



ARRIENTI RENATO

**ACCIÓN LOCAL DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO EN POLVO LIOFILIZADO
ASOCIADA A INJERTOS ÓSEOS EN CIRUGÍA IMPLANTOLÓGICA. ESTUDIO
EXPERIMENTAL.**

Tesis presentada a la Facultad de
Odontología de la Universidad Nacional
de La Plata para optar al grado de
Magíster en Implantología Oral.

Director: Prof. Dr. Cesar Gabriel Luchetti
Codirectora: Prof. Dra. Alicia Kitrilakis

LA PLATA - ARGENTINA

2016

“Si vas a intentarlo ve hasta el final de lo contrario no empieces siquiera”

Charles Bukowsky

A mi Familia

AGRADECIMIENTOS

Prof. Dr. César Gabriel Luchetti

Por su desempeño fundamental en la dirección de este trabajo.

Prof. Dra. Alicia Elena Kitrilakis

Por su ayuda y codirección de esta tesis.

Prof. Mg. Adolfo Nicolas Baez

Por su apoyo y estímulo durante toda la carrera de Maestría en Implantología Oral, en especial por su colaboración para la realización de este trabajo.

Od. Mariel Soledad Montero

Por su apoyo incondicional para la elaboración de esta tesis.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es evaluar la acción local de la Hormona de Crecimiento Humana Recombinante (rhGH) en polvo liofilizado (Saizen®, Merck Serono S.A. Aubonne, Suiza), como adyuvante en el tratamiento para la regeneración ósea. Se evaluó su uso tanto de manera independiente, como también combinada con un material de injerto óseo de origen bovino (Osteodens®, Pharmatrix Div. Therabel Pharma S.A, Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina). Se utilizaron 15 ratas macho de la cepa Wistar de 16 semanas de edad, de 500g de peso procedentes del Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina (FCVUNLP). Las mismas fueron seleccionadas por muestreo aleatorio simple y luego divididas en 3 grupos. Todos los animales fueron operados bajo anestesia general con Ketamina/Xilacina 75 mg/kg + 10 mg/kg por vía intramuscular. Se les realizó una perforación, a 850 RPM, de 3mm de ancho por 9mm de largo y 3 mm de profundidad en el fémur izquierdo de cada animal. Al grupo 1 se le injertó la combinación de rhGH en polvo liofilizado y Matriz Mineral de Hueso Bovino Desproteínizado (DBBM), al grupo 2 se le injertó solo rhGH en polvo liofilizado y a los animales pertenecientes al grupo 3 no se les injertó ningún tipo de material en el defecto, siendo este el grupo con el defecto control. Una vez operados los animales permanecieron por 24 horas en la misma sala donde fueron intervenidos, luego de ese periodo pasaron a ser alojados en el pabellón de animales de experimentación del bioterio de la FCVUNLP. A los 30 días fueron sacrificados por inhalación de monóxido de carbono, y sus fémures resecados a fin de realizar preparados para su evaluación por microscopía óptica. Las muestras fueron digitalizadas y analizadas, pudiendo evaluarse la superficie de

hueso nuevo, es decir, el hueso regenerado dentro del defecto. La segmentación y cálculo de la superficie se realizó en base al color de la tinción (Hematoxilina-Eosina) y la calibración de la imagen con respecto a una medida patrón, mediante un analizador digital de imágenes. Se estudia la cantidad y calidad de hueso regenerado en cada una de las situaciones planteadas. El modelo experimental utilizado ha funcionado correctamente y no ha presentado mayores inconvenientes para su ejecución. La rhGH y la hidroxiapatita bovina utilizada no generaron respuestas adversas en ningún caso. La mayor **cantidad** de hueso regenerado fue obtenida con la combinación de la rhGH e hidroxiapatita bovina (Grupo 1), seguida por rhGH sola (Grupo 2) y por último el defecto control (Grupo 3). La mejor **calidad** ósea, en cuanto a su patrón arquitectónico, se observó con la hormona de crecimiento sola y con la hormona combinada con injerto (Buena), mientras que en el defecto control no fue satisfactoria (Mala). Dentro de los límites del presente trabajo, se puede concluir que la rhGH es agente inductor de la regeneración ósea cuando es aplicada localmente en el defecto óseo del modelo animal, igualmente se puede considerar como un posible agente terapéutico a nivel odontológico, principalmente dentro de las especialidades de Cirugía y Traumatología Bucomaxilofacial, Implantología Oral y Periodoncia.

INDICE GENERAL

TITULO	1
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	7
2. MARCO TEÓRICO	13
2.1. TEJIDO ÓSEO	13
2.2. INJERTOS ÓSEOS	57
2.3. HORMONA DE CRECIMIENTO	68
3. OBJETIVOS	88
4. HIPÓTESIS	88
5. MATERIALES Y MÉTODOS	89
5.1. GENERALIDADES	89
5.2. MODELO ANIMAL	91
5.3. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS	97
5.4. METODOLOGIA	98
6. RESULTADOS	109
6.1 MICROFOTOGRAFIAS	111
7. DISCUSIÓN	115
8. CONCLUSIONES	122
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124
ANEXOS	131

1. INTRODUCCIÓN

La implantología oral contemporánea tuvo su inicio a partir de los estudios del Dr. Brånemark en los años 60 del siglo XX. En estas investigaciones se conoció la propiedad del titanio comercialmente puro o aleaciones del mismo metal de conducir el crecimiento de tejido óseo yuxtapuesto a él, sin interposición de tejido conjuntivo o inflamatorio. Los estudios implantológicos en humanos, con la filosofía de Brånemark, empezaron en 1965 con un seguimiento durante 10 años y se publicaron en 1977.¹ A partir de los estudios del Dr. Per-Ingvar Brånemark se estableció el término oseointegración, el cual se ha incorporado de forma sólida y permanente en el lenguaje médico y odontológico.

La oseointegración se define como **una conexión directa, estructural y funcional entre el hueso vivo y la superficie de un implante sometido a una carga funcional**. Un implante oseointegrado es análogo a un diente anquilosado no reabsorbido.²

El tiempo necesario para que un implante dental alcance un grado de oseointegración eficaz, es mínimo de 12 semanas. Se ha demostrado experimentalmente, que el porcentaje de hueso directamente en contacto con la superficie del implante, alcanzará una cantidad adecuada sólo después de 3 meses; este porcentaje aumentará progresivamente en los siguientes 6 a 9 meses. De acuerdo a múltiples factores, está aceptado por la mayor parte de los autores, que el tiempo indicado para la carga de los implantes es de 3 meses para la mandíbula y de 6 meses para el maxilar superior.³

El éxito clínico en implantología oral puede ser mensurado de distintas formas. El corto intervalo de tiempo entre la cirugía de colocación de los implantes endoóseos y la rehabilitación protésica de los mismos, es un parámetro a tener en cuenta. Hoy en día, diversos autores y empresas, buscan dinamizar este proceso y aumentar la calidad de la oseointegración. Además de estudiar el diseño y el tamaño de los implantes dentales, se tienen en cuenta, las características de la superficie de los mismos, como por ejemplo: la composición, hidrofilia, rugosidad, desarrollando así, implantes con distintos tratamientos de superficie.^{4,5}

Según Davies JE, una vez que el implante se inserta en su sitio se inicia una cascada de sucesos biológicos. Al principio se produce la osteoconducción, que implica el reclutamiento y la migración de células osteogénicas a la superficie del implante. En segundo lugar se produce la formación de hueso nuevo que lleva al desarrollo de una matriz intersticial mineralizada seguida de un proceso de remodelación ósea. Este fenómeno puede estar bajo la influencia de la microtopografía de la superficie del implante.⁶

Sin embargo, es importante subrayar que el estado superficial de un implante no es el único requisito exigido para asegurar un anclaje duradero del mismo. Existen otras variables como el material del implante, el estado del hueso, la técnica quirúrgica, la calidad superficial, el diseño y las condiciones de carga del implante. Además, el estado sistémico, hábitos (por ej. el tabaquismo) e higiene del paciente están relacionadas con el éxito a largo plazo de la interfase directa hueso-implante.⁷

Anteriormente, en implantología oral, los tratamientos estaban guiados por la situación ósea del reborde residual del paciente, es decir, el implante se instalaba donde había cantidad suficiente de hueso para su colocación. Esta situación llevaba a la confección de prótesis dentales que no respetaban los principios de la rehabilitación oral, generando rehabilitaciones estética y funcionalmente desfavorables. En la actualidad, la ubicación de los implantes dentales está guiada por la futura prótesis, es decir, son protésicamente guiados. Una vez decidido el tipo de prótesis, se elige la ubicación precisa de los implantes endoóseos. Sin embargo, en muchas situaciones clínicas el paciente no presenta la cantidad de hueso suficiente para la realización de este procedimiento, siendo necesario técnicas de regeneración ósea para que sea posible la colocación de los implantes dentales en su posición ideal.

Regenerar el hueso perdido ha sido objeto de muchos estudios hace varias décadas. A partir del desarrollo de la implantología oral, se comenzaron a realizar una mayor cantidad de estudios con respecto a este tema, debido a la falta, en muchas ocasiones, de hueso disponible para la colocación implantes dentales. Es por esto, que en los últimos tiempos, las investigaciones han estado centradas en crear nuevo hueso donde sea necesario, y así poder aumentar el número de personas que puedan gozar de los beneficios de la implantología oral. Con este fin se han utilizado diversos materiales y técnicas. Dentro de ellos están las membranas, que actúan como una barrera para mantener el volumen de los defectos del hueso, aislándolo a su vez del tejido conjuntivo, y posibilitando así la regeneración a partir del tejido óseo circundante. No obstante, cuando el defecto óseo a tratar es muy grande, o bien no es favorable, es necesario realizar injertos de

hueso para ganar el volumen perdido. El uso de hueso del mismo paciente ha sido probado y es elegido como primera opción para estos procedimientos, aunque conlleva una cirugía adicional para tomar el hueso a injertar, usualmente de la zona del mentón, trígono retromolar, tuberosidad del maxilar, calota craneana o cresta ilíaca, dependiendo de la cantidad necesaria. Sin embargo, en muchas ocasiones esta cirugía es muy traumática para algunos pacientes. Para evitar este problema, se han propuesto aloinjertos (hueso humano procesado en diferentes formas), xenoinjertos (por ejemplo hueso bovino), o materiales aloplásticos a base de hidroxiapatita o fosfato de calcio. Si bien, las investigaciones de los últimos años han permitido aumentar la predictibilidad de todos estos procedimientos, es sabido que los mismos tienen tiempos lentos de evolución, lo que determina tratamientos aún más largos.

Además de las investigaciones que buscan dinamizar el proceso de oseointegración trabajando con las características de los implantes, hay distintos grupos de estudios que buscan modificar la fisiología de la reparación ósea, con el fin de acelerar los procedimientos de cicatrización, y por consiguiente disminuir los tiempos totales de tratamiento.^{8,9,10,11,12,13}

Se ha investigado y estudiado el uso de diferentes proteínas endógenas, conocidas como factores de crecimiento (**GFs**), las cuales estimulan de forma directa o indirecta las células osteogénicas. Los factores de crecimiento óseo pueden, por un lado, estimular la formación y mineralización del hueso induciendo a las células mesenquimales indiferenciadas a que se diferencien en células óseas, como también desencadenar una cascada de reacciones intracelulares y liberar factores de crecimiento óseo adicionales y estimulantes de las células. Se han identificado y clasificado cerca de 50 factores de crecimiento conocidos, algunos de ellos son

específicos de la curación ósea, como por ejemplo: factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento transformante (TGF), factor de crecimiento tipo insulina (IGF), plasma rico en plaquetas (PRP) y proteínas morfogenéticas del hueso (BMP).¹⁴

Entre los factores de crecimiento se destaca la hormona de crecimiento (**GH - Growth Hormone**) que es una reguladora fundamental del crecimiento óseo post natal y remodelado óseo. En la infancia y pubertad hay un gran aumento de la masa ósea a través de la formación ósea endocondral. Se observa, todavía, un aumento gradual de la masa ósea hasta que se produce un pico alrededor de los 20 – 30 años de edad. En seguida la masa ósea va disminuyendo y, de forma más acelerada, en mujeres post menopáusicas. El remodelado óseo es regulado por el balance entre la resorción y neoformación ósea, proceso en el cual la hormona de crecimiento tiene un papel fundamental. La GH ejerce efecto sobre los osteoclastos y de forma más marcada sobre los osteoblastos, produciendo un efecto anabólico en el metabolismo óseo.¹⁵ Además, se observa que la GH promueve la deposición aumentada de proteínas por los condrocitos y osteoblastos, aumenta el número de mitosis y la conversión de condrocitos a osteoblastos.^{16,17}

Estudios demuestran que la hormona de crecimiento puede tener un efecto local, cuando es aplicada directamente sobre la zona a tratar.^{18,19,20,21,22,23,24,25,26} Se ha demostrado que la aplicación local de la **Hormona de Crecimiento Humana Recombinante (rhGH)** aumenta la sustitución de biomaterial por hueso a través de la aceleración del proceso de remodelación ósea, al tiempo que estimula la síntesis de colágeno, osteocalcina y fosfatasa alcalina.²⁷

Uno de los principales parámetros de éxito en la implantología oral es la obtención de la oseointegración, además de la calidad y velocidad de producción de la misma. Encontramos, en la actualidad, distintos grupos de estudios que buscan dinamizar el proceso de reparación ósea periimplantar, teniendo como principal objetivo acelerar los tratamientos implantológicos. Hay una tendencia actual en la literatura de utilizar los factores de crecimiento (GFs) para mejorar la reparación ósea, tales como las células madres, hormona de crecimiento, hormona paratiroidea (PTH), melatonina, calcitonina y las proteínas morfogenéticas y osteogénicas.

En este contexto, la hormona de crecimiento cuando es aplicada directamente sobre la lodge quirúrgica (sola o en combinación con injertos óseos) o en la superficie de los implantes dentales podría tener una acción local osteoinductora, además del efecto endocrino al ser reabsorbido por la circulación sistémica.

De esta manera, esta tesis, evalúa la acción local de la hormona de crecimiento humano recombinante (rhGH) en polvo liofilizado (Saizen®, Merck Serono S.A. Aubonne, Suiza), como adyuvante en el tratamiento para la regeneración ósea. Se valora su uso tanto de manera independiente, como también combinada con un material de injerto óseo de origen bovino (Osteodens®, Pharmatrix Div. Therabel Pharma S.A, Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina). Realizamos comparaciones con un grupo control sin tratamiento en defectos óseos ejecutados en fémur de rata. Tomamos como referencia el protocolo desarrollado por investigadores vinculados a la Maestría en Implantología Oral de la Facultad de Odontología de la UNLP. Se estudia la cantidad y calidad de hueso regenerado en cada una de las situaciones planteadas. Asimismo, se valora su posible aplicación clínica dentro de las especialidades de cirugía y traumatológica bucomaxilofacial, periodoncia e implantología oral.

2. MARCO TEORICO

En este punto se detallan las bases que dan sustento y facilitan la comprensión del presente trabajo. Se analizan el tejido óseo, los materiales de injerto óseos, la hormona de crecimiento y el modelo animal utilizado.

2.1 TEJIDO ÓSEO

2.1.1 GENERALIDADES.

El cuerpo humano de un individuo adulto tiene 206 huesos, mientras que el de un recién nacido está formado por cerca de 300, ya que algunos huesos se fusionan durante la etapa de crecimiento. En los mamíferos, incluido el hombre, los tejidos esqueléticos se limitan a tres: tejido conectivo de colágeno denso, cartílago y tejido óseo. Desde éstos, el tejido conectivo de colágeno denso es una variante del tejido conectivo común, mientras que el cartílago y el tejido óseo son formas muy especializadas de tejido conectivo.²⁸

El tejido óseo es una forma especializada de tejido conectivo denso. Los componentes extracelulares sufren calcificación, lo que les confiere dureza. El tejido óseo proporciona al esqueleto la fortaleza necesaria para cumplir su principal función, la de ser **órgano de sostén**, dado que actúa como sitio de inserción de los músculos y, a la vez, brinda cierta rigidez al organismo para protegerlo de la fuerza de la gravedad. El esqueleto también tiene importantes funciones protectoras al rodear con una coraza el cerebro, la medula espinal y parte de los órganos del tórax y el abdomen. La segunda función importante del tejido óseo es representar un

notable eslabón en la **homeostasia del calcio**, dado que los huesos del esqueleto contienen más del 99% del calcio del organismo.²⁸

2.1.2 HISTOGENESIS DEL TEJIDO ÓSEO (ORIGEN).

La osificación implica **formación de tejido óseo** y siempre tiene lugar por síntesis y secreción de matriz ósea orgánica por los osteoblastos, que al poco tiempo, sufre el proceso de mineralización. Existen dos formas de osificación: Intramembranosa y endocondral.

Osificación intramembranosa: Algunos huesos planos del cráneo, como el frontal, parietal, occipital, y el temporal, el maxilar superior y casi toda la mandíbula (excepto los cóndilos), se forman por osificación intramembranosa y se denominan huesos membranosos.²⁹

La denominación intramembranosa se debe a que la formación de los huesos comienza dentro de una placa membranosa densa de mesénquima. Este mesénquima denso se produce por división activa y condensación de las células mesenquimáticas en un tejido conectivo muy vascularizado. En ciertas zonas de este mesénquima, un grupo de células mesenquimáticas se diferencia a osteoblastos, que poco después comienza a secretar matriz ósea orgánica. Esta matriz recién formada, aun no calcificada se denomina **osteoide** y está compuesta por proteoglicanos y fibras de colágeno, es decir, la parte orgánica de la matriz ósea sin el contenido de sales minerales. Tras la formación de la matriz ósea, ésta sufre una rápida mineralización por depósito de fosfato de calcio. El centro de osificación crece en tamaño debido a que, durante los posteriores depósitos sobre la matriz, se incorporan osteoblastos de la capa circundante que se transforman en osteocitos, y se mantienen unidos entre sí, y con los osteoblastos, por finas prolongaciones. Estas

prolongaciones forman nexos y reposan en canalículos luego del depósito de matriz mineralizada a su alrededor. Los osteoblastos incorporados son reemplazados por otros, que se diferencian a partir de las células mesenquimáticas circundantes. Los pequeños islotes de tejido óseo recién formado suelen ubicarse equidistante de los vasos sanguíneos circundantes, por lo que, a medida que las trabéculas formadas hacen contacto con las zonas vecinas semejantes, generan una especie de tejido óseo esponjoso con tejido conectivo muy vascularizado en los espacios, denominados **esponjosa primitiva**.

En los sitios donde con posterioridad se formará tejido óseo compacto, tiene lugar un engrosamiento constante de las trabéculas, por depósito de tejido óseo recién formado, por lo que se estrechan, en forma gradual, los espacios ocupados por tejido conectivo alrededor de los vasos sanguíneos. Así se origina la **compacta primitiva** en la que los vasos están ubicados en pequeños canales que contienen tejido conectivo. En ambos tipos de tejido óseo primitivo las fibras colágenas se entrecruzan al azar, lo que se denomina **hueso entretejido**. En la posterior remodelación del tejido se origina tejido óseo maduro con las fibras ordenadas en láminas. El resultado del proceso es la formación de un tejido óseo primitivo vascularizado, rodeado de una membrana condensada de mesénquima, que más tarde se transforma en **periostio**. Más tarde, durante la remodelación continua y el crecimiento del hueso plano, los osteoblastos de la superficie del tejido óseo recién formado derivan de células osteoprogenitoras óseas de la porción más profunda del periostio y están relacionadas con el **endostio**.²⁸ (Fig.1)

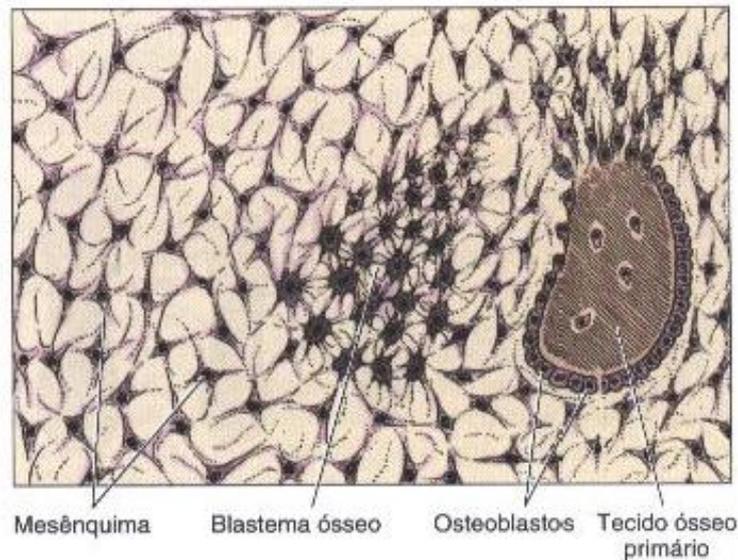


Fig.1. Osificación Intramembranosa. Células del mesénquima se hacen redondeadas formando un blastema óseo (masa de tejido embrionario formado por células indiferenciadas) en el cual, por diferenciación, se originan los osteoblastos, los que a su vez, sintetizan tejido óseo primario. *Tomado de JUNQUEIRA LC, CARNEIRO 2004.*³⁰

Osificación endocondral: Los huesos de la base del cráneo, de la columna vertebral, pelvis y extremidades son denominados huesos de sustitución, puesto que en una primera etapa están constituidos por cartílagos hialinos y posteriormente son sustituidos por tejido óseo, gracias a un proceso denominado osificación endocondral.²⁹ Este tipo de osificación se inicia sobre un modelo de cartílago hialino, de forma parecida a la del hueso que va a formar, no obstante presenta menor tamaño. Este mecanismo de osificación es el principal responsable por la formación de los huesos cortos y largos.³⁰

A grandes rasgos la osificación endocondral consiste esencialmente en dos procesos: Primeramente, el cartílago hialino sufre modificaciones, se produce hipertrofia de los condrocitos, reducción de la matriz cartilaginosa a tabiques delgados, mineralización de la matriz y apoptosis de los condrocitos. En segundo lugar, las cavidades previamente ocupadas por los condrocitos son invadidas por

capilares sanguíneos y células osteogénicas provenientes del tejido conectivo adyacente. Estas células se diferencian en osteoblastos, que depositan matriz ósea sobre los tabiques de cartílago calcificado. De esta forma aparece tejido óseo donde antes había tejido cartilaginoso.³⁰

Se comprende con mayor facilidad la osificación endocondral al analizar la evolución de los huesos largos. Por ejemplo, el fémur. El primer indicio de comienzo de formación del hueso se detecta cerca del centro de la futura diáfisis, por la aparición del centro de osificación primario. Como mencionado en párrafos anteriores, aquí se hipertrofian los condrocitos, por lo que aumenta el tamaño de las lagunas. Así disminuye la matriz cartilaginosa hasta que quedan sólo finos tabiques, que a continuación se calcifican. Los condrocitos se degeneran y mueren, como consecuencia de la desaparición de la difusión en la matriz después de su calcificación.²⁸

Paralelamente a las modificaciones en el cartílago, las células del **pericondrio** que rodean la parte central de la diáfisis adquieren propiedades osteogénicas, denominándose ahora **periostio**.

Las células de la parte profunda del periostio se diferencian a partir de células osteoprogenitoras que proliferan y continúan su diferenciación a osteoblastos. Estas células forman rápidamente una delgada capa de tejido óseo alrededor de la porción central de la diáfisis, denominada **manguito o collar perióstico**. Además, el tejido conectivo primitivo vascularizado de la porción más profunda del periostio crece a través del manguito por actividad osteoclástica, pero se caracteriza por ocurrir solo en un único sitio del manguito, denominado **yema o brote perióstico**, e invade los espacios de la matriz cartilaginosa. Los vasos del brote perióstico se ramifican y envían capilares hacia las cavidades de cada extremo del modelo cartilaginoso. El

brote perióstico arrastra células mesenquimáticas que se diferencian a medula ósea primitiva o a osteoblastos. Los osteoblastos utilizan las trabéculas cartilaginosas calcificadas como almacén, dado que forman una capa epitelioide sobre sus superficies y comienzan a depositar allí matriz ósea. Las trabéculas óseas formadas contienen un núcleo de cartílago calcificado rodeado por una capa de tejido óseo. Por fuera se observa una capa de osteoblastos.²⁸

Estas modificaciones morfológicas descritas se denominan en conjunto **centro de osificación primario**. Su crecimiento rápido, en sentido longitudinal ocupa toda la diáfisis, quedando así, formada por tejido óseo. Desde el inicio de la formación del centro primario, surgen osteoclastos y sucede la reabsorción del tejido óseo en el centro del cartílago, quedando así formado, el canal medular, el cual crece en sentido longitudinal, mientras avanza la osificación. A medida que se forma el canal medular, células sanguíneas (originadas de las células madre), traídas por la sangre, originan la medula ósea. Estas células madre se fijan en el microambiente del interior de los huesos, donde van a producir todos los tipos de células de la sangre, tanto en la vida intrauterina como después del nacimiento.³⁰ (Fig.2)

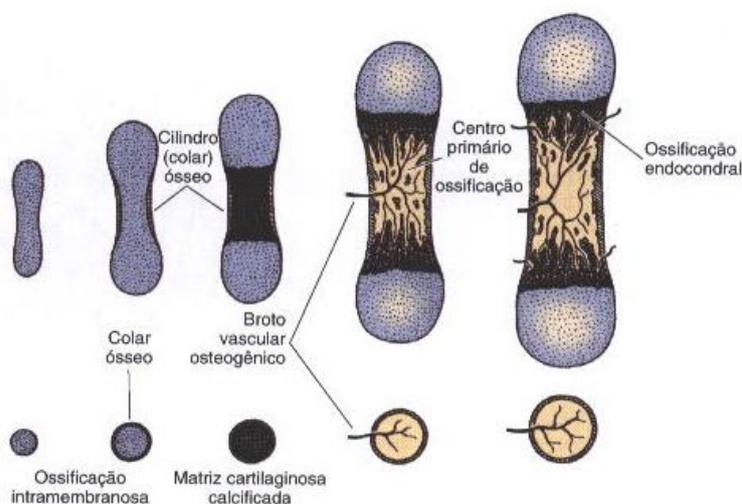


Fig.2. Osificación Endocondral. Tomado de JUNQUEIRA LC, CARNEIRO 2004.

Más tarde, se desarrollan los **centros de osificación secundarios** (Fig.3), uno en cada epífisis. Estos centros son similares al centro de osificación primario de la diáfisis, sin embargo su crecimiento es radial en vez de longitudinal. La porción central de los centros secundarios también contienen medula ósea.³⁰

Cuando el tejido óseo formado en los centros secundarios ocupa la epífisis, el tejido cartilaginoso se reduce a dos lugares solamente: El cartílago articular (que persistirá por toda la vida y no contribuye a la formación de tejido óseo) y el cartílago de conjunción o disco epifisiario. Este está constituido por un disco de cartílago que no fue penetrado por el hueso en expansión, y de ahora en más, será responsable por el crecimiento longitudinal del hueso. El disco epifisiario está ubicado entre el tejido óseo de la epífisis y de la diáfisis. Su desaparición, por osificación, aproximadamente a los 20 años de edad, determina el cese del crecimiento longitudinal del hueso.³⁰ Se distingue, durante toda la vida, una línea en el lugar donde se ubicaba el disco epifisiario, esta línea corresponde a una irregularidad en el tejido esponjoso y se denomina línea epifisiaria.²⁸

El crecimiento en espesor de las diáfisis de los huesos largos se da por osificación intramembranosa subperióstica. Al mismo tiempo, por actividad osteoclástica, tiene lugar una resorción del tejido óseo en la superficie interna de la diáfisis, aunque en menor velocidad que el depósito óseo en el exterior. En consecuencia, hay un lento incremento del espesor de la pared de la diáfisis.²⁸

Los huesos cortos se desarrollan al igual que la epífisis de los huesos largos, aquí la osificación comienza en la porción central del cartílago y se extiende en todas las direcciones. Al finalizar el crecimiento, se forma una capa muy delgada de hueso subperióstico compacto en la parte externa, mientras que el cartílago persiste en las partes correspondientes a las superficies articulares.²⁸

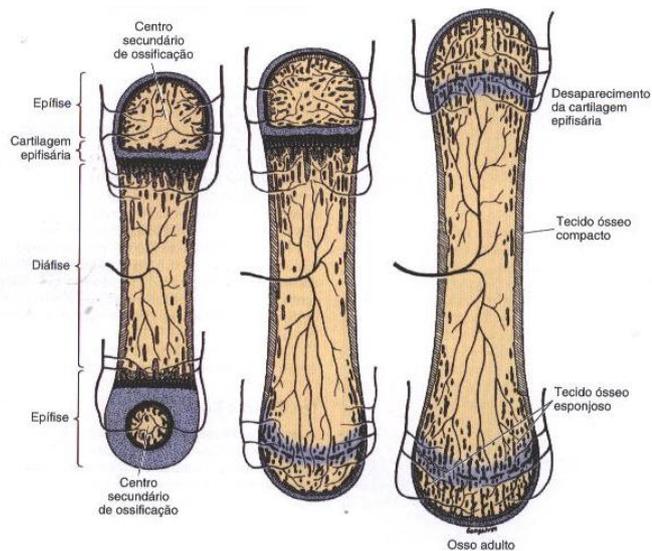


Fig.3. Tomado de JUNQUEIRA LC, CARNEIRO 2004.

