

Análisis histológico e histomorfométrico de sitios previamente injertados en pacientes fumadores y no fumadores

Histological and histomorphometric analysis of previously grafted sites in smokers and non-smokers

Diana Valentina Perez Arenas: Odontóloga, Universidad Católica Santiago de Guayaquil. Residente Especialización en Periodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. pe.diana@javeriana.edu.co

María José Bazurto Quinteros: Odontóloga, Universidad Católica Santiago de Guayaquil. Residente Especialización en Periodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. bazurtoq_maria@javeriana.edu.co

Mariana Carolina Uzcátegui Ponce: Odontóloga, Residente Especialización en Periodoncia, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. muzcategui@javeriana.edu.co

Andrés Felipe Vieira Ramírez: Odontólogo, Especialista en Periodoncia. Profesor Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. afvieira@javeriana.edu.com

Mauricio Gómez Guzmán: Odontólogo, Especialista en Periodoncia. Profesor Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. mauriciogomez@javeriana.edu.co

Adriana Rodríguez: Bacterióloga, Magistra en Microbiología. Profesora Asociada, Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. arodrig@javeriana.edu.co

Gracias a la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana (PUJ) por su apoyo con la prestación del espacio y tecnología para la realización de esta investigación y por la aprobación del Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología de la PUJ.

Titulillo: Regeneración ósea guiada en fumadores

Análisis histológico e histomorfométrico de sitios previamente injertados en pacientes fumadores y no fumadores

Resumen

Antecedentes: En la actualidad es muy común la necesidad de procedimientos regenerativos en rebordes residuales deficientes para una posterior rehabilitación implanto soportada. Se ha demostrado que las toxinas del cigarrillo influyen negativamente en la oxigenación y cicatrización de los tejidos, considerándose un factor de riesgo a tomar en cuenta al momento de realizar procedimientos quirúrgicos. **Objetivo:** Establecer las diferencias histológicas e histomorfométricas de las muestras residuales obtenidas por colocación de implantes en sitios con previa regeneración ósea con aloinjertos y/o xenoinjertos en pacientes fumadores y no fumadores. **Métodos:** En el presente estudio participaron 15 sujetos que cumplían con los criterios de inclusión, a los cuales se les tomaron muestras de 19 sitios regenerados al momento de la cirugía para colocación del implante. Se tomó una muestra ósea con una fresa trefina de 2x10mm. Se realizó un análisis histológico e histomorfométrico para determinar la cantidad de hueso neoformado, el porcentaje de material de injerto residual y el número de células óseas. **Resultados:** El porcentaje promedio de hueso neoformado en fumadores fue de 48,08% y en no fumadores de 51,92%. El promedio de osteocitos fue de 26 para el grupo de fumadores y de 31 para los no fumadores; de osteoblastos 31 y 29 y para los osteoclastos 2 y 1 respectivamente. **Conclusión:** No hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la neoformación ósea y la cantidad de material de injerto residual en los sitios que fueron sometidos a regeneración ósea guiada con xenoinjerto y/o aloinjerto en pacientes fumadores y no fumadores. **Palabras clave:** Aloinjerto; fumadores; regeneración ósea; xenoinjerto. Periodoncia; Cirugía Oral.

Histological and histomorphometric analysis of previously grafted sites in smokers and non-smokers

Abstract

Background: Currently, the need for regenerative procedures in deficient residual ridges for a subsequent implant-supported rehabilitation is very common. Cigarette toxins have been shown to negatively influence tissue oxygenation and healing, being considered a risk factor to take into account when performing surgical procedures. **Purpose:** To establish the histological and histomorphometric differences of the residual samples obtained by placing implants in sites with previous bone regeneration with allografts and / or xenografts in smokers and non-smokers. **Methods:** 15 subjects participated, from whom samples were taken from 19 regenerated sites at the time of implant surgery, a bone sample was taken with a 2x10mm trephine bur. Histological and histomorphometric analysis was performed to determine the amount of newly formed bone and residual graft material. **Results:** The average percentage of newly formed bone in smokers was 48,08% and in non-smokers it was 51,92%. Despite the differences in the percentages, no statistically significant differences were found between the two groups. **Conclusion:** There are no statistically significant differences regarding new bone formation and the amount of residual graft material at sites that underwent xenograft and / or allograft guided bone regeneration in smokers and non-smokers.

Keywords: Allograft; bone regeneration; smoking; xenograft.
Periodontics, Oral Surgery.

Introducción

El alto índice de pérdida de dientes en adultos (3,51 a 17,67%); ha llevado a buscar soluciones protésicas al edentulismo parcial o total, el cual conlleva a implicaciones estéticas, fonéticas y funcionales en estos pacientes (1).

Posterior a la pérdida de un diente, durante la cicatrización ósea del espacio edéntulo, se da un proceso de reabsorción y aposición mediado por los osteoclastos y osteoblastos por medio de la vía Receptor Activador del Factor Nuclear-Kappa B - Receptor Activador del Factor Nuclear-Kappa B Ligando – Osteoprotegerina (RANK-RANKL-OPG); que conlleva a deficiencias del reborde alveolar residual (2).

Actualmente, uno de los tratamientos más comunes para estos espacios edéntulos son las prótesis implanto soportadas y con frecuencia acuden a la consulta pacientes con rebordes óseos deficientes que dificultan esta rehabilitación si no presentan las condiciones adecuadas óseas en términos de dimensiones y calidad, en las que se necesitara del uso de técnicas regenerativas, como la regeneración ósea guiada (ROG), para incrementar y recuperar el reborde alveolar perdido previo a la colocación de un implante (3-5).

La ROG es una alternativa de reconstrucción de defectos óseos que se dan posterior a la pérdida de dientes y tienen como finalidad restablecer la integridad anatómica y funcional del reborde alveolar para su posterior rehabilitación funcional y estable a largo plazo, la cual debe considerarse cuando se puede ver afectada la estabilidad primaria del implante por deficiencias en el volumen óseo (2, 6, 7). La ROG es un procedimiento derivado de la regeneración tisular guiada; y ocurre en el momento en que se evita la entrada de células y tejido no osteogénico cuando las células osteoprogenitoras llegan al sitio que se desea regenerar. El procedimiento de regeneración ósea guiada es una técnica que utiliza principalmente, un material de injerto óseo, que puede ser aloinjerto, xenoinjerto y materiales aloplásticos, cubierto con una membrana de barrera (3, 8, 9).

Para lograr el éxito de estos procedimientos, es necesaria una adecuada cicatrización, y algún retraso en la misma puede aumentar la morbilidad del riesgo de infecciones y puede prolongar el tiempo de malestar del paciente (10). La oxigenación del tejido es un aspecto primordial para obtener una adecuada cicatrización ósea. Este proceso se encuentra afectado en los pacientes fumadores, en quienes se puede dar una hipoxia tisular inducida por la nicotina, y a su vez puede producir un aumento en la adhesión plaquetaria ocasionando oclusión microvascular trombótica y posteriormente una isquemia tisular (11-13).

