PRF para recoger tantas plaquetas y leucocitos como sea posible (Dohan Ehrenfest et al., 2010)(Figura 20)



FIGURA 19. CENTRIFICADO DE PRF. Muestra la fase superior de la fibrina y en su parte inferior el coágulo formado por glóbulos rojos

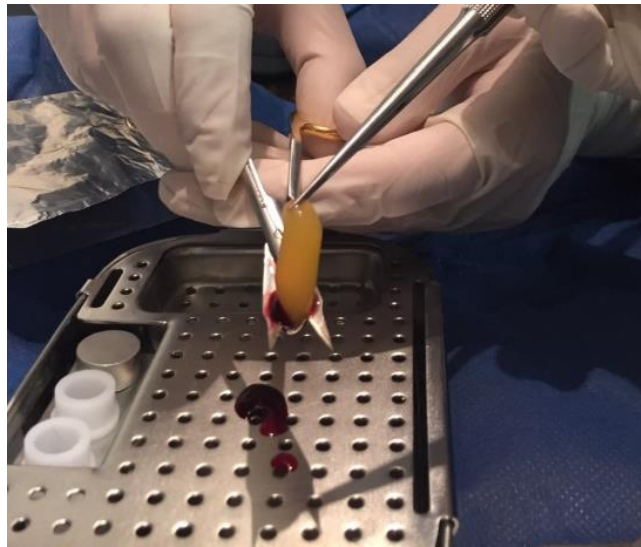


FIGURA 20. CORTE DE COÁGULO DE PRF EN LA UNIÓN A GLÓBULOS ROJOS.

Los factores de crecimiento de las plaquetas desempeñan un papel importante en la biología del PRF, quedando las glicoproteínas estructurales dentro de la malla de fibrina, siendo la arquitectura de la fibrina y el contenido de leucocitos los dos parámetros claves en la composición de esta malla (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, et al., 2009). La arquitectura de la fibrina influye directamente en la biología de todos los biomateriales basados en fibrina, ya que parece ser responsable de un lanzamiento lento de Factores de Crecimiento y glicoproteínas de matriz durante más o menos 7 días (Dohan Ehrenfest, de Peppo, Doglioli, & Sammartino, 2009). El efecto biológico de esta matriz de fibrina en la cicatrización es: angiogénesis, control inmunológico, aprovechamiento de las células madre circulantes y protección de heridas por recubrimiento epitelial (Choukroun et al., 2006).

Los factores principales solubles de la angiogénesis es el factor de crecimiento fibroblástico (GFFb), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Choukroun et al., 2006). La fibrina constituye un soporte natural para la inmunidad. Los productos de degradación de

fibrina y fibrinógeno, estimulan la migración de neutrófilos y aumentan la expresión de la membrana del receptor de los CD11c/ CD18. Este receptor permite la adhesión de los neutrófilos al endotelio y al fibrinógeno, así como también la transmigración de neutrófilos (Loike et al., 1991). En cuanto a sus propiedades de recubrimiento epitelial, la matriz de fibrina guía la cobertura de los tejidos lesionados, afectando el metabolismo de las células epiteliales y de los fibroblastos. Alrededor de los márgenes de la herida, las células epiteliales pierden su polaridad basal y apical y producen extensiones laterales basales hacia el lado de la herida. Las células migran posteriormente en la matriz transitoria realizada por el fibrinógeno, la fibronectina y la vitronectina (Choukroun et al., 2006). La fibrina, la fibronectina, el PDGF y el TGF- β son esenciales para modular la expresión de integrina, proliferación de fibroblastos y la migración dentro de la herida (Gray, Bishop, Reeves, & Laurent, 1993). También se ha reportado que la fibrina prolonga la liberación de BMP-2 (Schmoekel et al., 2004).

Se puede mezclar con un sustituto óseo o utilizarlo como una cubierta protectora sobre el área injertada. Es una técnica abierta ya que depende de la sangre del paciente y puede utilizarse en el consultorio, sin consideraciones comerciales. En cirugía oral y maxilofacial, se espera que los concentrados plaquetarios mejoren la regeneración ósea y la curación de los tejidos blandos, además de protección de la membrana Schneideriana o como osteoconductor como material de relleno durante la elevación del seno (Dohan Ehrenfest et al., 2010). Además de propiedades hemostáticas (Dohan et al., 2006a) y hasta propiedades antibacteriales (Cieslik-Bielecka, 2007). Puede ser usada en avulsiones dentarias, rellenos de tratamientos de quistes, en preservación alveolar, en regeneración de defectos óseos periodontales, en regeneración tisular guiada y en regeneración ósea guiada (Corso, 2012).

Algunos factores de crecimiento polipeptídicos en hueso, cemento y tejidos incluyen el Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF), Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF), Factor de Crecimiento Transformante α y β (TGF- α , TGF- β), Factores de Crecimiento similar a la insulina -I y -II (IGF-I, IGF-II), Factor de crecimiento Epidérmico (EGF), Factor de Crecimiento fibroblástico (FGF), Factor de Crecimiento Derivado del Cemento (CGF), Proteína relacionada con la Hormona Paratiroides (PTHrP), BMP, Factor de Necrosis Tumoral (TNF), Factores de Crecimiento Derivados de Monocitos (MDGF) y Factor Fibroblástico Ácido y Básico (aFGF, bFGF) (Wikesjö et al., 2007).

Generalmente inducen a una estimulación significativa de células proliferativas sensibles a factores de crecimiento derivados de plaquetas: osteoblastos, condrocitos, células periodontales, fibroblastos, células endoteliales y Células madres mesenquimales (Corso, 2012).

Las principales citoquinas plaquetarias: PDGF, TGF- β , IGF, VEGF (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, et al., 2009), juegan un papel fundamental en los mecanismos iniciales de curación. Solo se mencionará un breve desarrollo de estos factores, los más importantes en los concentrados plaquetarios.

- PDGF: Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas

Es el primer Factor de crecimiento presente en una herida, iniciando la cicatrización del tejido conectivo, incluido la regeneración y reparación ósea (Peterson et al., 1998)(Dohan et al., 2006b).

Se le denominó de esta manera por encontrarse por primera vez en los gránulos alfa de las plaquetas, aunque también se encuentra en otros tipos de células

como los monocitos y macrófagos, fibroblastos, células endoteliales (Peterson et al., 1998), células epiteliales y en la matriz ósea.

Actúan sobre la membrana celular activando receptores específicos. Esta acción desarrolla enlaces de fosfato de alta energía en el citoplasma interno de la célula; los enlaces activan las señales de proteínas para iniciar una actividad específica dentro de la célula diana (Antoniades, 1983). El PDGF estimula células de origen mesenquimatoso como las células óseas, los fibroblastos, las células de la microglia y células musculares lisas (Dohan et al., 2006b). Las actividades específicas más importantes de los PDGF incluyen mitogénesis, que es el aumento de las poblaciones celulares para células de cicatrización, angiogénesis, que es la mitosis endotelial y la activación de macrófagos. En la sangre se encuentra en una proporción de 0,06ng de PDGF por un millón de plaqueta o alrededor de 1200 moléculas de PDGF, en cada plaqueta individual (Bowen-Pope, Vogel, & Ross, 1984).

Es abundante en la matriz ósea donde se ha encontrado de tres formas: PDGF-AA, PDGF-BB y PDGF-AB. Existen dos receptores para PDGF: el receptor PDGF α para PDGF-AA, PDGF-BB y PDGF-AB y el receptor PDGF β para PDGF-BB y PDGF-AB. La capacidad celular de interactuar con diferentes tipos de PDGF, depende de la presencia de receptores celulares α o β en su membrana. Los osteoblastos poseen una gran cantidad de receptores de PDGF que responden al PDGF-AA y PDGF-BB (Peterson et al., 1998). Esta citoquina incrementa la proliferación de las células óseas pero no favorece la diferenciación osteoblástica. También aumenta la diferenciación de osteopontina, aunque disminuya la de osteocalcina y sialoproteínas en células óseas.

- TGF- β : Factor de Crecimiento transformante tipo B

Aplicado a la superfamilia de factores de crecimiento y diferenciación, del cual derivan las BMP. Los factores de crecimiento más proteicos son los TGF- β 1 y TGF- β 2, los cuales están involucrados con la reparación del tejido conectivo y la regeneración ósea (Roberts & Sporn, 1993).

Se sintetizan y encuentran en plaquetas y macrófagos, así como en algunos otros tipos de células. Cuando es liberado por degranulación plaquetaria o secretado activamente por macrófagos, actúan como factores de crecimiento paracrino, que afecta principalmente a los fibroblastos, células madre de la médula ósea y los preosteoblastos. Sin embargo, cada una de estas células diana tiene la capacidad de sintetizar y secretar sus propias proteínas TGF- β para actuar sobre las células adyacentes, por lo que presentan su propio mecanismo para sostener un ciclo de curación a largo plazo y regeneración ósea e incluso, evolucionar a un factor de remodelación ósea con el tiempo. Las funciones más importantes de TGF- β 1 y TGF- β 2 son la quimiotaxis y mitogénesis de los precursores de osteoblastos, estimulando la deposición de matriz de colágeno para la cicatrización de heridas y hueso (Pierce et al., 1992). Además, los TGF- β 1 inhiben la formación de osteoclastos y reabsorción ósea, favoreciendo así la formación ósea. Sus efectos en términos de proliferación son altamente variables, para la gran mayoría de las células, induciendo a una síntesis masiva de moléculas de matriz tales como colágeno I y fibronectina, ya sea por osteoblastos o fibroblastos (Dohan et al., 2006b).

Los factores de crecimiento PDGF y TGF- β influyen en la regeneración ósea normal, exponiéndose a mayores cantidades a través de PRP, produciendo hueso más rápidamente y en mayor cantidad (Marx et al., 1998)

- Factores de Crecimiento similar a la insulina -I y -II (IGF-I, IGF-II)

Son reguladores positivos de la proliferación y diferenciación para la mayoría de las células. Estas citoquinas son mediadores de multiplicación celular y en su mayoría constituyen el eje mayor de la muerte celular programada induciendo señales de supervivencia para proteger a las células de muchos estímulos apoptóticos matriciales (Dohan et al., 2006b).

- Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)

Es el más potente de los promotores de crecimiento vasculares conocidos. Desempeña un papel directo en el control del comportamiento de las células endoteliales, tales como la proliferación, migración, especialización, o simplemente supervivencia (Harry & Paleolog, 2003). De hecho, la simple presencia de esta citoquina será suficiente para iniciar la angiogénesis y la combinación de sus diferentes isoformas permitirá dirigir y refinar el plan de desarrollo del crecimiento de la red (Giacca & Zacchigna, 2012).

3. METODOLOGÍA

3.1 Tipo de estudio

El estudio fue de tipo *in situ e in vivo*. Fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad San Francisco de Quito realiza la aprobación del estudio bajo el código 2018-027PG.

Los resultados se obtuvieron de la comparación de las muestras y de forma ciega.

3.2 Universo de estudio

La elección de los pacientes se basó en la necesidad de tratamiento con implantes oseointegrados por pérdida de piezas dentarias.

Los criterios de inclusión fueron pacientes de cualquier sexo, a partir de los 30 años de edad hasta los 65 años, con un espacio edéntulo de una sola pieza, en condiciones óseas óptimas para la colocación de un implante, ya sea con cicatrización ósea de 6 meses posterior a la extracción dental o con injerto colocado 6 meses antes, que acudieron a la Clínica Odontológica de la Universidad San Francisco de Quito, área de Cirugía Oral y Maxilofacial. Los criterios de exclusión fueron pacientes con protocolo de colocación de implantes diferente al descrito, pacientes tratados con medicación que pudiera afectar al metabolismo óseo (bifosfanatos y tratamiento con corticoides a largo plazo), pacientes fumadores o pacientes con alguna enfermedad que contraindique el procedimiento quirúrgico.