2.1.3 CLASIFICACIÓN DE LOS HUESOS SEGÚN SUS DIMENSIONES.

Huesos Largos: Son el tipo de hueso en el que predomina la longitud por sobre sus otras dimensiones. Este posee dos extremos o **epífisis**, donde suelen conectarse con otros huesos en articulaciones; un cuerpo o **diáfisis**, compuesto sólo por tejido óseo compacto, presentado en su interior solamente un canal llamado conducto medular, relleno de médula ósea amarilla; y la zona de unión o límite entre epífisis y diáfisis, conocida como **metáfisis**, formada por un disco cartilaginoso que permite el alargamiento del hueso. Este tipo de hueso se encuentra en las extremidades superiores e inferiores. Los huesos largos son huesos duros y densos que brindan resistencia, estructura y movilidad, como por ejemplo el fémur.

Huesos Cortos: En el cuerpo humano tienen forma redondeada y cúbica, con mediciones de largo, ancho y alto aproximadamente iguales, como son los huesos del carpo, por ejemplo.

Huesos Planos: Son huesos donde predomina la longitud y el ancho sobre su espesor. Están formados por tejido laminar compacto por fuera, denominado áploe, y tejido laminar esponjoso en el centro, denominado díploe. Este tipo de hueso se encuentra formando cavidades en el cuerpo, como, por ejemplo, los huesos del cráneo y de la caja torácica.

Huesos Irregulares: Todos aquellos huesos que, por su forma, no se pueden clasificar en otro tipo. A éste tipo de hueso pertenecen las vértebras. Además, dentro de esta clasificación se encuentran los huesos neumáticos (poseen cavidades llenas de aire) y los huesos de la cara.

Huesos Sesamoideos: Son pequeñas masas, generalmente redondeadas, incrustadas en ciertos tendones que, por lo general, están relacionados con superficies articulares. Tienen la función de disminuir la fricción, modificar la presión y alterar la dirección de la tracción muscular, como por ejemplo la rótula. (Fig.4)

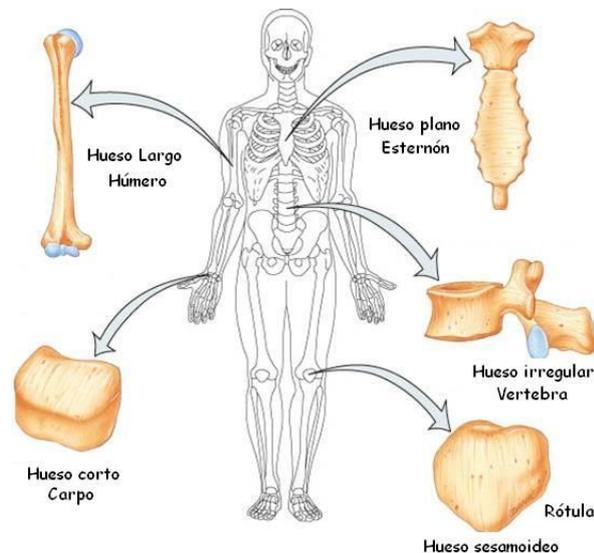


Fig.4. Tomado de <http://gavetasdemiescritorio.blogspot.com.ar/>

2.1.4 ORGANIZACIÓN **MACROSCÓPICA** DEL TEJIDO ÓSEO.

El tejido óseo se organiza en los huesos de dos formas diferentes: *Hueso compacto, sustancia compacta u hueso cortical y hueso esponjoso, sustancia esponjosa u hueso trabecular.*

Casi todos los huesos se componen de tejido óseo cortical y trabecular, aunque en cantidad y distribución muy variables de ambos tipos. En los huesos largos, por ejemplo el humero o la tibia, la diáfisis se compone de tejido óseo compacto que, al igual que un tubo de paredes gruesas rodea el espacio medular. Por el contrario, los extremos de los huesos largos o epífisis se componen casi con exclusividad de tejido óseo esponjoso, que solo en la parte más externa se transforma en una fina capa de tejido óseo compacto. El espacio medular de la diáfisis se comunica con los espacios de la sustancia esponjosa de las epífisis. Los huesos están rodeados, externamente, por una capa de tejido conectivo denso, **el periostio**. Recubriendo el espacio medular y los espacios de la sustancia esponjosa, hay una delgada capa de tejido conectivo rico en células, **el endostio**.²⁸

- El **tejido óseo compacto, sustancia compacta o hueso cortical** forma, a simple vista, una masa compacta sin espacios visibles.
- El **tejido óseo esponjoso, sustancia esponjosa o hueso trabecular** está compuesto por finos listones u hojas, las trabéculas, que se entrecruzan en distintas direcciones y forman un reticulado esponjoso, cuyos espacios huecos intercomunicantes están ocupados por la medula ósea.

Antes de desarrollar las características de los tejidos óseos compactos y esponjosos, cabe destacar que, histológicamente existen 2 tipos de tejido óseo: **Inmaduro, primario o reticular y el maduro, secundario o lamelar**. El tejido primario es el que aparece primeramente, tanto en el desarrollo embrionario como en la reparación de fracturas, es temporario y se sustituye por tejido óseo secundario. En el tejido óseo primario las fibras colágenas se distribuyen de forma irregular, sin una orientación definida, mientras que en el tejido óseo secundario estas fibras se organizan en lamelas.

El tejido óseo primario es poco frecuente en el adulto, persiste solo en la suturas, alveolos dentarios y en algunos puntos de inserción de tendones, además presenta una menor cantidad de minerales y una mayor proporción de osteocitos que el tejido óseo secundario. Este último, es la variedad generalmente encontrada en el adulto y es el tipo de hueso que se describe a continuación.³⁰

Tejido óseo compacto, sustancia compacta o hueso cortical: Está compuesto en su mayor parte por sustancia intercelular (la matriz ósea) que forma capas o láminas de unos 3 μm de espesor. Los osteocitos se ubican en pequeños espacios alargados, denominados **lagunas**, en las láminas. Los osteocitos poseen numerosas prolongaciones finas que pasan a canales estrechos, **los canalículos**. Éstos desembocan perpendicularmente en las lagunas y se anastomosan con los canalículos de las lagunas vecinas y con canales ricos en vasos del tejido óseo. De esta forma, los osteocitos pueden intercambiar sustancia por difusión.

En el hueso cortical, las láminas están dispuestas, en su mayor parte, en forma concéntrica alrededor de canales longitudinales del hueso denominados

conductos de Havers, por lo que se forman los **Sistemas de Havers u Osteonas Corticales**.²⁸

En promedio los conductos de Havers miden unos 50 μm de diámetro, y cada conducto contiene 1 o 2 capilares, además de vasos linfáticos, fibras nerviosas y tejido conectivo. Una osteona cortical típica contiene unas 15 láminas, que en un corte transversal se visualizan como anillos concéntricos que rodean el conducto de Havers. Las láminas se componen de fibras de colágeno que transcurren en paralelo en cada lámina, pero con diferente dirección de fibras para láminas vecinas. Además de los sistemas de Havers se encuentran zonas de tejido laminar, denominadas, **láminas intersticiales**, que son osteonas degradadas. Justo por debajo de periostio y el endostio, respectivamente se encuentra una delgada capa de láminas, denominadas **láminas basales o circunferenciales externas e internas**. En los sitios donde los distintos sistemas laminares se encuentran hay límites netos denominados **líneas de cemento**, que solo contienen escasas fibras de colágeno no calcificada.²⁸ Los canales de Havers se comunican entre sí, con la cavidad medular y con la superficie externa del hueso a través de canales transversales u oblicuos denominados **Canales de Volkmann**.³⁰ (Fig.5 y 6)

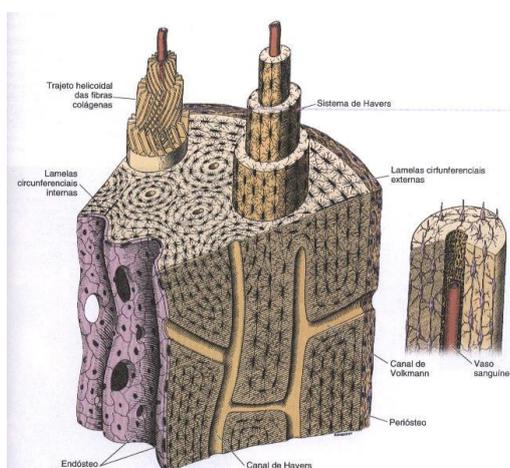


Fig.5. Hueso Cortical. Tomado de JUNQUEIRA LC, CARNEIRO 2004.

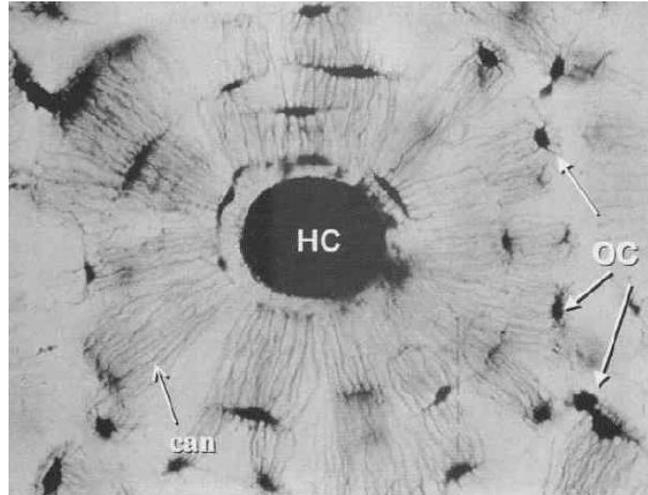


Fig.6. Fotomicrografía mostrando el osteón con osteocitos (OC) que residen en lagunas osteocíticas del hueso laminar. Los osteocitos se conectan por vía de conductillos (can) que contienen proyecciones citoplasmáticas de estas células. El en centro del osteón se ve el conducto Haversiano (HC). Tomado de LINDHE 2005.

El tejido óseo esponjoso, sustancia esponjosa o hueso trabecular:

También están compuesto por láminas, pero no forman sistemas de Havers, dado que no se observan conductos de Havers ni de Volkmann, ni vasos sanguíneos. El elemento básico estructural es la osteona trabecular, que tiene la forma de un disco plano de unos 70 μm de espesor y una longitud promedio de 600 μm . El disco está formando por alrededor de 20 láminas de transcurso paralelo a la superficie del disco. El espesor de las trabéculas varía entre 10 y 400 μm . Las trabéculas más delgadas están compuestas por una única osteona trabecular, con ambas superficies ubicadas hacia el espacio medular recubiertas por endostio, mientras que las trabéculas más gruesas, se componen de varias osteonas trabeculares con líneas de cemento intermedia (Fig. 7). La nutrición de los osteocitos se produce por difusión desde la superficie cubierta por endostio a través de los canalículos comunicantes.³⁰

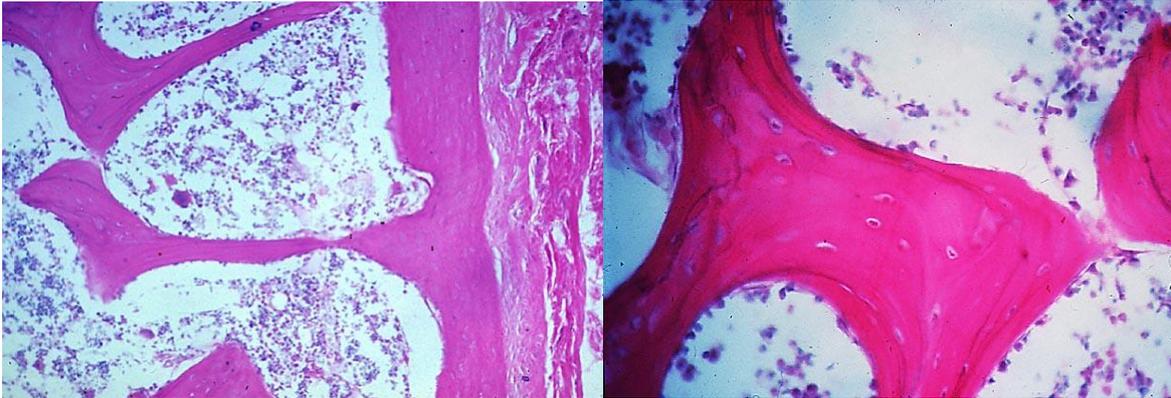


Fig.7. Cortes Histológicos de Hueso Esponjoso. Formado por delgadas trabéculas rodeadas por células de revestimiento. Tomado de <http://escuela.med.puc.cl/>
La osteona representa la unidad estructural del tejido óseo (**BSU – bone structural unit**) y presenta distinta conformación en la osteona cortical y en la osteona trabecular.

Las estructuras óseas descritas anteriormente están recubiertas por periostio (superficie externa) y endostio (superficie interna).

Periostio: Está compuesto por tejido conectivo y células osteogénicas. La capa superficial del periostio contiene principalmente fibras de colágeno y fibroblastos. Las fibras de **Sharpey** son haces de fibras colágenas del periostio que penetran en el tejido óseo, uniendo firmemente el periostio al hueso. En la porción más profunda, el periostio presenta mayor cantidad de células, principalmente células osteoprogenitoras. Estas células se multiplican por mitosis y se diferencian en osteoblastos, cumpliendo un papel importante en el crecimiento óseo y en la reparación de fracturas.³⁰

Endostio: está constituido generalmente por una capa de células osteogénicas aplanadas que reviste las cavidades del hueso esponjoso, el canal medular, los canales de Havers y los de Volkmann.³⁰

Tanto el endostio como el periostio tienen como principales funciones la nutrición del tejido óseo, producción de nuevos osteoblastos, para el crecimiento y reparación de fracturas.³⁰ (Fig.8)

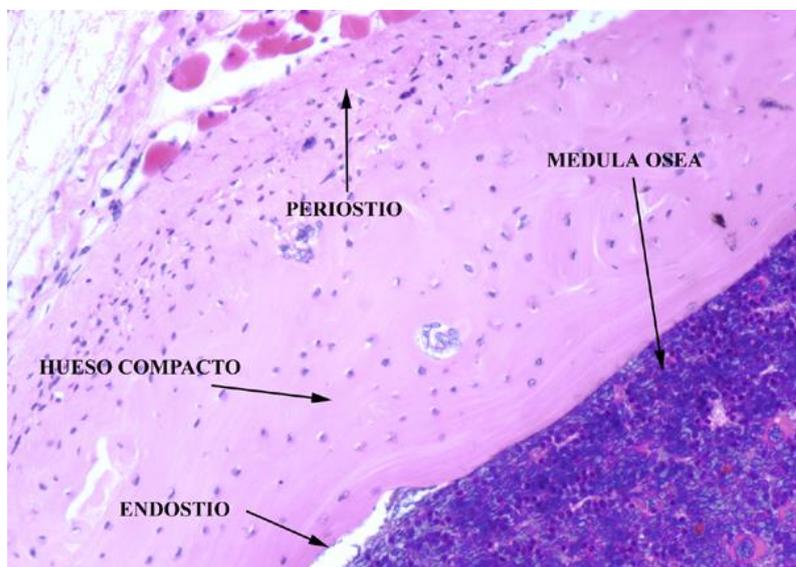


Fig.8. Periostio y endostio. Tomado de <http://www.med.uva.es/>

2.1.5 ORGANIZACIÓN MICROSCOPICA DEL TEJIDO ÓSEO.

Según GOMEZ DE FERRARIS ME. *et al*, el tejido óseo contiene 60% de sustancias minerales, 20% de agua y 20% de componentes orgánicos. La rigidez y la dureza del tejido óseo están determinadas por la presencia de los constituyentes inorgánicos o minerales, en tanto que los componentes orgánicos y el agua le confieren un cierto grado de elasticidad y resistencia a las fracturas.³¹

Matriz Ósea: La matriz ósea extracelular se compone de una matriz orgánica y de sales inorgánicas.²⁸ Alrededor del 90% de la matriz orgánica está constituida por colágeno tipo I y pequeñas proporciones de colágeno tipo III y IV. El 10% restantes está compuesto por sustancias no colágenas; de ellas el 8% son glicoproteínas, fosfoproteínas y proteoglicanos. El 2% restante está formado por enzimas (fosfatasa alcalina, colágenas, etc.), productos extravasados de la sangre y

por factores de crecimiento (factor osteoinductor- osteogenina, TGFB, FGF, etc.) que tienen parte de su reservorio en la matriz ósea.³¹

Además, la sustancia fundamental presenta varias moléculas más pequeñas relacionadas, por ejemplo, con el mecanismo de la calcificación. Una de ellas, la **osteocalcina o BGP** (*Bone Gla Protein*) es la proteína no colágena más abundante en el tejido óseo adulto. Esta proteína es sintetizada por los osteoblastos y depende de la vitamina k. Se une a la hidroxiapatita, por lo que es posible que tenga importancia para el proceso de calcificación. La producción de dicha proteína es estimulada por 1,25-dihidroxicolecalciferol (forma activa de la vitamina D). Parte de la osteocalcina recién secretada pasa al torrente sanguíneo por lo que la concentración sérica se puede utilizar como expresión del grado de formación de tejido óseo.²⁸

Los componentes inorgánicos del tejido óseo representan en el adulto alrededor del 75% del peso seco. Entre los componentes minerales del tejido óseo el 80% corresponde a cristales de hidroxiapatita, cuya fórmula es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; el 15% a carbonato de calcio y el 5% a otras sales minerales. Los cristales de apatita son más pequeños que los de otros tejidos calcificados, como el esmalte y la dentina. Tienen la forma de varas finas, de unos 3 nm de espesor y hasta 60 nm de largo. Se disponen en íntima relación con las fibras de colágeno, con su eje longitudinal paralelo a dichas fibras. Asimismo los huesos contienen numerosos iones diferentes, entre ellos magnesio, potasio, sodio, carbonato y citrato.^{28,31}

Además el tejido óseo cuenta con células que funcionan coordinadamente fabricando, manteniendo y remodelando el tejido óseo.

Células Óseas: Existen 5 tipos de células óseas: Las células osteoprogenitoras, los osteoblastos, los osteocitos, las células de recubrimiento óseo y los osteoclastos.²⁸

Células Osteoprogenitoras: Aparecen en el mesénquima fetal cerca de los centros de osificación, en el endostio y en la capa profunda del periostio después del parto y durante el resto de la vida post fetal. Se asemejan a fibroblastos, dado que poseen núcleos ovals claros y citoplasma claro con límites irregulares. Durante la formación del hueso estas células se dividen y se desarrollan a osteoblastos, esto ocurre sobre todo durante la vida fetal y la etapa de crecimiento. En la edad adulta, se observa en relación con la reparación de fracturas.²⁸ (Fig.9)

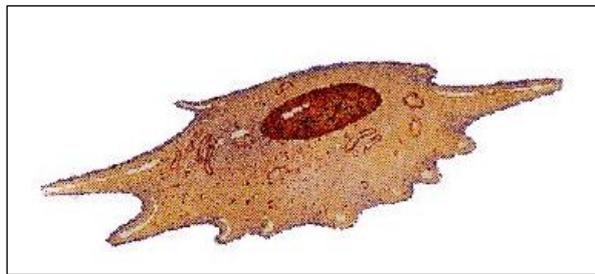


Fig.9. Esquema de Célula Osteoprogenitora. Tomado de <http://www.iqb.es/>

Osteoblasto: Son las células encargadas de la síntesis, secreción y mineralización de la matriz orgánica (fibras de colágeno, proteoglucanos, y las moléculas pequeñas como: osteocalcina, osteonectina y osteopondina). Se les encuentra tapizando las superficies óseas a manera de una capa epitelioides de células conectadas entre sí mediante cortas prolongaciones delgadas unidas por nexos. En las zonas con actividad osteogénica, los osteoblastos se encuentran separados de la matriz ósea calcificada por una zona de matriz no mineralizada, denominada sustancia **osteoides**.^{28,31}

El núcleo suele estar localizado en la porción de la célula orientada en dirección opuesta al hueso recién formado. El citoplasma es muy basófilo y con el microscopio electrónico se distingue un retículo endoplasmático rugoso bien desarrollado y un notable aparato de Golgi.²⁸ Contiene gran cantidad de fosfatasa alcalina que, posiblemente tiene importancia en el proceso de mineralización. Además los osteoblastos secretan varias citoquinas y factores de crecimiento de efecto local sobre la formación y resorción de hueso, entre ellas **interleuquina-1**, **interleuquina-6** e **interleuquina-11**, que estimulan la formación de osteoclastos. La producción de estos factores es favorecida por las hormonas circulantes, como la hormona paratiroidea y el 1,25-dihidroxicolecalciferol (Vitamina D activa), para los cuales se ha demostrado la existencia de receptores sobre los osteoblastos. Otros ejemplos de mediadores locales producidos por los osteoblastos con efecto sobre el metabolismo óseo son **IGF-1** (*insulin-like growth factor*) y las **prostaglandinas**. Estas células también producen **TGF beta** (*transformin growth factor beta*) que atrae por quimiotaxis las células ostoprogenitoras, estimula la maduración de los osteoblastos y favorece la producción de la matriz, es decir, todos efectos que contribuyen a incrementar la formación de hueso. Al mismo tiempo inhibe la actividad de los osteoclastos.²⁸

En la superficie que mira hacia la sustancia osteoide emergen gran cantidad de prolongaciones citoplasmáticas, provistas de microfilamentos, las que se extienden dentro de esta sustancia aún no mineralizada, conectándose con las prolongaciones de los osteocitos por medio de nexos o uniones comunicantes, de este modo es posible el transporte transcelular de sustancias captadas por las células de recubrimiento óseo, hacia los osteocitos. Además, esta comunicación se

realiza por difusión a través del líquido extracelular que rodea las prolongaciones en los canalículos.^{28,31}

Durante la formación del hueso quedan incluidas alrededor del 10% de los osteoblastos en el tejido óseo recién formado y se transforman en osteocitos, mientras que los osteoblastos restantes se convierten en células de recubrimiento óseo cuando finaliza la formación de hueso. Dicha comunicación entre los osteocitos y las células de recubrimiento es fundamental para el inicio de la remodelación ósea.²⁸ (Fig.10 y 11)

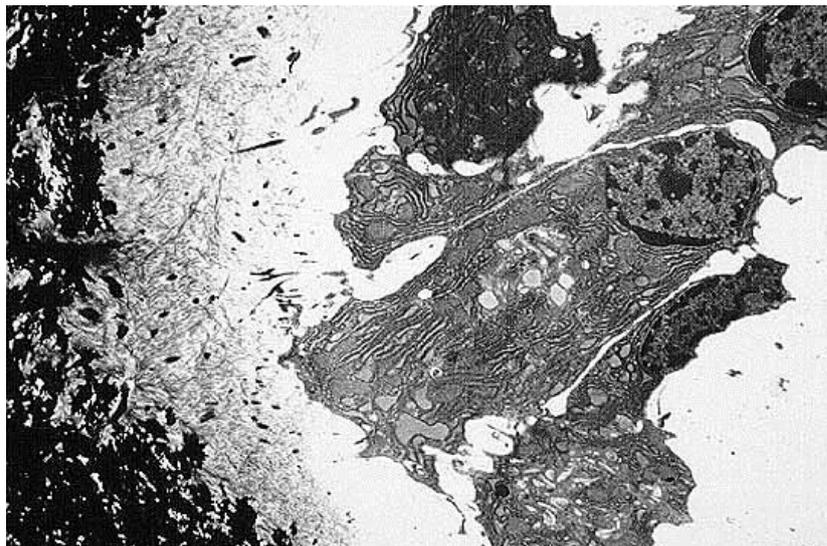


Fig.10. Osteoblasto sobre un ribete de osteoide. Nótese que el osteoblasto del centro presenta el núcleo en el extremo opuesto a la zona de contacto con el hueso. El osteoide se observa como un material finamente fibrilar de color gris y por debajo del mismo se sitúa el hueso mineralizado de color negro. (Microscopía electrónica x 3400). Tomado de <http://www.conganat.org/iicongreso/conf/018/osteobl.htm>

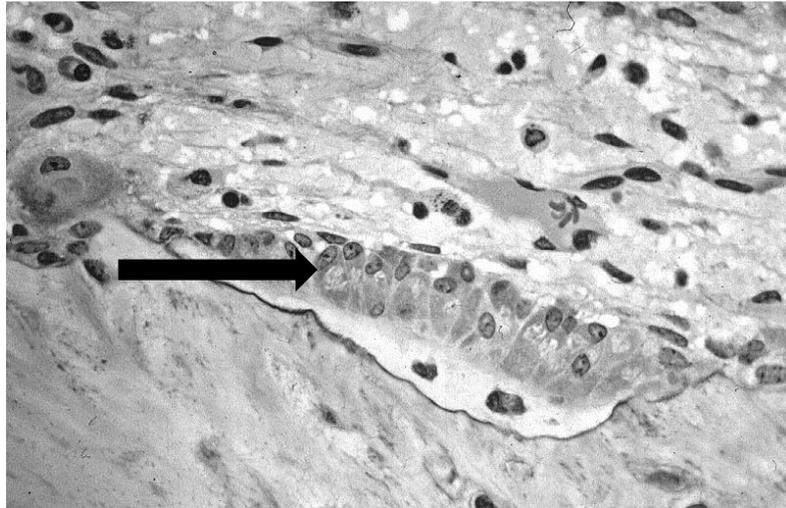


Fig.11. Osteoblastos (flecha). Microscopia óptica. 100X

Osteocito: es la *verdadera célula ósea* (Fig.12). Como se mencionó anteriormente, los osteocitos emiten finas prolongaciones por los canaliculos, donde están relacionados entre sí a través de los nexos en los puntos de contacto. Se originan a partir de los osteoblastos que quedan atrapados en la matriz ósea recién formada durante la osteogénesis.²⁸ Las cavidades que se alojan los osteocitos se denominan osteoplastos u osteoceles.³¹

De los osteoplastos se desprenden radialmente un gran número de conductillos calcóforos en cuyo interior se alojan las prolongaciones citoplasmáticas de los osteocitos. En consecuencia, todas las células quedan intercomunicadas por medio de un sistema de lagunas y conductos que forman una red funcional tridimensional, conocida como sistema canaliculolacunar o sistema de microcirculación ósea.³¹

Entre la membrana plasmática del osteocito y la pared ósea del conductillo queda un espacio, el espacio periostiocítico, el cual contiene un líquido extracelular. Este líquido se continúa con el líquido extracelular general, a través del mismo, se

producen los intercambios metabólicos, esto explica por qué las células situadas en la profundidad de la matriz ósea pueden responder a estímulos hormonales.³¹

Los osteocitos tienen la capacidad para registrar campos piezoeléctricos, es decir, diferencias de potencial que se generan en relación con la deformación mecánica del hueso. En consecuencia, es posible que los osteocitos intervengan en el mantenimiento de la calidad del tejido óseo, dado que, mediante el señalamiento hacia la superficie, pueden facilitar la remodelación ósea.²⁸



Fig.12. Osteocito. Microscopia electrónica. Tomado de http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Osteocyte_2.jpg

Células de recubrimiento óseo (osteocitos de superficie): Se originan a través de los osteoblastos que han finalizado la formación de hueso y recubren como una capa de epitelio plano simple todas las superficies óseas internas y externas en las que no hay actividad de osteoblastos u osteoclastos (Fig13). Esta capa de células inactivas tiene gran importancia, porque descansa sobre una capa muy delgada de osteoide. La resorción nunca ocurre sobre superficies recubiertas por osteoide, por lo que es necesario eliminar esta capa antes de que los

osteoclastos entren en contacto directo con el tejido óseo mineralizado y comiencen la resorción. La eliminación de la capa tiene lugar cuando las células de recubrimiento óseo se activan y secretan la enzima colagenasa necesaria para eliminar la capa superficial no mineralizada. Una vez degradado el osteoide de la superficie, estas células se retraen y dan paso a los osteoclastos.²⁸

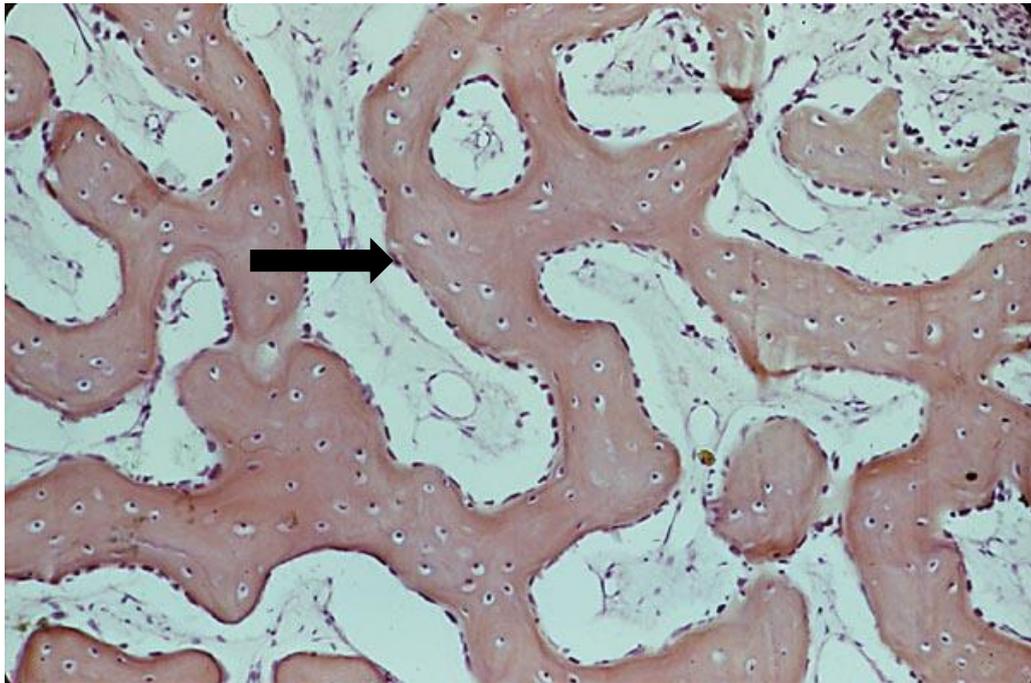


Fig.13. Células de recubrimiento Óseo. (Flecha)

Osteoclastos: Son células encargadas de degradar la matriz, es decir, de producir la resorción ósea. Debido a su origen y características morfofuncionales, los osteoclastos se consideran integrantes del sistema *fagocítico-mononuclear*, el cual está formado, por todos los macrófagos de nuestro organismo, los monocitos y células precursoras que les dan origen. Son células grandes multinucleadas (por lo general contienen 5-10 núcleos, pero puede haber hasta 50 en una única célula), que contienen numerosas mitocondrias con gránulos electrodensos de fosfato de

calcio. En la superficie de resorción, los osteoclastos presentan un “borde rugoso o vellosos” formado por abundantes microvellosidades irregulares provistas de microfilamentos de actina. Entre las vellosidades se originan invaginaciones de membranas tubulares muy tortuosas que se introducen profundamente en el citoplasma. En el citoplasma adyacente existen también pequeñas vesículas que son fosfatasa ácida positiva (lisosomas). En la periferia de la superficie de resorción se encuentra una zona denominada zona de sellado del osteoclasto. En esta zona presenta microfilamentos y se fijan al hueso permitiendo que debajo del borde rugoso se cree un microambiente cerrado en donde se produce los fenómenos de la reabsorción.