Estudios previos han demostrado que la exposición al tabaco estimula la producción de mediadores inflamatorios y citocinas como prostaglandina E2 (PGE2) e interleuquina-1 (IL-1) en la cavidad oral, las cuales participan en la inflamación epidérmica y la proliferación epitelial (14). Además, se ha evidenciado que en la encía inflamada los macrófagos activados producen citocinas como IL-1 β y TNF- α que, aunque sirven como parte del sistema de defensa del huésped, también pueden inducir a los fibroblastos gingivales residentes a producir colagenasa y otras enzimas que causan la destrucción periodontal (15).

Se ha informado sobre distintos mecanismos fisiopatológicos directos e indirectos del tabaquismo sobre el tejido óseo. (16) Entre los mecanismos indirectos se ha descrito un aumento en el nivel de cortisol que altera el metabolismo óseo y disminuye la masa ósea al cambiar las actividades de los osteoblastos y osteoclastos. También, se ha informado de una asociación con niveles elevados de radicales libres que pueden aumentar la resorción ósea y contribuir a una menor masa ósea. (xx)

La nicotina es el principal componente vasoactivo de la fase gaseosa del humo del cigarrillo, y tiene un efecto inhibitor sobre la osteogénesis y la angiogénesis que desempeñan un papel clave en el metabolismo óseo (16, 17). Esta es una sustancia citotóxica que al volatilizarse produce sustancias como: acroleína, acetaldehído y monóxido de carbono, que producen una disminución en la proliferación de los fibroblastos, macrófagos y osteoblastos, que son los responsables de llegar al sitio de la lesión y secretar sustancias reparadoras para inducir la cicatrización; y además tienen gran afinidad por la hemoglobina, creando así enlaces más fuertes que el del oxígeno, por lo que se disminuye la capacidad de la hemoglobina para el transporte del mismo, retrasando y alterando el proceso de cicatrización en términos de revascularización tanto de los tejidos blandos como duros (12, 15, 17). Este compuesto se une a los receptores nicotínicos de los osteoblastos. A niveles bajos, esta unión aumenta la proliferación celular, mientras que a niveles más altos inhibe la producción de osteoblastos, provocando la muerte celular. (16)

En una revisión de la literatura describieron que los efectos de las toxinas del cigarrillo influyen negativamente en la cicatrización de las heridas, considerándolo un factor de riesgo importante a tomar en cuenta al momento de realizar una intervención quirúrgica por ser un posible causante de la pérdida de los injertos óseos y los implantes dentales (11). Adicionalmente, la temperatura promedio del cigarrillo en la boca alcanza los 84°C lo que produce transferencia de temperatura a los tejidos periodontales y por consiguiente una afectación de estos y a su vez de la supervivencia de los injertos óseos (11).

En el estudio de Mayfield y colaboradores, el cual tenía como objetivo evaluar los tejidos periimplantares en zonas previamente regeneradas después de la carga funcional, identificaron el fumar cigarrillos como un factor de riesgo significativo para el tratamiento con implantes dentales, debido a que el fumar tuvo un efecto perjudicial sobre el éxito y la tasa de supervivencia de los implantes y sus respectivos injertos óseos. El tabaquismo influyó negativamente en la cicatrización y contribuyó al fracaso temprano de estos implantes (18).

El objetivo de este estudio es analizar el efecto del cigarrillo en sitios tratados con regeneración ósea guiada con xenoinjerto y aloinjerto mediante un análisis histológico e histomorfométrico de muestras obtenidas posterior al proceso de regeneración en pacientes fumadores y no fumadores, para determinar si existen diferencias en la cicatrización ósea entre ambas poblaciones, y así definir si el cigarrillo representa un factor de riesgo significativo para este tipo de tratamientos.

Actualmente no se encuentran estudios en donde relacionen cuáles son las diferencias histológicas e histomorfométricas de las muestras residuales obtenidas en sitios con previa regeneración ósea en pacientes fumadores y no fumadores mediante la observación de la cantidad de hueso neoformado, de material de injerto residual y de células óseas presentes, para valorar parámetros de regeneración ósea. Por esta razón se realiza este estudio, para determinar si fumar afecta o no

el tipo de hueso obtenido posterior a la regeneración. Por lo cual se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son las diferencias histológicas e histomorfométricas de las muestras residuales obtenidas en sitios con previa regeneración ósea con xenoinjertos y/o aloinjertos en pacientes fumadores y no fumadores?

Materiales y métodos

Una vez aprobado el proyecto por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, se realizó un estudio observacional analítico de corte transversal en el que se recolectaron muestras de 15 pacientes que requerían de un procedimiento de regeneración ósea guiada para la colocación de implantes. Los pacientes fueron reclutados entre diciembre del 2017 hasta agosto del 2020.

Se tomó el material residual previo a colocación de implantes y posterior a que los pacientes hayan sido sometidos a procedimientos de regeneración ósea guiada. Se solicitó firma del consentimiento informado para donación de tejidos y órganos aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana. Los pacientes debían estar libres de enfermedad periodontal, para esto se realizó ambientación periodontal en las clínicas del posgrado de periodoncia de la facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana y en la práctica privada de los investigadores.

Los criterios de inclusión fueron: Pacientes mayores de 18 años, con defecto óseo en zona edéntula que requerían un procedimiento de regeneración ósea con aloinjerto o xenoinjerto (un sólo material o mezcla de ambos – 3 grupos: aloinjerto, xenoinjerto, mixto) previo a la colocación de implantes. Pacientes ASA I y II que si tenían alguna condición sistémica debía estar controlada. Dentro del grupo de los pacientes fumadores se incluyeron aquellos consumidores únicamente de cigarrillo.

Los pacientes fueron clasificados en fumadores (grupo prueba) y no fumadores (grupo control) según su hábito de fumar, y se registró la cantidad de cigarrillos diarios que referían consumir.

A todos los pacientes se les realizó un examen clínico que incluyó la historia clínica odontológica, con evaluación oral y radiográfica completa, además de una adecuada planeación quirúrgica y protésica. Las muestras fueron tomadas mínimo a los 7 meses posterior al procedimiento de regeneración en los pacientes regenerados con

aloinjerto, xenoinjerto o una mezcla de ambos; siendo mayor el tiempo a espera si fue mayor el porcentaje del xenoinjerto y menor tiempo si hubo mayor porcentaje de aloinjerto.

Al grupo de pacientes fumadores se les sugirió realizar un protocolo de cesación, descrito por Bain en 1996, para realizarse la intervención, pero fue decisión del paciente cumplir con este o no.

Protocolo quirúrgico

Antes de iniciar el procedimiento se tomó la presión arterial del paciente. Luego el paciente realizó un enjuague con clorhexidina al 0,2% por 30 segundos para reducir la carga bacteriana de la cavidad oral. Posteriormente se desinfectó la región perioral con una gasa impregnada con solución de yodo povidona al 10%.