La muestra se tomó 6 meses después de la extracción para el grupo control o 6 meses después de la aplicación de injertos con Regeneración Ósea Guiada bajo diferentes técnicas. Se tomó una muestra por cada implante a colocar en cada paciente. (Tabla 3)

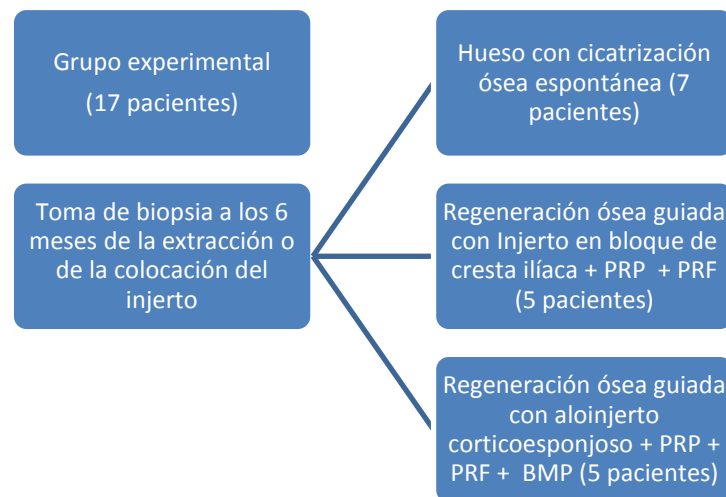


Tabla 3. Diagrama de flujo del diseño del estudio y de los grupos experimentales.

El grupo control fueron las muestras tomadas de alvéolos sin ningún tipo de injertos colocados previamente, es decir alveolo con cicatrización ósea espontánea. Los grupos de análisis serán las muestras tomadas de alveolos con diferentes métodos de regeneración ósea guiada. Las técnicas de la regeneración ósea alveolar son:

Grupo Control Positivo (A):

Hueso con cicatrización ósea a los 6 meses luego de la extracción dental.

Grupo Control Negativo (B):

Regeneración ósea guiada con Injerto en bloque de cresta ilíaca + PRP (Plasma Rico en Plaquetas) + PRF (Plasma Rico en Fibrina)

Grupo experimental: (C)

Regeneración ósea guiada con aloinjerto corticoesponjoso + PRP + PRF + BMP (Bone Morphogenetic Proteins)

3.3 Lista de materiales

Material quirúrgico:

Mango de bisturí #3, hoja de bisturí #15, carpul de anestesia, aguja larga para anestesia, lidocaína con epinefrina al 2%, disector, separador tipo minesotta, aspirador quirúrgico, irrigación con agua destilada, porta agujas, pinza adson, tijeras de mayo, sutura, motor de implantes, pieza de mano, fresas de preparación del lecho implantario, implantes dentales Zimmer y Titanium Fix, frasco estéril, formol al 10%.

(Figura. 21. 22)



FIGURA 21. Caja Zimmer para colocación de implantes.



FIGURA 22. Motor NSK para colocación de implantes.

Materiales e instrumental para el estudio histológico

Frasco estéril, Formol al 10%, ácido Clorhídrico + formalaldehído (Osteomoll), parafina, micrótopo, portaobjetos de vidrio, colorantes o tinciones (hematoxilina + eosina), agua amoniacal, resina epóxica (Entellan o permount), cubreobjetos de vidrio, agua destilada y alcohol al 70% y absoluto.

Microscopio Zeuss Primo Star de campo claro, con sistema óptico: ocular 10X. Objetivos 4X, 10X, 40X: dando una amplificación entre 1000 a 1500 del tamaño del objeto.

Microscopio Nikon Eclipse Ci con sistema óptico: ocular 10X. Objetivos 4X, 10X, 40X. El software digital de microscopio MSHOT Image Analysis System V1.0 es especial para que la cámara de microscopio MSHOT se conecte con la computadora para observar, capturar, medir y procesar imágenes de microscopios. Está diseñado de forma independiente por GuangZhou Micro-shot Technology Co., Ltd.

3.4 Procedimiento quirúrgico

La colocación de implantes es una cirugía ambulatoria, realizada bajo anestesia local en el consultorio odontológico. El anestésico usado fue lidocaína + epinefrina al 2% con una concentración de vasoconstrictor de 1:80.000. En el maxilar superior para la anestesia de los nervios alveolares posteriores, medio y anteriores se utilizó la técnica infiltrativa, que consiste en la introducción de la aguja en el fondo de vestíbulo, en la mucosa, realizando la inyección lenta del anestésico a cierta distancia del periostio, para luego cambiar de dirección e insertar el líquido anestésico subperiosticamente. Para la anestesia del nervio nasopalatino, se introdujo la aguja a

la altura de la papila incisiva que corresponde al canal del agujero nasopalatino. Para la anestesia del nervio palatino mayor, se introdujo la aguja cerca del agujero palatino mayor, que se sitúa a 2 mm por delante del paladar duro y paladar blando y en dirección distal del segundo molar. Para la infiltración de la mandíbula, se utilizó igualmente una técnica infiltrativa, la cual consistió en garantizar la anestesia solo de la mucosa adyacente al sitio a colocar el implante, ya sea vestibular o lingual. Se realizó de esta manera para mantener un método de alerta en caso de perforación de cercanía o perforación del conducto del Nervio Dentario inferior.

En la planificación del posicionamiento del implante, los estudios clínicos y radiográficos previo encerado diagnóstico y confección de férula quirúrgica, fueron de fundamental importancia en la elección de la longitud y el ancho del implante.

La exposición del reborde alveolar se realizó mediante la elevación de un colgajo mucoperiostico de espesor total, de pequeño tamaño. (Figura 23)



FIGURA 23. Exposición de campo óseo

El marcaje del lugar del implante se realizó con una fresa redonda para indicar el lugar de la implantación. La segunda fresa es la tipo lanza para corregir la posición de la marca de la fresa redonda inicial. Se empieza con el protocolo de fresado como

tal, utilizando el sistema Zimmer con la fresa de 2,3 mm \emptyset . La continuación de las perforaciones óseas dependen de la longitud y del ancho del implante. La velocidad inicial es de 800 revoluciones por minuto (RPM) en las primeras dos fresas de perforación. En la tercera fresa la velocidad fue de 50 RPM, aplicando 40 Newtons de fuerza de torque. (Figura 24)

El procedimiento de colocación de implante se continuó siguiendo el protocolo convencional, sin complicaciones. Se realizaron controles postoperatorios a los 8, 15 y 30 días después de la cirugía de implante.



FIGURA 24. Protocolo de fresado para colocación de implantes

3.5 Recolección de la muestra

3.5.1 Toma de biopsia

De todas las formas de colocación de implantes se elimina tejido óseo en las espiras de las fresas. La recolección de la muestra se realizó de los canales de la tercera fresa del sistema de implantes, independientemente de cuantas fresas se utilizaron, para obtener hueso del reborde alveolar, en su porción superior cortical e inferior medular. Es importante recalcar la velocidad de 50 revoluciones por minuto, aplicando 40 Newtons de fuerza de torque, ya que genera menos calor y por lo tanto menos

necrosis ósea de la superficie ósea que contacta con el implante. La muestra se colocó inmediatamente en frascos estériles con Formol al 10% en un tubo de ensayo rígido y bien cerrado para la conservación de los tejidos orgánicos. (Figura25)



FIGURA 25. Toma de hueso de las espiras de la fresa.

3.6 Estandarización de la muestra

Las muestras estuvieron numeradas para la identificación y el orden de cada una. Además se registró la edad del paciente, la zona o región dental a la que corresponde la colocación del implante y la letra correspondiente al tipo de hueso recolectado. (Figura 26)

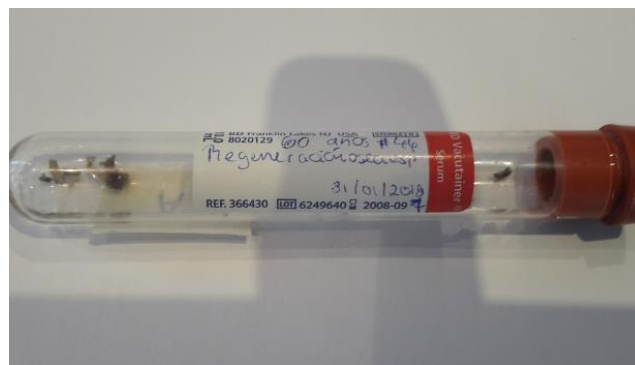


FIGURA 26. Muestras numeradas previo a procesamiento histológico.

3.7 Procesamiento histológico

Las muestras del tejido óseo se descalcificaron a través de una solución de ácido Clorhídrico + formaldehído durante un período de tiempo promedio de 2 a 3 horas, para posteriormente ser embebidas en parafina. En estos bloques de parafina se realizaron cortes finos de la muestra con un micrótopo, obteniendo bloques de 3 μm aproximadamente del eje central de la muestra. Posterior a este procedimiento se continuó con la tinción de las láminas con hematoxilina-eosina, que comprende el siguiente proceso:

- Hematoxilina durante 5 minutos.
- Lavado con agua corriente.
- Diferenciación con alcohol-ácido.
- Lavado con agua corriente.
- Inmersión en agua amoniacal.
- Lavado con agua corriente (10-20 minutos).
- Tinción con eosina a temperatura ambiente.
- Inmersión en alcohol al 95 % para eliminar el exceso de eosina.
- Deshidratación y montaje.

La tinción hematoxilina-eosina permite observar la matriz osteoide de color rosado pálido y el hueso mineralizado de color rosado oscuro. Se obtienen las muestras en portaobjetos numerados e identificados con la letra correspondiente al grupo de estudio. (Figura 27)

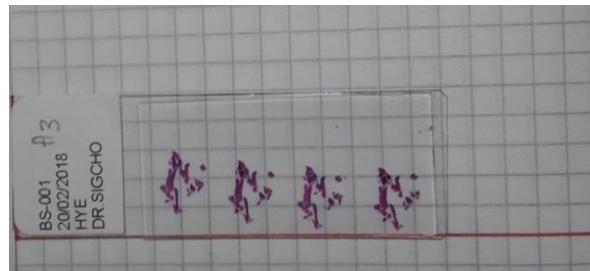


FIGURA27.Portaobjetosnumerado e identificado

3.8 Análisis histológico

El estudio histológico se realizó por medio de dos analizadores. Un patólogo bucal para el procesado, descripción y análisis de las muestras en el laboratorio de histología de la Universidad San Francisco de Quito y un segundo evaluador, médico anatómo patólogo, el cual sin conocimiento del grupo estudiado y de manera aleatoria realiza la evaluación de las muestras.

El análisis histológico fue realizado a través de un microscopio binocular con iluminación LED, marca Zeiss, modelo Primo Star (Carl Zeiss Microscopy, LLC, NY, Estados Unidos). (Figura 28). El análisis histomorfométrico fue realizado a través de un microscopio binocular, marca Nikon, modelo Eclipse Ci (Nikon Instruments Inc, Estados Unidos). (Figura 29)

Por cada portaobjetos hay de 3 a 4 cortes de tejido, lo cuales fueron marcados creando un cuadrado de 3mm_2 con marcador permanente, correspondiente a un área de 9000 micrómetros, de manera aleatoria en el área de la muestra. (Figura 30)



FIGURA 28. Microscopio Zeuss Primo Star

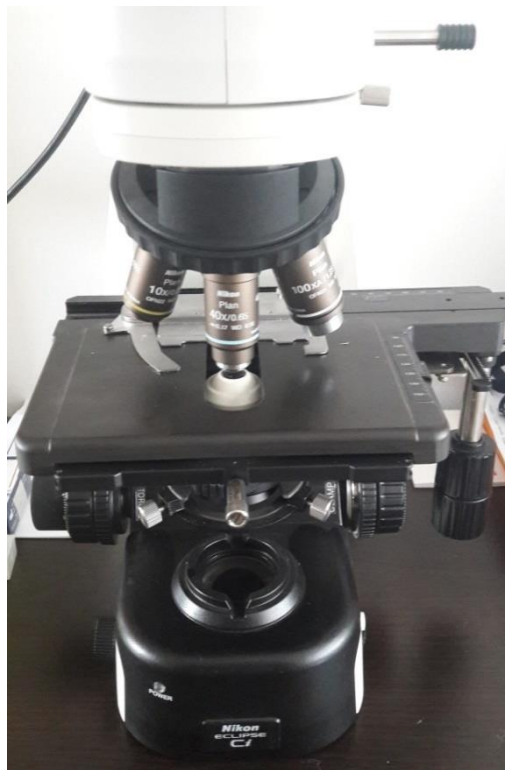


FIGURA 29. Microscopio Nikon Eclipse Ci



FIGURA 30. Muestras rotuladas delimitando el área de estudio al microscopio

Se capturaron imágenes con una magnificación de 4x a 40x, para una visión panorámica por cada corte del portaobjeto, mediante una cámara MSHOT asociada al microscopio, la cual se conecta a la computadora para el análisis mediante un software digital de microscopio MSHOT Image Analysis System V1.0. Este software permite sacar áreas de superficie y áreas específicas para el estudio. (Figura 31)



FIGURA 31. Cámara de microscopio MSHOT

Se obtuvieron fotos histológicas de cada una de las muestras por láminas a 4X, para obtener una visión general de la muestra demarcada, a 10X que fue el aumento

seleccionado para la obtención de resultados del estudio y a 40X para observar con más detalles la muestra (Figura 32,33,34).