Los osteoclastos liberan ácidos orgánicos y enzimas hidrolíticas lisosomales hacia el espacio extracelular, lo que causa la degradación, tanto de la parte mineral, como de los componentes orgánicos de la matriz ósea. A medida que se produce la resorción, los osteoclastos van excavando la superficie del tejido óseo, formando unas cavidades conocidas como **Lagunas de Howship**. Cuando los osteoclastos se retiran, esas lagunas son invadidas por osteoblastos, que forman nuevo tejido óseo. Se completa así el proceso de recambio o remodelado (resorción-neoformación) proceso que posibilita la permanente renovación del tejido óseo y la adaptación a las fuerzas que se ejercen sobre él.^{28.31} (fig. 14, 15, 16 y 17)

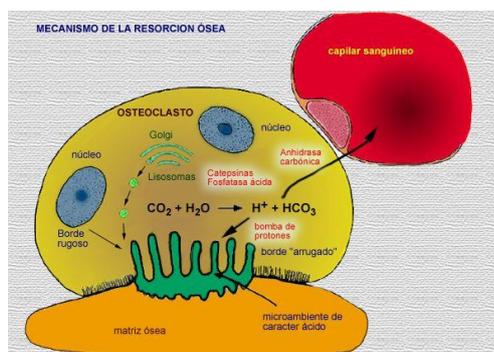


Fig.14. Osteoclasto. Esquema. Tomado de http://www.iqb.es/cbasicas/fisio/cap06/cap6_3.htm

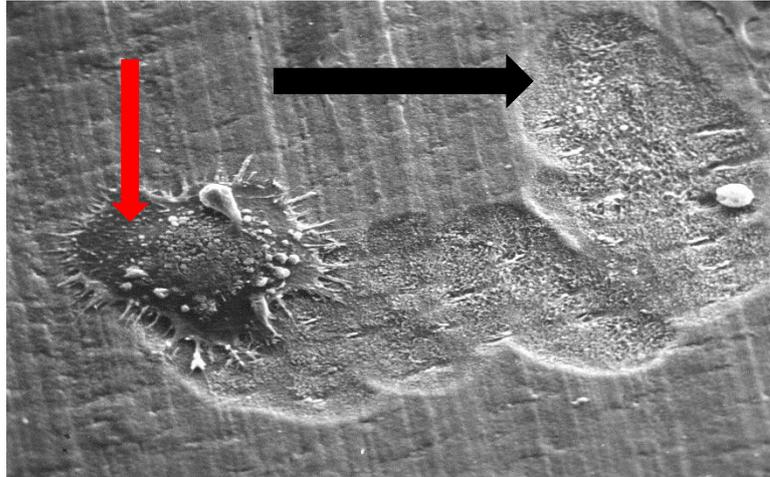


Fig.15. Osteoclasto. Microscopia electrónica. Nótese las lagunas de Howship (Flecha Negra) formada por la reabsorción realizada por el osteoclasto (Flecha Roja). Tomado de <http://www.atpbone.org/>

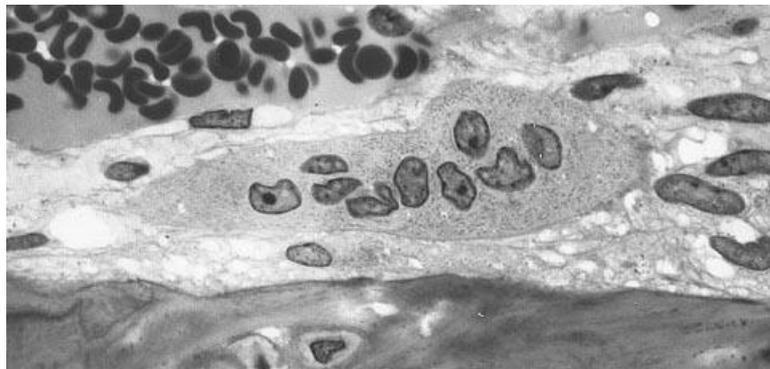


Fig.16. Osteoclasto. Microscopia electrónica. Tomado de <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1a/Osteoclast.jpg>

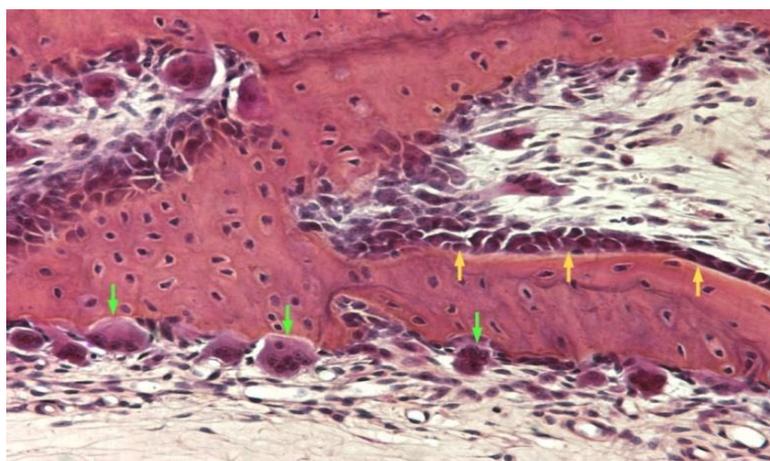


Fig.17. Microscopia óptica. Se observa la actividad celular en el tejido óseo. Osteoblastos (flechas amarillas) formando hueso y los Osteoclastos (flechas verdes) reabsorbiendo tejido óseo. Tomado de <http://www.atpbone.org/>

2.1.6 METABOLISMO ÓSEO: MODELACIÓN y REMODELACION ÓSEA.

Durante el proceso de crecimiento, es decir, la infancia y la primera juventud, los huesos mantienen aproximadamente su forma externa. Esto se debe a que durante todo el periodo de desarrollo, además del crecimiento longitudinal, tiene lugar una modelación de las superficies externa e interna del hueso, dado que se deposita y se resorbe tejido óseo en distintas zonas.^{28,30}

Como en todos los casos, la formación de hueso se produce por actividad de los osteoblastos, mientras que la resorción es llevada a cabo por los osteoclastos. La modelación se caracteriza porque las dos actividades son independientes entre sí, con predominio de la primera, es decir, estos procesos **no están acoplados**, a diferencia de la actividad acoplada y equilibrada de la **remodelación**.²⁸

El predominio de formación de tejido óseo conduce al incremento constante de la masa ósea en el periodo de crecimiento hasta alcanzar un valor máximo de “masa ósea pico” (Peak Bone Mass), a los 20 – 25 años, esto es, cuando el esqueleto adquiere su tamaño y su forma definitivos.²⁸

El remodelado óseo existe durante toda la vida, pero sólo hasta la tercera década el balance es positivo. Es precisamente, alrededor de los 30 años, cuando existe la máxima masa ósea, que se mantiene con pequeñas variaciones hasta los 50 años. A partir de aquí existe un predominio de la reabsorción y la masa ósea empieza a disminuir.³²

En los primeros estadios de la vida post natal comienza el proceso denominado **remodelación**, por el cual se reemplaza tejido óseo formado, por tejido óseo nuevo. La remodelación comienza en la primera infancia y continúa durante toda la vida, por lo que tiene lugar paralelamente a la modelación durante el periodo de crecimiento.

En la remodelación, debido a que la actividad de los osteoblastos y de los osteoclastos esta acoplada, forman una unidad denominada: **Unidad Remodeladora Ósea (BRU–Bone Remodelling Unit)** donde la cantidad de tejido óseo que se resorbe es reemplazada por una cantidad equivalente de tejido óseo recién formado. (Fig.18)

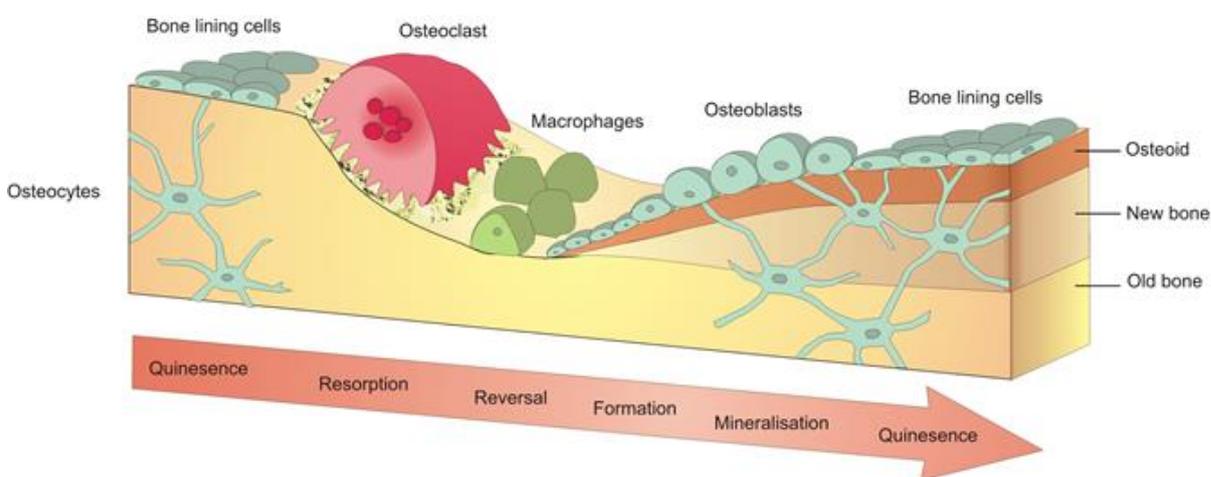


Fig.18. Remodelación Ósea. Tomado de <http://imueos.wordpress.com/2010/09/29/bone-physiology/>

En el **Tejido Óseo Compacto Primitivo**, las fibras colágenas de los sistemas de **Havers Primitivos u Osteonas Primarias** formadas al principio, transcurren en todas las direcciones para generar láminas no muy bien definidas. Por el proceso de remodelación, estos sistemas se transforman en **Sistemas de Havers Definitivos u Osteonas Secundarias**, que contienen láminas concéntricas formadas por fibras colágenas de transcurso paralelo.

El remodelado óseo puede ser dividido en las siguientes fases:

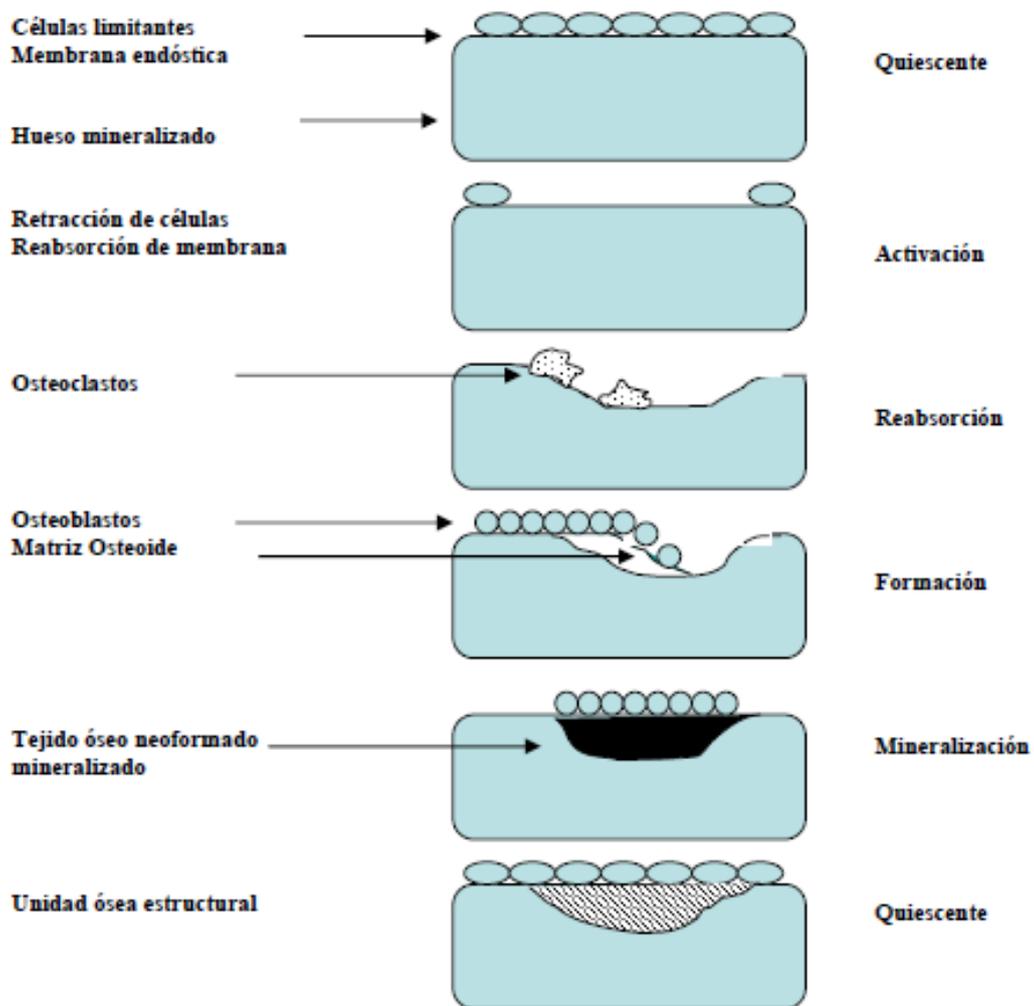


Fig.19. Fases del remodelado óseo. *Tomado de Physiological bases of bone re-generation II.*³²

Fase Quiescente: Se refiere al hueso en condiciones de reposo.

Fase de Activación: Activación de la superficie ósea previa a la reabsorción ósea mediante la reabsorción de células limitantes. Al quedar expuesta la superficie mineralizada se produce la atracción de los osteoclastos circulantes.

Fase de Reabsorción: Los osteoclastos comienzan a reabsorber la matriz mineral y descomponer la matriz osteoide. Este proceso es finalizado por los macrófagos y permite la liberación de los factores de crecimiento contenidos en la

matriz. (TGF- β : Factor transformante del crecimiento β , PDGF: Factor de crecimiento derivado de las plaquetas, IGF-I y II: Factor de crecimiento análogo a la insulina I y II)

Fase de Formación: Simultáneamente en las zonas reabsorbidas se produce el fenómeno de agrupamiento de **preosteoblastos**, atraídos por los factores de crecimiento que se liberaron de la matriz que actúan como quimiotácticos y además estimulan su proliferación. Los preosteoblastos sintetizan una sustancia cementante sobre la que se va a adherir el nuevo tejido y expresan BMPs (Proteínas Morfogenéticas Óseas), responsables de la diferenciación. A los pocos días, los osteoblastos ya diferenciados van a sintetizar la sustancia osteoide que rellenará las zonas.

Fase de Mineralización: A los 30 días del depósito del osteoide comienza la mineralización, que finalizará a los 130 días en el hueso cortical y a los 90 días en el hueso trabecular. Luego empieza la fase quiescente o de descanso.³²

La remodelación comienza cuando un grupo de preosteoblastos se activa y da lugar a la aparición de osteoclastos, que comienzan con la resorción de tejido óseo y la creación de un conducto cilíndrico. Los osteoclastos forman una cabeza perforante (Cutting Cone) claviforme que se desplaza por el hueso y perfora un conducto cilíndrico por resorción, con un diámetro correspondiente al de la última osteona. Después de la resorción se produce el crecimiento interno de vasos recién formados y entonces se diferencian osteoblastos que depositan capa tras capa de tejido óseo laminar sobre las paredes del conducto, que a continuación se rellena y da lugar a la formación de una osteona cortical (secundaria). El depósito de tejido óseo comienza con la formación de una línea de cemento que separa la futura

osteona del tejido óseo circundante. En consecuencia, en un corte longitudinal del conducto en la unidad remodeladora se distingue una forma de cono alargado, el cono de cierre (**Closing Cone**), donde la punta del cono expresa el cierre gradual del conducto. Por último, los osteoblastos se transforman en células de recubrimiento óseo, que tapiza el conducto de Havers. (Fig.20 y 21)

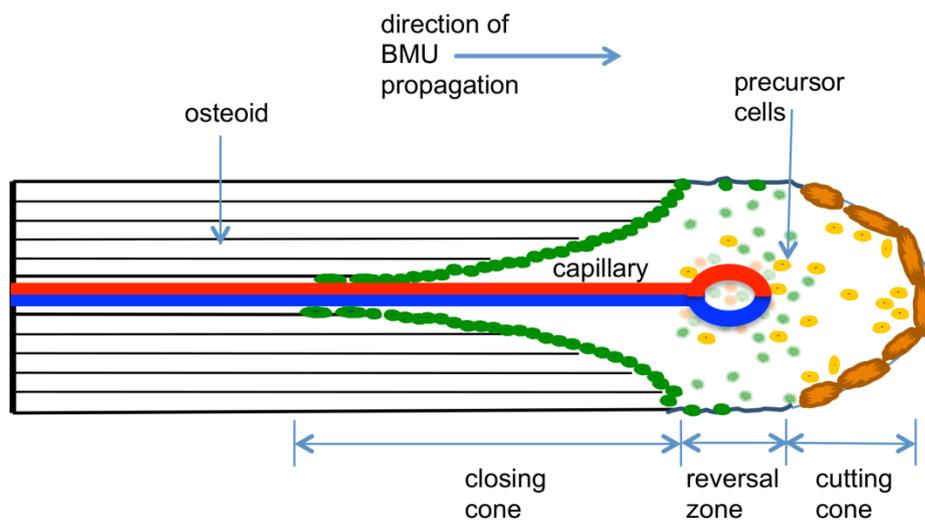


Fig.20. Remodelación Ósea. Esquema *tomado de* <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0040268>

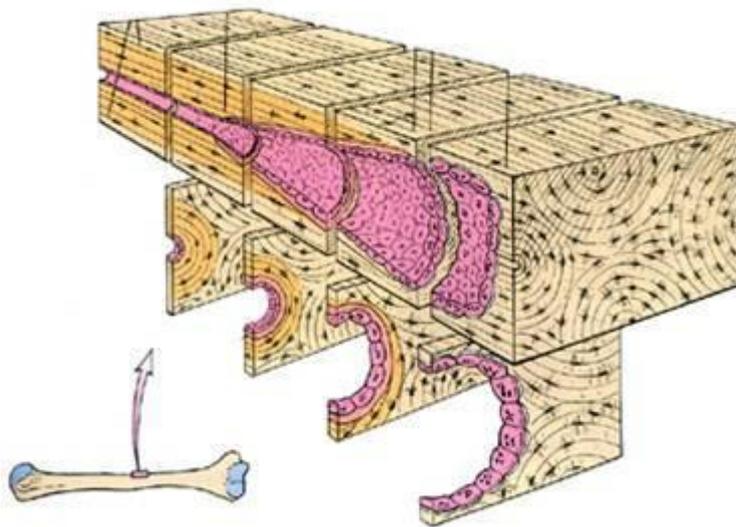


Fig.21. Remodelación Ósea. Esquema *tomado de* <http://www.studyblue.com/notes/note/n/lecture-49-and-50-bone-histology-and-development/deck/1421475>

En el tejido óseo esponjoso primitivo transcurren las mismas fases, pero aquí los osteoclastos no resorben un conducto, sino un surco, por lo que un corte longitudinal a través de la unidad remodeladora ósea se visualiza como una unidad cortical seccionada por la parte media. Así, el surco de resorción comienza en la superficie de una trabécula y desciende hasta una profundidad de unos 70 μm . Aquí también los osteoblastos terminan transformándose en células de recubrimiento óseo, que forman una capa delgada sobre la superficie de la trabécula. El tejido óseo recién formado que ocupa el surco de resorción representa una nueva osteona trabecular.

La remodelación constituye un recambio gradual de todo el tejido óseo primitivo por hueso laminar maduro, pero además es un proceso que continúa durante toda la vida.

El acoplamiento de la actividad de los osteoclastos y los osteoblastos, con activación, resorción y formación de tejido óseo, también denominado secuencia **ARF (activation, resortion and formation)** en la remodelación ósea, implica que la formación de hueso siempre es precedida por resorción ósea, y que la resorción ósea siempre es seguida por formación de hueso.

La frecuencia con que determinada zona ósea sufre remodelación se denomina **frecuencia de activación**. Esta frecuencia es afectada por factores locales tales como citoquinas secretadas, factores de crecimiento, por sobrecargas mecánicas del tejido óseo, además de las hormonas circulantes.

El "*objetivo*" del proceso de remodelación ósea es reemplazar el tejido óseo envejecido, que es sustituido por tejido óseo nuevo de mayor calidad. La remodelación afecta además la reorganización de la estructura trabecular del tejido óseo esponjoso que se organiza como respuesta a una fuerza mecánica aplicada a

este tejido. Los osteocitos pueden reaccionar frente a acciones mecánicas sobre el tejido óseo y es posible que, junto con las células de recubrimiento óseo, intervengan en la activación de la remodelación. La remodelación también tiene un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis del calcio, dado que el constante metabolismo del tejido óseo, con resorción del mismo, favorece el intercambio de iones calcio entre el líquido extracelular y el plasma sanguíneo. El lado negativo de la resorción está presente en el periodo posterior de haber alcanzado la masa ósea pico, a partir de los 30-40 años, es causal de una pérdida gradual e irreversible de masa ósea durante el resto de la vida.²⁸

Todo esto se halla bajo la dirección de un sistema de señales hormonales a su vez modulada por factores locales óseos que mantienen un equilibrio.³³

La Fisiología del metabolismo de calcio y fósforo, la formación de hueso y de los dientes, así como la regulación de la *vitamina D*, la *hormona paratiroidea (PTH)* y la *calcitonina* son procesos íntimamente relacionados.¹⁷

La concentración de calcio en el líquido extracelular está regulada con gran exactitud, su valor normal es de aproximadamente 9,4mg/dl. Este control preciso es esencial, debido a que el calcio desempeña un papel importante en muchos procesos fisiológicos, como la contracción del músculo esquelético, cardíaco y liso, la coagulación de la sangre y la transmisión de impulsos nerviosos, entre otros.¹⁷ Una característica importante de la regulación del calcio extracelular es que solo aproximadamente el 0,1% del calcio corporal total se localiza en el líquido extracelular, alrededor del 1% se encuentra en el interior de las células y el resto permanece almacenada en los huesos. Por lo tanto los huesos actúan como grandes reservorios, liberando calcio cuando disminuye la concentración del mismo en el líquido extracelular y almacenándolo en situaciones de exceso. Alrededor del

85% del fosfato corporal permanece almacenado en los huesos, del 14% al 15% es intracelular y menos de 1% se encuentra en el líquido extracelular. El fosfato está regulado por muchos de los mismos factores que regulan el calcio.¹⁷

La **vitamina D** aumenta la reabsorción de calcio en el tubo digestivo, además posee efectos, tanto sobre el depósito como sobre la resorción de hueso. La Vitamina D se produce principalmente en la piel, allí se sintetiza por acción de la luz solar. Dicha vitamina no es en sí una sustancia activa, por el contrario debe convertirse primero, mediante reacciones sucesivas en el hígado y en el riñón (por estímulo de la paratohormona), en el producto final activo, el 1,25-dihidroxicolecalciferol, también denominado $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.^{17,33} (Fig.22)

En resumen, la forma activa de la vitamina D tiene varios efectos sobre el intestino, los riñones y los huesos, incrementa la reabsorción de calcio y fosfato hacia el líquido extracelular y contribuye a la regulación de estas sustancias mediante el mecanismo de retroalimentación.

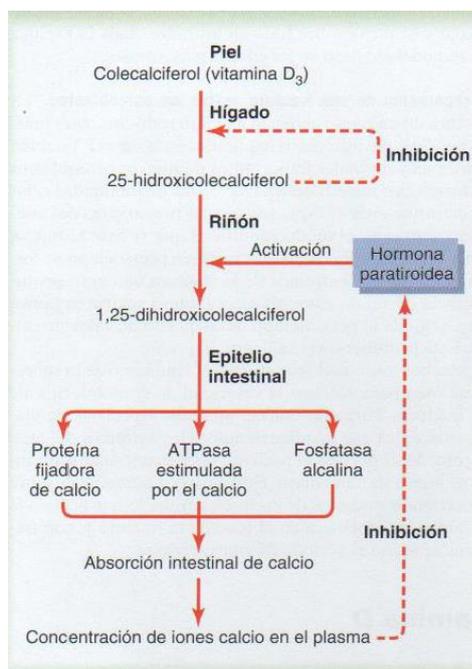


Fig.22. Tomada de GUYTON 2006. Activación de la vitamina D, para formar 1,25-dihidroxicolecalciferol y el efecto de la vitamina D en el control de la concentración plasmática de calcio.