Bajo anestesia local, se levantó un colgajo en la zona previamente injertada y se tomó una muestra de hueso 2 mm de diámetro con una fresa trefina/trepano de Salvin Dental Specialties 2mm x 10mm #TREP-H-SHORT-2) estandarizada. Estas muestras fueron colocadas en formalina al 10% las cuales fueron enviadas al laboratorio de histotecnología para su análisis histológico e histomorfométrico. (Figura 1)

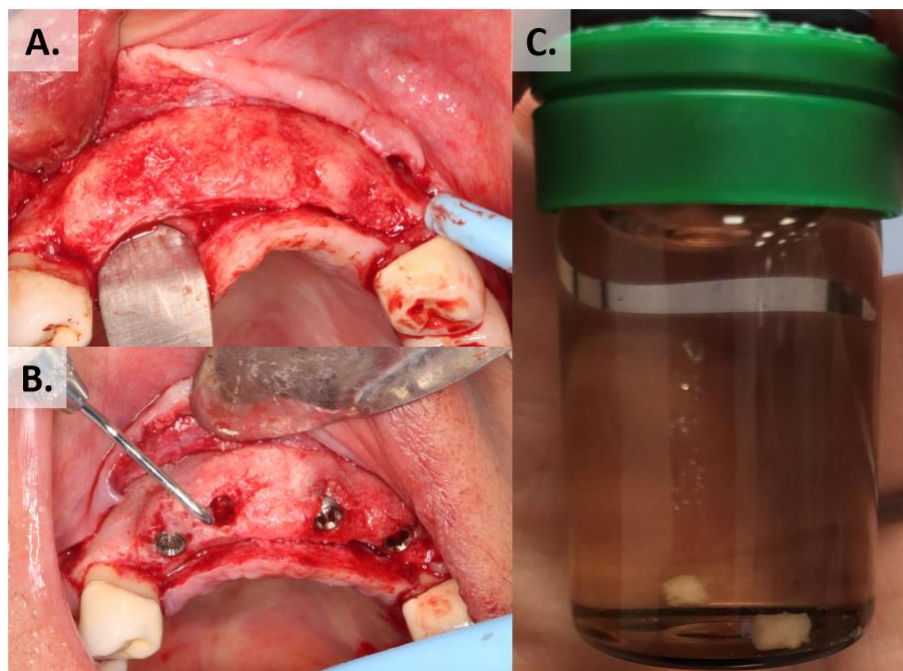


Figura 1.

Paciente #17. A) Elevación de colgajo mucoperióstico 12 meses posterior a la regeneración ósea guiada en zona anterosuperior con aloinjerto. B) Sonda periodontal midiendo el sitio

donde se tomó la muestra con fresa trefina/trepano (Salvin Dental Specialities 2 mm x 10 mm) de la zona regenerada. **C)** Biopsia ósea sumergida en formalina al 10%.

Procesamiento de las muestras

Se decalcificaron los especímenes con ácido nítrico durante 5 días con el fin de eliminar el material inorgánico. Las muestras se preservaron en un procesador de tejidos por 12 horas, el cual contenía 12 vasos con los siguientes líquidos:

1. 1 vaso con formol al 10% buferado con carbonato de sodio: utilizado para fijar la muestra
2. 7 vasos alcoholes absolutos: para la deshidratación del tejido
3. 2 vasos con xiloles: para el aclaramiento de la muestra
4. 2 vasos con parafina: para la Inclusión en parafina

Una vez terminado este proceso se confeccionó un bloque de parafina de bajo punto de fusión para incluir las piezas y realizar los posteriores cortes de 4-5 micras de espesor empleando un micrótom.

Los cortes se colocaron en baño maría y se depositaron en una lámina portaobjetos que se introdujo en un horno a 45° centígrados por 20 minutos para la remoción de la parafina. Se realizó la tinción con hematoxilina y eosina y tricrómica de Masson para poder observar las características morfológicas de las células encontradas, de la matriz y hueso neoformado, y la evaluación de la posible neoformación ósea.

Análisis histomorfométrico

Para la evaluación histomorfométrica de la muestra, se realizó un análisis ciego por un patólogo experto en el tema. Este análisis se realizó por medio del microscopio óptico de luz, Olympus Bx51 (Tokio, Japón). Se capturaron imágenes con una magnificación de 10x, 20x y 40x para determinar si hubo formación de células óseas y poder cuantificarlas, mediante una cámara digital Canon 7i asociada al microscopio; además se utilizó una técnica de luz polarizada para evaluar la refringencia de las estructuras. La cuantificación de las muestras se realizó con un software de dominio público: Image J, Us National Institutes of Health, disponible en internet en <http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>.

Para hacer el análisis de las muestras se realizó en primer lugar un barrido completo. A partir de éste se tomó un área de superficie determinada en micras cuadradas a un aumento de 20x y a 40x de la zona más central de la muestra por el software antes mencionado buscando cuantificar el número de osteoblastos, osteocitos y osteoclastos presentes; además se cuantificó la cantidad de hueso neoformado y cantidad de material residual de injerto óseo en porcentaje por área (μ^2).

La diferenciación de hueso compacto maduro con respecto al material de injerto y otras estructuras, se realizó evaluando las características cualitativas de hueso maduro (líneas de receso de la matriz osteoide) con las tinciones utilizadas (hematoxilina y eosina).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de las variables se realizó mediante una prueba de Wilcoxon (Mann-Whitney) para variables independientes no paramétricas, con un valor asignado de $\alpha = 0,05$. Este análisis se realizó sobre el porcentaje de área de hueso de un área de superficie escogida al azar de material residual de injerto.

Se realizó un análisis comparativo de los dos grupos de estudio, fumadores y no fumadores por medio de los porcentajes obtenidos por área de superficie cuantificando el porcentaje de material residual de injerto óseo y el porcentaje de hueso nativo presente en cada una de las muestras. Se analizaron y contrastaron las variables obtenidas de la población como edad, tiempo de espera para la toma de la muestra, el tipo de injerto y la cantidad de cigarrillos con la cantidad de hueso neoformado y material residual. Adicionalmente se analizó si la condición de fumador influyó en las células óseas encontradas.

Resultados

En el presente estudio participaron 15 sujetos que cumplían con los criterios de inclusión, a los cuales se les tomaron muestras de 19 sitios regenerados al momento de la cirugía para colocación de implantes, posterior al procedimiento de regeneración ósea guiada con xenoinjerto, aloinjerto y una mezcla de ambos, en rebordes atróficos. Siete de estos sujetos eran fumadores (46,66%) y 8 eran no fumadores (53,33%).

Se trataron 19 defectos óseos (19 muestras), las muestras #2 y #3 pertenecen a la misma paciente y las muestras #9 #10 #11 y #12 fueron también tomadas de la misma paciente, ambas fumadoras. Por lo que, 11 defectos correspondían a pacientes fumadores (57,89%) y 8 a pacientes no fumadores (42,10%). De los defectos tratados, 18 de ellos se encontraban en el maxilar superior: 5 zonas incisivas (26,31%), 6 zonas premolares (31,57%) y 7 zonas molares (36,84%). Y 1 defecto óseo en el maxilar inferior en la zona premolar (5,26%).

Con respecto a la técnica de intervención quirúrgica y la elección del material de regeneración, estas fueron elegidas por el operador según los requerimientos específicos de cada caso. Del grupo de los pacientes fumadores, 4 de ellos fueron regenerados con xenoinjerto, 1 con aloinjerto y 2 con mezcla de xeno y aloinjerto. Y del grupo de los pacientes no fumadores, 5 fueron regenerados con xenoinjerto, 1 con aloinjerto y 2 con una mezcla de xeno y aloinjerto.