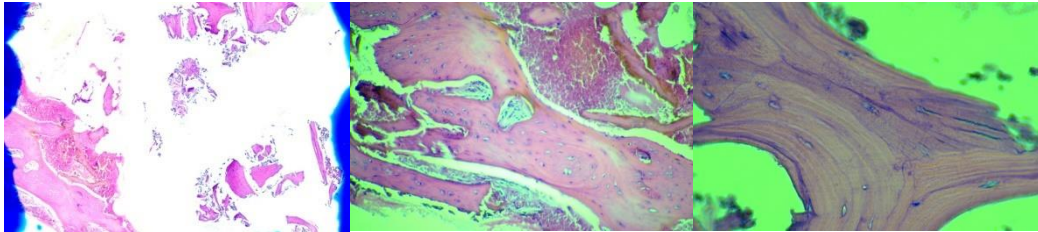


FIGURA 32. Foto microscópica de representativa de hueso con cicatrización ósea espontánea a 4 X, 10 X y 40X de aumento.

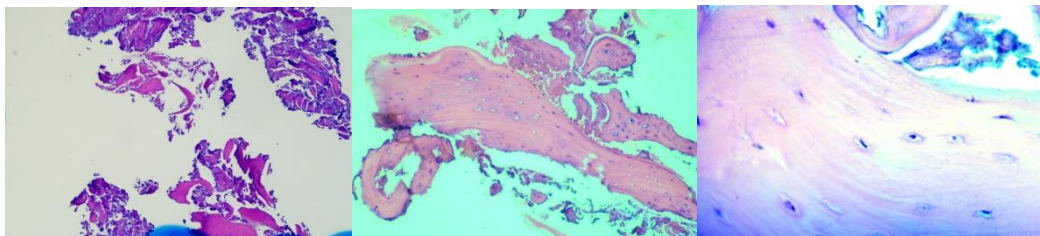


FIGURA 33. Foto microscópica representativa de hueso autólogo de cresta ilíaca + PRP + PRF a 4 X, 10 X y 40X de aumento.

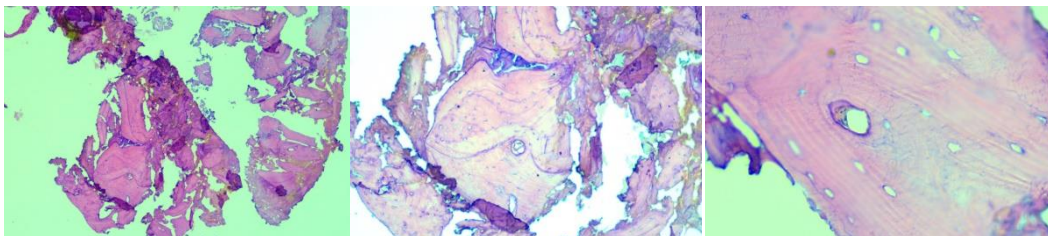


FIGURA 34. Foto microscópica representativa aloinjerto con BMP + PRP + PRF a 4 X, 10 X y 40X de aumento.

La diferenciación de hueso maduro con otras estructuras, se determina por la presencia de osteocitos y formación de láminas aposicionales de hueso circunferenciales o intersticiales alrededor de las osteonas.

La medición del área de hueso maduro se determinó a través del software digital de microscopio MSHOT Image Analysis System V1.0, realizando la sumatoria del área total de cada una de las muestras entre la sumatoria de las áreas de hueso maduro, para obtener el resultado en porcentaje de hueso maduro.

La presencia de lagunas óseas en donde se encuentran los osteocitos fue determinada por el conteo de las mismas dentro del hueso maduro.

La presencia o ausencia de tejido conectivo fibroso, de tejido inflamatorio y presencia de aloinjerto en el grupo C, se determinó por medio de la observación mediante un cuadro de recolección de datos (SÍ-NO).

Para la elaboración del análisis se almacenaron los datos obtenidos en una hoja de cálculo Microsoft Excel 2010. Como análisis estadísticos se utilizó la prueba T para comparación de promedios de lagunas osteocitarias entre los grupos, la prueba Z de proporciones para establecer la comparación de porcentajes de área de hueso maduro en cada uno de los grupos, una prueba de proporciones para dos muestras para comparar entre cada uno de los tres grupos la presencia de tejido conectivo fibroso, y una prueba de chi-cuadrado para estudiar la relación (independencia) entre el género del sujeto y el porcentaje de hueso maduro. El nivel de significancia en todas las pruebas fue de 0,05.

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Análisis descriptivo.

4.1.1.1 Histología.

El análisis histológico de las secciones teñidas con Hematoxilina y Eosina reveló en todas las muestras trabéculas óseas de tamaño variable pero siempre predominó el hueso maduro sobre el hueso inmaduro (Figura 35, 36, 37). En el grupo A y B se observan pequeñas áreas basófilas las cuales puede que estén necróticas, haciendo un solo cuerpo. Estas áreas basófilas no se observaron en el grupo C, donde en cambio se evidenció tejido óseo vital, siendo mayor el porcentaje de áreas de formación de hueso maduro. En el grupo B y C se observó la presencia de células osteoblásticas en contacto cercano con la matriz osteoide, a pesar de esto las áreas de hueso maduro en el grupo B fueron de menor proporción. Sin embargo en el grupo C se evidenció líneas incrementales de crecimiento y en diferentes períodos de calcificación, con presencia de aloinjerto en algunas laminas y hueso recién formado a su alrededor pero hubo ausencia de infiltrado inflamatorio. Las células inflamatorias como linfocitos sólo se observaron en el grupo B.

La mayor cantidad de lagunas con osteocitos se observó en el grupo C, seguido del grupo A. En el grupo B los osteocitos no fueron tan abundantes, en comparación al grupo control A, pero en todas las láminas se apreció lagunas óseas. El tejido conjuntivo fibroso colagenizado fue más abundante en los grupos B y C, en comparación al grupo control, en donde se evidencio en menor cantidad. Células sanguíneas como glóbulos rojos, siempre estuvieron presentes en todos los grupos,

distribuidos en regiones de grandes cantidades de hueso recién formado o en algunos casos asociados al procedimiento quirúrgico.

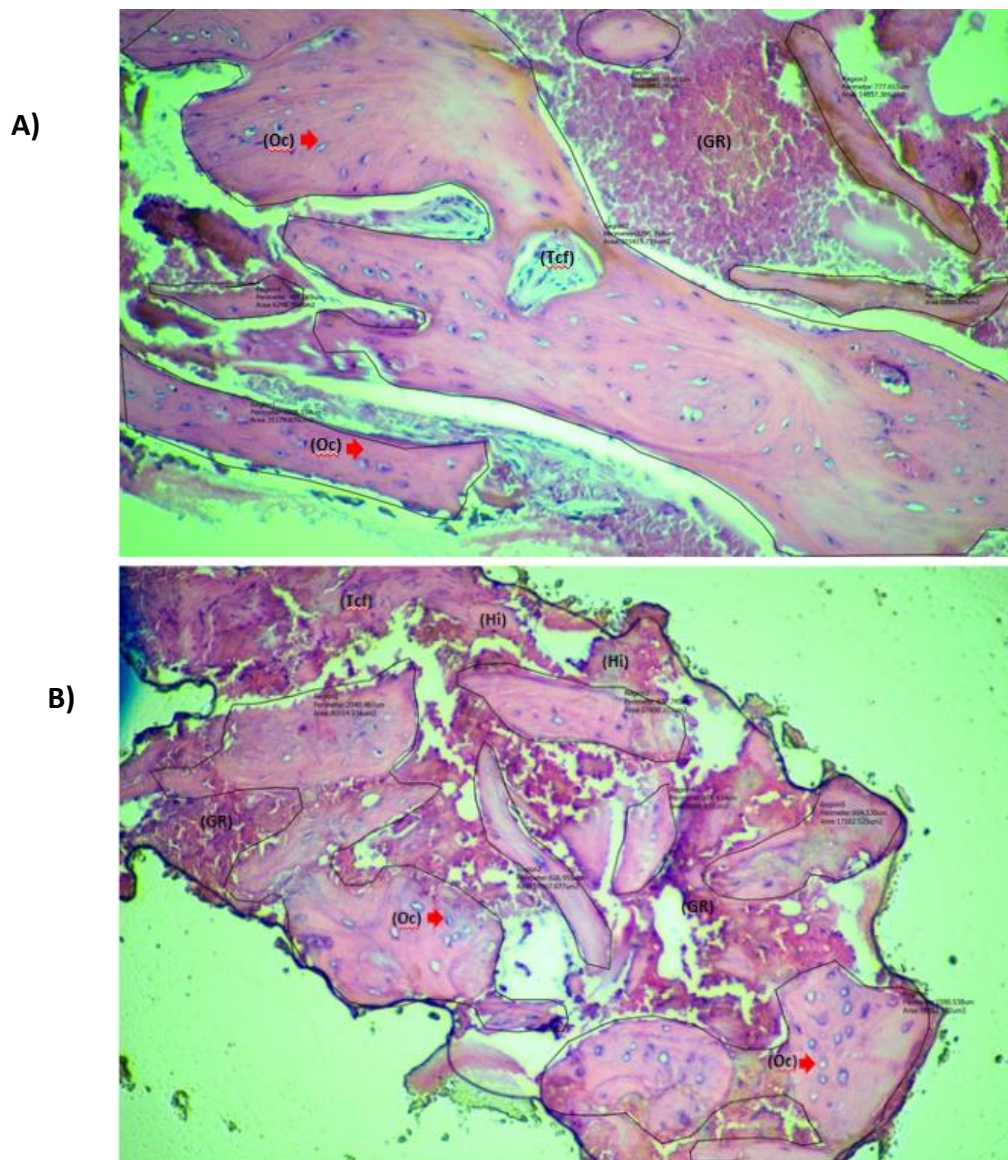
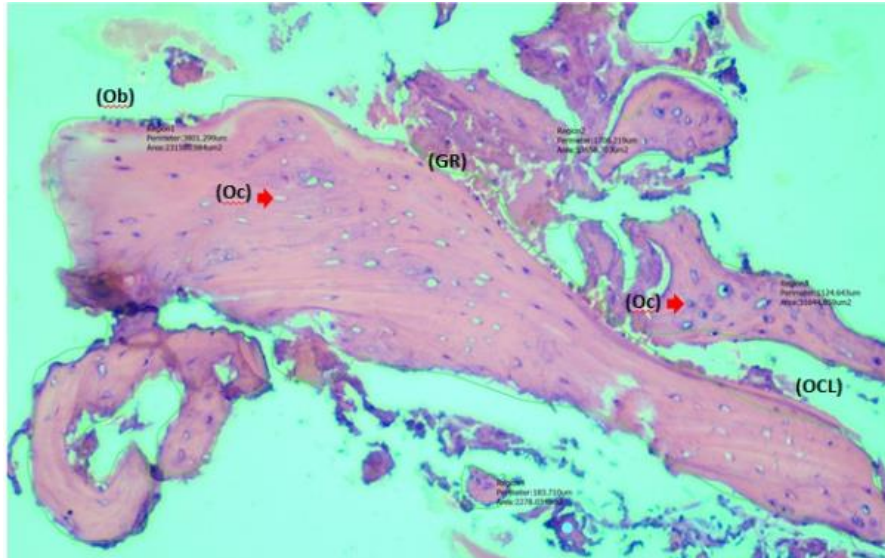
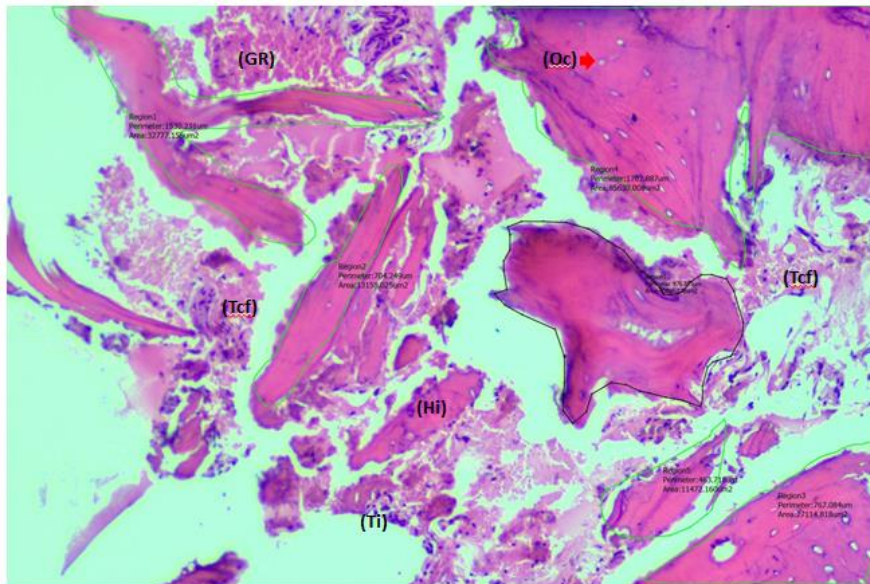


FIGURA 35. Foto microscópica de hueso con cicatrización ósea espontánea a 10 X de aumento. A) El área demarcada es la formación de hueso maduro. Indicador con flechas rojas muestran lagunas de osteocitos (Oc). El tejido conectivo fibroso (Tcf) está embebido dentro del hueso maduro o también alrededor de este. Se observaron abundantes Glóbulos rojos (Gr) en áreas extensas. B) Igualmente se observa Osteocitos (Oc), tejido conectivo fibroso (Tcf), glóbulos rojos (Gr). La formación de hueso inmaduro (Hi) está adyacente al hueso maduro.