La **PTH (Parathormona)** es la hormona secretada por las glándulas paratiroides, el ser humano posee cuatro glándulas paratiroides, una detrás cada uno de los polos superiores e inferiores de la glándula tiroides (Fig.23). Esta hormona constituye un potente mecanismo para el control de las concentraciones extracelulares de calcio y fósforo, ya que regula la absorción intestinal, la excreción renal y el intercambio de estos iones entre el líquido extracelular y el hueso. La PTH aumenta la resorción ósea, la resorción tubular de calcio y la absorción intestinal de calcio, estimulando la síntesis renal de 1,25-vitamina D; por lo tanto es hipercalcemiante. Su secreción aumenta cuando disminuye la calcemia y disminuye cuando esta aumenta.^{17,33}

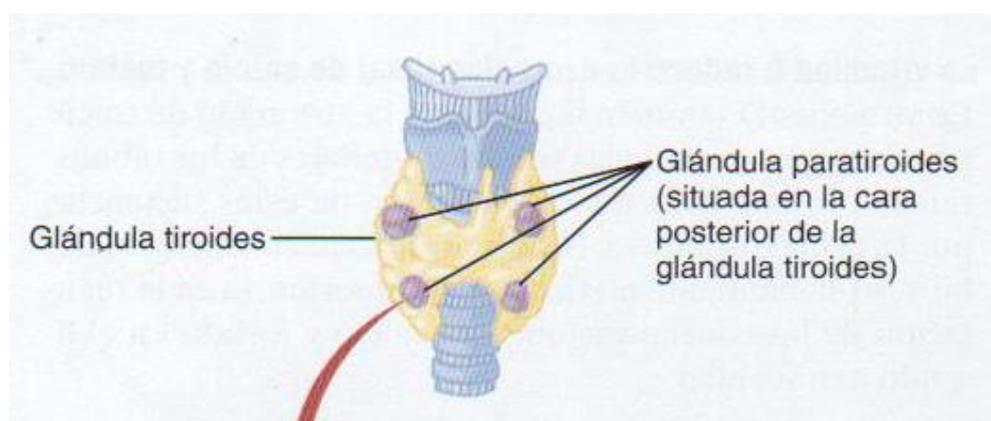


Fig.23. Glándula paratiroides. Tomada de GUYTON 2006.

La **Calcitonina** es una hormona sintetizada y secretada por las células C de la glándula tiroides. Esta hormona tiende a *reducir* las concentraciones plasmáticas de calcio y, en general, sus efectos se oponen a los de la PTH. El estímulo principal para su secreción es el incremento de la concentración plasmática de calcio iónico. Este efecto es contrario al que afecta la secreción de PTH, que aumenta cuando la concentración de calcio disminuye.¹⁷

Otras hormonas actúan sobre el metabolismo del calcio y del hueso, como los esteroides gonadales y suprarrenales, la tiroxina y la hormona de crecimiento, aunque, a diferencia las hormonas calciotropas, su secreción no depende principalmente de la concentración extracelular de calcio.³³

La concentración de las hormonas que regulan el metabolismo del calcio determina la dirección del recambio óseo, pero los factores locales modulan el efecto final y, a su vez, modifican la concentración de las hormonas y la respuesta biológica a nivel de los osteoblastos y los osteoclastos.³³

Entre los factores locales implicados se destacan el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), la interleukina1 (IL1) y 6 (IL6), el factor de necrosis tumoral (TNF) y otras citoquinas.³⁴

El proceso de recambio óseo no es igual en todas las etapas de la vida. Inicialmente, y hasta aproximadamente los 20 años la formación excede la reabsorción, dando lugar al crecimiento de los huesos (modelado) y a un continuo aumento de la masa ósea. Luego se estabiliza y la reabsorción y la formación se equiparan. En un último periodo, la reabsorción es mayor de la formación (de mayor importancia en la mujer, y después de la menopausia, por deficiencia en el nivel de estrógenos) lo cual determina una disminución de la masa ósea, pudiendo llevar a osteopenia y osteoporosis.³⁵

El remodelado se produce en todas las superficies óseas, tanto externas como internas. De esta manera, aunque el volumen de hueso trabecular es menor, su superficie es mayor, lo que genera que el intercambio metabólico se produzca aproximadamente cuatro veces más que en el hueso compacto. Esto determina que

en los casos de pérdida del balance en el **turnover**, como en la última fase arriba mencionada, inicialmente se vea afectado más el hueso esponjoso, con adelgazamiento del espesor de las trabéculas y posteriormente con pérdida de conectividad de las mismas.²⁹ (Fig.24)

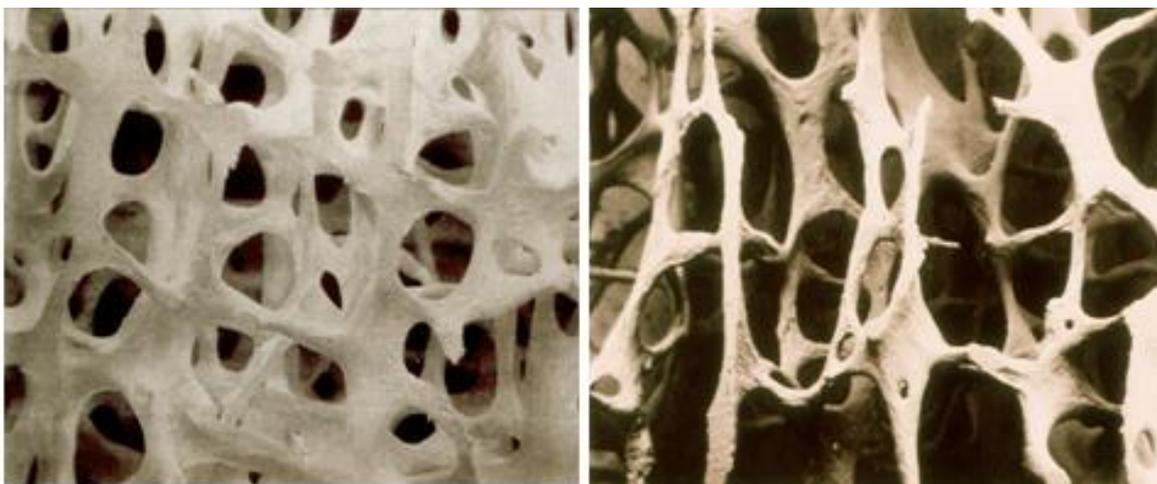


Fig.24. Hueso Sano y Hueso Osteoporótico.

http://www.nras.org.uk/about_rheumatoid_arthritis/established_disease/possible_complications/osteoporosis_in_ra.aspx

Podemos concluir que los huesos más corticales presentan una mayor resistencia y se ven menos afectados en caso de alteración del balance metabólico, con respecto a los de mayor contenido de esponjoso. Sin embargo, estos últimos presentan mayores condiciones para la regeneración, debido a su mayor cantidad de medula ósea.

Marcadores bioquímicos del metabolismo óseo: Los marcadores bioquímicos del metabolismo óseo son interesantes desde el punto de vista clínico para evaluar el proceso de remodelado. Así hay marcadores de formación ósea, como la fosfatasa alcalina, osteocalcina y protocógeno tipo I y marcadores de reabsorción, tales como la hidroxiprolinuria y la fosfatasa ácida resistente al tartrato.

De los 11 marcadores bioquímicos para medir la formación y resorción óseas, 9 son proteínas de la matriz extracelular.³²

2.1.7 REGENERACIÓN ÓSEA.

Se entiende por **regeneración ósea** el proceso por el cual un defecto estructural en el hueso es corregido mediante la formación de un tejido de iguales características al original. En cambio, se utiliza el término **reparación ósea** cuando el tejido de reemplazo es diferente (tejido cicatricial) y no recupera las propiedades mecánicas ni la fisiología del original.²⁹

El tejido óseo y el embrionario son los únicos tejidos del organismo con la capacidad de regenerarse. Se produce en el hueso, tras un trauma, la **restitutio ad integrum**. Cuando ocurre una fractura, la colocación de un implante dental o la inserción de un injerto para aumentar el sustrato óseo, antes de la instalación de implantes, lo que se pretende es la regeneración ósea.³⁶

Procesos biológicos de la regeneración ósea: La regeneración ósea origina una respuesta en la que están involucrados los vasos sanguíneos, las células y la matriz extracelular. Tras un trauma se produce una respuesta inflamatoria y un hematoma inicial, con hematíes, plaquetas y fibrina. Las células de coágulo liberan interleuquinas y factores de crecimiento, originando la migración de linfocitos, macrófagos, precursores de osteoclastos y células mesenquimales pluripotenciales. Estas señales moleculares promueven la diferenciación hacia células endoteliales, fibroblastos, condroblastos y osteoblastos, dando origen a un nuevo tejido fibrovascular, que reemplazará el coagulo inicial. Todo ello está regido por una serie

de factores interrelacionados entre sí, como son factores genéticos, mecánicos, vasculares, nutricionales, hormonales y locales.^{32,36}

- Factores Genéticos: Son determinantes muy importantes en el pico de masa ósea, ya que entre el 60 y el 80% de ésta se encuentra determinada genéticamente.
- Factores Mecánicos: La actividad física es imprescindible para el correcto desarrollo del hueso. La acción muscular transmite al hueso una tensión que es detectada por la red de osteocitos incluida en el interior del fluido óseo. Estos osteocitos producen mediadores como prostaglandinas, óxido nítrico e IGF-I que estimulan tanto su actividad como la de los osteoblastos y originan una mayor formación ósea.
- Factores Vasculonerviosos: La vascularización es fundamental para el normal desarrollo óseo permitiendo el aporte de células sanguíneas, oxígeno, minerales, iones, glucosa, hormonas y factores de crecimiento. La inervación es necesaria para el normal fisiologismo óseo. El hueso es inervado por el sistema nervioso autónomo y por fibras nerviosas sensoriales.
- Factores Nutricionales: Este factor puede ser modificado. Se necesita un mínimo de calcio para permitir la mineralización que la mayoría de los autores cifran en unos 1.200 mg diarios hasta los 25 años; después y hasta los 45 debe ser de 1 g y tras la menopausia debe ser por lo menos 1.500 mg al día.
- Factores Hormonales: El desarrollo normal del esqueleto está condicionado por el correcto funcionamiento del sistema endocrino, fundamentalmente por la hormona somatotropa (GH) y las hormonas calciotrópicas (parathormona, calcitonina, metabolitos de la vitamina D). Las hormonas son mensajeros sistémicos que actúan a distancia de su lugar de producción (**efecto**

endocrino), pero también regulan la síntesis y acción de los factores locales, que intervienen directamente en el metabolismo celular (**efectos autocrino y paracrino**). Las hormonas más importantes que intervienen en la fisiología ósea son:

- Hormonas Tiroideas: Poseen dos acciones contrapuestas sobre el hueso. En primer lugar estimulan la síntesis de la matriz osteoide por los osteoblastos y su mineralización. En segundo lugar, se produce un efecto contrario, estimulando la reabsorción, al aumentar el número y función de los osteoclastos.
- PTH (Parathormona): Es producida por las glándulas paratiroideas, controla la homeostasis de calcio a través de la acción directa sobre el hueso y el riñón e indirecta en el intestino. Es la hormona hipercalcemiente por excelencia, al favorecer la reabsorción.
- Calcitonina: Producidas por las células C o parafoliculares de la glándula tiroides, es inhibidora de la reabsorción ósea, al reducir el número y actividad de los osteoclastos.
- $1,25(\text{OH})_2$ Vitamina o Calcitriol: Hormona esteroidea que favorece la absorción intestinal de calcio y fosfato, por ende, la mineralización ósea.
- Andrógenos: Tienen un efecto anabolizante sobre el hueso a través del estímulo de los receptores de los osteoblastos. Además actúan como mediadores en el pico de GH existente en la pubertad.
- Estrógenos: Tienen un doble efecto sobre el metabolismo óseo. Por un lado favorece la formación ósea al aumentar el número y función de los

osteoblastos y, por otro lado, disminuye la reabsorción. Son esenciales para el cierre de los cartílagos de conjunción.

- Progesterona: Son anabolizantes sobre el hueso, bien directamente, a través de los osteoblastos, que poseen receptores para la hormona o bien de forma indirecta, mediante la competición por los receptores osteoblásticos de los glucocorticoides.
- Insulina: Estimula la síntesis de la matriz directa e indirectamente, a través del aumento de la síntesis hepática de IGF-I (factor de crecimiento análogo a la insulina-I)
- Glucocorticoides: A dosis alta tienen efectos catabólicos sobre el hueso, ya que inhibe la síntesis IGF-I por los osteoblastos, y suprimen directamente la BMP-2 y el Cbfa 1, factores críticos para la osteoblastogénesis.
- Hormona de Crecimiento (GH): Actúa directamente sobre los osteoblastos, con receptores para la hormona, estimulando su actividad, lo que produce un aumento en la síntesis de colágeno, osteocalcina, y fosfatasa alcalina. La acción indirecta se produce a través del aumento IGF-I y II por los osteoblastos. Estos factores favorecen la proliferación y diferenciación de los osteoblastos aumentando el número y función. Además se considera la GH como un factor de crecimiento local, ya que no solo se sintetiza en la adenohipófisis, sino en casi todas las células del organismo, incluidos los osteoblastos, teniendo un efecto **autocrino** y **paracrino**, además de **endocrino**.

- Factores Locales: El remodelado óseo también está regulado por factores locales, entre ellos están los factores de crecimiento, las citoquinas y las proteínas de la matriz ósea (moduladores de la acción de otros factores locales). Las células óseas cumplen un papel importante por la producción de prostaglandinas y óxido nítrico, así como de citoquinas y factores de crecimiento.³²
 - Factores de Crecimiento: Son polipéptidos producidos por las propias células óseas o en tejidos extra óseos, que actúan como moduladores de las funciones celulares, fundamentalmente sobre el crecimiento, diferenciación y proliferación celular.
 - IGF-I y II (Insulin like Growth Factor I y II): Son polipéptidos similares a la insulina sintetizados por el hígado y los osteoblastos. Se hallan en gran concentración en la matriz osteoide, incrementan el número y función de los osteoblastos, favoreciendo la síntesis de colágeno. Están regulados por hormonas y factores de crecimiento. Así la GH, los estrógenos y la progesterona aumentan su producción, mientras que los glucocorticoides la inhiben. El IGF-II es el factor de crecimiento más abundante de la matriz ósea, es importante durante la embriogénesis, pero sus efectos sobre el esqueleto ya desarrollado actualmente se desconocen.
 - TGF- β (Transforming Growth Factor- β): Son una superfamilia de proteínas muy abundantes en el tejido óseo. Están presentes en la matriz en forma latente y se activan durante la reabsorción

osteoclástica. Es un potente estimulador de la formación ósea, potenciando la diferenciación osteoblástica y la síntesis de la matriz osteoide e inhibiendo la síntesis de proteasas (Las MMP metaloproteasa por ejemplo). Además inhibe la reabsorción al reducir la formación y diferenciación de los osteoclastos, así como la actividad de los osteoclastos maduros y estimular su apoptosis.

- BMP (Bone Morphogenetic Proteins): Las proteínas morfogenéticas óseas están incluidas dentro de la familia de los TGF- β . Constituyen un grupo de 15 proteínas capaces de conseguir la transformación de tejido conjuntivo en tejido óseo, por lo que se consideran autoinductivas. Asimismo, son capaces de estimular la diferenciación de células pluripotenciales hacia diferentes líneas celulares (tejido adiposo, cartílago y hueso). Son muy abundantes en el tejido óseo, durante la embriogénesis participan en la formación de hueso y cartílago. Actualmente se las considera como los factores más potentes de la diferenciación osteoblástica.
- PDGF (Platelet-Derived Growth Factor): Por un lado estimula la síntesis proteica llevada a cabo por los osteoblastos, y por otro favorece la reabsorción ósea. Ayuda la cicatrización al generar la proliferación de los fibroblastos, células musculares lisas, estimula la neovascularización y la síntesis de colágeno, por lo que favorece la cicatrización.

- FGF (Fibroblastic Growth Factor): Es anabolizante óseo, ya que es mitógeno de los osteoblastos y las células endoteliales vasculares, así como de los fibroblastos.
 - EGF (Epidermal Growth Factor): Es un potente mitógeno de las células de origen mesodérmico y ectodérmico. Respecto al hueso, podría tener una doble acción, formadora y destructora (esta última es la más conocida).
 - VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor): Induce a la angiogénesis y la proliferación endotelial vascular. Produce vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular.
 - GM-CSF (Granulocyte/Macrophage-Colony Stimulating Factor): Es importante para la osteoclastogénesis y puede intervenir en la patología de la osteopetrosis.
 - M-CSF (Macrophage-Colony Stimulating Factor): Es producido por los osteoblastos y células del estroma medular y es requerido como factor esencial en las primeras fases de la osteoclastogénesis para la formación de células gigantes multinucleadas.
 - TNF (Tumor Necrosis Factor): El factor de necrosis tumoral *in vitro* estimula la reabsorción ósea.
- Proteínas de la Matriz: Las proteínas de la matriz actúan como moduladores de los factores de crecimiento. Hay que tener en cuenta que las proteínas de la matriz se hallan a una concentración mil veces mayor que los factores de crecimiento, por lo que podrían jugar un

papel más importante en la regulación de las diferentes funciones celulares. Por otro lado, estas proteínas de la matriz también participan en la regulación de la diferenciación de las células contenidas en la matriz. Por ejemplo, el colágeno tipo I es uno de los marcadores más tempranos que regulan las células osteoprogenitoras, y la fosfatasa alcalina, es una proteína de superficie que podría participar en la regulación de la proliferación, migración y diferenciación de las células osteoblásticas.³²

- Citoquinas: Son polipéptidos sintetizados en las células linfocíticas y monocíticas que juegan un papel importante en múltiples funciones celulares. Poseen un efecto autocrino y paracrino y en el hueso son importantes las siguientes:
 - Interleuquina 1 (IL-1): Estimula directamente la reabsorción osteoclástica, incrementando la proliferación y diferenciación de los preosteoclastos, así como la actividad osteoclástica, además de inhibir la apoptosis de los osteoclastos.
 - Interleuquina 6 (IL-6): Estimula la reabsorción ósea y parece relacionada con la enfermedad de Paget.
 - Interleuquina 11 (IL-11): Se produce en la medula ósea e induce la osteoclastogénesis.
 - Prostaglandinas (PG): *in vitro* favorecen la reabsorción ósea. Estudios *in vivo*, midiendo los niveles de prostaglandinas en el líquido crevicular han demostrado su participación en la

destrucción ósea que se presenta en la enfermedad periodontal.³⁷

Regeneración ósea guiada: La regeneración ósea guiada (ROG) se basa en el uso de membranas de barrera para tratar los defectos del reborde alveolar. Este método también se denomina “regeneración ósea protegida con membrana”. La membrana de barrera sirve para separar el compartimento tisular formado hueso, cavidad medular adyacente y el defecto óseo de los tejidos blandos suprayacentes. La colocación de la membrana facilita la neovascularización y la repoblación del defecto con células osteogénicas procedentes de la cavidad medular y de la superficie del hueso. Además, la membrana tiene la función de estabilizar el coágulo de sangre y el material de injerto particulado subyacente. Al mismo tiempo, protege el injerto de la reabsorción osteoclástica prematura bloqueando el pase de células precursoras osteoclásticas circulantes desde los tejidos blandos suprayacentes, hasta que inicie la neovascularización desde las paredes del defecto.³⁸ Podemos encontrar dos grupos de membranas, las reabsorbibles y las no reabsorbibles. Las no reabsorbibles necesitan una segunda intervención quirúrgica para su retiro, en cambio las reabsorbibles no necesitan dicho procedimiento.

2.2 INJERTOS OSEOS

Se denomina injertos o rellenos óseos a todos los materiales sintéticos o biológicos que puedan emplearse para rellenar defectos en el hueso, con el objetivo de obtener la regeneración y reparación de éste.

Luego de un tratamiento de un defecto óseo por medio de injertos, se da una serie de procesos que llevan a la regeneración del hueso.³⁹ Inicialmente se produce un agregado plaquetario que forma el coágulo de fibrina, el cual engloba el injerto utilizado. A partir del 4^{to} día comienzan a formarse capilares y arteriolas desde el lecho receptor, que invaden todo el material de injerto presente en la cavidad. Alrededor de los 10 a 14 días se forma el entramado de colágeno. Los osteoblastos proliferan y comienza la migración a través de la matriz de colágeno. Al mes el injerto queda bien vascularizado y comienza la fase de sustitución progresiva que durara entre 4 semanas y varios meses dependiendo del tipo injerto utilizado. Se forma inicialmente un hueso desorganizado que, posteriormente por remodelado, se transformará en hueso maduro bien organizado con características similares al original.²⁹

A diferencia del coagulo de sangre puro, la mayoría de los sustitutos óseos suponen un obstáculo mecánico a la neoangiogénesis y la regeneración ósea temprana. Es fundamental evitar una compresión excesiva del material para no impedir la penetración de los vasos y la migración celular en la zona injertada. Los sustitutos óseos deben contener poros intercomunicados para permitir la penetración de vasos al injerto. Según Karageorgiou y Kaplan, un tamaño de poro superior a 300 μm es biológicamente idóneo para la penetración de vasos en el injerto y su

posterior osificación. Además, los sustitutos óseos se utilizan también como material de relleno pasivo para sostener la membrana y para definir el contorno del injerto.⁴⁰

Para lograr, mediante un tratamiento, la correcta regeneración del hueso se han propuesto varios abordajes para rellenar una cavidad ósea. Estos difieren entre sí por el tipo de material de relleno utilizado.

Los injertos óseos se clasifican según su **origen** en:

- Autoinjerto (Autólogo o Autógeno): Es aquel que procede del mismo individuo.
- Aloinjerto (Homólogo o Alógeno): Es aquel procedente de individuos de la misma especie pero genéticamente diferentes.
- Xenoinjerto (Heterólogo o Xenógeno): Es aquel que procede de individuos de diferentes especies.
- Materiales Aloplásticos o Biomateriales: Son materiales sintéticos biocompatibles.

Según su **mecanismo biológico** el material de injerto puede clasificarse como:

- Osteogénico: Neoforma hueso debido al trasplante de células óseas vivas (osteoblastos y preosteoblastos) de una parte a otra del organismo.
- Osteoinductor: Induce la diferenciación de células mesenquimales pluripotenciales provenientes del lecho receptor, estimulando la neoformación de tejido óseo (Proteínas Morfogénicas Óseas – BMP).
- Osteoconductor: Es la capacidad que tiene el injerto de crear un soporte estructural para la neoformación ósea. Sirve de guía o andamiaje para la formación ósea.

De acuerdo a esto puede considerarse el hueso autólogo como el material de injerto ideal. Sin embargo, en muchas ocasiones, no es posible utilizarlo y es necesario recurrir a los sustitutos óseos.

Analizaremos a continuación primero al hueso autólogo y luego los sustitutos óseos.

Hueso Autólogo: Es el material de injerto ideal, constituido por hueso tomado el mismo paciente. El principal inconveniente consiste en la cirugía adicional para tomar el hueso a injertar, usualmente de la zona del mentón, trígono retromolar, rama mandibular, tuberosidad del maxilar, y en menor medida de la calota craneana o cresta ilíaca dependiendo de la cantidad necesaria.

La cresta ilíaca proporciona una cantidad suficiente de hueso autólogo, incluso para reconstrucciones amplias. La misma posee un hueso esponjoso, que se califica a menudo, como “patrón oro” debido a su elevado contenido en células osteogénicas con una excelente capacidad de integración. Los injertos cortico esponjosos de la cara interna de la cresta anterior, poseen una estructura relativamente blanda, comparable con un hueso tipo D3/D4 según la clasificación de Misch.¹⁴ Sin embargo, su velocidad de reabsorción también es mayor si comparado con los bloques de hueso cortical extraídos de la cavidad oral, una desventaja agravada por la naturaleza potencialmente impredecible de esta reabsorción, sobre todo en los injertos tipo *onlay*. Ni siquiera la carga adecuada con implantes dentales es capaz de impedir la reabsorción progresiva de estos injertos a lo largo de varios años.³⁸

El hueso del cráneo es una matriz formada solo por hueso compacto con una densidad mineral muy elevada. Se cree que el hueso cortical contiene menos células

progenitoras, pero más factores de crecimiento y proteínas morfogenéticas óseas (BMP) en la matriz ósea que el hueso esponjoso.³⁸

Los injertos intraorales procedentes de la mandíbula proporcionan una elevada densidad mineral. Existen diferencias de calidad entre el hueso de la rama mandibular y el hueso del mentón. En el caso de la rama mandibular, la técnica quirúrgica, la presencia del nervio alveolar inferior y de los extremos de las raíces limitan la obtención de la parte cortical del hueso. A diferencia de la rama mandibular, el mentón es una buena zona donante de bloques de hueso corticoesponjoso mediante trefinado. No obstante, en ocasiones es factible tomar hueso de zonas adyacentes al defecto a tratar con lo cual se elimina la necesidad de una cirugía adicional. En estos casos se utiliza cinces para recolectar pequeños fragmentos o bien se puede desgastar el hueso con un motor y luego aspirarlo con una cánula especial con un filtro en su interior, que recoge las partículas. Esta forma es muy útil, ya que puede utilizarse durante las osteotomías para la colocación de los implantes, y presenta una consistencia similar a una pasta, lo que facilita su colocación en el defecto a tratar.²⁹ Por último, cabe destacar que el injerto autólogo es el único que cumple con las tres vías para la formación de hueso (osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción).

Hueso Homólogo: También llamados aloinjertos, son tomados de otros individuos de la misma especie pero de diferentes genotipos. Se obtiene de cadáveres, se almacenan y procesan en bancos. Tiene la ventaja debido a que se elimina el sitio donante en el paciente, se disminuye el tiempo quirúrgico y de anestesia y presenta menor pérdida sanguínea durante la cirugía. Es de vital importancia revisar la historia clínica de los donantes con el fin de evitar los que

tengan antecedentes de infecciones, neoplasias malignas, enfermedades óseas degenerativas, hepatitis B o C, enfermedades de transmisión sexual, SIDA y otras enfermedades que afectan la calidad de hueso y podrían afectar la salud del receptor. Los aloinjertos pueden formar hueso a través del efecto de osteoinducción (por la presencia de las BMP) y osteoconducción. En cambio, en proceso de osteogénesis no está presente, debido a que el injerto no posee células vivas, por lo tanto la formación ósea es lenta y se pierde volumen apreciable si se compara con el injerto autólogo. La bioactividad residual de las BMP depende de la agresividad de los métodos de desinfección de estos productos. El riesgo de transmisión de enfermedades también varía en función de las técnicas de esterilización aplicadas.³⁸ El aloinjerto se comporta como una estructura que permitirá el crecimiento de un nuevo hueso a partir del reemplazo gradual que sufre el injerto por el hueso del huésped.²⁹

Hueso Heterólogo: Son denominados xenoinjertos y se obtienen de otras especies. El hueso bovino es el xenoinjerto más estudiado en regeneración ósea. Según su estructura el injerto de hueso bovino puede dividirse en hueso bovino orgánico e inorgánico.⁴¹

El hueso bovino orgánico, es una matriz orgánica liofilizada extraída del hueso bovino cortical y esponjoso. Durante su procesamiento, es lavado para la eliminación de la sangre y otras impurezas reduciendo los riesgos de infección y la respuesta inmunológica del huésped. Luego es descalcificado y rehidratado por un proceso de liofilización previniendo la desnaturalización de las proteínas manteniendo el componente activo, incluyendo las proteínas morfogenéticas óseas (BMP).⁴² Por lo tanto este sustituto óseo retiene la estructura colágena trabecular del

tejido original y sirve como osteoconductor biológico con proteínas osteoinductivas. En animales la reabsorción se da totalmente después de 90 días. Estudios de histopatología demostraron, que después de la implantación de este biomaterial en humanos, se produce la inducción de la formación de tejido óseo normal, altamente celularizado y vascularizado, con todas las características de hueso vivo.⁴¹ Un ejemplo de este tipo de material es el GenOX-org cortical® (Baumer S.A.). (Fig.25)



Fig.25. Matriz orgánica porosa liofilizada extraída de hueso cortical bovino. Tomado de <http://www.odontomedicalrs.com.br/GenOx-Org-Cortical.php>

El hueso bovino inorgánico, esponjoso y cortical, es la fracción mineral del hueso bovino. Es producido por la remoción de todos los componentes orgánicos del hueso bovino, se conoce como hueso bovino anorgánico o desproteinizado. La matriz de hueso bovino desproteinizado (**Deproteinized Bovine Bone Mineral - DBBM**), también conocida como hidroxiapatita de origen bovino, es un sustituto óseo bien documentado con una tasa de sustitución baja para injertos intraorales. Este basa sus propiedades en procesos que remueven totalmente los lípidos, proteínas, proteoglicanos y glucoproteínas, conservando la estructura mineral. El material así obtenido se caracteriza por buena histocompatibilidad, buenas propiedades mecánicas, semejantes al hueso y buena capacidad osteoconductor por su similitud a la matriz inorgánica del hueso humano.²⁹ Dicho de otro modo favorece una

aposición lenta de hueso desde las paredes óseas al interior del defecto. Este crecimiento aposicional depende de la formación de nuevos vasos sanguíneos entre las partículas del sustituto óseo. Este tipo de injerto no induce la osteogénesis por diferenciación de células progenitoras mesenquimatosas mediada por la BMP. La DBBM no se destruye, o se destruye muy lentamente, las partículas óseas se osteointegran en el nuevo hueso formado.³⁸ Se puede adoptar al injerto de propiedades osteoinductivas mezclando las partículas del sustituto óseo con virutas de hueso autólogo.^{38,44} Actualmente este material está desprovisto de inmunogeneidad ya que se somete a procedimientos pirolíticos que eliminan todos sus elementos proteicos y celulares que habitualmente ocupan los espacios intertrabeculares del hueso.⁴³ (Fig.26)



Fig.26. El producto Bio-Oss® (Geistlich, Suiza) es un ejemplo de Matriz de Hueso Bovino Desproteínizado (DBBM).