El tiempo de espera para las tomas de las muestras varió entre 7 y 16 meses. Este tiempo no fue tan solo dependiente de los tiempos biológicos requeridos según el injerto utilizado, sino también de la disponibilidad de salas quirúrgicas de la Pontificia Universidad Javeriana y de la disponibilidad económica del paciente para realizarse la cirugía. No hubo complicaciones intraoperatorias en los procedimientos. Posterior a la intervención quirúrgica, todos los pacientes asistieron a las visitas de seguimiento. No se informaron complicaciones postquirúrgicas.

Al análisis histológico se pudo observar, además de las trabéculas óseas, sus células y los espacios medulares, el material residual del injerto en proceso de osteogénesis, es decir, rodeándose de hueso neoformado. El análisis de las muestras con luz polarizada, reveló la escasa refringencia del material injertado que se espera en los tejidos con fibras colágenas, cuando estos materiales de injerto describen contener dichas fibras entre sus elementos constitutivos según lo que reportan sus respectivas casas comerciales. Se presentan los cortes histológicos de 3 muestras en las figuras 2 y 3.

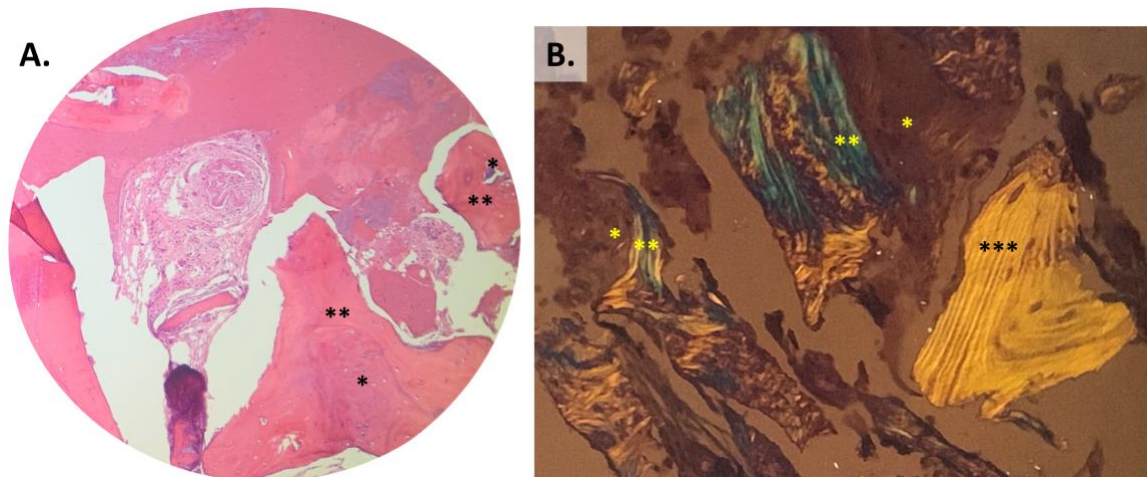


Figura 2.

Paciente (#15). A) Corte histológico con tinción de hematoxilina y eosina de muestra seleccionada. Se puede destacar la presencia de material de injerto residual () en proceso de reabsorción rodeado por hueso neoformado (**). B) Corte visto con luz polarizada. Se observa la resfringencia de la colágena del hueso nuevo (*) y del hueso maduro (***)*.

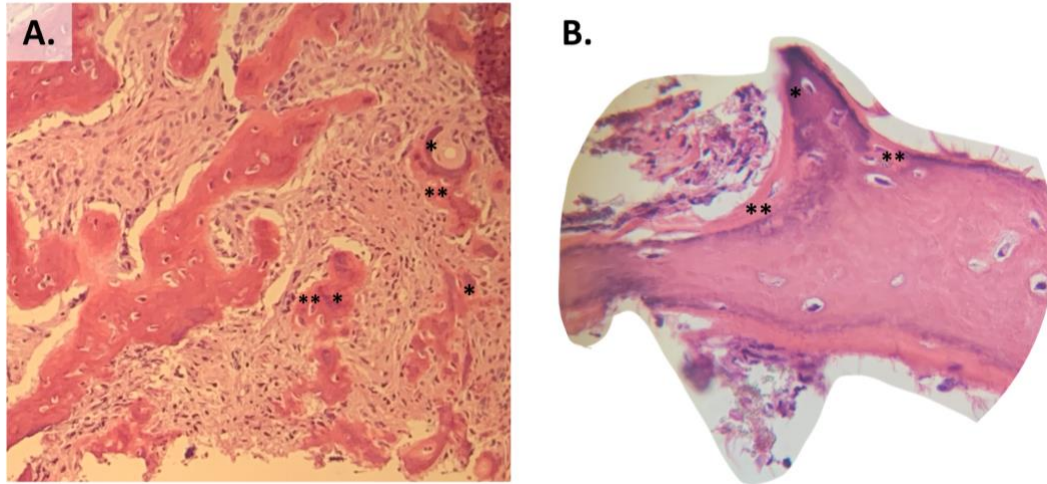


Figura 3.

Cortes histológicos con tinción de hematoxilina y eosina de muestras seleccionadas. A) Paciente (#14). Se puede destacar la presencia de material de injerto residual () en proceso de reabsorción rodeado por hueso neoformado (**) en presencia de osteocitos. B) Paciente (#13). Se observa proceso de reabsorción alrededor de las partículas de material de injerto residual (*) rodeado por hueso neoformado (**)*

A partir del procesamiento histológico de las muestras tomadas se obtuvieron resultados del porcentaje de hueso neoformado y el porcentaje de material de injerto encontrado por área analizada. El porcentaje de hueso neoformado varió de 10,67% a 77,76% en fumadores, con un promedio de 48,08% y de 24,23% a 73,31% en no fumadores, con un promedio de 51,92%; y el porcentaje de material de injerto residual vario de 22,24% a 89,33% en fumadores, con un promedio de 52,10% y de 26,69% a 75,77% en no fumadores, con un promedio de 47,90%, considerando que estos porcentajes son complementarios entre ellos para formar el área total de la muestra. (Tablas 1 y 2) (Figuras 4, 5 y 6)

Tabla 1: Muestras de pacientes fumadores (casos)

Muestra	Edad	Cigarrillos diarios	Protocolo cesación	Tipo de injerto	Tiempo de espera (meses)	Osteocitos	Osteoblastos	Osteoclastos	H. Neoformado	M. Injertado
2	60	2	No	Xenoinjerto	11	7	33	1	66,27%	33,73%
3	60	2	No	Xenoinjerto	11	29	36	3	28,90%	71,10%
5	71	5	No	Xenoinjerto y aloinjerto	7	14	26	0	77,76%	22,24%
8	23	6	Si	Xenoinjerto y aloinjerto	9	29	24	3	40,91%	59,09%
9	67	4	No	Aloinjerto	13	54	44	1	47,19%	52,81%
10	67	4	No	Aloinjerto	13	42	24	2	67,42%	32,58%
11	67	4	No	Aloinjerto	13	17	29	1	36,92%	63,08%
12	67	4	No	Aloinjerto	13	52	53	1	10,67%	89,33%
13	43	5	Si	Xenoinjerto	16	17	22	2	48,46%	51,54%
14	82	10	No	Xenoinjerto	7	15	24	3	50,87%	49,13%
15	66	4	Si	Xenoinjerto	9	15	22	1	53,53%	46,47%