A)



B)



C)

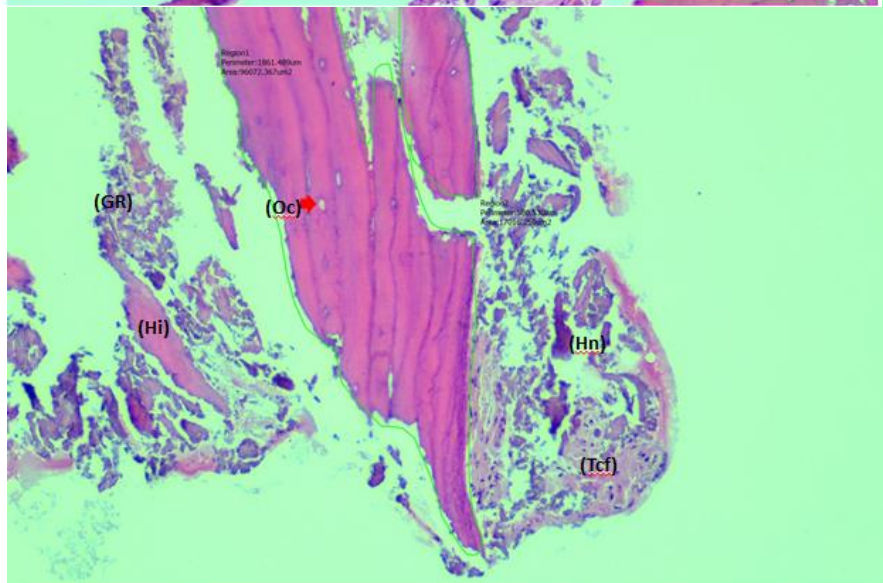
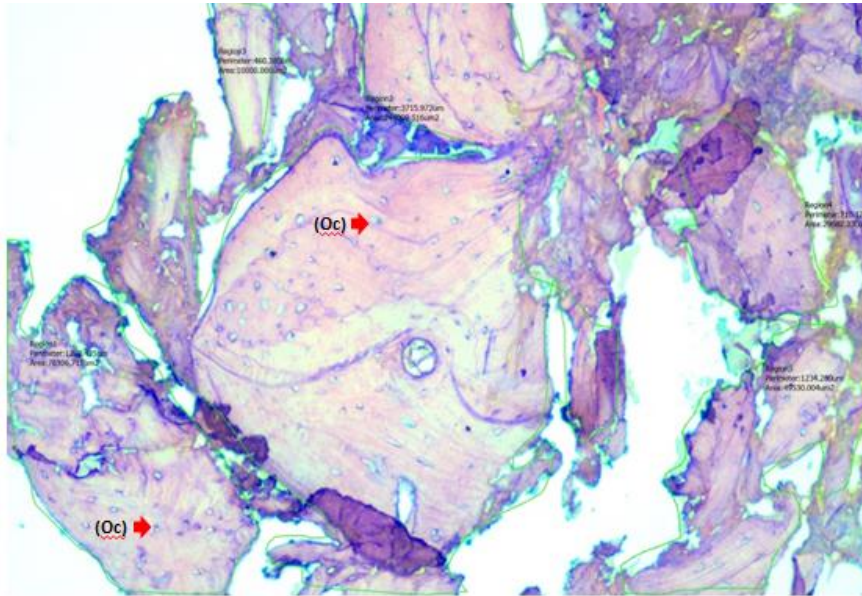
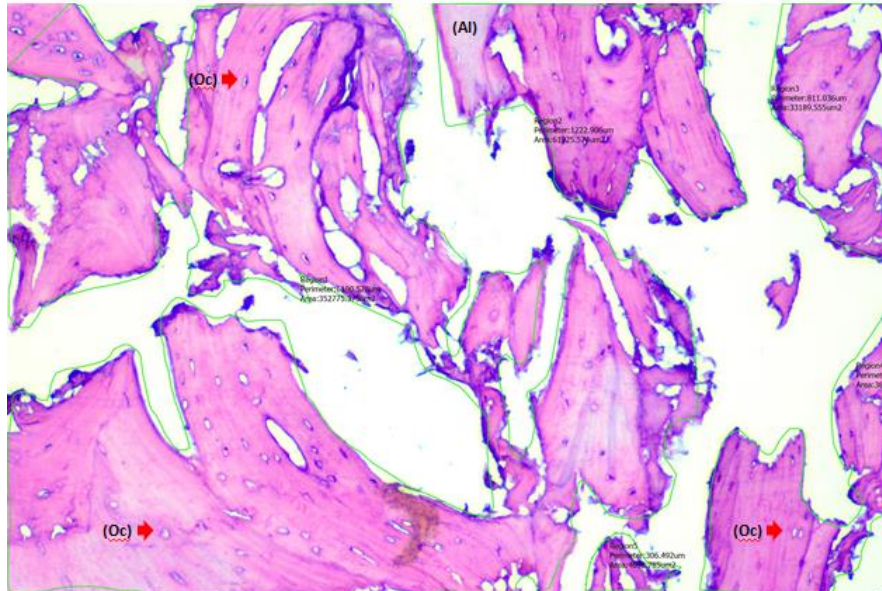


FIGURA 36. Foto microscópica de hueso autólogo de cresta ilíaca + PRP + PRF a 10X de aumento. A) El área demarcada es la formación de hueso maduro. Indicador con flechas rojas muestran lagunas de osteocitos (Oc). En los bordes del hueso maduro se logra apreciar cadena de osteoblástica o células de revestimiento (Ob). Un osteoclasto, se se logró diferenciar reconocida como célula de gran tamaño (OCL). Se observan zonas de hemorragias con glóbulos rojos (Gr). B) Se observa hueso inmaduro (Hn) y partículas de Hueso necrótico (Hn) rodeado de (Tcf). C) Se logra observar células multinucleadas compatibles con linfocitos o tejido inflamatorio.

A)



B)



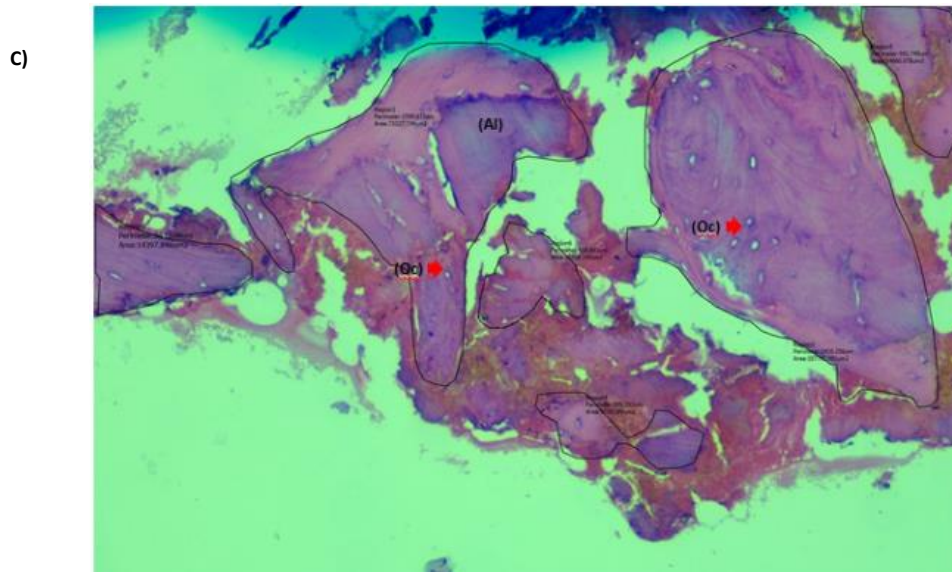


FIGURA 37. Foto microscópica de hueso con aloinjerto con BMP+ PRP + PRF a 10X. A) El área demarcada es la formación de hueso maduro. Indicador con flechas rojas muestran lagunas de osteocitos (Oc) en gran cantidad B). Igualmente abundantes (Oc). Se logra observar pequeño segmento de aloinjerto (Al) con hueso maduro en su superficie. Líneas aposicionales se observan en gran parte del hueso. C) Igualmente se observa Osteocitos (Oc). Se logra ver claramente aloinjerto con aposición y remodelado óseo a hueso maduro.

4.2 Análisis estadístico.

En el análisis de osteocitos, donde se comparó los promedios de estas lagunas, se observaron diferencias significativas entre los promedios del número de lagunas óseas observadas entre las muestra C con B. A pesar de que el grupo C tuvo la mayor cantidad de lagunas óseas comparadas con ambos grupos, con el grupo A no hubo diferencia significativa. (Tabla 4).

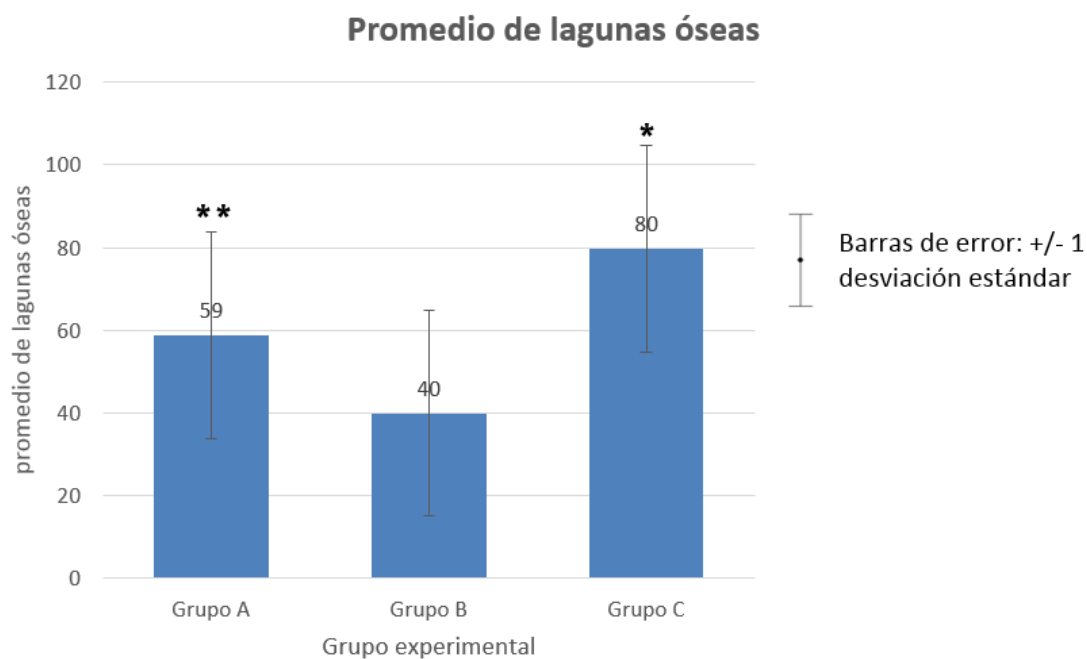


Tabla 4. Gráfica de barras de los promedios de lagunas óseas en cada grupo experimental. * = El grupo C es significativamente diferente del grupo B ($P < 0.05$). ** = El grupo A no es significativamente diferente del grupo C ($P > 0.05$).