En el presente trabajo fue utilizado un material perteneciente a este grupo. Hidroxiapatita de Origen Bovino (Osteodens®, Pharmatrix Div. Therabel Pharma S.A, Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina). Existen dos tipos de Osteodens®:

- Osteodens® **E**: Matriz ósea **esponjosa** inorgánica 100%.
 - Gránulos (granulometría 0,25 – 1.0 mm y 1-2 mm).
 - Bloques estériles (aproximadamente 2 cm³).

- Osteodens® C: Matriz ósea **cortical** inorgánica 100%
 - Gránulos (granulometría 0,5 – 1.0 mm).

En el presente estudio se utilizó el Osteodens® E en gránulos de 0,25 – 1.0 mm. Según el fabricante, es una matriz mineral porosa natural, biocompatible, estéril, de origen bovino para uso en cirugía periodontal y maxilofacial, en la cual se ha eliminado todos sus componentes orgánicos. Su composición química es comparable a la matriz mineral del hueso humano. Además, tiene una micro y macro estructura similar a la del hueso humano, su acción es específicamente osteoconductiva.⁴⁵ (Fig.27)

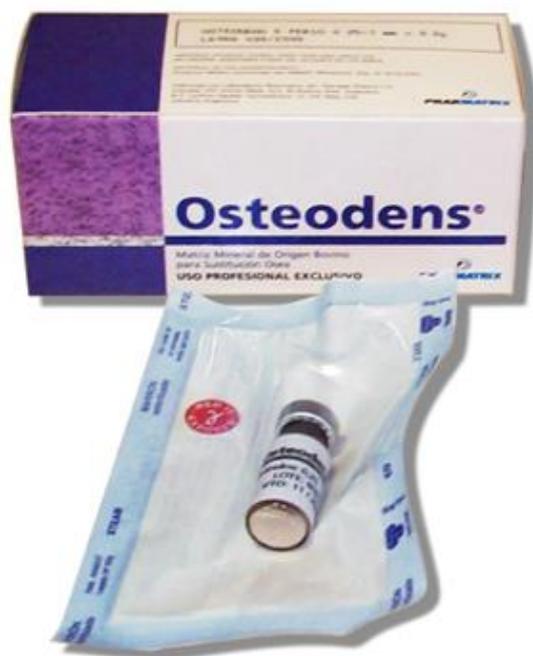


Fig.27. Matriz Mineral de Origen Bovino. Osteodens®, Pharmatrix Div. Therabel Pharma S.A, Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina.

En este grupo también se clasifican los xenoinjertos derivados del coral (**hidroxiapatita coralina**). El cual está constituido por más de 98% de carbonato de calcio en una forma cristalina. El hueso es irradiado para su esterilización y su forma

comercial más conocida es Biocoral® (France S.A.S.). Este material tiene una alta resistencia a la fuerza compresiva pero es quebradizo y su principal desventaja es su alta tasa de resorción.^{41,46} (Fig.28)



Fig.28. Biocoral®. Tomado de www.biocoral.com

La **Hidroxiapatita ficógena** es otro tipo de material de injerto clasificado en este grupo. Se trata de una hidroxiapatita natural microporosa y no reabsorbible derivada de algas calcificadas. Presenta una superficie muy parecida a la del hueso, teniendo afinidad por las proteínas y los factores de crecimiento de la matriz ósea. La integración ósea y la proliferación de hueso sobre la superficie de los gránulos de hidroxiapatita ficógena, se aplica porque el patrón de mineralización en algas y hueso es muy parecido. Las propiedades físico-químicas de este tipo de hidroxiapatita son casi idénticas a la del hueso, debido a su gran área superficial, al tamaño del cristal y a su contenido de carbonato.⁴⁷

Materiales Aloplásticos: Son materiales sintéticos biocompatibles, reabsorbible o no reabsorbibles. Una de las ventajas de estos materiales es la relativa seguridad en cuanto a la posibilidad de infecciones. Generan una matriz que conduce la regeneración ósea, por lo tanto son osteoconductores.

Son fabricados de diversas texturas, tamaño de partículas y formas. Pueden clasificarse en cerámicas, polímeros y composites; los más empleados son las cerámicas que pueden ser bioinertes (óxido de aluminio o titanio) y/o bioactivas (fosfato cálcico). Las cerámicas bioinertes no se unen directamente al hueso y se mantienen en contacto con este por medios mecánicos. Las cerámicas bioactivas se unen químicamente al hueso receptor y son el principal grupo de aloplastos usados en el aumento óseo, incluyen la hidroxiapatita sintética, el fosfato tricálcico y el vidrio bioactivo reabsorbible.^{44,48}

Uno de los materiales aloplástico más utilizado en regeneración ósea es el fosfato tricálcico (TCP), que es la forma porosa del fosfato de calcio. Se presenta en dos formas (α -TCP y β TCP) distintas, tanto cristalográficamente como también en relación a la solubilidad y a la degradación. (Fig.29)



Fig.29. Beta-TCP de Synergy. Odontit (USA). Tomado de www.odontit.com

La empresa Straumann (Friburgo, Alemania) desarrollo el material conocido como BoneCeramic®, el mismo se forma por un proceso de sinterización de la

hidroxiapatita y el β TCP en una relación de 60:40. Se trata de un material osteoconductor reabsorbible. (Fig. 30)



Fig.30. Straumann® BoneCeramic *Tomado de* www.straumann.com.br

El Dr. Baez Adolfo, en su trabajo de tesis, para la obtención del título de Magíster en Implantología Oral (Facultad de Odontología - UNLP), estudió algunos materiales de injerto clasificados en este grupo. Analizó el en Fosfato Tetracálcico Fraguable solo, y asociado con Hidroxiapatita Sintética. El fosfato tetracálcico fraguable presenta un consistencia cremosa muy similar a un yeso de uso odontológico. El fraguado es rápido y ocurre al cabo de 3 minutos, lo cual hace que una vez colocado dentro del defecto mantenga la forma que se le otorga. Según el autor, el defecto óseo realizado en el fémur de los animales (mismo modelo animal utilizado en el presente trabajo) se regeneró de forma completa con una buena arquitectura ósea, presentando gran adhesividad y adaptación a los tejidos. Es un material osteoconductor y reabsorbible. Además, la combinación con hidroxiapatita sintética no supuso un beneficio adicional, ya que los resultados fueron similares a los obtenidos con el fosfato tetracálcico solo.⁴⁹

2.3 HORMONA DE CRECIMIENTO

La hormona de crecimiento, denominada también de somatotropina u hormona somatotropa, es una molécula proteica pequeña que contiene 191 aminoácidos en una sola cadena, con un peso molecular de 22.005 Kd. Induce el crecimiento de casi todos los tejidos del organismo que conservan esa capacidad. Favorece el aumento de tamaño de las células y estimula la mitosis, dando lugar a un número creciente de las mismas y la diferenciación de determinados tipos celulares, como las células del crecimiento óseo y los miocitos precoces. La GH mejora casi todos los aspectos de la capacitación de aminoácidos y de la síntesis proteica por las células y, al mismo tiempo, reduce la degradación de las proteínas.¹⁷

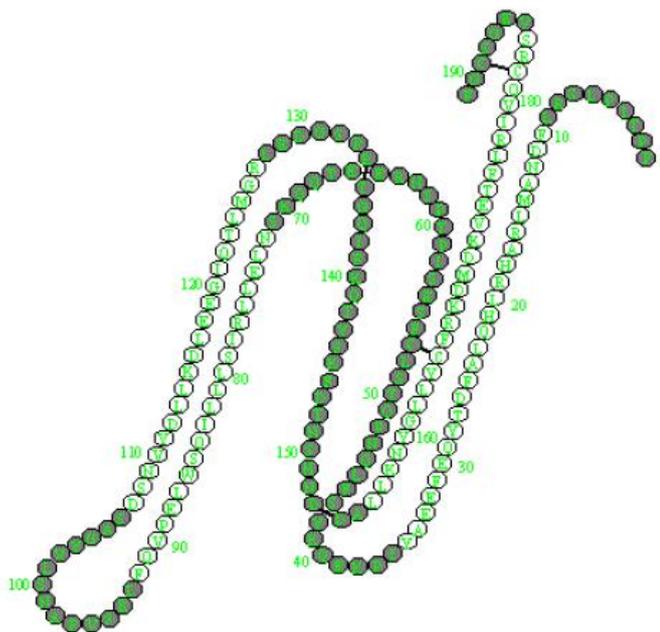


Fig.31. Representación esquemática de la forma molecular de la GH. Tomado de la Tesis Doctoral de Cecilia Vander Worf Úbeda, Universidad de Granada, España.²⁴

La GH se origina en la hipófisis o *glándula pituitaria*. La hipófisis es una pequeña glándula del alrededor de 1 cm de diámetro y 0,5-1 gramo de peso, situada

en la silla turca (cavidad ósea en la base del cráneo) y unida al hipotálamo mediante el tallo hipofisiario. Desde una perspectiva fisiológica, la hipófisis se divide en dos partes bien diferenciadas: el lóbulo anterior o *adenohipófisis* y el lóbulo posterior o *neurohipófisis*. Entre ambos existe una pequeña zona poco vascularizada y denominada *pars intermedia*, prácticamente inexistente en la especie humana y mucho más grande y funcional en algunos animales inferiores.¹⁷

La adenohipófisis secreta seis hormonas peptídicas necesarias (*hormona de crecimiento, corticotropina, tirotropina, prolactina, hormona estimulante de los folículos y la hormona luteinizante*) y otras menos esenciales, mientras que la neurohipófisis sintetiza dos hormonas peptídicas importantes (*hormona antidiurética y la oxitocina*).¹⁷

La GH es sintetizada, almacenada y secretada por las células somatrotropas ubicadas en el interior de la adenohipófisis. Casi toda la secreción de la hipófisis está controlada por señales hormonales o nerviosas procedentes del hipotálamo. La secreción de la neurohipófisis está controlada por las señales nerviosas que se originan en el hipotálamo y terminan en la neurohipófisis. Por el contrario, la secreción de la adenohipófisis está controlada por las hormonas llamadas hormonas (o factores) de liberación o de inhibición hipotalámicas. Estas se sintetizan en el hipotálamo y pasan a la adenohipófisis a través de minúsculos vasos sanguíneos denominados *vasos porta hipotálamo-hipofisarios*. La hormona de crecimiento es secretada al torrente sanguíneo bajo el estímulo de la Somatoliberina u hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH). En cambio, la inhibición de su secreción se produce por el estímulo de la hormona inhibidora de la hormona de crecimiento (GHIH), denominada también Somatostatina. Ambas son polipéptidos, la GHRH está formada por 44 aminoácidos y la somatostatina por 14. La secreción de

la GH, al igual que de otras hormonas depende de un control de retroalimentación negativa típico, mediado por las hormonas hipotalámicas de estimulación e inhibición. Además intervienen en este proceso los esteroides sexuales y el estado nutricional.¹⁷

La GH cumple distintas acciones en el organismo. La misma estimula el crecimiento somático y actúa en el metabolismo intermediario estimulando el anabolismo proteico y la lipólisis. Los efectos anabolizantes de la GH ocurren en tejidos muy variados como hueso, cartílago, músculo, hígado y una serie de vísceras y glándulas.^{17,25}

A nivel muscular, se observa un incremento de transporte de aminoácidos al interior de la célula, que aparece rápidamente y es bloqueable por inhibidores de la síntesis proteica. Unas horas más tarde hay un claro aumento de ARN ribosómico, de la síntesis de ADN y neosíntesis proteica. Estos mismos fenómenos ocurren en el hígado, donde la GH promueve la fabricación de un gran número de proteínas (entre ellas las somatomedinas/IGF-I).

Además, la GH desempeña un papel en la regulación de niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos, disminuyendo los primeros e incrementando los segundos. Con la destrucción de los triglicéridos y oxidación de los ácidos grasos se consigue la energía necesaria para la fabricación de proteínas. Asimismo, la GH influye sobre el metabolismo de los hidratos de carbono y los lípidos. Estimula la expresión del gen de la insulina.²⁵

Aunque la GH estimula el depósito de proteínas y el crecimiento de casi todos los tejidos del organismo, su efecto más evidente consiste en el aumento del crecimiento del esqueleto.

Según Ohlsson C *et al*, la GH es una de las sustancias más importante en la regulación del crecimiento y remodelación del tejido óseo *in vivo*.¹⁵

Existen dos mecanismos fundamentales que explican el crecimiento óseo:

En *primer lugar*, en respuesta a la estimulación a la GH, la longitud de los huesos largos aumenta en los cartílagos epifisarios, donde las epífisis de los extremos del hueso están separadas de las diáfisis. Este crecimiento produce el depósito de cartílago nuevo, seguido de su conversión en hueso nuevo, como consecuencia las diáfisis se separan cada vez más de las epífisis. Al mismo tiempo el cartílago epifisario va desapareciendo, de modo que al final de la adolescencia ya no queda cartílago epifisario adicional que permita seguir creciendo los huesos largos, como consecuencia se produce la fusión ósea entre la diáfisis y la epífisis en cada uno de los extremos y el crecimiento longitudinal de los huesos largos se detiene.

En el *segundo mecanismo* del crecimiento óseo, los osteoblastos del periostio depositan hueso nuevo en la superficie del viejo, al mismo tiempo los osteoclastos eliminan hueso viejo. Cuando el ritmo de aposición supera al de resorción, el grosor del hueso aumenta. La remodelación ósea es regulada por el balance entre la resorción y neoformación de hueso. En este proceso la GH tiene un papel fundamental. Esta hormona posee un potente efecto estimulante de los osteoblastos, en consecuencia el grosor de los huesos puede seguir aumentando durante toda la vida bajo los efectos de la hormona de crecimiento, éste es el caso, sobre todo, de los huesos membranosos.¹⁷

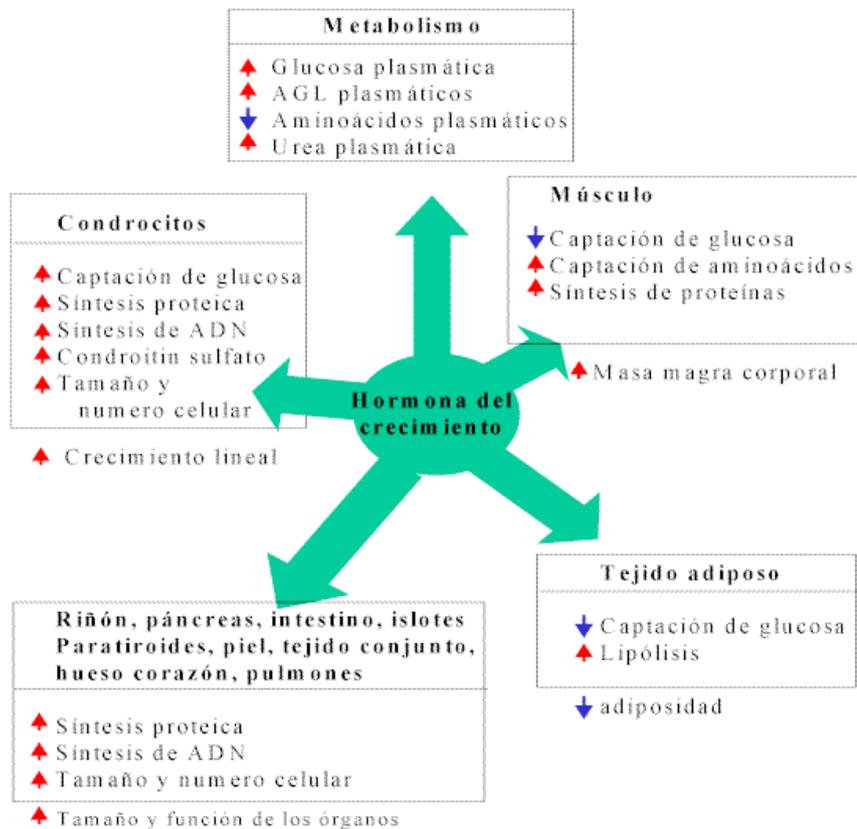


Fig.32. Esquema general de las acciones de la GH. Esquema *tomado de*: Insua MF, Fucks K. Hormona de Crecimiento: Fisiología y Acción en el Ejercicio Físico. <http://www.efdeportes.com> Revista Digital – Buenos Aires – Año 9 – N°62 – Julio de 2003.

La GH, al contrario de otras hormonas, no actúa a través de ninguna glándula efectora, sino que ejerce un efecto directo sobre todo, o casi todos, tejidos del organismo (Fig.32). La GH actúa sobre el hígado para formar pequeñas proteínas denominadas somatomedinas que, a su vez, ejercen un potente efecto estimulador de todos los aspectos del crecimiento óseo.¹⁷

Las somatomedinas se producen en muchos tejidos en respuesta a la GH. No obstante, los circulantes proceden principalmente del hígado. El término somatomedina se refiere a su actividad de mediador del crecimiento somático.²⁵

Muchos de estos efectos de las somatomedinas sobre el crecimiento se asemejan a los de la insulina. Por consiguiente, las somatomedinas reciben también el nombre

de factores de crecimiento pseudoinsulínicos (*IGF- insulin-like growth factors*). Se han aislado al menos cuatro somatomedinas, pero la más importante de ellas es la somatomedina C (denominada también factor de crecimiento parecido a la insulina I o IGF-I). El peso molecular de la somatomedina C oscila en torno de 7500 y su concentración plasmática guarda una estrecha relación con la velocidad de secreción de la GH.¹⁷ Estructuralmente, el IGF-I (Somatomedina C), es un péptido compuesto por 70 aminoácidos que representa una secuencia aminoacídica similar a la proinsulina. El IGF-II (Somatomedina A) está compuesto por 67 aminoácidos y es también muy similar a la proinsulina.²⁵

Los IGF se hallan en gran concentración en la matriz osteoide, circulan unidos a una serie de grandes proteínas ligadoras en el hígado, que a su vez pueden ejercer efectos estimulantes o inhibidores sobre el hueso. Asimismo, los IGF están regulados por hormonas y factores de crecimiento locales; así la GH, los estrógenos y la progesterona aumentan su producción, mientras que los glucocorticoides la inhiben. Por otro lado, median la interacción osteoblasto-osteoclasto e intervienen de forma activa en el remodelado óseo.²⁵

Las somatomedinas sirven de intermediario en las respuestas características a la GH del cartílago, el hueso, el músculo, el tejido adiposo, los fibroblastos y células tumorales *in vitro*. Los individuos que carecen de capacidad de producir IGFs presentan un retraso del crecimiento, a pesar de sus concentraciones elevadas de GH.^{50,25}

La GH es capaz de estimular la proliferación y diferenciación de osteoblastos, que presentan receptores para la hormona, aumentando la incorporación de H³ timidina dentro de las células y también otros marcadores bioquímicos del fenotipo osteogénico, tales como péptido carboxiterminal del procolágeno tipo I,

osteocalcina y fosfatasa alcalina. Los IGFs, a su vez, incrementan el número y función de los osteoblastos, favoreciendo la síntesis de colágeno.⁵¹

La GH se une de forma muy laxa a las proteínas plasmáticas de la sangre y por tanto, se libera con rapidez desde la sangre a los tejidos (su vida media en la sangre es inferior a 20 minutos). Por el contrario, la somatomedina C se une con fuerza a una proteína transportadora sanguínea que, al igual que la somatomedina C, se genera en respuesta a la GH. Como consecuencia el paso de la somatomedina C de la sangre a los tejidos es lento y su vida media es de unas 20 horas.¹⁷

El receptor de la GH humana (GH-R) es una proteína transmembrana de 620 aminoácidos codificada por un gen ubicado en el cromosoma 5. A diferencia de lo que ocurre con la unión GH-GHBP-I (proteína transportadora), la unión de la hormona a su receptor es de 1:2, es decir, una molécula de la hormona debe unirse a dos moléculas del receptor para poder originar un complejo más activo, lo que está en consonancia con la existencia en la molécula de GH de dos sitios activos de unión (Fig.33). La importancia de este modo de unión viene determinada porque de esta forma el máximo efecto de GH se obtiene a concentraciones menores de las que serían necesarias para ocupar todos los receptores si la unión fuese mol a mol.²⁵

En la inducción de los efectos biológicos de la GH existe al menos un doble mecanismo de acción:

- Mecanismo clásico de generación de mensaje tras la unión de la hormona a su receptor en la membrana plasmática.
- Actuación a nivel nuclear tras la internalización de la GH acoplada al receptor.

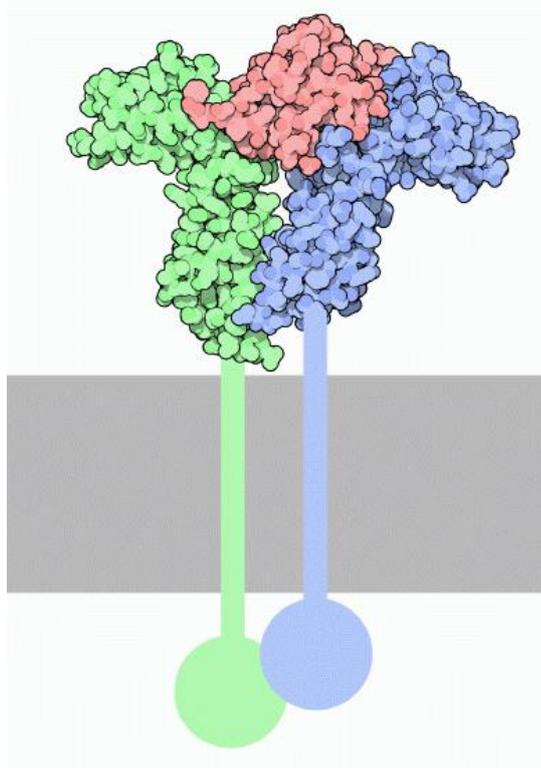


Fig.33. Hormona de Crecimiento (Rojo) acoplada a sus dos receptores (verde y azul). Tomado de <http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=52>

Después de la adolescencia, la secreción de GH, disminuye lentamente con la edad y, en última instancia, alcanza el 25% del nivel de la adolescencia en edad muy avanzada. Su secreción sigue un patrón pulsátil, con ascensos y descensos. Dicha secreción está controlada por diversos factores relacionados con la nutrición o el estrés, como por ejemplo: la inanición, la hipoglucemia, el ejercicio, la excitación y los traumatismos estimulan la secreción de la mencionada hormona. Se produce una oleada nocturna de la GH 1 o 2 horas después del comienzo del sueño profundo, por el contrario el sueño ligero, asociado a movimientos oculares rápidos (sueño REM), inhibe la liberación de GH. La concentración normal de la GH en el plasma del adulto oscila entre 1,6 y 3 ng/ml, mientras que en los niños y adolescentes se aproxima a 6 ng/ml.^{17,24}

El uso terapéutico de la GH fue introducido para niños con insuficiencia hipofisaria a principios de la década del 50 y la misma se obtenía en forma extractiva de hipófisis humanas cadavéricas. Tras varias décadas de utilización de la hormona de crecimiento extraída de hipófisis humanas, en el año 1985 tanto en Europa como en los EE.UU. se suspendió el tratamiento debido a la aparición de pacientes con enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, una encefalopatía degenerativa fatal transmitida por un tipo de proteína infecciosa llamada prion, iatrogénicamente contraída a través de tejidos humanos infectados. Coincidentemente con esta grave complicación, se presentó el desarrollo de las nuevas biotecnologías y se logró la biosíntesis de hormona de crecimiento humana recombinante (*Recombinant Human Growth Hormone*, rhGH) por ingeniería genética. A grandes rasgos, la tecnología de producción de ADN recombinante consiste en incluir el gen de la hormona de crecimiento humana (hGH) en un plásmido bacteriano que, a su vez, se introduce en una cepa de *Escherichia coli*, obteniéndose así una bacteria recombinante capaz de sintetizar hGH. Inicialmente todos los pacientes candidatos fueron aquellos con deficiencia de hormona de crecimiento (GHD, *Growth Hormone Deficiency*) de diversas etiologías. Posteriormente, el tratamiento con rhGH se comenzó a utilizar en otras enfermedades que presentaban una significativa repercusión en el crecimiento sin deficiencia clásica de hormona de crecimiento, indicación encuadrada con la denominación de uso no convencional de la rhGH. Actualmente, en la Argentina el Ministerio de Salud Pública de la Nación avala el tratamiento con rhGH para los niños con GHD, síndrome de Turner (Resolución Ministerial 1346/2007), insuficiencia renal crónica (Resolución Ministerial 1347/2007), pequeños para edad gestacional sin crecimiento compensador postnatal (Resolución Ministerial

2091/2010) y síndrome de Prader Willi, en concordancia con los organismos internacionales como la FDA en los EE.UU. y la EMEA en la Unión Europea.^{52,53}

Debido a las limitaciones de la obtención de la GH, se realizó un limitado número de investigaciones hasta la mitad de los años 1980 cuando rhGH se tornó disponible. Como fue explicado en el párrafo anterior, el uso inicial de rhGH fue restringido al tratamiento de los niños con retraso del crecimiento y con deficiencia de la GH. Sin embargo, se sabe que la GH ejerce efectos importantes en el adulto, siendo aprobada, en varios países, su utilización terapéutica en dichos pacientes.¹⁵

Con el aumento de la disponibilidad de la hormona de crecimiento, a partir de los años 90 se incrementó significativamente el número y calidad de las investigaciones hechas con la rhGH.