Tabla 2: Muestras de pacientes no fumadores (controles)

Muestra	Edad	Tipo de injerto	Tiempo de espera (meses)	Osteocitos	Osteoblastos	Osteoclastos	H. Neoformado	M. Injertado
1	78	Xenoinjerto	16	14	18	1	73,31%	26,69%
4	19	Xenoinjerto	16	45	64	0	24,23%	75,77%
6	52	Xenoinjerto	7	48	45	3	55,12%	44,88%
7	70	Xenoinjerto	8	94	31	0	62,57%	37,43%
16	63	Xenoinjerto	11	10	18	1	51,56%	48,44%
17	66	Aloinjerto	12	14	20	0	49,79%	50,21%
18	73	Xenoinjerto y aloinjerto	15	6	13	2	49,95%	50,05%
19	76	Xenoinjerto y aloinjerto	15	15	25	2	50,30%	49,70%

Se realizó un análisis estadístico para determinar si el tipo de condición de fumador influyó sobre el valor de las variables de hueso neoformado y material de injerto residual. Para ello se procede a utilizar la prueba estadística no paramétrica de Mann-Whitney para muestras pequeñas en la que se plantearon las siguientes hipótesis nulas:

- a) El porcentaje de hueso neoformado es igual para fumadores y no fumadores
- b) El porcentaje de material de injerto residual es igual para fumadores y no fumadores

Para rechazar estas hipótesis los valores p obtenidos debían ser mayores a su nivel de significancia 0,05.

Para la hipótesis a no se encontraron elementos estadísticos suficientes como para rechazarla por lo que no se puede afirmar que existan diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de hueso neoformado para fumadores y no fumadores ($p=0,5357$).

Para la hipótesis b no se encontraron elementos estadísticos suficientes como para rechazarla, por lo que no se puede afirmar que existan diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de material de injerto residual para fumadores y no fumadores ($p=0,53657$).

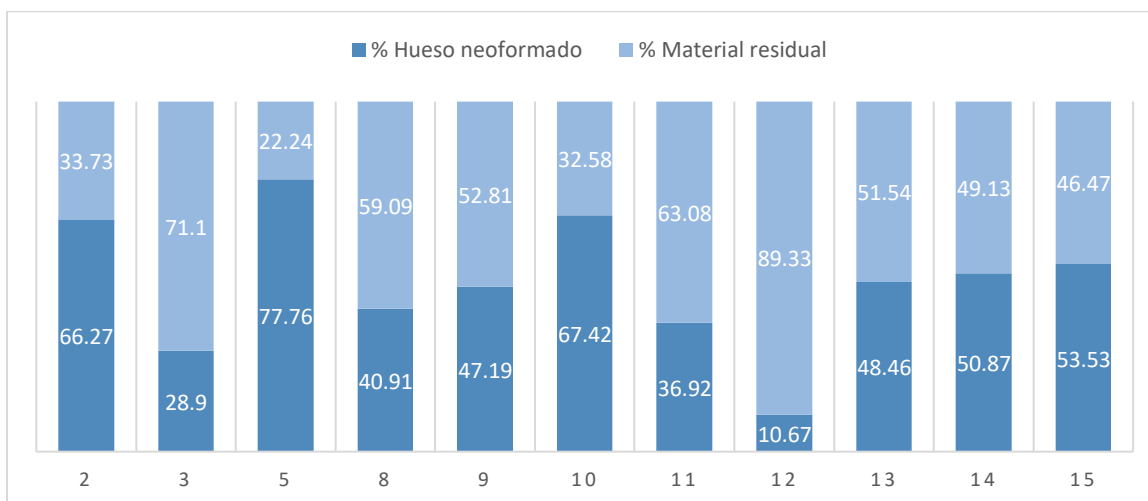


Figura 4. Grupo fumadores (casos). Porcentajes de hueso neoformado y material de injerto residual.

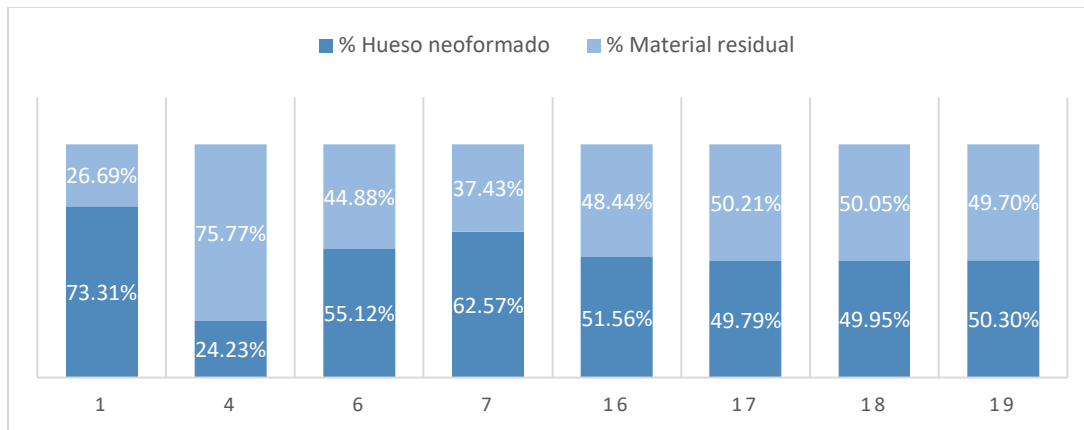


Figura 5. Grupo no fumadores (controles). Porcentajes de hueso neoformado y material de injerto residual.

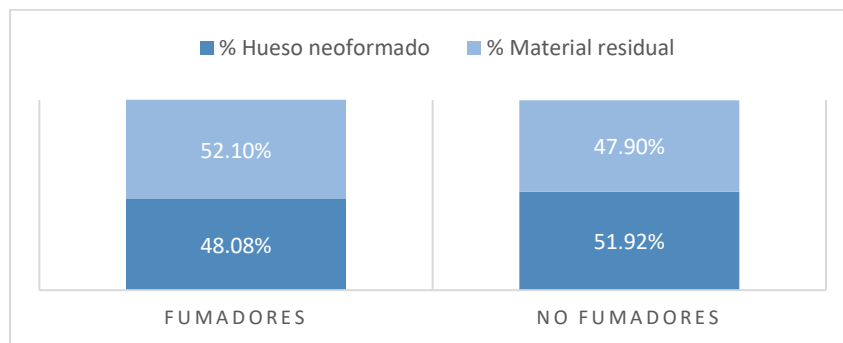


Figura 6. Grupo fumadores vs no fumadores (casos y controles)

De igual manera, se realizó la misma prueba estadística para analizar si el tipo de injerto (xenoinjerto o aloinjerto) influyó en la cantidad de hueso neoformado y material residual, es decir, si influyó en la regeneración. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de hueso neoformado ni material residual según el tipo de injerto ($p=0,2979$).