De la tabla 4, se observa que el grupo C presentó mayor número de lagunas óseas, esto es validado también con una prueba de hipótesis de t para 2 muestras entre el promedio del Grupo B y C, en que el valor p es menor que 0.05, lo que significa que sí existe una diferencia significativa. Por otro lado, de manera descriptiva se observa que el promedio del grupo C también es mayor al grupo A, sin embargo, en la prueba t se obtuvo un valor p de 0.09, lo cual implica desde el punto de vista estadístico que no existe diferencia significativa entre los grupos.

El análisis de la comparación de porcentajes de *área de hueso maduro* mostró que sí hay diferencias significativas entre todos los grupos. El grupo C hay mayor porcentaje de formación de áreas de hueso maduro comparado con el grupo B y el grupo A. (Tabla 5)

Comparación de áreas de hueso maduro y tejido fibroso

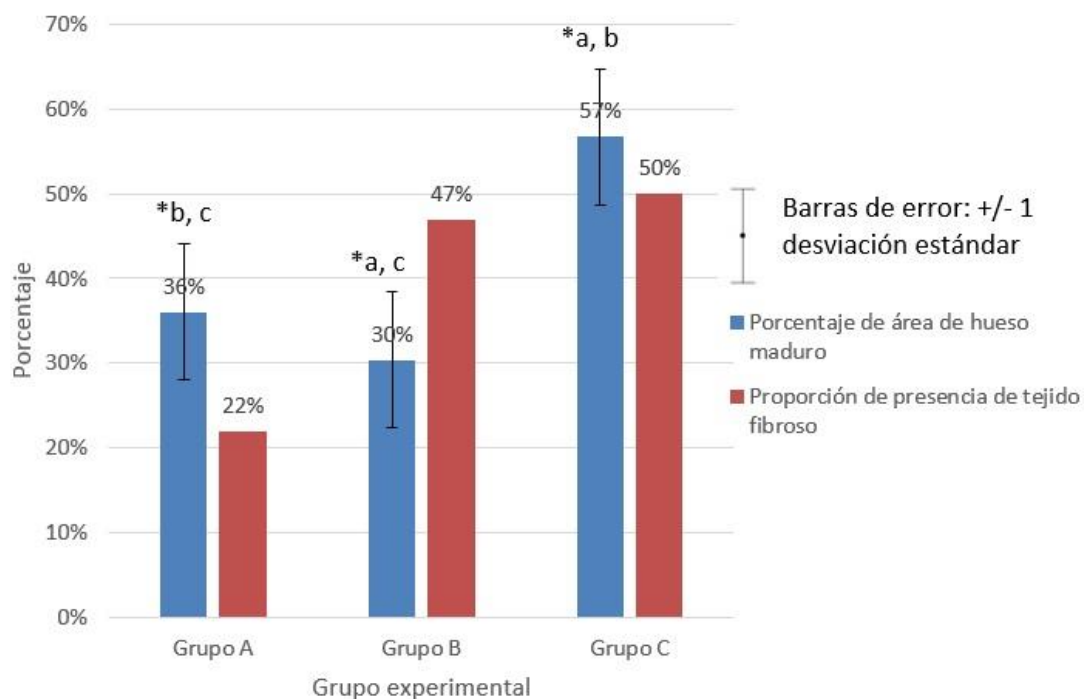


Tabla 5. Gráfica de barras de los porcentajes de área de hueso maduro y proporción de presencia de tejido fibroso. *Los porcentajes de hueso maduro de los tres grupos experimentales son significativamente diferentes. a = Significativamente diferente del grupo A ($P < 0.05$). b = Significativamente diferente del grupo B ($P < 0.05$). c = Significativamente diferente del grupo C ($P < 0.05$).

De la tabla 5, podemos observar que los porcentajes registrados en el grupo C tienen la mayor dispersión, sin embargo, no superan el doble de las desviaciones estándar registradas en los grupos A y B. En el grupo C se presenta valores más altos de porcentaje de área hueso maduro, 56.7%.

En el análisis de la prueba de proporciones para dos muestras, se comparó la *presencia de tejido conectivo fibroso* entre cada uno de los tres grupos, estando presente en todas las muestras, con signos activos de aposición ósea. Las proporciones de presencia de tejido fibroso (Tabla 5), se observan valores similares en los grupos B y C, 47% y 50% respectivamente; el grupo A presenta el menor valor con un 22%. Al realizar el análisis estadístico de diferencias significativas, se infiere un porcentaje

significativamente mayor de porcentaje de área de hueso maduro en el grupo C respecto a A y B. Sin embargo las muestras de los grupos B y C presentan una mayor proporción de tejido conectivo fibroso en comparación al grupo control.

Se realizó una prueba de chi-cuadrado para estudiar la relación (dependencia) entre el género del sujeto y el porcentaje de hueso maduro. Al realizar la prueba se obtuvo un valor p de 0.75, lo que indica que no hay evidencia de influencia significativa, por lo que el género no es un factor que influye en el resultado de los porcentajes de hueso maduro, esto puede ser debido a la cantidad de la muestra.

A pesar de la presencia de injerto en la mayoría de las muestras del grupo C, todas las muestras estuvieron envueltas de tejido óseo neoformado y sin presencia de *tejido inflamatorio*. Este estuvo presente solo en dos muestras del grupo B, lo que puede implicar una reacción del tejido receptor hacia el injerto autólogo colocado.

5. DISCUSIÓN

Nuestro estudio mostró diferencias estadísticamente significativas de los grupos experimentales en relación al grupo control. A partir de los hallazgos encontrados aceptamos la hipótesis alternativa en donde el uso de aloinjertos con BMP mejora las características histológicas en comparación al injerto autólogo.

El injerto óseo autólogo corticoesponjoso es el método preferido para procedimientos de aumento óseo, ya que asegura una fuente vascular y de células osteogénicas proporcionadas por la médula ósea, atribuyendo osteoinducción y osteoconducción celular, además de obtener una estructura rígida mecánica como soporte, aumentando la densidad ósea cortical y ofreciendo un mantenimiento volumétrico en la remodelación ósea (Roden, 2010). También se agregan a sus ventajas su fácil accesibilidad y disponibilidad de grandes cantidades de hueso, en comparación con otros sitios donantes (Ye et al., 2013). A pesar de esto, la tasa de morbilidad de toma de injertos de cresta ilíaca para aumento de rebordes alveolares es relativamente alta, de 19,37% en estudios de Dimitriou, et al. y de 20% en los resultados de Fretwurst, Wanner, et al. Por esta razón la capacidad de utilizar sustitutos óseos no autógenos evita la posibilidad de comorbilidad en el sitio donante (Acocella et al., 2010)(Griggs, 2017).

Las características microscópicas y el contenido celular del injerto dan lugar a diferentes respuestas en el proceso de integración. En este sentido, el número de osteocitos juega un papel fundamental en la regeneración ósea, ya que controlan la reabsorción y el remodelado de la matriz en la que están integrados (Nakashima et al., 2011). En nuestro estudio los resultados histológicos del promedio de lagunas óseas

entre el grupo C y el grupo B mostraron diferencias estadísticamente significativas, siendo el grupo C el que presentó mayor número de lagunas y por lo tanto de remodelado, a pesar de que las lagunas óseas con osteocitos estuvieron presentes en todas las muestras. Estos resultados guardaron relación con lo descrito por Rocchietta et al., quien mencionó que los osteocitos viables sobreviven en sus lagunas al procedimiento de aplicación de un aloinjerto.

Un hallazgo interesante obtenido en el presente estudio, tuvo relación con el porcentaje de hueso maduro encontrado en el Grupo C. Los resultados obtenidos en nuestro estudio, indican que el uso de injerto alogénico con BMP en combinación con factores de crecimiento derivaron en mayor cantidad de áreas de hueso vital o maduro.

Los sustitutos óseos son una excelente alternativa para el injerto autógeno (Beck & Mealey, 2010). Un estudio de Nissan, et al., reportó que el aloinjerto cortical puede resultar hasta un 40% de formación de hueso nuevo en un período de curación de seis meses en mandíbulas. Adicionalmente, comparó aloinjertos frescos congelados con injertos de cresta ilíaca para reconstrucción de maxilares atróficos edéntulos, obteniendo mejores resultados con el aloinjerto que con el injerto autógeno con 58% y 34% de formación de hueso vital respectivamente, a los 5 meses luego de la colocación. Igualmente Boniello et al., para la reconstrucción de rebordes alveolares atróficos con aloinjertos frescos congelados, se hizo la comparación con injertos autólogos de cresta ilíaca y con hueso de calota, obteniendo mejores resultados con los aloinjertos. Siguiendo con la secuencia, los promedios de formación de hueso vital con aloinjertos monocorticales con biopsia a los 4 meses en Acocella, et al., fue de

62%. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en este estudio ya que el grupo de aloinjerto resultó en mayor formación ósea de los rebordes alveolares.

Una de las principales ventajas de la introducción de las Proteínas Morfogenéticas Óseas ha sido la posibilidad de realizar cirugías menos invasivas y con ventajas que contrastan con las posibles morbilidades de la toma de injerto convencionales, al liberar señales quimiotácticas para células osteoblásticas (Marx, 2013). La combinación de aloinjertos con proteínas Morfogenéticas Óseas (rhMP-2 / ACS) ha demostrado resultados histológicos óptimos en cuanto a formación de hueso lamelar, como en nuestro estudio (Begam, Nandi, Kundu, & Chanda, 2017).

Varios estudios han demostrado las ventajas del uso de BMP en aloinjertos. Un estudio de Begam, et al., demostró a través del análisis histológico que existe una mayor formación de hueso maduro con la aplicación de aloinjerto con rhBMP-2, en comparación a la colocación de aloinjerto desmineralizado solo, mostrando menor cantidad de tejido conectivo fibroso y mayor cantidad de osteocitos. Por su parte, otro estudio de (Marx, 2013), mostró resultados en los que el uso de Rh-BMP-2 / ACS, aloinjerto y PRP fueron equivalentes a sitios regenerados con injerto autógeno en términos de regeneración ósea, osteointegración de los implantes y de la restauración funcional. En dicho estudio, las proteínas Morfogenéticas Óseas aplicadas junto a sustitos óseos, demostraron haber tenido mayor formación de hueso maduro, concordando con los resultados obtenidos de nuestro estudio. La combinación de rhMP-2 con aloinjerto óseo mineralizado, según Misch & Wang, dieron como resultado que al usar en conjunto, promueven el aumento de crestas alveolares para la colocación de implantes.

Estudios clínicos también han demostrado el efecto descrito anteriormente. .
Fiorellini et al., realizaron estudios prospectivos aleatorizados controlados sobre el uso de Rh-BMP-2 / ACS, en preservación de sitios de extracciones dentales y aumento alveolar, demostrando que el uso de Rh-BMP-2 / ACS induce a la formación ósea significativa adecuada para la colocación de implantes y que el hueso inducido era biológicamente similar al hueso nativo capaz de presentar osteointegración en un implante y soportar la carga funcional de una prótesis dental. Un metaanálisis, con una revisión sistemática Shimono et al., reveló que la Proteína Morfogenética Ósea Humana Recombinante (rhBMP-2) tiene un efecto positivo sobre el crecimiento óseo en el aumento de la cresta alveolar. Estos estudios van acorde con lo que en este estudio se halla.

Diversas ventajas del uso de las BMP en diferentes tipos de injerto en cuanto a su origen, también han sido descritas. Un estudio comparativo de tratamientos en defectos tibiales con BMP e injertos de cresta ilíaca, concluyó que el uso de rhBMP-7 en el tratamiento de las uniones tibiales defectuosas, conduce a resultados equivalentes a la aplicación de injerto de cresta ilíaca, mientras se evita la morbilidad de la extracción del injerto, como infección y/o dolor persistente en el sitio del donante(Perry, Cole, & Calhoun, 2006). La unión de BMP a otros sustitos óseos como xenoinjertos, han obteniendo también resultados favorables. La aplicación de rhMP-2 / ACS demuestra histologicamente la formación de hueso fisiológico normal e indistinguible del hueso residente en un estudio que comparaba grupos control de hueso bovino sin y con rhBMP-2 (Wikesjö et al., 2007). Estudios comparativos de xenoinjerto solo como grupo control y xenoinjerto con rhBMP-2 como grupo de

prueba, demostraron la mayor cantidad de hueso formado 37% en el grupo de prueba, que 30% en los grupos control, a los 6 meses de cicatrización. (Jung et al., 2003).