La principal vía de administración de la GH es la subcutánea y la principal desventaja es su vida media corta y la nefrotoxicidad. Sin embargo se ha investigado otras vías de administración, como, por ejemplo, implantes de láminas biodegradables y la aplicación tópica de rhGH en forma de polvo liofilizado.^{18,19,20,21,22,23,24,25,26,54,55}

Harris WH. *et al.* mostraron, en 1969, la ganancia neta de masa ósea debido a la formación de hueso nuevo como consecuencia de la administración de la GH en perros adultos.⁵⁶

Wittbjer J. *et al.* publicaron, en 1983, uno de los primeros estudios utilizando rhGH en el tratamiento de defectos óseos. El autor administró de forma sistémica y durante 14 días rhGH en conejos sometidos a defectos óseos e injertados con hueso autógeno desmineralizado. Los animales fueron sacrificados a las 14 y 28 días luego de la cirugía. El investigador no encontró influencia de la GH en la inducción del

reparo óseo, probablemente, por la relativa falta de células osteogénicas viables en el defecto óseo.⁵⁷

Rudman D. *et al.* publicaron, en 1990 un estudio que demuestra un incremento en la densidad ósea mineral en hombres mayores de 60 años, después de 6 meses de tratamiento con GH aplicada de forma sistémica.⁵⁸

Brixen K. *et al.* demostraron, en 1995, que la GH era capaz de estimular el recambio óseo, aumentando los marcadores de reabsorción y formación ósea en sujetos sanos, y los valores de osteocalcina, que es una proteína cuya concentración en suero refleja la actividad osteoblástica, aumentaban durante 6 meses, después de una semana de tratamiento con GH.⁵⁹

La GH ha sido usada experimentalmente de forma sistémica para estimular la reparación de fracturas óseas en ratas viejas. Dichos estudios revelan el aumento las propiedades biomecánicas en hasta 400%, comparado con el grupo control, el cual no recibió ningún tipo de tratamiento con esta hormona.^{60,61}

En 1991 Nielsen HM. *et al.* estudiaron el efecto de la administración sistémica de hormona de crecimiento humana biosintética en las propiedades mecánicas de tibias de ratas fracturadas. La GH fue administrada en tres grupos de animales, los cuales se estudiaron por 1, 2 y 3 semanas respectivamente. Al cuarto grupo se le administró solución salina isotónica, siendo el grupo control. Los valores más altos de carga y rigidez se observaron a las 2 y 3 semanas en los animales de recibieron GH.⁶²

En 2001 Stempert VF. *et al.* administraron continuamente de forma sistémica GH con el objetivo de mejorar la estabilidad inicial de implantes en tibias de conejos. Los autores instalaron implantes de titanio, luego administraron por vía parenteral (subcutánea), y continuada, hormona de crecimiento (0.3/kg/día) en el grupo

estudiado y cloruro de sodio (NaCl) en el grupo control. Los niveles de IGF-I fueron medidos en sangre, además de realizar dos pruebas biomecánicas: 1-Cada dos semanas se utilizó el RFA (análisis de frecuencia de resonancia) para evaluar la estabilidad del implante, dicho experimento se ejecutó por 8 semanas. 2- Se registró el torque de remoción para medir la estabilidad e integración de los implantes. Asimismo, se realizó radiografías y estudios histomorfométricos. Diferencias significativas en la estabilidad inicial de los implantes fueron detectadas a través del RFA a las 2 y 8 semanas en el grupo estudiado, sin embargo, los demás parámetros no presentaron cambios significativos.⁶³

También en 2001, Raschke M. *et al.* evaluaron el efecto de la GH homologa recombinante de origen porcino (r-pGH) en la reparación de defectos óseos segmentares en tibias de Yucatán Micropigs adultos. En el grupo estudiado la r-pGH fue administrada, por vía subcutánea, desde el día de la cirugía hasta el sacrificio del animal (42 días), mientras que al grupo control se le administró, por la misma vía, cloruro de sodio. A los animales se les realizaron tomografías computarizadas cuantitativas para la mensuración de los contenidos minerales y de la densidad ósea de zona operada. Se observó un aumento de la densidad ósea en el grupo estudiado, sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa en cuanto al contenido mineral. En la prueba de mecánica ósea, se observó carga de falla de torsión 70% mayor y de dureza a la torsión 83% mayor en el grupo estudiado. Según los autores, la r-pGH estimula la reparación ósea con un aumento mecánico de fuerza y dureza del callo óseo.⁶⁴

En 2002. Bail *et al.* estudiaron la reparación ósea en micropigs utilizando, por vía sistémica, la r-pGH en procedimientos de distracción osteogénica. Observaron

que la r-pGH puede acelerar la regeneración del tejido óseo neoformado sin modificar la microestructura del callo óseo.⁶⁵

Kolbeck *et al.* en 2003 observaron, también en micropigs, una mejora en la reparación ósea de fracturas estabilizadas con miniplacas. Los autores mencionan un aumento en la fuerza y en la dureza del tejido óseo neoformado en el grupo que recibió r-pGH de forma sistémica.⁶⁶

También en 2003, este mismo grupo estudió el efecto de la r-pGH en defectos endocondrales. Los autores realizaron un defecto en el cartílago femoral de micropigs y observaron que el grupo tratado con la r-pGH, por vía subcutánea, tuvo una mayor formación de hueso, cartílago y tejido conectivo cuando comparado al grupo control.⁶⁷

A pesar del conocimiento del efecto anabólico de la GH en el tejido óseo, todavía hay pocos trabajos que demuestran la acción de la rhGH sobre el hueso cuando la misma es aplicada de forma local. Según Harvey S. *et al.*, la GH puede tener, no solo efecto endocrino, sino que también autocrino y paracrino.⁶⁸

En los años 80, Isaksson *et al.* realizaron un estudio el cual demostró que al inyectar GH directamente en la tibia de ratas, se producía crecimiento óseo longitudinal en el sitio de inyección. Dicho estudio indica que la GH regula y estimula el crecimiento óseo, actuando sobre las células óseas, tanto de forma directa, como indirecta (vía IGF-I).⁶⁹

En 1996 Hedner E. *at al.* investigaron si la GH estimulaba la osteogenesis cuando administrada de forma sistémica y, además, aplicada de forma local, en defectos transóseos de 5 mm de diámetro cubiertos con una membrana de

Politetrafluoretileno expandible (e-PTFE) en mandíbulas de ratas. Los resultados mostraron que la GH ejerció un efecto directo (no mediado por el hígado) en el tejido óseo. Por otra parte, este estudio sugiere que la GH puede ser usada, de forma local, para estimular la osteogénesis en conjunto con membranas de e-PTFE.⁷⁰

Según Ohlsson C. *et al.*, En la actualidad la GH es considerada un factor de crecimiento local, no solo porque es sintetizada por la glándula pituitaria sino que además, por casi todas las células del organismo, incluyendo los osteoblastos.⁵⁰

Guicheux J. *et al.* investigaron, en 1998, la eficacia de la administración local de la hormona de crecimiento humana recombinante liberada a través de implantes de fosfato de calcio bifásico macrosporoso (Triosite, Zimmer Co., Rungis, France) en fémures de conejos. El fosfato de calcio, en este caso, cumple la función de un “carrier” llevando la GH a su lugar de acción. El autor menciona que la GH fue liberada rápidamente durante las primeras 48 horas y esa liberación se sostuvo por un total de 9 días. Observaron que la administración local de GH fue capaz de mejorar el proceso de crecimiento interno del hueso y de sustitución de biomateriales por tejido óseo, a través de la aceleración del proceso de remodelado óseo, estimulando la síntesis de colágeno, osteocalcina y fosfatasa alcalina.²⁷

La aplicación local de la IGF-I también fue reportada en la literatura. Stefani *et al.*, en 2000, realizaron un estudio en el cual evaluaron el uso del IGF-I recombinante asociado al factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) en la oseointegración de los implantes de titanio en perros. Los autores aplicaron IGF-I/PDGF en el sitio óseo previo a la colocación del implante, usando como vehículo un gel de metilcelulose al 4%. Observaron un aumento significativo en la superficie de

contacto hueso implante, mayor relleno el espacio periimplantar y mayor impregnación del marcador de neoformación ósea en el grupo estudiado.⁷¹

Andreassen TT. *et al.* estudiaron, en 2003, el efecto anabólico local de la GH de ratas (rGH) en huesos sanos y fracturados. Utilizaron para esta investigación ratas hembras de 10 meses. Los autores inyectaron, en el grupo estudiado, rGH en las superficies de las diáfisis tibiales sanas y fracturadas. En las diáfisis sanas se incrementó las dimensiones óseas externas e se observó un aumento de marcadores óseos. Las diáfisis fracturadas se estabilizaron con tornillos medulares y se las estudiaron a los 21 y 98 días. En el grupo estudiado se incrementó la carga de rotura, la rigidez, dimensiones externas del callo óseo.⁷²

Tresguerres IF. *et al.* en 2002, aplicaron de forma local la rhGH en forma de polvo liofilizado (Saizen; Serono Laboratories, Madrid, Spain) durante el procedimiento quirúrgico de colocación de hojas de titanio en tibias de conejos osteoporóticos. Observaron una mejora periostal, transcortical y de mineralización del osteoide alrededor de las hojas de titanio a los 14 días de su implantación, sin aumentar la resorción ósea.²² Este mismo autor realizó un experimento similar en 2003, aplicando la rhGH alrededor de implantes Screw-Vent (Paragon Implant Company, Encino, CA) colocados en tibias de conejos, no osteoporóticos, en este caso. Los animales tratados de forma local con la GH, presentaron mayor crecimiento de nuevas trabéculas, pero las mismas se presentaron más gruesas y más irregulares cuando fueron confrontadas con el grupo control, el cual no recibió ningún tipo de tratamiento local antes de la colocación del implante. Además se observó que el contacto hueso implante fue significativamente mayor si comparado al grupo control.²¹

En otro estudio, realizado en 2005 por este mismo grupo de trabajo, se investigó la influencia de la aplicación local de la hormona de crecimiento humana recombinante en la formación de hueso periimplantario alrededor de hojas de titanio colocados en tibias de conejos jóvenes. Los autores utilizaron 32 animales divididos en dos grupos: un grupo recibió la rhGH de forma local durante el procedimiento quirúrgico de colocación de las hojas de titanio, mientras que el otro grupo no recibió ningún tipo de tratamiento, siendo el grupo control. Los animales fueron sacrificados a los 7, 14, 21 y 42 días después de la cirugía. Se realizaron análisis morfométricos y densitométricos para calcular la cantidad de hueso recién formado. A los 14 días se observó trabéculas más gruesas pero más irregulares que las del grupo control. Una tendencia a una mayor formación ósea, pero de menor densidad fue observada en el grupo que recibió la rhGH. Asimismo, el contacto hueso implante en las semanas 2 y 6 fue significativamente mayor en el grupo estudiado. En este estudio se llegó a la conclusión de que la rhGH puede estimular las primeras fases de la remodelación ósea en el modelo experimental.²⁰

En 2007, Cecilia Vander Worf Úbeda, en su trabajo de tesis doctoral, realizado en la Universidad de Granada (España), estudió el efecto de la aplicación tópica de la GH recombinante en el proceso de oseointegración de implantes dentales. Este estudio se realizó en perros de la raza Beagle. Se extrajeron los premolares y molares de 12 perros machos, luego de 2 meses se colocaron 4 implantes dentales de 3,25 x 10 mm en las zonas donde se realizaron las exodoncias. Previo a la colocación de dichos implantes, en 2 de ellos se administró, en el lecho quirúrgico, hormona de crecimiento humana recombinante. En las zonas quirúrgicas de los 2 implantes restantes, no se administró rhGH de forma local, siendo el grupo control. A los 14 días se sacrificaron los animales y se realizaron

estudios histomorfométricos. La autora tomó como parámetros el contacto hueso implante (BIC), hueso periimplantario total, hueso interosca y porcentaje de neoformación ósea. Observó un aumento de todos los parámetros utilizados, a excepción del hueso interosca, que no presentó cambio estadísticamente significativo. La autora llegó a la conclusión que la administración local de la GH aumentó significativamente el proceso de oseointegración de los implantes dentales a las 2 semanas de su colocación.²⁴ Aparentemente, este trabajo fue publicado en 2009 en *the International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*.¹⁸ En 2009, Carlos Gómez de Urda Ruiz de Adana realizó, en la misma universidad, un estudio similar en su trabajo de tesis doctoral. En este caso el autor aplicó, en los lechos quirúrgicos, rhGH y a los implantes se les aplicó melatonina liofilizada en polvo. El estudio, al igual que al anterior, se realizó en 12 perros machos de la raza Beagle, pero se sacrificaron los animales a las 2, 5 y 8 semanas. Los parámetros utilizados para la evaluación fueron los mismos nombrados en la tesis de Cecilia Vander Worf Úbeda. El autor llegó a la conclusión de que la aplicación conjunta de GH y melatonina aumenta significativamente la oseointegración en implantes dentales a las 2, 5 y 8 semanas. Además, menciona que dichos fármacos actúan sinérgicamente, como agente biomimético, en la colocación de implantes dentales, de forma que reduce los periodos de oseointegración y carga de los mismos.²⁵ Aparentemente su grupo de trabajo publicó esta investigación en *Clinical Implant Dentistry and Related Research* en 2012.¹⁹

En 2010 Calvo-Girado JL. *et al.* estudiaron, en perros Beagle, el efecto de la aplicación tópica de GH en la formación ósea inicial alrededor de implantes dentales. El diseño del estudio es muy similar a los trabajos mencionados en los párrafos anteriores, es decir, se extrajeron los premolares y molares mandibulares de 12

perros de la raza Beagle. Luego, previo a la colocación de los implantes, en el grupo estudiado, se aplicó 4 UI de GH recombinante. El grupo control no recibió ningún tipo de tratamiento. El principal objetivo de este estudio era evaluar el proceso de oseointegración a las 5 y 8 semanas después procedimiento quirúrgico. Como conclusión el autor menciona que no hubo un cambio significativo en el contacto hueso-implante (BIC) y en los tejidos periimplantarios a las 5 semanas, sin embargo, los valores de neoformación ósea y del hueso interosca aumentaron significativamente. A las 8 semanas se ampliaron (no de forma estadísticamente significativa) los valores del BIC, no obstante se incrementó, significativamente, el hueso interosca y la neoformación ósea.²³

En 2011, Marcelo Emir Requia Abreu, estudió, en su trabajo de tesis doctoral realizado en la Pontificia Universidad Católica de Porto Alegre (Brasil), la acción local de la rhGH en la oseointegración de implantes de titanio. El autor realizó un estudio experimental, en el cual evaluó la utilización tópica de la rhGH en el proceso de oseointegración de implantes nanotexturizados inseridos en tibias de conejos. El autor observó que la rhGH, aplicada de forma tópica, aumenta la velocidad y cantidad de hueso periimplantario neoformado, principalmente en los estadios iniciales de la reparación ósea.²⁶ Este trabajo fue publicado en *The Journal of Oral Implantology*.⁷³

Hossan Elden AM. *et al.* realizaron, en 2011, una evaluación histológica del efecto de la aplicación tópica de GH alrededor de implantes dentales instalados inmediatamente después de las exodoncias de premolares de perros mestizos. Los autores utilizaron 6 perros, en los cuales se extrajeron los premolares inferiores de ambos lados. En el lado derecho (grupo control) se instalaron los implantes inmediatos, en cambio, en el lado izquierdo (grupo estudiado) se aplicó previamente

GH en polvo en los lechos quirúrgicos. Los animales fueron sacrificados a las 2, 6 y 12 semanas después del acto quirúrgico, luego se realizaron estudios histológicos y mediciones. Los autores realizaron comparaciones y observaron que el grupo estudiado presentaba una densidad ósea más significativa y una mejora en la orientación de las fibras colágenas, además de un incremento en la respuesta del tejido óseo en las primeras fases de la reparación.⁷⁴

En 2014 Masood F. *et al.* Estudiaron el efecto de la inyección local de la GH humano recombinante en el crecimiento del cóndilo mandibular de conejos. Este grupo de estudio busca encontrar alternativas en el tratamiento de deformidades dentofaciales. Los autores llegaron a la conclusión que la inyección local de la GH humana en la ATM es capaz de acelerar el crecimiento del cartílago condilar en el modelo animal.⁷⁵

Además, se han reportado estudios utilizando localmente rhGH en la reparación de heridas, con el objetivo de acelerar la cicatrización de tejidos blandos. Según Kim SH *et al.*, en un trabajo utilizando chanchos, la aplicación local de rhGH incrementó la producción de IGF-I y de colágeno tipo 1 en el grupo experimental cuando comparado al grupo control, sugiriendo que la rhGH aumenta de forma significativa la reparación tisular.⁷⁶

En la actualidad existen varios investigadores dedicados a estudiar el proceso de regeneración ósea. Desde el punto de vista de la implantología oral hay distintos grupos de investigación que buscan mejorar los procesos de oseointegración con tratamientos sobre la superficie del implante. Por otra parte, muchos estudiosos buscan modificar la fisiología de la reparación ósea, con el fin de acelerar los procedimientos de cicatrización y, por consiguiente, disminuir los tiempos totales de

tratamiento, como es el caso de la utilización de Hormona de Crecimiento en el proceso de regeneración ósea.

En el presente trabajo se utilizó, de forma local, la hormona de crecimiento humana recombinante (Saizen®, Merck Serono S.A. Aubonne, Suiza), bajo la forma de polvo liofilizado (frasco – ampolla). Cada vial de polvo liofilizado contiene: 1,33 mg (4 UI) de hormona de crecimiento humana recombinante y excipientes de manitol 20,0 mg, fosfato disódico dihidratado 2,0 a 2,4 mg, fosfato monosódico monohidratado 0,30 a 0,40 mg y cloruro de sodio 1,0 mg. Cada ampolla de solvente contiene 1 ml de solución fisiológica. (Fig.34)



Fig.34. Hormona de Crecimiento Humana Recombinante utilizada en el presente trabajo.

3. OBJETIVOS

Objetivo General

- Diseñar una estrategia frente a los defectos estructurales del hueso.

Objetivos Específicos

- Identificar factores que favorezcan la neoformación ósea.
- Estudiar, analizar y evaluar el comportamiento de la Hormona de Crecimiento Humana Recombinante en polvo liofilizado (Somatropina).
- Estudiar, analizar y evaluar el comportamiento de la Hormona de Crecimiento Humana Recombinante en polvo liofilizado (Somatropina) asociado a una matriz de hueso bovino desproteinizado (DBBM).

4. HIPOTESIS

Los defectos óseos responden de manera diferente en cuanto a la calidad y cantidad de regeneración, según sean tratados con hormona de crecimiento humana recombinante sola o en combinación con un injerto óseo.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 GENERALIDADES

Diseño del Estudio

- Tipo de estudio: Experimental cuanti-cualitativo, prospectivo.

Variables

- Variables Independientes:
 - Somatropina (Hormona de Crecimiento Humana Recombinante) en polvo liofilizado.
 - Combinación de Somatropina (Hormona de Crecimiento Humana Recombinante) en polvo liofilizado e Matriz de hueso bovino desproteinizado (DBBM).

- Variables Dependientes:
 - Cantidad de Neoformación Ósea.
 - Calidad de Neoformación Ósea.

Universo y Muestra

Se seleccionaron 15 ratas macho de cepa Wistar, de 16 semanas de edad y de 500g de peso procedentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Las mismas fueron escogidas por

muestreo aleatorio simple y luego fueron divididas en grupos de acuerdo a las variables independientes más un grupo control.

Métodos e Instrumento para la Recolección de Datos

- Observación directa.
- Estudios histológicos realizados por computadora.

Plan de tabulación y análisis

Cada una de las variables independientes se midió según sus indicadores, y luego se tabuló, de acuerdo al efecto producido sobre las variables dependientes de la siguiente manera:

- Cantidad de Hueso Neoformado: Se midió la superficie total de hueso regenerado en función del defecto creado artificialmente, utilizando el software de análisis de imágenes Image ProPlus V.4.1- Media Cybernetics, USA.
- Calidad de Hueso Neoformado: Se realizó un estudio cualitativo en función del recuento de los diferentes tipos celulares presentes, así como de la disposición de la microarquitectura del tejido óseo, utilizando los mismos instrumentos que en el punto anterior.

Luego de obtenidos los datos, se analizó y se estableció que efecto produjo cada variable independiente sobre cada una de las variables dependientes.

5.2 DESARROLLO DE LA METODOLOGIA (MODELO ANIMAL)

Se analizarán a continuación los puntos principales del modelo, teniendo en cuenta todos los detalles que fueron evaluados, hasta arribar al modelo definitivo.

Elección del Animal: Fundamentación

La elección de la rata como animal de experimentación obedece en mayor medida al hecho de que las mismas poseen un metabolismo más acelerado que otros animales, lo cual permite acotar los tiempos en una investigación.

Para asegurar una mínima, o nula, variación entre los individuos que integran la muestra se eligieron animales endocriados, libres de patógenos específicos (SPF). La elección del sexo de los animales se debió a que, durante las pruebas preliminares, algunas hembras murieron, probablemente porque no soportaron la cirugía, debido a su menor peso. Esto produjo que nos decidiéramos finalmente por trabajar sobre machos. Al mismo tiempo, los machos presentan una menor variación hormonal, las hembras debido al ciclo ovárico, sufren variaciones hormonales importantes a lo largo del periodo fértil. En este caso, juegan un papel importante las hormonas esteroides que intervienen en el metabolismo óseo, como por ejemplo los estrógenos. Esa variación en la secreción de los estrógenos, podría influir en el reparo del defecto óseo entre hembra y hembra, dependiendo del estadio del ciclo ovárico que el animal estuviera cursando durante el experimento.¹⁷

La GH es secretada en niveles crecientes a partir de la infancia, presentando el pico de su secreción en la adolescencia, en la adultez se estabiliza y luego, durante la vejez, vuelve a presentar variaciones cuando, gradualmente, empieza a decaer. Este es uno de los motivos por el cual se decide realizar el trabajo sobre

animales adultos, cuya secreción de GH es estable, evitando la aparición de variables de confusión.

Elección de la Anestesia

La anestesia general se logró con Ketamina/Xilacina 75mg/kg más 10mg/Kg vía IM. Se eligió como primera opción debido a la facilidad de uso, y a la no necesidad de instrumentos y/o equipamientos accesorios, como puede ser el caso de la anestesia por vía inhalatoria. Se realizó una prueba para comprobar su utilidad, alcanzando los animales una muy buena anestesia quirúrgica, de unos 20 a 30 minutos de duración, recuperándose sin problema.

Se escogió la vía IM por sobre la IP, por ser de ejecución más simple. Los riesgos de una y otra han sido bien descritos, e incluyen miositis (IM) e infecciones (IP). Sin embargo, ninguno de estos problemas ocurrió en nuestra experiencia.

Acto Operatorio

- **Depilación de la zona a trabajar (Tricotomía):** Esta puede realizarse con máquina de afeitar o con una hoja convencional del tipo Gillete®. Sin embargo, si bien se logra despejar el campo de esta manera, no es del todo prolijo ya que muchas veces aparecen cortaduras en la piel del animal. Estos detalles no crean problemas para la ejecución del modelo, no obstante hemos tenido resultados mucho más prolijos y de manera más rápida, realizando la depilación en forma manual. En efecto, tirando de los pelos suavemente estos salen sin oponer resistencia, probablemente por el estado de relajación durante la anestesia. El resultado es una depilación completa, prolija y rápida. Aquí el factor rapidez es muy importante ya que el tiempo que empleemos de más en este punto, es tiempo que

tendremos de menos para el acto quirúrgico propiamente dicho, debido a la duración de la anestesia.

- **Incisiones:** Se realizaron en la zona del muslo izquierdo por planos, primero la piel y luego el músculo. Por palpación se identifica el fémur, y el largo del mismo, el principal objetivo en este punto es distinguir las articulaciones fémoro-tibial y coxo-femoral. En base a esto se traza una incisión en piel del largo adecuado, idealmente de articulación a articulación. Una incisión chica dificultaría la visión operatoria, mientras que una incisión muy grande determinaría una herida más importante y la necesidad de una mayor cantidad de puntos de sutura.

Una vez completada la incisión en piel, se continúa en el plano muscular con tijeras mediante disección roma. De esta manera, no solo no corremos riesgos de lesionar vasos sanguíneos, sino que también la apertura es más rápida y prolija. Los directores de esta tesis mencionan que en las primeras experiencias, en este modelo animal, realizaban esta etapa también con bisturí. Sin embargo, en uno de los casos se lesionó la arteria femoral, hubo que pinzarla, y detener la cirugía durante un tiempo bastante importante hasta lograr la hemostasia que los permitió continuar. Luego de este hecho, se decidió modificar la técnica.

Una vez identificado el hueso, se posiciona dos separadores de tipo Farabeuf chicos, uno por delante y otro por detrás, y luego se tira suavemente los mismos. Por último se limpia bien la superficie ósea a intervenir, eliminando todo el periostio con la ayuda de un periostótomo.

- **Creación de los defectos óseos:** Las perforaciones se realizaron a baja velocidad (850 RPM). Utilizamos fresas redondas de carburo de tungsteno para pieza de mano recta, cuya parte activa tiene de 3 mm de diámetro (LABORDENTAL, Brasil). Se realizaron 3 perforaciones longitudinalmente contiguas entre sí,

profundizando la totalidad de la parte activa de la fresa, luego se unieron las tres perforaciones, dando como resultado un defecto de tres milímetros de ancho por tres de profundidad y una longitud de nueve milímetros. Cabe destacar, que el defecto se realizó a baja velocidad, con fresas nuevas y de buena calidad bajo abundante irrigación con solución fisiológica, con el fin de evitar el sobre calentamiento de hueso. De esta manera, nos aseguramos de estar utilizando instrumentales que no produzcan daño en el hueso adyacente al defecto óseo, ya que de otra manera, la regeneración sería imposible.

En este modelo se realiza una sola perforación aunque podrían ser más. Mayor cantidad de defectos permite incluir más de una variable dentro de cada animal. Una vez conformados los mismos, pueden ser tratados con gran variedad de terapéuticas tendientes a lograr la regeneración del hueso. Una vez tratados los defectos, se realiza una sutura por planos, primero el muscular y segundo el epitelial.

- **Sutura:** La sutura en el plano muscular corresponde hacerla con hilo reabsorbible. Sin embargo, utilizamos en trabajos anteriores, sutura de seda y no observamos diferencias en cuanto a reacciones adversas, entre los dos tipos de hilos utilizados. En el presente trabajo utilizamos, para la sutura del plano muscular, hilo de Nylon Monofilamento 4/0 (Keeper, China) y tampoco hemos observado reacciones adversas. Cabe destacar aquí que la seda y el nylon son más económicos que el hilo reabsorbible.

La sutura en la piel se hizo inicialmente con seda. Esto trajo algunos inconvenientes debido al movimiento del animal que determinó que algunos puntos se soltaran y también una mayor acumulación de “suciedad” sobre la herida, ya que la naturaleza de ésta la hace más dificultosa para el lavado postoperatorio de la misma. Estos problemas son mínimos, y en los casos en los que fueron utilizados,

no se observaron reacciones importantes. De todas maneras, decidimos cambiar la seda por tanza, la cual mostró mayor resistencia de los puntos y, gracias a su superficie más lisa, menor acumulación de “suciedad”.

Postoperatorio

- **Postoperatorio inmediato y recuperación de la anestesia:** La recuperación de la anestesia fue relativamente lenta, aproximadamente entre tres horas y media a cuatro, aunque esto está dentro de los valores normales para la Ketamina/Xilacina. La pérdida de la temperatura corporal durante la anestesia produce que el animal tarde más en recuperarse. Para contrarrestar este problema, utilizamos un papel de nylon con burbujas de aire, para envolverlos durante la recuperación, lo cual permitió mantener la temperatura corporal a niveles no tan bajos, generándose de esta manera una recuperación más rápida. En esto también influye mucho la temperatura de la sala de recuperación, así como la disposición de los animales en la misma. La temperatura ambiente debe ser constante de 28 grados centígrados, y puede agregarse una fuente de calor más directa, durante las primeras horas. En cuanto a la disposición, es importante que las cajas no queden en el piso, sino que se coloquen sobre una mesada. Si no se dispone de una, aunque sea una leve separación del suelo, para que circule aire templado por debajo, otorgando una temperatura uniforme.

En nuestra experiencia, la recuperación de los animales en la sala a temperatura de 28 grados tardó entre tres horas y media a cuatro, como expresamos más arriba. Cuando tomamos como medidas adicionales envolver al animal, separarlos del piso y colocar otra fuente de calor, dichos tiempos estuvieron entre las dos horas y las dos horas y media.

- **Medicación postoperatoria y alimentación:** Se les administró ácido acetilsalicílico diluido en el agua de consumo para el control del dolor. La aplicación de agentes analgésicos por vía inyectable no mostró, por lo menos en nuestra experiencia, diferencias significativas, a partir de la observación del comportamiento del animal. La alimentación de los mismos fue mediante alimento balanceado comercial.

- **Consideraciones para evitar complicaciones en el desarrollo del modelo animal:** A partir de algunos casos de deshidratación que surgieron en trabajos anteriores se decide, como estrategia para la resolución de este problema, agregar a la dieta del postoperatorio inmediato una gelatina a base de agar nutritivo, la cual muestra mejores resultados que al utilizar, solamente, alimento balanceado comercial. La deshidratación también puede ser revertida, de una forma más rápida y efectiva, mediante la administración de suero salino por vía sub-cutánea. Otra posible complicación, aunque leve, es la aparición de sequedad en las conjuntivas, la cual se atribuye al largo período de recuperación de la anestesia. En el caso de aparición, se trata con lavajes de la zona y pomadas específicas. Como medida profiláctica se hidrata los ojos del animal antes de empezar el procedimiento quirúrgico.

- **Postoperatorio mediato:** Luego de las primeras 24 horas, los animales pasaron a ser alojados en el pabellón de animales de experimentación del Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP (FCVUNLP), manteniéndose el régimen de temperatura constante y alimentación balanceada.