Para analizar si la edad de los pacientes influyó en la cantidad de hueso neoformado y material residual a través de la prueba estadística no paramétrica de Mann-Whitney, los grupos de edades se definieron a través del promedio de la variable, tratando de conseguir que cada grupo presentara al menos 5 muestras, en este caso la distribución que se obtuvo fue de 6 muestras para edades menores o iguales a 61 años y 13 muestras para personas con edades mayores a 61 años. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de hueso neoformado según el rango de edad ($p=0,2729$).

También se analizó si el tiempo de espera entre la regeneración y la toma de la muestra influyó en la cantidad de hueso neoformado y material residual con la misma prueba estadística. Para esto los tiempos de espera se definieron a través del promedio de la variable, tratando de conseguir que cada grupo presentara al menos 5 muestras, en este caso la distribución que se obtuvo fue de 9 muestras para tiempos menores o iguales a 11 meses y 10 muestras para personas con tiempos mayores a 11 meses. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de hueso neoformado según el tiempo de espera ($p=0,1530$).

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de células óseas encontradas en las muestras obtenidas de ambos grupos, fumadores y no fumadores; ni para osteocitos ($p=0,6494$), osteoblastos ($p=0,3859$), ni osteoclastos ($p=0,3234$).

Discusión

La ROG es una terapia de gran importancia en implantología para promover la regeneración en defectos óseos maxilares con la finalidad de crear un lecho adecuado para el posicionamiento de implantes dentales (2, 6, 7). Existen condiciones sistémicas o hábitos que podrían considerarse un factor de riesgo para el éxito de este tratamiento por sus implicaciones en la respuesta del huésped. Uno de estos es el cigarrillo, que se ha evidenciado que retrasa y altera el proceso de cicatrización en términos de revascularización tanto de los tejidos blandos y duros (12, 15, 17).

El presente estudio comparó, por medio de un análisis histológico e histomorfométrico, si existen diferencias en los resultados de la regeneración ósea guiada con xenoinjerto y/o aloinjerto, en pacientes fumadores y no fumadores a través de la cuantificación de la cantidad de hueso neoformado, material de injerto residual y células óseas presentes, en un tiempo de espera aproximado de 7 a 16 meses posterior a la regeneración. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de fumadores y no fumadores en términos de cantidad de hueso neoformado ni de material de injerto residual.

Al análisis histológico de las muestras obtenidas se pudo observar las trabéculas óseas, sus células (osteocitos, osteoblastos y osteoclastos), los espacios medulares y el material residual del injerto en proceso de osteogénesis, permitiendo evaluar la evolución de la regeneración ósea. En estudios anteriores han informado que la biopsia de tejido óseo es un procedimiento prácticamente inocuo y el más confiable para el diagnóstico de las enfermedades metabólicas óseas (19), por lo que es también utilizada para valorar el estado de zonas previamente regeneradas.

Los resultados obtenidos en este estudio evidenciaron resultados favorables y exitosos de las regeneraciones realizadas en los 19 defectos óseos tratados, tomando en consideración que todos los sitios intervenidos fueron aptos para la colocación de implantes dentales, lo que era el propósito del tratamiento regenerativo. El análisis histológico e histomorfométrico mostró la presencia de hueso neoformado y material de injerto residual en proceso de reabsorción, rodeando el hueso nuevo, evidenciando el correcto funcionamiento de la dinámica ósea que ha recibido el injerto, como un andamio para la formación de hueso nuevo.

La cantidad de hueso neoformado promedio para el grupo de fumadores fue del 48,08% y para el grupo de no fumadores fue de 51,92%, es decir, las diferencias entre ambos grupos de estudio no fueron significativas. De la misma manera, el promedio de material de injerto residual encontrado en el grupo de fumadores fue de 52,10% y para el grupo de no fumadores de 47,90%. Con estos resultados se puede resaltar de que además de no existir diferencias significativas en los resultados de estas variables, hubo un porcentaje ligeramente mayor de hueso neoformado en los pacientes no fumadores. Estos resultados se asemejan a los del estudio de Trombelli y col., en el que a pesar de que las técnicas y situaciones clínicas no coinciden con las de este estudio, ya que ellos evaluaron la efectividad de un procedimiento regenerativo en asociación con proteínas de la matriz

del esmalte (EMP) en el tratamiento de defectos intraóseos profundos, un porcentaje de su población eran fumadores y al evaluar los resultados de la regeneración ósea, se observó una tendencia hacia un efecto negativo del tabaquismo; sin embargo, esta tendencia fue mínima y no alcanzó significancia estadística (20), denotando que esta condición no siempre tiene implicaciones representativas en el resultado de los tratamientos regenerativos.

En estudios previos, se ha informado que existe una acción negativa del tabaco que tiene origen multifactorial y abarca la afectación circulatoria y, por lo tanto, la cicatrización (12). En la revisión sistemática y metanálisis de Patel y colaboradores, que tenía como objetivo examinar si fumar afecta la regeneración del hueso periodontal, informaron que este hábito tiene un efecto negativo sobre la regeneración ósea. Seis de los 10 estudios incluidos concluyeron que fumar influyó significativamente en la ganancia ósea o el relleno óseo en los defectos periodontales después de su intervención quirúrgica (21).

No obstante, la paciente a la que le corresponden las muestras #9, #10, #11 y #12, es una paciente fumadora que no realizó protocolo de cesación y sus porcentajes de hueso neoformado van del 10,67% al 67,42%, es decir, presentan una gran variabilidad. Estos hallazgos podrían indicar que la cantidad y calidad de la regeneración ósea no solo depende de variables que diferencien a un paciente de otro, sino también de factores dependientes del sitio intervenido como la morfología del defecto, el trauma quirúrgico, el reborde residual, la ubicación del defecto y su vascularización o la presencia de factores locales, como factores de crecimiento y citoquinas presentes (22), que no pueden ser controlados por el investigador o el operador y podrían influir en los resultados obtenidos. Estos resultados también podrían relacionarse con la toma y almacenamiento de la biopsia.

En un estudio reciente en el que investigaron, mediante microtomografía computarizada de rayos X, microscopía electrónica de barrido electrónico retrodispersado y espectroscopía Raman, si fumar afecta la microestructura ósea y la composición de la matriz extracelular dentro del alveolo post exodoncia; determinaron que la regeneración del hueso alveolar después de la extracción del diente sigue patrones similares en los fumadores y no fumadores, exhibiendo una alta heterogeneidad inter e intraindividual en ambos grupos. Shah y cols. afirmaron que la microestructura ósea y sus características específicas no se alteran significativamente por el tabaquismo moderado a severo (23).

Con el fin de analizar si alguna otra variable de la muestra tuvo influencia en el resultado de la regeneración, se analizó si el tipo de injerto utilizado, la edad del paciente, el tiempo de espera para la toma de la muestra o la realización de un protocolo de cesación en los pacientes fumadores, afectaron la cantidad de hueso neoformado.