A pesar de toda la evidencia de que las BMP con aloinjertos tienen la capacidad de formar hueso con condiciones adecuadas para colocación de implantes, Jung et al., comentó que la aplicación en conjunto de las BMP con otro biomaterial reabsorbible o no reabsorbible, puede desplazar la formación ósea inducida por las rhBMP-2, lo que resulta en una pobre calidad ósea. Caplanis, et al., demostró que las concentraciones fisiológicas de factores de crecimiento óseo y las BMP, secuestradas en la matriz del aloinjerto, aparentemente no tuvieron ningún efecto relevante sobre la formación de hueso alveolar, porque las partículas del aloinjerto se incluyen en el tejido conectivo fibroso sin evidencia de actividad ósea metabólica, por lo que se demuestra que los aloinjertos tienen más posibilidades de falla en la osteointegración del implante al ser un cuerpo extraño, teniendo como resultado una falla en el método de regeneración ósea guiada o incluso procesos infecciosos asociados con peri-implantitis según Calvo et al. Barboza et al., indicó que la aplicación de esta proteína carece de integridad estructural en aumentos de crestas alveolares. Esto da un punto a discusión con nuestro estudio, ya que la aplicación de estas proteínas con aloinjertos, obtuvo excelentes resultados en la formación de hueso maduro.

En lo que respecta a la presencia del tejido conectivo fibroso, estuvo presente en todas las muestras, pero con signos activos de aposición ósea. Esta variabilidad puede verse afectada por múltiples factores tales como el estado del alveolo del diente antes de la extracción en el grupo sin injerto, dehiscencias de tejidos blandos o incluso la angulación de la toma de la muestra (Beck & Mealey, 2010).

Otro hallazgo interesante fue la presencia de partículas del sustituto óseo encontrado en el grupo C, sin tener relación con la presencia de infiltrado inflamatorio. De los grupos estudiados en nuestro estudio, solo se evidenció infiltrado inflamatorio en el grupo B. En este sentido, una revisión sobre injertos y derivados óseos aplicados a la ROG realizada por Spagnoli & Marx, sugirió que el hueso o los derivados óseos del injerto autógeno utilizados en áreas para colocación de implantes, deben ser completamente reabsorbidos y reemplazados por la formación de hueso nuevo para que los implantes se puedan colocar sobre un hueso vital. Otros estudios como el de Barboza et al., mostraron histológicamente que la presencia de aloinjerto, desencadenó mayor presencia de infiltrado inflamatorio. Dentro de los resultados obtenidos en esta investigación, que no se haya evidenciado tejido inflamatorio en el grupo C, indica una adecuada aceptación de injerto alogénico.

El tiempo de unión del injerto al sitio receptor en la ROG, es considerado como un factor influyente en el desarrollo de una adecuada formación ósea y calidad celular (Rocchietta et al., 2016). Para los procesos de revascularización y de remodelación de los injertos, es recomendable esperar al menos 6 meses después de la cicatrización para la cirugía de colocación de implantes. Por su parte, autores como Contar et al., compararon la cicatrización del aloinjerto con el injerto óseo autógeno, considerando un largo tiempo de integración del aloinjerto como una característica limitante. Este autor observó una excelente vascularización e incorporación de los bloques óseos de cresta ilíaca de 8 a 11 meses después de ser injertados, sin embargo opina que quizá se haya observado buenos resultados a los 6 o 7 meses. Los hallazgos clínicos mostrados en el estudio de Acocella et al., demostraron que 9 meses después de la aplicación del injerto, es un período de tiempo suficiente para que este se integre exitosamente y

alcance la estabilidad adecuada para la colocación de un implante. Sin embargo, el tiempo de integración para los injertos de cresta ilíaca según Cuesta Gil, et.al, es de 4 meses, coincidiendo con Dreiseidler et al.

Con respecto a la aplicación de factores de crecimiento, su uso genera varias ventajas dentro de las cuales se menciona la disminución de la morbilidad, complicaciones y tiempo quirúrgico disminuido (Nauth et al., 2011), además de su eficacia clínica, costo y facilidad de aplicación (Corso, 2012). Esto se demuestra en el estudio de Nagata, et al., el cual comparó el uso de injertos autólogos solos o con PRF en conejos, mostrando nueva formación de hueso a las 4 semanas en comparación al injerto autógeno solo, con resultados similares pero a las 12 semanas.

La combinación de PRP con un sustituto óseo como hueso bovino o aloinjerto para ROG, dieron excelentes resultados (Wojtowicz et al., 2003)(Kassolis, Rosen, & Reynolds, 2000). Sin embargo, en modelos histológicos como el de Gurgel et al., mostraron que no hay diferencias significativas en cuanto a la remodelación ósea con o sin PRP. Sus ventajas en los procesos de ROG se resumen en el mejor manejo y manipulación de los injertos particulados.

Según Choukroun et al., en su cuarta edición de concentrados de plaquetas de segunda generación (PRF), la matriz de coágulos de fibrina es una trampa para las células madres circulantes, por lo que el tiempo de curación fisiológica de cavidades se acelera. Esta matriz está mejor organizada y es capaz de formar un andamio para el reclutamiento y la unión de las células del tejido y también induce la angiogénesis (Kang et al., 2011), además de liberar de forma lenta y continua factores de crecimiento (Pripatnanont, Nuntanaranont, Vongvatcharanon, & Phurisat, 2013). Estas

ventajas en (Choukroun et al., 2006), se traducen en la reducción del tiempo de integración del injerto de 8 meses a 4 meses cuando se combina con aloinjerto.

El PRF se considera como un biomaterial por tener todos los constituyentes concentrados de la sangre (Choukroun et al., 2006). Algunos autores han informado los beneficios del PRF cuando se usa con derivados óseos, como el hueso liofilizado congelado (Simonpieri, Del Corso, Sammartino, & Dohan Ehrenfest, 2009), así como con el hueso bovino desproteinizado (Zhang et al., 2012) y también con hueso autógeno (Kang et al., 2011).

Con relación al género, nuestro estudio no detectó diferencias en los porcentajes de formación de hueso maduro entre pacientes de género masculino y femenino. Una de las limitaciones de nuestro estudio fue el tamaño amostral, el mismo que fue determinado para el análisis histológico. En ese sentido Fretwurst, Nack, et al., concluyeron en su estudio que el estado hormonal específico del género, podría desempeñar un papel en la fisiología ósea de los injertos autólogos orales, produciendo así variaciones en la formación de hueso entre ambos géneros. Estudios futuros son necesarios para elucidar esta relación.

Se recomienda realizar un trabajo clínico, imagenológico e histológico de comparación de diferentes métodos de regeneración ósea guiada en rebordes alveolares para colocación de implantes y con mayor número de muestras. Finalmente se podría decir que los reportes de caso donde se compara la actividad histológica de varios tipos de injertos óseos en seres humanos, fueron limitados. Según nuestro conocimiento no hay estudios que comparen diferentes tipos de regeneración ósea guiada para reconstrucción de rebordes alveolares atróficos para colocación de

implantes con aloinjertos mineralizados con rhMP-2 / ACS y factores de crecimiento en comparación con injertos de hueso autólogo de cresta ilíaca y factores de crecimiento.

6. CONCLUSIONES

Con las limitaciones del presente estudio, podemos concluir que:

- El método de Regeneración Ósea Guiada con aloinjerto y Rh-BMP-2 / ACS + PRP + PRF puede crear mejores condiciones óseas que el injerto autólogo de cresta ilíaca PRP + PRF.
- El uso de aloinjerto con Rh-BMP-2 / ACS + PRP + PRF presentó un mayor recambio óseo y adecuada integración del injerto cuando se comparó con el grupo control.
- El uso de injertos alogénicos podría servir como una alternativa a la ROG autógena convencional para colocación de implantes, reduciendo la morbilidad relacionada a la obtención del injerto autólogo de cresta ilíaca. La regeneración de defectos alveolares con Rh-BMP-2 / ACS, aloinjerto y factores de crecimiento dieron resultados más parecidos al hueso con cicatrización propia.

7. BIBLIOGRAFIA

- Acocella, A., Bertolai, R., Colafranceschi, M., & Sacco, R. (2010). Clinical, histological and histomorphometric evaluation of the healing of mandibular ramus bone block grafts for alveolar ridge augmentation before implant placement. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 38(3), 222–230. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2009.07.004>
- Acocella, A., Bertolai, R., Ellis, E., Nissan, J., & Sacco, R. (2012). Maxillary alveolar ridge reconstruction with monocortical fresh-frozen bone blocks: A clinical, histological and histomorphometric study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 40(6), 525–533. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2011.09.004>
- Aghaloo, T. L., & Hadaya, D. (2017). Basic Principles of Bioengineering and Regeneration. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 29(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2016.08.008>
- Albrektsson, T. (1997). Criteria of succes. Albrektsson y Zarb 1986.
- Albrektsson, T., Brånemark, P.-I., Hansson, H.-A., & Lindström, J. (1981). Osseointegrated Titanium Implants: Requirements for Ensuring a Long-Lasting, Direct Bone-to-Implant Anchorage in Man. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 52(2), 155–170. <https://doi.org/10.3109/17453678108991776>
- American Academy of Implant Dentistry [2018]. Dental Implants Facts and Figures. Chicago, Illinois. Recuperado de: https://www.aaid.com/about/Press_Room/Dental_Implants_FAQ.html
- American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. Dental Implant Surgery [2018]. Bryn Mawr Ave., Rosemont, IL. Recuperado de: <https://myoms.org/procedures/dental-implant-surgery>
- Barboza, E. P., Caúla, A. L., Caúla, F. de O., de Souza, R. O., Neto, L. G., Sorensen, R. G., ... Wikesjö, U. M. E. (2004). Effect of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 in an Absorbable Collagen Sponge With Space-Providing Biomaterials on the Augmentation of Chronic Alveolar Ridge Defects. *Journal of Periodontology*, 75(5), 702–708. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.5.702>
- Barone, A., Nannmark, U. (2015). Bone, biomaterials and beyond. Técnicas quirúrgicas y biomateriales para el aumento de los tejidos duros y blandos en cirugía implantar. Editorial Amolca.
- Barone, A., Varanini, P., Orlando, B., Tonelli, P., & Covani, U. (2009). Deep-Frozen Allogeneic Onlay Bone Grafts for Reconstruction of Atrophic Maxillary Alveolar Ridges : A Preliminary Study. *YJOMS*, 67(6), 1300–1306. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2008.12.043>
- Barradas, A. M. C., Yuan, H., Blitterswijk, C. A. Van, Habibovic, P., & Medicine, T. (2011). OSTEOINDUCTIVE BIOMATERIALS : CURRENT KNOWLEDGE OF PROPERTIES , 21, 407–429. <https://doi.org/10.22203/eCM.v021a31>
- Beck, T. M., & Mealey, B. L. (2010). Histologic Analysis of Healing After Tooth Extraction With Ridge Preservation Using Mineralized Human Bone Allograft. *Journal of Periodontology*, 81(12), 1765–1772. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.100286>
- Begam, H., Nandi, S. K., Kundu, B., & Chanda, A. (2017). Strategies for delivering bone morphogenetic protein for bone healing. *Materials Science and Engineering C*, 70, 856–869. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.09.074>

- Boniello, R., Gasparini, G., D'Amato, G., Torroni, A., Marianetti, T. M., Foresta, E., ... Pelo, S. (2013). Reconstruction of severe atrophic jaws with Fresh Frized Bone Allografts: Clinical histologic and histomorphometric evaluation. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *17*(10), 1411–1418.
- Borg, T. D., & Mealey, B. L. (2014). Histologic Healing Following Tooth Extraction With Ridge Preservation Using Mineralized Freeze Dried Bone Allograft Alone Versus a Combined Mineralized-Demineralized Freeze Dried Bone Allograft . A Randomized Controlled Clinical Trial, 1–13. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140483>
- Borg, T. D., & Mealey, B. L. (2015). Histologic Healing Following Tooth Extraction With Ridge Preservation Using Mineralized Versus Combined Mineralized-Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, *86*(3), 348–355. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140483>
- Bowen-Pope, D. F., Vogel, A., & Ross, R. (1984). Production of platelet-derived growth factor-like molecules and reduced expression of platelet-derived growth factor receptors accompany transformation by a wide spectrum of agents. *Cell Biology*, *81*(April), 2396–2400. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.8.2396>
- Bowler, D., & Dym, H. (2015). Bone Morphogenic Protein: Application in Implant Dentistry. *Dental Clinics of North America*, *59*(2), 493–503. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2014.10.006>
- Boyne, P. J. (1996). Animal studies of application of rhBMP-2 in maxillofacial reconstruction. *Bone*, *19*(1 Suppl), 83S–92S. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(96\)00144-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S8756-3282(96)00144-5)
- Brånemark, P. I., Breine, U., Adell, R., Hansson, B. O., Lindström, J., & Ohlsson, A. (1969). Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. Experimental studies. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery*, *3*(2), 81–100. <https://doi.org/10.3109/02844316909036699>
- Burk, T., Del Valle, J., Finn, R. A., & Phillips, C. (2016). Maximum Quantity of Bone Available for Harvest From the Anterior Iliac Crest, Posterior Iliac Crest, and Proximal Tibia Using a Standardized Surgical Approach: A Cadaveric Study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *74*(12), 2532–2548. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2016.06.191>
- Calvo, J., Gaya, A., & Puig, I. (2000). La respuesta inmunitaria en el trasplante de aloinjertos óseos. *Rev de Inmunol*, *19*(4), 148–155. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:La+respuesta+inmunitaria+en+el+trasplante+de+aloinjertos+oseos#0>
- Camassa, J. A., Diogo, C. C., Sousa, C. P., Azevedo, J. T., Viegas, C. A., Reis, R. L., ... DIAS, I. R. (2017). Bone turnover markers in sheep and goat: A review of the scientific literature. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, *89*(1), 231–245. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160407>
- Cano-Sánchez, J., Campo-Trapero, J., Sánchez-Gutiérrez, J. J., & Bascones-Martínez, A. (2008). Mecanobiología de los huesos maxilares: II. Remodelación ósea. *Avances En Odontoestomatología*, *24*(2). <https://doi.org/10.4321/S0213-12852008000200005>
- Caplanis, N., Lee, M. B., Zimmerman, G. J., Selvig, K. A., & Wikesjo, U. M. (1998). Effect of allogenic freeze-dried demineralized bone matrix on guided tissue regeneration in dogs. *Journal of Periodontology*, *69*(8), 851–856.