5.3 EVALUACION DE LOS RESULTADOS

Las muestras fueron capturadas mediante una cámara de video (Sony DXC-151A) montada sobre microscopio óptico (Olympus SZ 40) y conectada a una computadora. Luego las imágenes fueron digitalizadas mediante una placa digitalizadora (Flashpoint 128, Integral Technologies, USA) y procesadas con un analizador digital de imágenes (Image Pro Plus v4.1. - Media Cybernetics, USA). La resolución de las imágenes fue de 640 x 480 pixels, con un rendimiento (yield) de 9 μm /píxel.

Luego de la calibración espacial de las imágenes capturadas se procedió a la determinación del área total de hueso, las superficies de hueso sano, de hueso regenerado a la entrada del defecto y la de tejido de granulación. Además se tomaron medidas lineales para cuantificar el espesor de hueso sano, la cantidad de cierre de la entrada del defecto, el espesor de dicho tejido de cierre, y la presencia de aberturas residuales.

Los distintos elementos fueron segmentados basados en el color de la tinción Hematoxilina-Eosina.

La evaluación comparativa de los resultados entre los diferentes grupos se realizó de acuerdo a la superficie total de hueso regenerado, ya que este es el parámetro más importante dentro del presente trabajo. El resto de las mediciones han servido como complemento en el análisis de los fenómenos presentados.

5.4 METODOLOGIA

Se utilizaron 15 ratas macho, de la cepa *Wistar*, originarias del Instituto Nacional de Salud de los EE.UU., y producidas en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.L.P, endocriadas, libres de patógenos específicos (SPF), de 16 semanas de edad y 500 gramos de peso.

Los animales fueron divididos, por muestreo aleatorio simple, en tres grupos de 5 cada uno, manteniéndose durante 48 horas en condiciones ambientales convencionales: 23 +/- 1 grados centígrados, humedad 50/55%, iluminación 12 horas luz/ 12 horas oscuridad, con alimento balanceado comercial y agua autoclavada *ad-libitum*. Dos horas antes de la intervención quirúrgica se les retiró el alimento, manteniéndolos con dieta líquida.

Todos animales fueron operados bajo anestesia general con Ketamina/Xilacina 75 mg/kg + 10 mg/kg por vía intramuscular.

Se ejecutó, de forma manual, la tricotomía de la zona del fémur izquierdo, luego se realizó una incisión lineal con mango de bisturí Bard Parker n°3 (MEDESY, Italia) y hoja número 15 (RIBBEL, India), y se continuó en el plano muscular con tijeras por disección roma, hasta identificar el hueso femoral.

Una vez limpio y retirado el periostio, se realizó una perforación, a 850 RPM, de 3mm de ancho por 9mm de largo y 3 mm de profundidad. Se utilizó, para la elaboración del defecto óseo: Un motor de cirugía eléctrica con irrigación de solución fisiológica incorporada (ONIRIUM, Argentina), pieza de mano recta (DABI ATLANTE, Brasil), fresas redondas de carburo de tungsteno (LABORDENTAL, Brasil) para pieza de mano recta, de 3 mm de diámetro.

Al grupo 1 se le injertó la combinación de Somatropina en polvo liofilizado (Hormona de Crecimiento Humana Recombinante - Saizen®, Merck Serono S.A. Aubonne, Suiza) y Matriz Mineral de Hueso Bovino Desproteínizado (Osteodens®E, Pharmatrix Div. Therabel Pharma S.A, Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina).

Al grupo 2 se le injertó Somatropina en polvo liofilizado (Hormona de Crecimiento Humana Recombinante - Saizen®, Merck Serono S.A. Aubonne, Suiza). Sobre el defecto y, sobrepasando 0.5 mm los bordes del mismo, se colocó una lámina (de 1 mm de espesor) de esponja hemostática hecha de colágeno hidrolizado (gelatina) liofilizada de origen porcina (HEMOSPON, Brasil). Dicha esponja cumple la función de protección (contención física) de la Hormona de Crecimiento Humana Recombinante.

A Los animales pertenecientes al grupo 3 no se les injertó ningún tipo de material al defecto, siendo estos el grupo con defecto control.

Una vez finalizado, se procedió a suturar por planos, como descripto anteriormente en el apartado de desarrollo del modelo animal.



Fig. 35. Instrumental quirúrgico utilizado.



Fig.36. Motor de cirugía.



Fig.37

Fig.38



Fig.37. Animal anestesiado previo al procedimiento quirúrgico.

Fig.38. Las cirugías se realizaron bajo estrictas normas de bioseguridad.

Fig.39. Tricotomía realizada de forma manual.

Fig.40. Tricotomía de la zona operatoria.

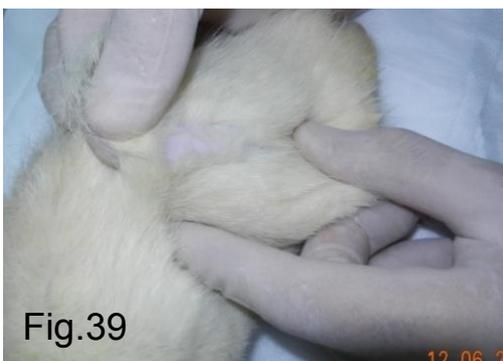


Fig.39

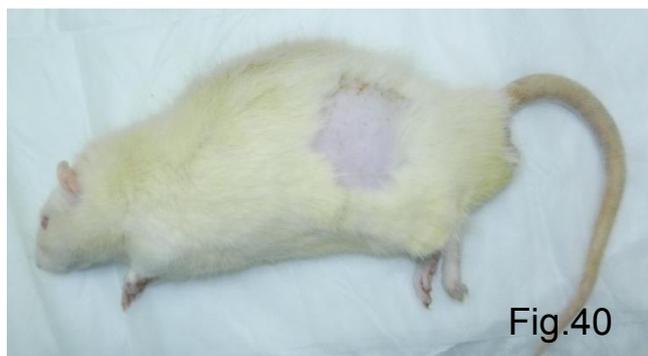


Fig.40



Fig.41. Incisión – posición del bisturí.

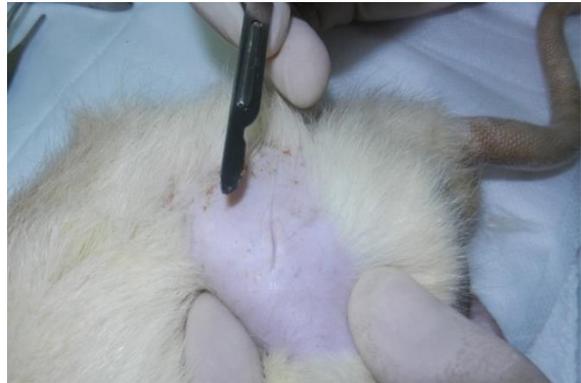


Fig.42. Diseño de la incisión.



Fig.43. Incisión en piel.



Fig.44. Exposición del plano muscular.



Fig.45. Disección roma.



Fig.46. Exposición del fémur.



Fig.47. Creación del defecto óseo.



Fig.48. Defecto óseo realizado.



Fig.49. Colocación de la Hormona de Crecimiento Recombinante en el defecto óseo.



Fig.50. Esponja hemostática de Colágeno colocada sobre el defecto óseo. La esponja cumple la función de protección (contención física) de la Hormona de Crecimiento Humana Recombinante.



Fig. 51 y 52. Hidroxiapatita Bovina colocada en el defecto óseo.



Fig.53 y 54. Sutura del plano profundo con hilo de Nylon 4/0.



Fig.55. Sutura del plano superficial con tanza.

Los animales permanecieron en la sala donde fueron intervenidos durante las primeras 24 horas a temperatura constante de 28°C, luego de ese período pasaron a ser alojados en el pabellón de animales de experimentación del Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP. Como complemento en el postoperatorio recibieron Ácido Acetilsalicílico y alimento balanceado.

A los 30 días los animales fueron sacrificados por inhalación de monóxido de carbono, y sus fémures resecados mediante discos de carburo y tijeras, con el fin de obtener muestras para su procesado y estudio histológico.

Las muestras fueron fijadas en formol al 10% a 4°C, descalcificadas en EDTA, incluidas en parafina, cortadas con micrótopo, montadas en portaobjetos y teñidas con hematoxilina-eosina.

Los preparados fueron capturados mediante de video (Sony DXC-151A) montadas sobre un microscopio óptico (Olympus SZ 40) y posteriormente digitalizadas mediante una placa digitalizadora (Flashpoint 128, Integral Technologies, USA). De cada preparado se obtuvieron aproximadamente 20 imágenes a 40 X, las cuales fueron montadas luego para constituir una imagen única, que fue evaluada con un analizador digital de imágenes (Image Pro Plus v4.1. - Media Cybernetics, USA).

Los distintos elementos de la imagen histológica fueron segmentados en base al color de la tinción, y posteriormente se calculó la superficie de hueso nuevo regenerado, así como el patrón arquitectónico dentro de los límites del defecto creado.

La superficie se expresa en mm², mientras que la arquitectura se consideró: Buena (Regeneración completa con patrón trabecular bien definido); Aceptable (Regeneración completa con patrón trabecular más irregular); Regular (Patrón

trabecular irregular con regeneración incompleta y Mala (Regeneración incompleta). Estos estudios se llevaron a cabo en el Servicio de Microscopia de la Cátedra de Patología General de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP. El análisis estadístico se realizó mediante Análisis de Varianza en Rangos, Test de Comparaciones Múltiples de Dunnett y Test de Comparaciones Apareadas de Student Newmann Keuls. En todos los casos se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando se obtuvo una P menor que 0,05.

ASPECTO MACROSCÓPICO DE LAS PIEZAS RESECADAS.



Fig.56. Fémur Resecado. Grupo control. (Grupo 3)

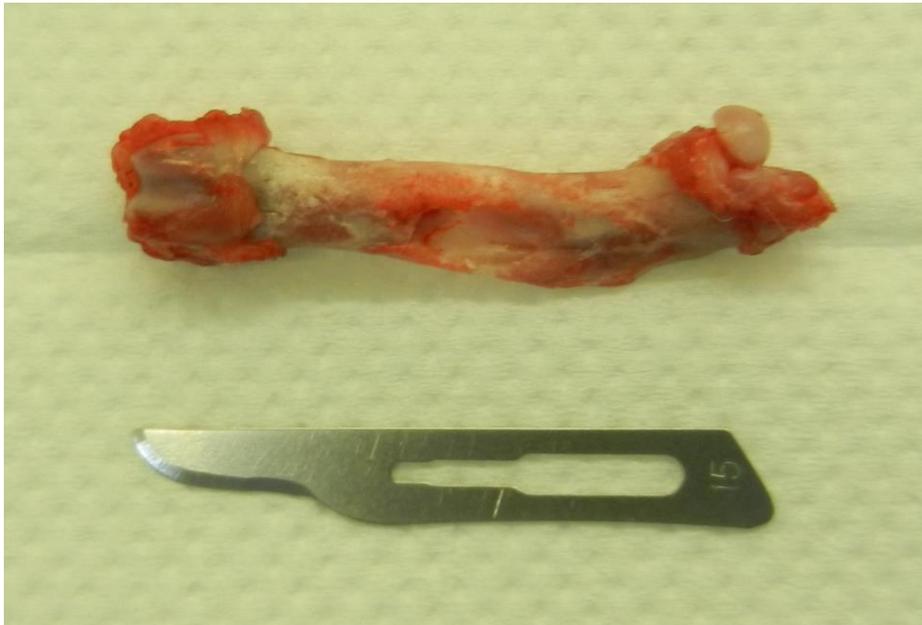


Fig.57. Fémur Resecado. Grupo Hormona de Crecimiento Recombinante. (Grupo 2)



Fig.58. Fémur Resecado. Grupo Hormona de Crecimiento Recombinante asociado a Hidroxiapatita Bovina. (Grupo 1)

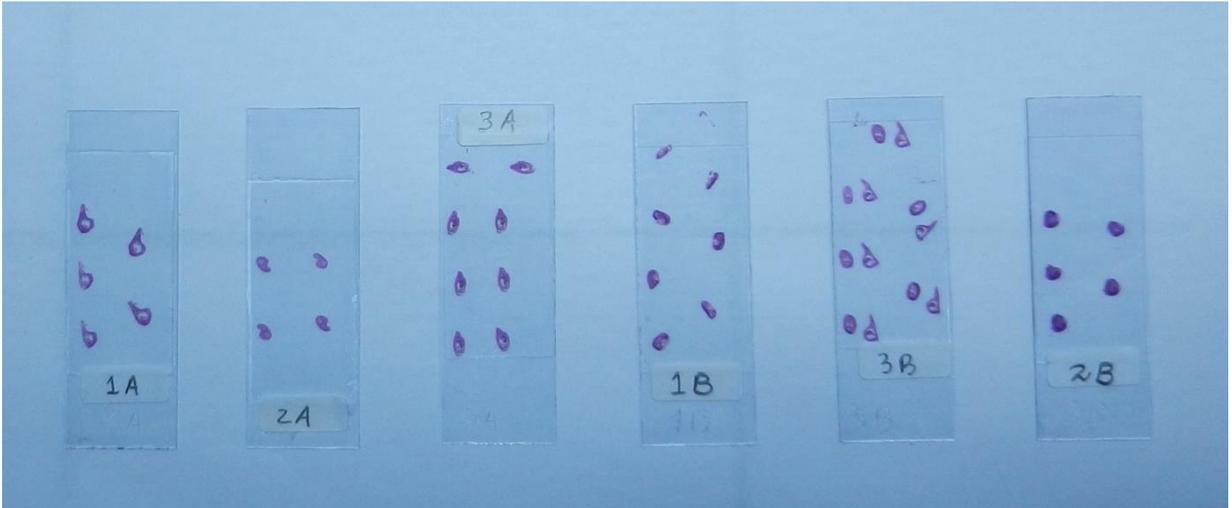


Fig.59. Aspecto macroscópico de algunos cortes histológicos realizados en este trabajo. Se realizaron, en cada porta objeto, varios cortes histológicos.

6. RESULTADOS

El modelo experimental utilizado ha funcionado correctamente y no ha presentado mayores inconvenientes en su ejecución. El injerto y la hormona de crecimiento utilizados no generaron respuestas adversas en ninguno de los casos. Presentando además facilidad en su manipulación en ambos casos.

La mejor calidad ósea, en cuanto a su patrón arquitectónico, se observó con la *Hormona de crecimiento sola* y con la *Hormona combinada con Injerto* (Buena), mientras que en el defecto *Control fue Mala*.

La mayor cantidad de regeneración, en superficie regenerada expresada en mm², fue obtenida con el *Injerto combinado con Hormona de Crecimiento* 8,692 (+/- 0,94), seguida por la *Hormona de Crecimiento sola* 8,484 (+/-0,794) y por último el defecto *Control* 4,160 (+/-0,622).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$ One Way Anova) a la vez que ambos grupos de estudio presentaron diferencias con respecto al control ($p < 0,05$ Holm-Sidak). En cuanto a la comparación apareada entre ambos grupos de estudio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$ Holm-Sidak).

Los datos completos del análisis estadístico, realizado mediante el software SigmaStat (SPSS) se muestran a continuación:

Descriptive Statistics

Column	Size	Missing	Mean	Std Dev	Std. Error	C.I. of Mean
Hormona	5	0	8,484	0,794	0,355	0,986
Injerto + Hormona	5	0	8,692	0,940	0,420	1,167
Control	5	0	4,160	0,622	0,278	0,772

Column	Range	Max	Min	Median	25%	75%
Hormona	1,910	9,250	7,340	8,350	8,023	9,235
Injerto + Hormona	2,130	9,940	7,810	8,550	7,817	9,490
Control	1,450	4,970	3,520	3,880	3,708	4,737

One Way Analysis of Variance

Normality Test: Passed (P = 0,302)

Equal Variance Test: Passed (P = 0,524)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Hormona	5	0	8,484	0,794	0,355
Injerto + Hormona	5	0	8,692	0,940	0,420
Control	5	0	4,160	0,622	0,278

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	65,465	32,733	51,637	<0,001
Residual	12	7,607	0,634		
Total	14	73,072			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001).

Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level
Injerto + Ho vs. Control	4,532	9,000	0,00000110	0,017
Hormona vs. Control	4,324	8,587	0,00000181	0,025
Injerto + Hormona vs. Hormona	0,208	0,413	0,687	0,050

Comparison	Significant?
Injerto + Ho vs. Control	Yes
Hormona vs. Control	Yes
Injerto + Hormona vs. Hormona	No

6.1. MICROFOTOGRAFIAS

Defecto Control (Grupo 3)

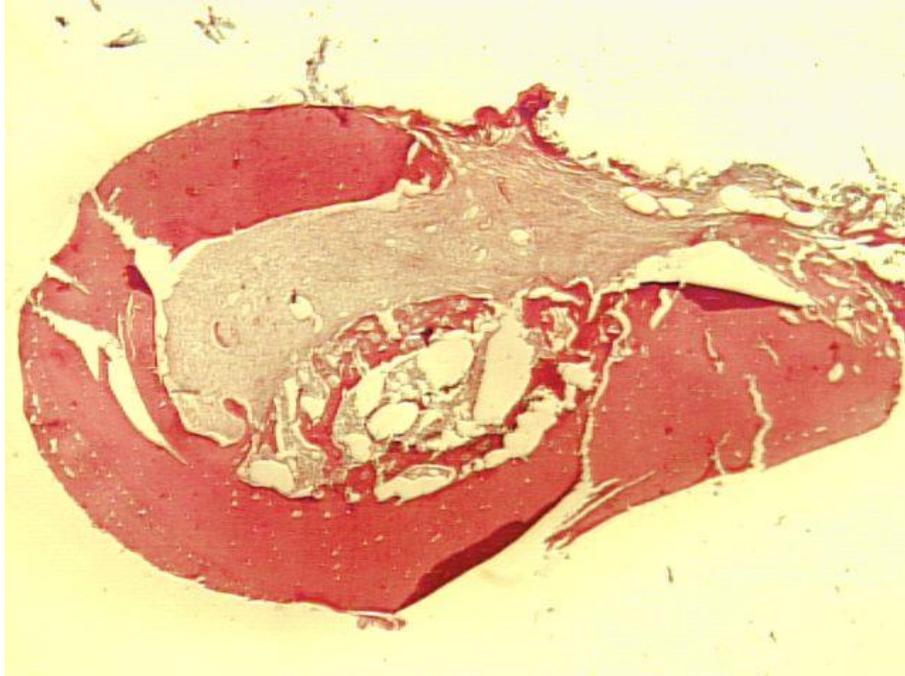
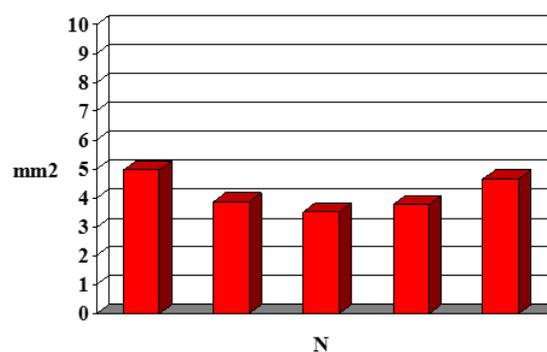


Fig.60. *Defecto Control*. Se observa una gran pérdida ósea en la cicatrización, invadida por tejido conjuntivo fibroso. En la parte inferior se nota un poco de hueso regenerado, con cavidades medulares amplias. HE 40X Imagen compuesta y reducida.

Defecto Control



Media	DS	Rango	Max	Min	Mediana	N
4,160	0,622	1,450	4,970	3,520	3,880	5

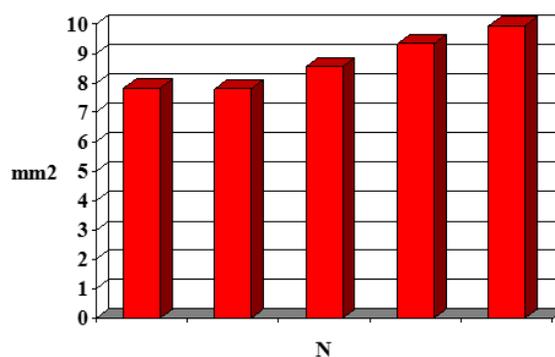
Tabla 1. Defecto Control. Superficie Regenerada. Cada barra en el gráfico representa un animal. La altura de las mismas representa la superficie regenerada expresada en mm². En la tabla al pie se presenta un resumen de los datos estadísticos descriptivos.

Injerto + Hormona de Crecimiento (Grupo 1)



Fig.61. *Injerto+Hormona de Crecimiento*. Se observa una regeneración completa del defecto, con hueso maduro, con partículas de injerto aún en su interior, y un buen patrón arquitectónico HE 40X Imagen compuesta y reducida.

Injerto + Hormona de Crecimiento



Media	DS	Rango	Max	Min	Mediana	N
8,692	0,940	2,130	9,940	7,810	8,550	5

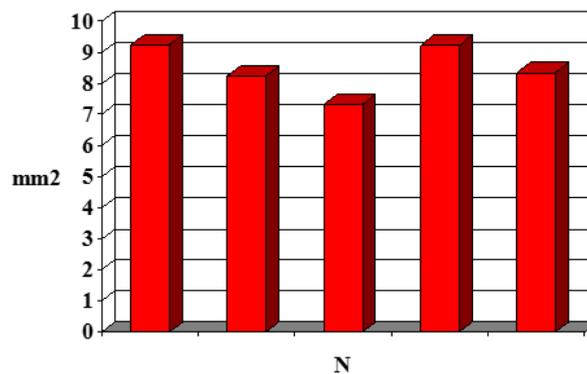
Tabla 2. Injerto + Hormona de Crecimiento. Superficie Regenerada. Cada barra en el gráfico representa un animal. La altura de las mismas representa la superficie regenerada expresada en mm². En la tabla al pie se presenta un resumen de los datos estadísticos descriptivos.

Hormona de Crecimiento (Grupo 2)



Fig.62. *Hormona de Crecimiento*. Se observa una regeneración completa del defecto, con hueso maduro y un buen patrón arquitectónico HE 40X Imagen compuesta y reducida.

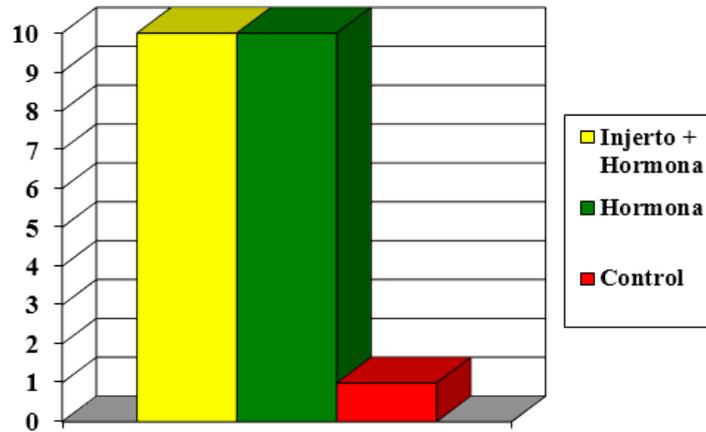
Hormona de Crecimiento



Media	DS	Rango	Max	Min	Mediana	N
8,484	0,794	1,910	9,250	7,340	8,350	5

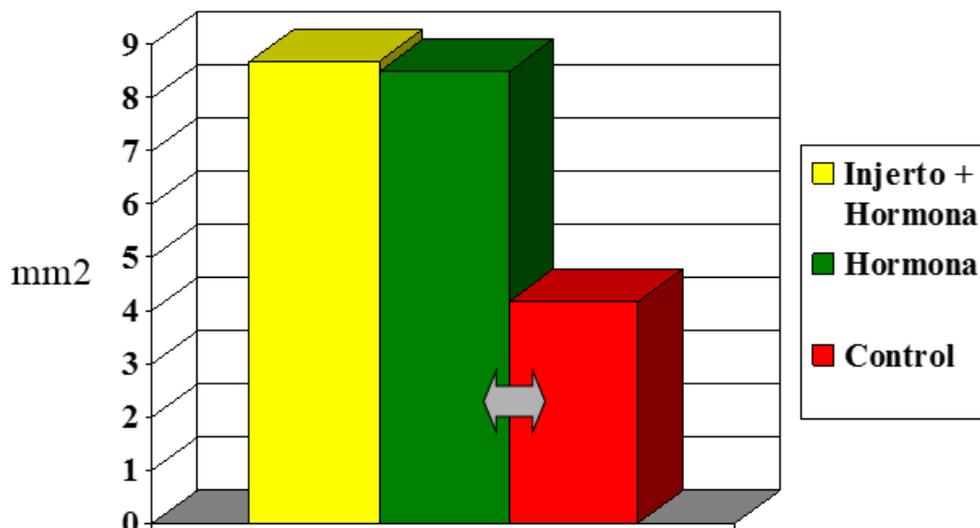
Tabla 3. Hormona de Crecimiento. Superficie Regenerada. Cada barra en el gráfico representa un animal. La altura de las mismas representa la superficie regenerada expresada en mm². En la tabla al pie se presenta un resumen de los datos estadísticos descriptivos.

CALIDAD DE LA ARQUITECTURA ÓSEA



- 10. Buena (Regeneración completa con patrón trabecular bien definido)
- 7. Aceptable (Regeneración completa con patrón trabecular más irregular)
- 4. Regular (Patrón trabecular irregular con regeneración incompleta)
- 1. Mala (Regeneración incompleta)

SUPERFICIE DE HUESO REGENERADO



• $p < 0,001$ Anova on Ranks

Control vs Tratamientos $p < 0,05$ Holm-Sidak ⇔

7. DISCUSION

En los últimos años diversos grupos de estudios dedicados a la investigación en cirugía y traumatología bucomaxilofacial y en implantología oral han utilizado numerosos compuestos para mejorar la respuesta ósea, sea en una reconstrucción ósea o en zonas periimplantarias. Entre los más importantes encontraremos las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), los factores de crecimiento, y más recientemente las hormonas, como por ejemplo, la hormona de crecimiento.

En esta oportunidad nos propusimos estudiar la acción de la hormona de crecimiento humana recombinante sola y asociada a hidroxapatita bovina en el proceso de regeneración ósea en defectos críticos en fémur de ratas y evaluar, posteriormente, su posible aplicabilidad clínica.

Las discusiones y consideraciones específicas sobre los resultados se comentan a continuación. Se discuten cada una de las variables independientes por separado:

- Hormona de Crecimiento Humana Recombinante: La motivación para realizar el presente trabajo se generó debido a la gran demanda clínica, en la cual, el corto intervalo de tiempo entre el inicio de tratamiento y la rehabilitación oral es motivo de satisfacción tanto para el paciente como para el profesional. En este contexto la rhGH, como factor de crecimiento, actúa en la inducción de la reparación ósea acelerando los procesos de regeneración necesarios en muchas situaciones clínicas.

La regeneración ósea con fines implantológicos es realizada con frecuencia en pacientes adultos mayores y ancianos, los cuales presentan un metabolismo óseo lento, viéndose reflejado directamente en la calidad y cantidad de hueso regenerado. Esta regeneración puede optimizarse con la aplicación local de factores de crecimiento, en este caso hormona de crecimiento humana recombinante, la cual tendría un papel clave en el éxito del procedimiento.