Con respecto al porcentaje de hueso neoformado según el tipo de injerto, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. A diferencia de estudios como el de Vance y cols., que fue un estudio clínico aleatorizado, controlado y ciego (ECA), en donde los autores compararon las dimensiones y características histológicas de sitios regenerados con aloinjerto y xenoinjerto en 24 pacientes previo a la colocación de implantes. Las biopsias demostraron que el aloinjerto produjo un relleno óseo con mayor presencia de hueso nuevo que el uso de un xenoinjerto, debido a que se reabsorbe y reemplaza con hueso vital y vascularizado de manera más rápida y en un

grado más alto que el injerto Bio-Oss, el cual a menudo está rodeado de tejido fibroso y tarda más en incorporarse al hueso huésped (24, 25).

A pesar de que en el estudio de Froum y cols., en el que evaluaron histomorfométricamente el hueso neoformado en 13 sitios injertados con xenoinjerto y aloinjerto, encontraron significativamente mayor neoformación ósea en los sitios regenerados con Puros (35%) en comparación con los de Bio-Oss (12%); histológicamente, tanto las partículas de Puros como las de Bio-Oss estaban rodeadas de hueso nuevo, matriz osteoide y osteoblastos, es decir, ambos materiales demostraron un buen potencial regenerativo (26).

Si bien en el presente estudio el tipo de injerto no representó una variable con significación estadística sobre los valores de la ROG, hubo una tendencia hacia un mayor porcentaje de hueso neoformado en los grupos de fumadores y no fumadores regenerados con xenoinjerto en comparación con los regenerados con aloinjerto, lo que podría deberse a la mayor cantidad de muestras dentro del grupo de xenoinjerto. Esta tendencia contrasta con la que fue descrita en el estudio de Paknejad y cols., donde al comparar los mismos materiales de regeneración ya mencionados, no encuentran diferencias estadísticamente significativas, pero encuentran una mayor tendencia en el porcentaje de formación ósea con aloinjerto comparado con el de xenoinjerto por las características previamente descritas (27).

De los 15 pacientes tratados en este estudio, 10 de ellos tenían edades mayores a 61 años y a pesar de que se ha descrito previamente que existen factores relacionados con la edad que deprimen la osteogénesis y podrían tener implicaciones importantes para el tratamiento de los pacientes geriátricos por: su capacidad deteriorada de formación ósea, menor actividad de los osteoblastos, mayor actividad de los osteoclastos y menor potencial de diferenciación de las células madre de la médula ósea (28, 29); en este estudio la edad del paciente no representó diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de hueso neoformado. Otros estudios que han evaluado esta variable tampoco encontraron correlación con la cantidad de formación ósea (30). No obstante, en el estudio de Erdoğan indicaron que existe evidencia de que las tasas de éxito de los procedimientos de injerto disminuyen notablemente con la edad y ciertas afecciones sistémicas, como la osteoporosis, pero los estudios no han podido demostrar claramente esta relación (31).

Los tiempos de espera para la cicatrización y neoformación ósea previo a la toma de la muestra fueron mayores a 7 meses. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de hueso neoformado según el tiempo de espera, tomando en consideración que los grupos creados para el análisis estadístico se dividieron en menores o iguales a 11 meses y mayores a 11 meses. En estudios donde han descrito la presencia de neoformación ósea sin signos de reabsorción a partir de la regeneración con xenoinjerto, indican que el tiempo de cicatrización de aproximadamente 8 meses o más, se relacionó con un mayor porcentaje de hueso neoformado, en comparación con otros estudios los cuales tuvieron menor tiempo de espera, concluyendo que la madurez del hueso regenerado va a depender del tiempo (32). Autores como Ersanli y cols. informaron que, en un período de cicatrización de 7 meses, se produce la formación de hueso nuevo y la osteogénesis parece completarse, aunque aún esté presente biomaterial restante (8). Este material residual se lo podría encontrar en mayores porcentajes en las zonas regeneradas con xenoinjerto debido a que es un material de reabsorción lenta y requiere de un tiempo de

cicatrización de aproximadamente 9 meses. A diferencia del aloinjerto el cual requiere de un tiempo de cicatrización de aproximadamente 6- 8 meses (26).

En el grupo de los fumadores (7 pacientes), 3 de ellos cumplieron con el protocolo de cesación descrito por Bain en 1996, aconsejando el abandono completo del tabaco durante una semana antes y hasta 8 semanas después de la intervención para mejorar la cicatrización, la cual parece verse afectada en las personas con este hábito (33). No se evidenciaron mejorías en los resultados de la ROG en los pacientes que realizaron este protocolo. A diferencia del estudio de Morozumi y cols. en el que observaron que los niveles de flujo sanguíneo y líquido crevicular gingival aumentaban rápidamente, mejorando la microcirculación, aproximadamente al quinto día de dejar el hábito de fumar (33).

No se registraron complicaciones quirúrgicas ni postquirúrgicas, ni reacciones adversas relacionadas con los tratamientos realizados (ROG y toma de la muestra en la cirugía de colocación de implantes) en ninguno de los grupos, fumadores y no fumadores, contrastando con lo descrito en investigaciones anteriores en las que se establece una relación entre las complicaciones de estos procedimientos y el tabaquismo y aseguran que los pacientes que fuman tienen un mayor riesgo de complicaciones y una disminución en la calidad de los resultados postoperatorios (12, 34).

A partir de las investigaciones revisadas y la falta de literatura científica con objetivos como los del presente estudio, no es posible definir si el consumo de cigarrillo va a tener repercusiones en la ROG independientemente del injerto óseo utilizado (xenoinjerto y/o aloinjerto). Con base en los resultados obtenidos, el hábito de fumar no tuvo efectos negativos sobre los tratamientos regenerativos, sin embargo, no es posible dejar de considerar al tabaco como un factor de riesgo para cualquier intervención quirúrgica debido a la heterogeneidad de la literatura disponible.

La ROG mostró ser un tratamiento viable, con resultados predecibles al análisis histológico e histomorfométrico; y el cumplimiento de los objetivos clínicos del mismo, la colocación de un implante. En este análisis se pudo evidenciar el correcto funcionamiento de la dinámica ósea que ha recibido el injerto, su reabsorción progresiva funcionando como un andamio para la neoformación ósea.

Conclusiones

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la neoformación ósea y la cantidad de material de injerto residual en los sitios que fueron sometidos a regeneración ósea guiada con xenoinjerto y/o aloinjerto en pacientes fumadores y no fumadores. Y en el caso de los pacientes fumadores, el cumplimiento de un protocolo de cesación tampoco influyó en los resultados obtenidos.

Recomendaciones

Se requiere de más investigaciones con un mayor número de muestras que analicen todas las variables sistémicas que podrían repercutir en los procesos de cicatrización y regeneración en estos tratamientos y que realicen análisis histológicos e histomorfométricos, e incluso de biología molecular, para evaluar qué factores locales podrían tener consecuencias sobre la cantidad y calidad de la terapia regenerativa.