- <https://doi.org/10.1902/jop.1998.69.8.851>
- Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate . Part IV : Clinical effects on tissue healing, 56–60.
<https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.011>
- Contar, C. M. M., Sarot, J. R., da Costa, M. B., Bordini, J., de Lima, A. A. S., Alanis, L. R. A., ... Machado, M. Â. N. (2011). Fresh-Frozen Bone Allografts in Maxillary Ridge Augmentation: Histologic Analysis. *Journal of Oral Implantology*, 37(2), 223–231.
<https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-09-00108>
- Cornell, C. N. (1999). OSTEOCONDUCTIVE MATERIALS AND THEIR ROLE AS SUBSTITUTES FOR AUTOGENOUS BONE GRAFTS, 30(4), 591–598.
- Corso, M. (2012). Current Knowledge and Perspectives for the Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF) in Oral and Maxillofacial Surgery Part 1: Periodontal and Dentoalveolar Surgery. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1207–1230. <https://doi.org/10.2174/138920112800624391>
- Cuesta Gil, M., Bucci, T., Duarte Ruiz, B., & Riba García, F. (2010). Reconstruction of the severely atrophic mandible using autologous calvarial bone graft: An “ inverted sandwich” graft technique and dental rehabilitation with fixed implant-supported prostheses. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 38(5), 379–384.
<https://doi.org/10.1016/j.jcms.2009.10.016>
- D’Aloja, E., Santi, E., Aprili, G., & Franchini, M. (2008). Fresh frozen homologous bone in oral surgery: Case reports. *Cell and Tissue Banking*, 9(1), 41–46.
<https://doi.org/10.1007/s10561-007-9053-0>
- Daly, J. (1965). Bone : Formation by Autoinduction, (NOVEMBER), 893–899.
- Davies, J. E. (1998). Mechanisms of endosseous integration. *The International Journal of Prosthodontics*, 11(5), 391–401. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg047\rkfg047> [pii]
- Demetter, R. S., Calahan, B. G., & Mealey, B. L. (2017). Histologic Evaluation of Wound Healing Following Ridge Preservation With Cortical , Cancellous , and Combined Cortico-Cancellous Freeze- Dried Bone Allograft . A Randomized Controlled Clinical Trial, 1–14. <https://doi.org/10.1902/jop.2017.170155>
- Dimitriou, R., Mataliotakis, G. I., Angoules, A. G., Kanakaris, N. K., & Giannoudis, P. V. (2011). Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: A systematic review. *Injury*, 42(SUPPL. 2), S3–S15.
<https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.06.015>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006a). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate . Part I : Technological concepts and evolution.
<https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006b). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate . Part II : Platelet-related biologic features.
<https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>
- Dohan Ehrenfest, D. M., de Peppo, G. M., Doglioli, P., & Sammartino, G. (2009). Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun’s platelet-rich fibrin (PRF): A gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*, 27(1), 63–69.

- <https://doi.org/10.1080/08977190802636713>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J.-B. (2010). Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. *Journal of Periodontology*, *81*(4), 546–555. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090531>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, *27*(3), 158–167. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- Dreiseidler, T., Kaunisaho, V., Neugebauer, J., Zöller, J. E., Rothamel, D., & Kreppel, M. (2016). Changes in volume during the four months' remodelling period of iliac crest grafts in reconstruction of the alveolar ridge. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *54*(7), 751–756. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2016.04.024>
- Dummies, F. O. R. (n.d.). Guided Bone R E G E N E R A T I O N.
- Elgali, I., Turri, A., Xia, W., Norlindh, B., Johansson, A., Dahlin, C., ... Omar, O. (2016). Guided bone regeneration using resorbable membrane and different bone substitutes: Early histological and molecular events. *Acta Biomaterialia*, *29*, 409–423. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.10.005>
- Everts, P. A. M., Van Zundert, A., Schönberger, J. P. A. M., Devilee, R. J. J., & Knappe, J. T. A. (2008). What do we use: Platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, *85*(4), 1135–1136. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31570>
- Faria, P. E. P., Okamoto, R., Bonilha-Neto, R. M., Xavier, S. P., Santos, A. C., & Salata, L. A. (2008). Immunohistochemical, tomographic and histological study on onlay iliac grafts remodeling. *Clinical Oral Implants Research*, *19*(4), 393–401. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01485.x>
- Felice, P., Marchetti, C., Iezzi, G., Piattelli, A., Worthington, H., Pellegrino, G., & Esposito, M. (2009). Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with interpositional bloc grafts: Bone from the iliac crest vs. bovine anorganic bone. Clinical and histological results up to one year after loading from a randomized-controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*, *20*(12), 1386–1393. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01765.x>
- Fernández-Barbero, J. E., Galindo-Moreno, P., Ávila-Ortiz, G., Caba, O., Sánchez-Fernández, E., & Wang, H. L. (2006). Flow cytometric and morphological characterization of platelet-rich plasma gel. *Clinical Oral Implants Research*, *17*(6), 687–693. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01179.x>
- Fiorellini, J. P., Howell, T. H., Cochran, D., Malmquist, J., Lilly, L. C., Spagnoli, D., ... Nevins, M. (2005). Randomized Study Evaluating Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 for Extraction Socket Augmentation. *Journal of Periodontology*, *76*(4), 605–613. <https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.4.605>
- Fretwurst, T., Nack, C., Al-Ghrai, M., Raguse, J. D., Stricker, A., Schmelzeisen, R., ... Nahles, S. (2015). Long-term retrospective evaluation of the peri-implant bone level in onlay grafted patients with iliac bone from the anterior superior iliac crest. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, *43*(6), 956–960. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2015.03.037>
- Fretwurst, T., Wanner, L., Nahles, S., Raguse, J. D., Stricker, A., Metzger, M. C., &

- Nelson, K. (2015). A prospective study of factors influencing morbidity after iliac crest harvesting for oral onlay grafting. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 43(5), 705–709. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2015.03.023>
- Froum, S. J., Wallace, S. S., Elian, N., Cho, S. C., & Tarnow, D. P. (2006). Comparison of mineralized cancellous bone allograft (Puros) and anorganic bovine bone matrix (Bio-Oss) for sinus augmentation: histomorphometry at 26 to 32 weeks after grafting. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 26(6), 543–551.
- García-gareta, E., Coathup, M. J., & Blunn, G. W. (2015). Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration. *Bone*, 81, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.07.007>
- Gaviria, L., Salcido, J. P., Guda, T., & Ong, J. L. (2014). Current trends in dental implants.
- Giacca, M., & Zacchigna, S. (2012). VEGF gene therapy: Therapeutic angiogenesis in the clinic and beyond. *Gene Therapy*, 19(6), 622–629. <https://doi.org/10.1038/gt.2012.17>
- Giannoudis, P. V., Dinopoulos, H., & Tsiridis, E. (2005). Bone substitutes : An update, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2005.07.029>
- Glowacki, J. (1962). Treatment of Jaw Defects with Demineralized Bone Implants, 623–626.
- Goncalves, T. M. S. V., Campos, C. H., & Garcia, R. C. M. R. (2015). Effects of Implant-Based Prostheses on Mastication, Nutritional Intake, and Oral Health-Related Quality of Life in Partially Edentulous Patients: A Paired Clinical Trial. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 30(2), 391–396. <https://doi.org/10.11607/jomi.3770>
- Gray, A. J., Bishop, J. E., Reeves, J. T., & Laurent, G. J. (1993). A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. *Journal of Cell Science*, 104, 409–413.
- Griggs, J. A. (2017). Dental Implants. *Dental Clinics of North America*, 61(4), 857–871. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2017.06.007>
- Gross, U., Brandes, J., Strunz, V., Bab, I., & Sela, J. (1981). The ultrastructure of the interface between a glass ceramic and bone. *Journal of Biomedical Materials Research*, 15(3), 291–305. <https://doi.org/10.1002/jbm.820150302>
- Guadilla González, Y. (2010). Estudio De Los Diferentes Modelos De Regeneración Ósea Guiada Previa a La Colocación De Implantes Dentales Osteointegrados, 208. <https://doi.org/10.1174/021435502753511268>
- Gulsahi, A. (2011). Bone Quality Assessment for Dental Implants. *Implant Dentistry - The Most Promising Discipline of Dentistry*, (February). <https://doi.org/10.5772/16588>
- Gurgel, B. C. D. V., Gonçalves, P. F., Pimentel, S. P., Ambrosano, G. M. B., Nociti, F. H., Sallum, E. A., & Casati, M. Z. (2007). Platelet-rich plasma may not provide any additional effect when associated with guided bone regeneration around dental implants in dogs. *Clinical Oral Implants Research*, 18(5), 649–654. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01383.x>
- Hall, M. B., Vallerand, W. P., Thompson, D., & Hartley, G. (1991). Comparative Anatomic Study of Anterior, 560–563.
- Ham, B. A., & Gordon, S. (n.d.). Departments of Anatomy and Surgery , University of Toronto , Toronto , Canada.

- Harry, L. E., & Paleolog, E. M. (2003). From the Cradle to the Clinic: VEGF in Developmental, Physiological, and Pathological Angiogenesis. *Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews*, 69(4), 363–374.
<https://doi.org/10.1002/bdrc.10024>
- Hawthorne, A. C., Salvador, L., Antunes, A. A., Antunes, A. A., & Salata, L. A. (2012). and histological study on onlay bone graft remodeling . Part III : allografts, 1–9.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2012.02528.x>
- Israel, D. I., Nove, J., Kerns, K. M., Moutsatsos, I. K., & Kaufman, R. J. (1992). Expression and Characterization of Bone Morphogenetic Protein-2 in Chinese Hamster Ovary Cells. *Growth Factors*, 7(2), 139–150.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(96\)00144-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S8756-3282(96)00144-5)
- Jimi, E., Hirata, S., Osawa, K., Terashita, M., Kitamura, C., & Fukushima, H. (2012). The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects. *International Journal of Dentistry*, 2012, 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2012/148261>
- Jung, R. E., Glauser, R., Schärer, P., Hämmerle, C. H. F., Sailer, H. F., & Weber, F. E. (2003). Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans: A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clinical Oral Implants Research*, 14(5), 556–568. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2003.00921.x>
- Kademani, D., & Keller, E. (2006). Iliac Crest Grafting for Mandibular Reconstruction. *Atlas of the Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 14(2), 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.cxom.2006.05.005>
- Kang, Y.-H., Jeon, S. H., Park, J.-Y., Chung, J.-H., Choung, Y.-H., Choung, H.-W., ... Choung, P.-H. (2011). Platelet-Rich Fibrin is a Bioscaffold and Reservoir of Growth Factors for Tissue Regeneration. *Tissue Engineering Part A*, 17(3–4), 349–359.
<https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0327>
- Kao, S. T., & Scott, D. D. (2007). A Review of Bone Substitutes. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 19(4), 513–521.
<https://doi.org/10.1016/j.coms.2007.06.002>
- Kassolis, J. D., Rosen, P. S., & Reynolds, M. A. (2000). Alveolar Ridge and Sinus Augmentation Utilizing Platelet-Rich Plasma in Combination With Freeze-Dried Bone Allograft: Case Series. *Journal of Periodontology*, 71(10), 1654–1661.
<https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.10.1654>
- Leucocyte, P. I. I. I. (n.d.). Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity ?, 303–305.
- Listrom, R. D., & Symington, J. M. (1988). Osseointegrated dental implants in conjunction with bone grafts. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 17(2), 116–118. [https://doi.org/10.1016/S0901-5027\(88\)80163-2](https://doi.org/10.1016/S0901-5027(88)80163-2)
- Loike, J. D., Sodeik, B., Cao, L., Leucona, S., Weitz, J. I., Detmers, P. a, ... Silverstein, S. C. (1991). CD11c/CD18 on neutrophils recognizes a domain at the N terminus of the A alpha chain of fibrinogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88(3), 1044–1048.
<https://doi.org/10.1073/pnas.88.3.1044>
- Marx, R. E. (2013). rhBMP-2/ACS Grafts Versus Autogenous Cancellous Marrow Grafts in Large Vertical Defects of the Maxilla: An Un-sponsored Randomized Open-Label Clinical Trial, 243–251. <https://doi.org/10.11607/jomi.te04>
- Meijer, H. J. A., & Bone, A. V. (2005). Bone quality at the implant site after reconstruction of a local defect of the maxillary anterior ridge with chin bone or