Bibliografía

1. (Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. IV Estudio Nacional de Salud Bucal (ENSAB IV). Situación en Salud Bucal. (2015). 1, 1-381.)
2. Monzón Trujillo D, Martínez Brito I, Rodríguez Sarduy R, Piña Rodríguez JJ, Mír P, Aurora E. Injertos óseos en implantología oral. *Revista Médica Electrónica*. 2014 Aug;36(4):449-61.
3. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci*. 2017 Oct;125(5):315-337. doi: 10.1111/eos.12364. Epub 2017 Aug 19. PMID: 28833567; PMCID: PMC5601292.
4. Van der Bergh JP, ten Burggenkate CM, Tuinzing DB. Preimplant surgery of the bony tissues. *J Prosthet Dent* 1998; 80:175-183. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(98\)70107-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(98)70107-6)
5. Widmark G, Andersson B, Carlsson GE, Lindwall AM, Wanoff CJ. Rehabilitation of patients with severely resorbed maxillae by means of implants with or without bone grafts: A 3 to 5 year follow-up clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001; 16:73-79.
6. Nevins M, Javonovic SA. Localized bone reconstruction as an adjunct to dental implant placement. *Curr Opin Periodontol* 1997; 4:109-118.
7. Keller EE, Tolman DE, Eckert S. Surgical-prosthetic reconstruction of advanced maxillary bone compromise with autogenous onlay block bone grafts and osseointegrated endosseous implants: A 12-year study of 32 consecutive patients. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999; 14:197-209.
8. Ersanli S, Olgac V, Leblebicioglu B. Histologic Analysis of Alveolar Bone Following Guided Bone Regeneration. *Journal of Periodontology*. 2004;75(5):750–6.
9. Albrektsson TO, Johansson CB, Sennerby L. Biological aspects of implant dentistry: Osseointegration. *Periodontol* 2000. 1994; 4:58-73. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.5.750>
10. Gil Cárdenas F, Osorio Daguer MR, Fortich Mesa N, Harris Ricardo J. Regeneración ósea en alvéolos dentarios de terceros molares mandibulares empleando plasma rico en plaquetas en pacientes fumadores. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*. 2018 Abr; 40(2): 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.maxilo.2017.02.001>
11. Blanco Ballesteros G. Como afecta el cigarrillo los implantes dentales. Revisión de la literatura. *Acta Odontológica Venezolana*. 2007 Nov; 46(2):198–204.
12. Schwartz-Arad D, Samet N, Samet N, Mamlider A. Smoking and complications of endosseous dental implants. *J Periodontol*. 2002 Feb;73(2):153-7. doi: 10.1902/jop.2002.73.2.153.
13. Ryder MI. The influence of smoking on host responses in periodontal infections. *Periodontol* 2000. 2007; 43:267-77. doi: 10.1111/j.1600-0757.2006.00163.x.
14. Johnson GK, Payne JB, Fili JM, Reinhardt RA, Organ CC, Slager SL. Development of smokeless tobacco-induced oral mucosal lesions. *J Oral Pathol Med* 1998; 27: 388 - 94. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1998.tb01972.x>
15. Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol*. 1995; 66:1056-64.
16. Al-Bashaireh AM, Haddad LG, Weaver M, Chengguo X, Kelly DL, Yoon S. The Effect of Tobacco Smoking on Bone Mass: An Overview of Pathophysiologic Mechanisms. *J Osteoporos*. 2018 Dec 2; 2018: 1206235. doi: 10.1155/2018/1206235. PMID: 30631414.

17. Mosely LH, Finseth F, Goody M. Nicotine and its effect on wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 1978; 61: 570 - 5. <https://doi.org/10.1902/jop.1995.66.12.1056>
18. Mayfield LJ, Skoglund A, Hising P, Lang NP, Attström R. Evaluation following functional loading of titanium fixtures placed in ridges augmented by deproteinized bone mineral. A human case study. *Clin Oral Implants Res.* 2001 Oct;12(5):508-14. doi: 10.1034/j.1600-0501.2001.120512.x.
19. Velásquez-forero Francisco H. Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar. *Patología Revista latinoamericana*, 2009, vol. 47, no 2.
20. Trombelli L, Bottega S, Zucchelli G. Supracrestal soft tissue preservation with enamel matrix proteins in treatment of deep intrabony defects. *J Clin Periodontol.* 2002; 29:433-439. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.2002.290508.x>
21. Patel RA, Wilson RF, Palmer RM. The effect of smoking on periodontal bone regeneration: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontology.* 2012; 83: 143 – 155. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110130>
22. Fernández Tresguerres, I., Gracia, A., Canto Pingarrón, M. D., & Blanco Jérez, L. (2006). Physiological bases of bone regeneration II: The remodeling process.
23. Shah FA, Sayardoust S, Omar O, Thomsen P, Palmquist A. Does Smoking Impair Bone Regeneration in the Dental Alveolar Socket? *Calcif Tissue Int.* 2019 Dec;105(6):619-629. doi: 10.1007/s00223-019-00610-4. Epub 2019 Sep 18. PMID: 31535164.
24. Vance G, Greenwell H, Miller R, Hill M, Johnston H, Scheetz J. Comparison of an allograft in an experimental putty carrier and a bovine-derived xenograft used in ridge preservation: a clinical and histologic study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004; 19(4): 491-497.
25. Noubissi S, Lozada J, Boyne P, Rohrer M, Clem D, Kim J, Prasad H. Clinical, histologic, and histomorphometric evaluation of mineralized solvent-dehydrated bone allograft (Puros) in human maxillary sinus grafts. *J Oral Implantol.* 2005; 31(4): 171-179.
26. Froum S, Wallace S, Elian N, Choon S, Tarnow D. 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. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006; 26(6): 543-551.
27. Paknejad M, Rokn A, Rouzmeh N, Heidari M, Titidej A, Kharazifard M, Mehrfard A. Histologic evaluation of bone healing capacity following application of inorganic bovine bone and a new allograft material in rabbit calvaria. *J Dent (Tehran).* 2015;12(1): 31-38.
28. Inoue K, Ohgushi H, Yoshikawa T, Okumura M, Sempuku T, Tamai S, Dohi Y. The effect of aging on bone formation in porous hydroxyapatite: biochemical and histological analysis. *Journal of Bone and Mineral Research*, (1997). 12(6), 989-994
29. Khosla S, Riggs BL. Pathophysiology of age-related bone loss and osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005 Dec;34(4):1015-30, xi. doi: 10.1016/j.ecl.2005.07.009. PMID: 16310636.
30. Toloue SM, Chesnoiu-Matei I, Blanchard SB. A clinical and histomorphometric study of calcium sulfate compared with freeze-dried bone allograft for alveolar ridge preservation. *Journal of periodontology*, (2012). 83(7), 847-855.
31. Erdoğan Ö, Shafer DM, Taxel P, Freilich MA. A review of the association between osteoporosis and alveolar ridge augmentation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, (2007). 104(6), 738-e1

32. Corinaldesi G, Pieri F, Marchetti C, Fini M, Aldini N, Giardino R. Histologic and Histomorphometric Evaluation of Alveolar Ridge Augmentation Using Bone Grafts and Titanium Micromesh in Humans J Periodontol 2007;78:1477-1484.
33. Morozumi T, Kubota T, Sato T, Okuda K, Yoshie H. Smoking cessation increases gingival blood flow and gingival crevicular fluid. Journal of clinical periodontology, (2004). 31(4), 267-272
34. Wong L, Martins-Green M. Firsthand cigarette smoke alters fibroblast migration and survival: implications for impaired healing. Wound repair and regeneration. 2004; vol. 12, 471 - 484(Wong & Martins Green. 2004). <https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2004.12403.x>