- deproteinised cancellous bovine bone, (June), 877–884.
<https://doi.org/10.1016/j.ijom.2005.04.017>
- Mellonig, J. T. (1992). Autogenous and allogeneic bone grafts in periodontal therapy. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 3(4), 333–352.
<https://doi.org/10.1177/10454411920030040201>
- Misch, C. M. (2010). Autogenous Bone: Is It Still the Gold Standard? *Implant Dentistry*, 19(5), 361. <https://doi.org/10.1097/ID.0b013e3181f8115b>
- Misch, C., & Wang, H.-L. (2011). Clinical Applications of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 for Bone Augmentation Before Dental Implant Placement. *Clinical Advances in Periodontics*, 1(2), 118–131.
<https://doi.org/10.1902/cap.2011.110037>
- Mjh, N., Lgn, M., Srm, B., Se, F., & Vg, G. (2009). Effect of platelet-rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical-size defects, (1997), 775–783.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01450.x>
- Monje, A., Chan, H., Moreno, P. G., Elnayef, B., Amo, F. S., Wang, F., & Wang, H. (2015). Alveolar Bone Architecture : A Systematic Review and Meta-Analysis, 1–31. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150263>
- Morelli, T., Neiva, R., & Wang, H.-L. (2009). Human histology of allogeneic block grafts for alveolar ridge augmentation: case report. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 29(6), 649–656.
- MOSESSON, M. W., SIEBENLIST, K. R., & MEH, D. A. (2006). The Structure and Biological Features of Fibrinogen and Fibrin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 936(1), 11–30. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03491.x>
- Nakashima, T., Hayashi, M., Fukunaga, T., Kurata, K., Oh-Hora, M., Feng, J. Q., ... Takayanagi, H. (2011). Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nature Medicine*, 17(10), 1231–1234.
<https://doi.org/10.1038/nm.2452>
- Nauth, A., Ristevski, B., Li, R., & Schemitsch, E. H. (2011). Growth factors and bone regeneration : How much bone can we expect ?, 42, 574–579.
<https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.03.034>
- Newman, M. G., & Takei, H. H. (2018). *Newman and Carranza ' s Clinical Periodontology THIRTEENTH EDITION*.
- Nissan, J., Marilena, V., Gross, O., Mardinger, O., & Chaushu, G. (2011). Histomorphometric analysis following augmentation of the posterior mandible using cancellous bone-block allograft. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 97 A(4), 509–513. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33096>
- Nkenke, E., & Neukam, F. W. (2014). Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. *European Journal of Oral Implantology*, 7 Suppl 2, S203-17.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0377-1237\(17\)30293-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0377-1237(17)30293-9)
- Osborn, T. M., Helal, D., & Mehra, P. (2018). Iliac crest bone grafting for mandibular reconstruction: 10-year experience outcomes. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 8(1), 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2017.12.001>
- Park, J. Y., & Davies, J. E. (2000). Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clinical Oral Implants Research*, 11(6), 530–539.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2000.011006530.x>
- Perry, C. R., Cole, J. D., & Calhoun, J. H. (2006). NIH Public Access. *Bone*, 1(Pt 2), 1–17.

- Peterson, E. L. J., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich plasma Growth factor enhancement for bone grafts, *85*(6), 638–646.
- Pierce, G. F., Tarpley, J. E., Yanagihara, D., Mustoe, T. A., Fox, G. M., & Thomason, A. (1992). Platelet-derived growth factor (BB homodimer), transforming growth factor-beta 1, and basic fibroblast growth factor in dermal wound healing. Neovessel and matrix formation and cessation of repair. *The American Journal of Pathology*, *140*(6), 1375–1388. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1886553&tool=pmc&entrez&rendertype=abstract>
- Petrokovski, J. (n.d.). The bony residual ridge in man, 456–462.
- Pripatnanont, P., Nuntanaranont, T., Vongvatcharanon, S., & Phurisat, K. (2013). The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, *41*(8), e191–e200. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2013.01.018>
- Ribeiro Filho, S. A., Francischone, C. E., De Oliveira, J. C., Ribeiro, L. Z., Do Prado, F. Z. X., & Sotto-Maior, B. S. (2015). Bone augmentation of the atrophic anterior maxilla for dental implants using rhBMP-2 and titanium mesh: Histological and tomographic analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *44*(12), 1492–1498. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2015.07.004>
- Richard, M., & Joseph, C. (2017). *Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry*.
- Roberts, A., & Sporn, M. (1993). Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor- β^2 (TGF- β^2). *Growth Factors*, *8*, 1–9. Retrieved from <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/08977199309029129>
- Rocchietta, I., Simion, M., Hoffmann, M., Trisciuglio, D., Benigni, M., & Dahlin, C. (2016). Vertical Bone Augmentation with an Autogenous Block or Particles in Combination with Guided Bone Regeneration: A Clinical and Histological Preliminary Study in Humans. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, *18*(1), 19–29. <https://doi.org/10.1111/cid.12267>
- Roden, R. D. (2010). Principles of Bone Grafting. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, *22*(3), 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2010.06.001>
- Rozé, J., Babu, S., Saffarzadeh, A., Gayet-Delacroix, M., Hoornaert, A., & Layrolle, P. (2009). Correlating implant stability to bone structure. *Clinical Oral Implants Research*, *20*(10), 1140–1145. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01745.x>
- Ruj, E. (n.d.). *H istología*.
- Sakkas, A., Wilde, F., Heufelder, M., Winter, K., & Schramm, A. (2017). Autogenous bone grafts in oral implantology—is it still a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *International Journal of Implant Dentistry*, *3*(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s40729-017-0084-4>
- Schmoekel, H., Schense, J. C., Weber, F. E., Grätz, K. W., Gnägi, D., Müller, R., & Hubbell, J. A. (2004). Bone healing in the rat and dog with nonglycosylated BMP-2 demonstrating low solubility in fibrin matrices. *Journal of Orthopaedic Research*, *22*(2), 376–381. [https://doi.org/10.1016/S0736-0266\(03\)00188-8](https://doi.org/10.1016/S0736-0266(03)00188-8)
- Shimono, K., Oshima, M., Arakawa, H., Kimura, A., Nawachi, K., & Kuboki, T. (2010). The effect of growth factors for bone augmentation to enable dental implant placement : A systematic review. *Japanese Dental Science Review*, *46*(1), 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2009.10.004>
- Simion, M., Fontana, F., Rasperini, G., & Maiorana, C. (2007). Vertical ridge

- augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clinical Oral Implants Research*, 18(5), 620–629. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01389.x>
- Simmons, D. E., Maney, P., Teitelbaum, A. G., Billiot, S., Popat, L. J., & Palaiologou, A. A. (2017). Comparative evaluation of the stability of two different dental implant designs and surgical protocols—a pilot study. *International Journal of Implant Dentistry*, 3(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s40729-017-0078-2>
- Simonpieri, A., Del Corso, M., Sammartino, G., & Dohan Ehrenfest, D. M. (2009). The Relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin and Metronidazole During Complex Maxillary Rehabilitations Using Bone Allograft. Part I: A New Grafting Protocol. *Implant Dentistry*, 18(2), 102–111. <https://doi.org/10.1097/ID.0b013e318198cf00>
- Sodek, J., & McKee, M. D. (2000). Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology*, 24, 99–126. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2240106.x>
- Spagnoli, D. B., & Marx, R. E. (2011). Dental implants and the use of rhBMP-2. *Dental Clinics of North America*, 55(4), 883–907. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2011.07.014>
- Tayapongsak, P., Wimsatt, J. A., LaBanc, J. P., & Dolwick, M. F. (1994). Morbidity from anterior ilium bone harvest. A comparative study of lateral versus medial surgical approach. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 78(3), 296–300. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(94\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0030-4220(94)90057-4)
- Tetè, S., Vinci, R., Zara, S., Zizzari, V., De Carlo, A., Falco, G., ... Gherlone, E. (2011). Long-term evaluation of maxillary reconstruction by iliac bone graft. *Journal of Craniofacial Surgery*, 22(5), 1702–1707. <https://doi.org/10.1097/SCS.0b013e31822e5cbd>
- Tomford, W. W., & Mankin, H. J. (1999). BONE BANKING Update on Methods and Materials, 30(4), 565–570.
- Troeltzsch, M., Troeltzsch, M., Kauffmann, P., Gruber, R., Brockmeyer, P., Moser, N., ... Schliephake, H. (2016). Clinical efficacy of grafting materials in alveolar ridge augmentation: A systematic review. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 44(10), 1618–1629. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.07.028>
- Uggeri, J., Belletti, S., Guizzardi, S., Poli, T., Cantarelli, S., Scandroglio, R., & Gatti, R. (2007). Dose-Dependent Effects of Platelet Gel Releasate on Activities of Human Osteoblasts. *Journal of Periodontology*, 78(10), 1985–1991. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.070116>
- Vootla, N. R., & Reddy, K. V. (2017). Osseointegration- Key Factors Affecting Its Success-An Overview, 16(4), 62–68. <https://doi.org/10.9790/0853-1604056268>
- Wakimoto, M., Matsumura, T., Ueno, T., Mizukawa, N., Yanagi, Y., & Iida, S. (2012). Bone quality and quantity of the anterior maxillary trabecular bone in dental implant sites. *Clinical Oral Implants Research*, 23(11), 1314–1319. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02347.x>
- Wikesjö, U. M. E., Huang, Y. H., Polimeni, G., & Qahash, M. (2007). Bone Morphogenetic Proteins: A Realistic Alternative to Bone Grafting for Alveolar Reconstruction. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 19(4), 535–551. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2007.07.004>
- Winder, T., & Lenz, H. J. (2010). Vascular Endothelial Growth Factor and Epidermal Growth Factor Signaling Pathways as Therapeutic Targets for Colorectal Cancer.

- Gastroenterology*, 138(6), 2163–2176.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.02.005>
- Wojtowicz, A., Chaberek, S., Kryst, L., Urbanowska, E., Ciechowicz, K., & Ostrowski, K. (2003). Fourier and fractal analysis of maxillary alveolar ridge repair using platelet rich plasma (PRP) and inorganic bovine bone. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 32(1), 84–86. <https://doi.org/10.1054/ijom.2002.0310>
- Xavier, S. P., Santos, T. D. S., Sehn, F. P., Silva, E. R., Garcez-Filho, J. D. A., & Martins-Filho, P. R. S. (2016). Maxillary sinus grafting with fresh frozen allograft versus bovine bone mineral: A tomographic and histological study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 44(6), 708–714. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.03.005>
- Ye, S., Seo, K. B., Park, B. H., Song, K. J., Kim, J. R., Jang, K. Y., ... Lee, K. B. (2013). Comparison of the osteogenic potential of bone dust and iliac bone chip. *Spine Journal*, 13(11), 1659–1666. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.08.023>
- Zhang, Y., Tangl, S., Huber, C. D., Lin, Y., Qiu, L., & Rausch-fan, X. (2012). Effects of Choukroun ' s platelet-rich fi brin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation : A histological and histomorphometric study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 40(4), 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2011.04.020>