La GH favorece la diferenciación de los preosteoblastos y la proliferación de osteoblastos, además estimula la producción de colágeno y proteínas no colágenas por dichas células. Asimismo, estimula la síntesis de factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGF) por el hígado y por los propios osteoblastos.²²

Isaksson *et al*, en un estudio, cuestionaron la “hipótesis de la somatomedina”, la cual apuntaba que la GH estimulaba la producción de somatomedina por el hígado, y ésta, a su vez, estimulaba el crecimiento del hueso. En este estudio los autores inyectaron GH directamente en la tibia de ratas generando un crecimiento longitudinal de hueso en el sitio de la aplicación. Esto indica que la GH regula y estimula el crecimiento óseo, actuando sobre las células óseas tanto de manera directa, como indirecta (vía IGF-I).⁶⁹ La relación entre GH y metabolismo óseo ha sido estudiado por varios autores, según Harvey, además de la acción endocrina, la GH actúa tanto de forma autocrina como paracrina, es decir, actúa como un factor local de crecimiento.⁶⁸

Según Ohlsson *et al*, los modelos animales *in vivo* son útiles para evaluar la influencia del tratamiento con GH en el metabolismo, resistencia mecánica y cambios en la masa ósea. Al mismo tiempo son excelentes para los análisis histomorfométricos, tanto estáticos como dinámicos. Este autor refiere que la administración sistémica de GH incrementa los niveles circulantes de otras

hormonas que tienen acción directa sobre el tejido óseo, como por ejemplo el IGF-I y el metabolito activo de la vitamina D. Además, menciona que la aplicación local de la GH es capaz de estimular la formación de tejido óseo. También señala que las ratas con secreción normal de GH tratadas sistémicamente con esta hormona presentaron un incremento de la masa ósea cortical inducida por una formación de hueso subperiosteal, mientras tanto, no se observó efecto significativo en el hueso esponjoso. Con respecto a los efectos de la GH en la reparación de fracturas, Ohlsson asegura que en ratas hay un aumento en la formación y resistencia mecánica del callo óseo, mientras que en modelos que utilizaron conejos la respuesta parece ser más débil. Asimismo, cita la imposibilidad de evaluar si la GH cumple algún rol significativo en la reparación de fracturas en humanos, debido a la escasa cantidad de trabajos publicados en animales superiores.¹⁵

La GH aumenta la formación de hueso de dos maneras: a través de una interacción directa con los receptores de la GH en la superficie de los osteoblastos y mediante de una inducción endocrino, paracrino y autocrino de la IGF-I. Es difícil determinar cuando el efecto de la GH está mediado por IGFs y cuando es IGFs independiente. Además, hay estudios que indican que la GH regula la formación de osteoclastos en cultivos de medulas óseas.¹⁵

En general las hormonas utilizadas a niveles fisiológicos producen efectos benéficos con escasos efectos adversos. La administración de altas dosis de GH, por largos periodos de tiempo, puede inducir el desarrollo de acromegalia, disfunción hepática, hipoglucemia, hipergliceridemia.

La GH, usada de forma adecuada, no presenta contraindicaciones ya que esta se encuentra naturalmente presente en el organismo humano. En el presente

trabajo no se observó respuestas adversas, reacción a cuerpo extraño, ni tampoco de hipersensibilidad a la rhGH en el modelo animal.

Como vía de administración se eligió la aplicación local y única de la rhGH en forma polvo liofilizado, tal cual se observó en trabajos anteriores.^{19,20,21,22,23,24,26,74} Esta forma de aplicación en el momento de la cirugía permite un manejo más simple de la hormona, y probablemente tendrá más aceptación por parte del paciente que la aplicación subcutánea mencionada por varios autores.^{62,63,64,65,67} Además, es fundamental destacar que a través de esta vía de administración, la GH actúa en concentraciones muy elevadas directamente en la zona a regenerar. Al mismo tiempo, el odontólogo está familiarizado con esta vía de administración, ya que es una técnica similar a la utilizada cuando se aplican injertos óseos particulados.

En términos generales, el protocolo desarrollado en esta investigación difiere de los trabajos publicados hasta el momento, los cuales eligieron como dosis de 1 a 4 UI de rhGH en forma de polvo liofilizado aplicado directamente en la zona quirúrgica antes de la colocación de un implante dental. En cambio, en el presente trabajo el objetivo fue observar cómo influye la rhGH en la regeneración ósea, asociada o no con un material de relleno, pero sin instalar implantes endoóseos. Con respecto a la cantidad de hormona utilizada por defecto óseo, hemos decidido aplicar localmente una dosis única de 1 UI de rhGH sin llenar la cavidad. Esta decisión fue basada en que hasta el momento no hay un consenso respecto a la dosis empleada, ya que los trabajos publicados mencionan resultados satisfactorios aplicando, tanto 1 como 4 UI de rhGH. La aplicación local de rhGH en polvo es de fácil ejecución, la misma al entrar en contacto con la sangre presente en el defecto óseo parece ser absorbida hacia el interior del mismo. Además se utilizó una

esponja de colágeno sobre el defecto con el objetivo de realizar una contención mecánica de la hormona dentro de la cavidad, evitado así la dispersión de la misma.

Los animales fueron sacrificados a los 30 días de realizado el procedimiento quirúrgico, siguiendo el protocolo de investigaciones ejecutadas anteriormente por nuestro grupo de trabajo, y así generamos datos comparables entre sí. Sin embargo, dichos datos no se pueden confrontar de con trabajos publicados hasta el momento utilizando GH, debido a las discrepancias de objetivos, diseño del estudio, modelo animal, etcétera.

- Hidroxiapatita Bovina combinada con Hormona de Crecimiento Humana Recombinante: En el presente trabajo se utilizó matriz de hueso bovino desproteinizado (DBBM) en gránulos de 0,25 – 1.0 mm combinada con rhGH en polvo liofilizado. Los injertos particulados presentan cierta dificultad de manipulación y contención dentro de los defectos realizados en el modelo animal. Para facilitar su manipulación se mezclan las partículas con sangre del animal, se espera algunos minutos a que comience a coagular y de esta manera actúa como aglutinante lo que facilita su adaptación. En este grupo el llenado del defecto óseo se realizó por capas, intercalando rhGH e hidroxiapatita bovina, siempre respetando la dosis máxima de rhGH por animal (1UI). La manipulación de la combinación de estos dos materiales no presentó dificultad alguna durante el procedimiento quirúrgico.

Los datos obtenidos en esta tesis han mostrado diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados con rhGH (Grupo 1 y 2) y el grupo control (Grupo 3), sin embargo no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las variables independientes, es decir entre los grupo 1 y 2. No

obstante, la aplicabilidad clínica de la rhGH sola, como estudiada en el grupo 2, en un defecto óseo crítico no nos parece viable debido al colapso que se producirían los tejidos blandos dentro de la cavidad, es más factible el uso asociado a un material de relleno óseo que le daría “cuerpo” a la zona a regenerar, además de recubrir la misma con doble membrana de colágeno, siguiendo los principios de la regeneración ósea guiada.⁴⁵ La aplicación de rhGH sola, como en el grupo 2, podríamos reservar para algunas situaciones puntuales, como por ejemplo un defecto óseo chico y autocontenedor, es decir, un alveolo uniradicular post extracción, un defecto periodontal de 3 paredes o un defecto óseo producto de una cirugía periapical menor.

La hidroxiapatita bovina es un sustituto óseo que tiene como objetivo fundamental actuar como matriz (andamiaje) para el crecimiento óseo, es decir, es un material osteoconductor, que luego es reabsorbido total o parcialmente hasta ser reemplazado por tejido óseo. La rhGH aplicada localmente en la zona quirúrgica ejerce un efecto inductor del crecimiento óseo, por ende la combinación entre ambos materiales puede ser útil en los procedimientos de regeneración ósea, como por ejemplo, aumentos verticales y horizontales de rebordes alveolares, elevación de piso de seno maxilar, técnicas de preservación alveolar post exodoncia, relleno del espacio (*gap*) formado entre implante y el alveolo post extracción en implantes inmediatos y otras aplicaciones en regeneración ósea guiada. La predictibilidad, eficacia y excelentes resultados de la hidroxiapatita bovina está muy bien documentada en la literatura, pero cuando la utilizamos en procedimientos regenerativos es necesario respetar los tiempos de reabsorción y neoformación ósea (por lo general más de 6 meses). Aparentemente con la combinación de este material con un elemento que estimule el metabolismo óseo local aumentaríamos la

velocidad de dicha regeneración, disminuiríamos el tiempo de espera entre procedimientos y el tratamiento se realizaría de forma más rápida, al mismo tiempo mantendríamos la calidad y cantidad de hueso regenerado.

El Dr. Cesar Luchetti en su tesis de Magíster en Implantología Oral realizada en 2004 estudió diversos materiales de relleno óseo, entre ellos la hidroxiapatita bovina.²⁹ En el presente estudio seguimos el protocolo quirúrgico preconizado por Luchetti utilizando el mismo modelo animal, sin embargo los datos obtenidos no son totalmente comparables entre sí, debido a la orientación del corte histológico para la realización de los estudios histomorfométricos. En la tesis de Luchetti se realizaron los cortes en sentido longitudinal en el fémur del animal, en cambio en este trabajo realizamos en sentido transversal. El corte transversal fue probado en trabajos posteriores presentando resultados satisfactorios, al mismo tiempo mayor facilidad y comodidad para la realización del mismo. A pesar de no poder comparar exactamente los datos estadísticos observamos que la combinación de rhGH e hidroxiapatita bovina genera la formación de un tejido óseo más maduro, abundante y de mejor calidad cuando comparado con la hidroxiapatita sola.

A partir de lo evaluado en esta tesis, cuando el paciente no cuenta con el hueso suficiente para someterse a un procedimiento implantológico y el mismo prefiere no realizarse una cirugía adicional para acceder al área donante, podríamos considerar como una excelente opción la combinación entre hidroxiapatita bovina y hormona de crecimiento humano recombinante. Esta combinación aceleraría el proceso de regeneración ósea, además de conservar la calidad y cantidad de hueso regenerado. Finalmente, los resultados expuestos en este trabajo de tesis sitúan la hormona de crecimiento como un potencial agente terapéutico a nivel odontológico, debido a la propiedad osteoinductora.

8. CONCLUSIONES

Dentro de los límites del presente trabajo se puede concluir que:

- La aplicación tópica de la Hormona de Crecimiento Humana Recombinante, asociada o no con Hidroxiapatita Bovina, aumenta significativamente la **cantidad** de hueso formado en el defecto óseo en el modelo animal.
- La aplicación tópica de la Hormona de Crecimiento Humana Recombinante, asociada o no con Hidroxiapatita Bovina, aumenta significativamente la **calidad** de hueso formado en el defecto óseo en el modelo animal.
- La Hormona de Crecimiento Humana Recombinante actúa como agente inductor de la regeneración ósea cuando es aplicada localmente en el interior del defecto óseo en el modelo animal.
- La Hormona de Crecimiento Humana Recombinante se puede considerar como un posible agente terapéutico a nivel odontológico, principalmente dentro de las especialidades de Cirugía y Traumatología Bucomaxilofacial, Implantología Oral y Periodoncia.
- No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los grupo tratados con rhGH (Grupo 1: rhGH + DBBM y Grupo 2: rhGH sola) sin embargo, la aplicabilidad clínica de la rhGH sola no nos parece viable en defectos críticos, debido al colapso que se producirían de los tejidos blandos

dentro de la cavidad. Consideramos más factible el uso asociado a un material de relleno óseo que le daría “cuerpo” a la zona a regenerar, además de recubrir con doble membrana de colágeno. Reservaríamos la aplicación local de la rhGH sola para algunas situaciones puntuales, como por ejemplo, un defecto óseo pequeño y autocontenedor, es decir, un alveolo uniradicular post extracción, un defecto periodontal de 3 paredes o una cavidad ósea producto de una cirugía periapical menor.

- Los biomateriales, como los sustitutos óseos de diferentes orígenes, las membranas de barrera y los sustitutos de tejidos blandos son utilizados con mucha frecuencia en la clínica quirúrgica diaria, presentando un respaldo muy sólido en la literatura, por lo tanto son materiales muy predecibles. Los factores de crecimiento y sustancia osteoinductoras, como es el caso de la hormona de crecimiento humana recombinante, parecen ser los próximos a incorporarse como rutina en cirugías reconstructivas. Sin embargo, un mayor número de investigaciones nos permitiría la utilización de estos biomateriales con mayor seguridad y predictibilidad.

BIBLIOGRAFIA

1. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, *et al.* Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1977; II (suppl.):16.
2. Brånemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Introducción a la Oseointegración. En: Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. Prótesis Tejido – Integradas: La Oseointegración en la Odontología Clínica. Quintessence 1987 Cap. I pág. 11-76.
3. Guercio E, Dinatale E. Consideraciones estructurales y biológicas en la oseointegración. Revisión de la literatura. *Acta Odontológica Venezolana* 2009; 47(1):1-7.
4. Misch Carl E, Todd Strong J, Warren Bidez M, Fundamentos Científicos para el Diseño de los Implantes Dentales. En: Misch Carl E, Implantología Contemporánea. 3ed.Barcelona. Elsevier España S.L. 2009. Cap. 11. 200-229.
5. Piattelli A, Misch Carl E, Farias Pontes AE, Iezzi G, Scarano A, Degidi M, Superficies de los Implantes Dentales: Una Revisión. En: Misch Carl E, Implantología Contemporánea. 3ed.Barcelona. Elsevier España S.L. 2009. Cap. 27. 599- 620.
6. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003; 67(8):932-949.
7. Albrektsson T, Brånemark P-I, Hansson HA, *et al.* Osseointegrated titanium implants. *Acta Orthop Scand* 1981; 52:155-170.
8. Varkey M, Gittens SA, Uludag H. Growth factor delivery for bone tissue repair: an update. *Expert Opin Drug Deliv* 2004 Nov; 1(1):19-36.
9. Devescovi V, Leonardi E, Ciapetti G, Cenni E. Growth factors in bone repair. *Chir Organi Mov* 2008 Dec; 92(3):161-8. doi:10.1007/s12306-008-0064-1.Epub 2008 Nov.
10. Simpson AHRW, Mills L, Noble B. The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing. *J Bone Joint Surg Br* 2006 Jun; 88(6):701-5.
11. Cury VF, Guimarães MM. Fator de crescimento derivado de plaquetas na implantodontia. Novas perspectivas de tratamento para reconstrução óssea. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac* 2012; 53:60-6.
12. Stefani CM, Machado MA, Sallum EA, Sallum AW, Cesco RT, Nociti FH JR. Uso de fatores de crescimento em implantologia. Sociedade Brasileira de Periodontologia (Sobrape) *Revista Periodontia* Maio/Dezembro 1999; 8(2):39-45.
13. Tran GT, Pagkalos J, Tsiridis E, Narvani AA, Heliotis M, Mantalaris A, Tsiridis E. Growth hormone: does it have a therapeutic role in fracture healing? *Expert Opin Investig Drugs* 2009 Jul; 18(7):887-911.

14. Misch Carl E, Misch-Dietsh F, Claves Para los Injertos Óseos y los Materiales de Injerto Óseo, En: Misch Carl E, Implantología Contemporánea. 3ed.Barcelona. Elsevier España S.L. 2009. Cap. 36. 839-869.
15. Ohlsson C, Bengtsson B, Isaksson OGO, Andreassen TT, Slootweg MC. Growth hormone and bone. *Endocr Rev* 1998; (19) 1:55-79.
16. Eriksen EF, Kassem M, Langdahl B. Growth hormone, insulin-like growth factors and bone remodeling. *Eur J Clin Invest* 1996; 26:225-34.
17. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 11th ed. Philadelphia: Saunders, 2006.
18. Moreno GG, Cutando A, Arana C, Worf CV, Guardia J, Munoz F, Peña ML, Stephenson J. The effects of growth hormone on the initial bone formation around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009 Nov-Dec; 24(6):1068-73.
19. Muñoz F, López-Peña M, Miño N, Gómez-Moreno G, Guardia J, Cutando A. Topical application of melatonin and growth hormone accelerates bone healing around dental implants in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res* 2012 Apr; 14(2):226-35.
20. Tresguerres IF, Alobera MA, Baca R, Tresguerres JA. Histologic, morphometric, and densitometric study of peri-implant bone in rabbits with local administration of growth hormone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005 Mar-Apr; 20(2):193-202.
21. Tresguerres IF, Blanco L, Clement C, Tresguerres JA. Effects of local administration of growth hormone in peri-implant bone: an experimental study with implants in rabbit tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003 Nov-Dec; 18(6):807-11.
22. Tresguerres IF, Clemente C, Donado M, Gómez-Pellico L, Blanco L, Alobera MA, Tresguerres JA. Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. *Clin Oral Implants Res* 2002 Dec;13(6):631-6.
23. Calvo-Guirado JL, Mate-Sanchez J, Delgado-Ruiz R, Ramirez-Fernández MP, Cutando-Soriano A, Peña M. Effects of growth hormone on initial bone formation around dental implants: a dog study - *Clin Oral Impl Res* 2011 jun; 22(6):587-93.
24. Cecilia Vander Worf Úbeda. Hormona de crecimiento y osteointegración en la cavidad oral. *Tesis Doctoral*. Facultad de Odontología. Universidad de Granada. España 2007.
25. Carlos Gómez de Urda Ruiz de Adana. Hormona del Crecimiento y Melatonina en la Osteointegración de Implantes Dentales. *Tesis Doctoral*. Facultad de Odontología. Universidad de Granada. España 2009.
26. Marcelo Emir Requía Abreu. Hormônio do Crescimento no Processo de Osseointegração de Implantes de Titânio – Estudo Experimental e Revisão de Literatura. *Tese para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilo Facial*. Faculdade de

Odontología. Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre(RS) 2011.

27. Guicheux J, Gauthier O, Aguado E. Human Growth Hormone Locally Released in Bone Sites by Calcium-Phosphate Biomaterial Stimulates Ceramic Bone Substitution Without Systemic Effects: A Rabbit Study. *J Bone Miner Res* 1998;13(4):739-748.

28. Finn Geneser. Histología sobre bases biomoleculares.3ed. Buenos Aires. Editora Médica Panamericana. 2000.

29. Luchetti Cesar Gabriel. Estudio Comparativo de Injertos de Hueso en Regeneración Ósea Guiada. Caracterización de la Respuesta Frente a Injertos Autólogos y Sustitutos de Origen Humano, Bovino y Químico. *Tesis de Magister en Implantología Oral*. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de La Plata. 2004.

30. Junqueira LC, Carneiro J. Histología Básica. 10ed. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koonan S.A. 2004.

31. Gomez de Ferraris ME, Campos Muños A. Histología y embriología bucodental. 2ed. Buenos Aires. Editora Médica Panamericana. 2002.

32. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E151-7.

33. Montenegro SD *et al*. Metabolismo Óseo: Actualización. *Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina Facultad de Medicina*. Universidad Nacional del Nordeste 2002 117:18-21.

34. Horowitz, MC and Lorenzo, JA. Local Regulators of Bone: IL1, TNF, Lymphotoxin, Interferon gamma, IL8, IL10, IL4, the LIF/IL6 Family and Additional Cytokines En: Bilezikian, JP; Raiz, LG; Rodan, GA. "Principles of Bone Biology" 1996, Academic Press, pags. 687- 700.

35. Rodan, GA; Raiz, LG; Bilezikian, JP. *Pathophysiology of Osteoporosis* En: Bilezikian, JP; Raiz, LG; Rodan, GA. "Principles of Bone Biology" 1996, Academic Press, pags.979-992.

36. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E47-51.

37. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expresion. *J Periodontol* 1993; 64:432-44.

38. Cordaro L, Terheyden H. ITI Treatment Guide – Volume 7. Ridge Augmentation Procedures in Implant Patients A Staged Approach. Berlin, Germany. Quintessence Publishing Co, Ltd 2014.

39. Anitua Aldecoa E, Andía Ortiz I. "Un Nuevo Enfoque en la Regeneración Ósea. Plasma Rico en Factores de Crecimiento" España. Victoria: Puesta al día. 2000. pags.17-46.
40. karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 2005 Sep; 26(27):5474-5491.
41. Katherine Quiroz Gonzales. Comparación histológica del aloinjerto y xenoinjerto en la cicatrización alveolar post exodoncia en cavia porcellus. *Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú 2013.
42. Bostrom MPG, Seigerman DA. The clinical use of allografts, demineralized bone matrices, synthetic bone graft substitutes and osteoinductive growth factors: a survey study. *HSS J* 2005; 1(1):9-18.
43. Soares Rocha F, Alencar Ramos LM, Dantas Batista J, Zanetta-Barbosa D, Dechichi P. Organic bovine graft associated with PRP in rabbit calvaria. *Arq Int Otorrinolaringol* 2011; 15(2):208-213.
44. Javier Araya Hernandez. Estudio morfológico comparativo de un hueso liofilizado fabricado en Chile y de un hueso comercial (Bio-Oss). Tesis para optar el título de cirujano dentista. Universidad de Chile. Santiago. Chile. 2006.
45. Disponible en <http://www.pharmatrix.com.ar/osteodens.htm>
46. Disponible en <http://www.biocoral.com/Biocoral-France-/Products/Biocoral>
47. Nandi SK, Roy S, Mukherjee P, Kundu B, Basu De & D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. *Indian J Med Res* 2010; 132:15-30.
48. Michael Christgau. Materiales óseos y materiales sustitutivos óseos: su papel en el tratamiento periodontal regenerativo. *Quintessence Publishing Periodoncia y Osteointegración* 2010; 20(2):95-110.
49. Adolfo Nicolas Baez. Fosfato Tetracalcico Fraguable, Hidroxiapatita Sintética y la Combinación entre ambos como Materiales de Injerto en Regeneración Ósea guiada. *Tesis de Magister en Implantología Oral*. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de La Plata. 2012.
50. Ohlsson C, Vidal O. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor on human osteoblast. *Eur J Clin Invest* 1998; 28:184-186.
51. Cohick WS, Clemmons DR. The insulin-like growth factors. *Ann Ver Physiol* 1993; 55:131-153.
52. Bergara, Ignacio. Utilización de la hormona de crecimiento en niños y adolescentes. *Medicina (B.Aires)* [online] 2013; 73 (3):272-276. En: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S00257680201300000016&lng=es&nrm=iso. ISSN 0025-7680.

53. National Hormone and Pituitary Program (NHPP): Information for People Treated with Human Growth Hormone. En:
<http://endocrine.niddk.nih.gov/pubs/creutz/updatecomp.aspx>
54. García JT, Dorta JM, Munguía O, Llabrés M, Fariña JB. Biodegradable laminar implants for sustained release of recombinant human growth hormone. *Biomaterials* 2002; 23:4759-64.
55. Somatropina Humana Recombinante 1,33 mg (4UI). Saizen® (polvo liofilizado para solución inyectable). Merck Serono S.A. Aubonne, Suiza; Agosto 2013. Prospecto. Lot: AU008042 Code: L1244001A.
56. Harris WH, Heaney RP. Effect of growth hormone on skeletal mass in adult dogs. *Nature* 1969; 223:403-404.
57. Wittbjer J, Rohlin M, Thorngren KG. Bone formation in demineralized bone transplants treated with biosynthetic human growth hormone. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1983; 17(2):109-17.
58. Rudman D, Feller AG, Nagraj HS, Gergans GA, Lalitha PY, Golberg AF, Schlenker RA, Cohn, Rudman IW, Mattson DE. Effects of human growth hormone in men over 60 years old. *N Engl J Med* 1990; 323(1):1-6.
59. Brixen K, Kassem M, Nielsen HK, Loft AG, Flyvbjerg A, Mosekilde L. Short-term treatment with growth hormone stimulates osteoblastic and osteoclastic activity in osteopenic postmenopausal women: a dose response study. *J Bone Miner Res* 1995; 10(12):1865-74.
60. Bak B, Andreassen TT. The effect of growth hormone on fracture healing in old rats. *Bone* 1991; 12:151-154.
61. Andreassen TT, Jørgensen PH, Flyvbjerg A, Orskov H, Oxlund H. Growth hormone stimulates bone formation and strength of cortical bone in aged rats. *J Bone Miner Res* 1995 Jul; 10(7):1057-67.
62. Nielsen HM, Bak B, Jørgensen PH, Andreassen TT. Growth hormone promotes healing of tibial fractures in the rat. *Acta Orthop Scand* 1991 Jun; 62(3):244-7.
63. Stenport VF, Olsson B, Morberg P, Törnell J, Johansson CB. Systemically administered human growth hormone improves initial implant stability: an experimental study in the rabbit. *Clin Implant Dent Relat Res* 2001; 3(3):135-41.
64. Raschke M, Kolbeck S, Bail H, Schmidmaier G, Flyvbjerg A, Lindner T, Dahne M, Roenne IA, Haas N. Homologous growth hormone accelerates healing of segmental bone defects. *Bone* 2001 Oct; 29(4):368-73.

65. Bail HJ, Raschke MJ, Kolbeck S, Krummrey G, Windhagen HJ, Weiler A, Raun K, Mosekilde L, Haas NP. Recombinant species-specific growth hormone increases hard callus formation in distraction osteogenesis. *Bone* 2002 Jan; 30(1):117-24.
66. Kolbeck S, Bail H, Schmidmaier G, Alquiza M, Raun K, Kappelgard A, Flyvbjerg A, Haas N, Raschke M. Homologous growth hormone accelerates bone healing--a biomechanical and histological study. *Bone* 2003 Oct; 33(4):628-37.
67. Bail H, Klein P, Kolbeck S, Krummrey G, Weiler A, Schmidmaier G, Haas NP, Raschke MJ. Systemic application of growth hormone enhances the early healing phase of osteochondral defects--a preliminary study in micropigs. *Bone* 2003 May; 32(5):457-67.
68. Harvey S, Hull KI. Growth hormone, a paracrine growth factor? *Endocrine* 1997; 7(3):267-279.
69. Isaksson OG, Jansson JO, Gause IA. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science* 1982; 216(4551):1237-9.
70. Hedner E, Linde A, Nilson A. Systemically and locally administered growth hormone stimulates bone healing in combination with osteopromotive membranas: a experimental study in rats. *J Bone Miner Res* 1996; 11:1952-60.
71. Stefani CM, Machado MA, Sallum EA, Sallum AW, Toledo S, Nociti H Jr. Platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-1 combination and bone regeneration around implants placed into extraction sockets: a histometric study in dogs. *Implant Dent* 2000; 9(2):126-31.
72. Andreassen TT, Oxlund H. Local anabolic effects of growth hormone on intact bone and healing fractures in rats. *Calcif Tissue Int* 2003 Sep; 73(3):258-64.
73. Abreu ME, Valiati R, Hubler R, Moraes AN, Antonini F, CoutoHO, Pagnoncelli RM. Effect of recombinant human Growth Hormone (rhGH) on osseointegration of titanium implants: a histological and biomechanical study in rabbits. *J Oral Implantol* 2015 Aug;41(4):e102-9. doi: 10.1563/aaid-joi-D-13-00306. Epub 2014 Jun 19.
74. Hossam Eldein AM, Elghamrawy SH, Osman SM, Elhak AR. Histological evaluation of the effect of using growth hormone around immediate dental implants in fresh extraction sockets: an experimental study. *Implant Dent* 2011 Feb; 20(1):47-55. doi: 10.1097/ID.0b013e3182096979.
75. Masood F, Mohammad R, Mohsen M, Fatemeh T, Sepideh D, Shahlaa M. The effect of local injection of the human growth hormone on the mandibular condyle growth in rabbit. *Dent Res J (Isfahan)* 2014 Jul-Aug; 11(4):436-441.

76. Kim SH, Heo EJ, Lee SW. The effect of topically applied recombinant human growth hormone on wound healing in pigs. *Wounds [periódico online]* 2009; 21(6): 158-63. http://www.woundsresearch.com/files/wounds/pdfs/Kim_pA2_W07_Staff.pdf

ANEXOS

PROSPECTO MATRIZ DE HUESO BOVINO DESPROTEINIZADO

Osteodens®

MATRIZ MINERAL DE ORIGEN BOVINO PARA SUSTITUCIÓN ÓSEA
Versión exclusiva a profesionales e instituciones sanitarias.

COMPOSICIÓN

Osteodens® E
Gránulos y líquidos estériles. Matriz ósea extrema purificada 100%.

Osteodens® C
Gránulos. Matriz ósea ósea extrema 100%.

CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES

Osteodens® es una matriz mineral pura natural, biocompatible, estéril, de origen bovino para uso en cirugía periodontal y maxilofacial, en la cual se han eliminado todos sus componentes orgánicos. Su composición química es comparable a la matriz mineral del hueso humano, por lo tanto tiene un alto grado de biocompatibilidad.

La matriz orgánica de Osteodens® tiene una acción y modo de actuación similar a la del hueso humano. Se accionan los mecanismos biológicos. Gracias a la estructura de la matriz orgánica se favorece el crecimiento óseo en la zona de implantación, mejorándose gradualmente de forma fisiológica por los osteocitos y osteoblastos. Por sus propiedades, constituye una excelente alternativa cuando el empleo de hueso autólogo no está indicado o no está disponible en la cantidad necesaria para el procedimiento quirúrgico propuesto.

INDICACIONES

Reconstrucción y firmes de crestas alveolares.

Relieve de deficiencias óseas después de resección de raíz, osteomielitis, quistes y abscesos, extracciones de dientes retenidos.

Manejo de las crestas alveolares tras la extracción.

Exposición de seno maxilar.

Relieve de deficiencias periodontales en conjunto con productos destinados a la Regeneración Tissue Grafts (RTG) y Regeneración Ósea Guía (ROG). Relieve de deficiencias peri-implante en conjunto con productos destinados a la Regeneración Ósea Guía (ROG).

Osteodens® sigue el procedimiento para el relieve de cavidades óseas maxilofaciales graves.

En implantes: Diferencias óseas, estabilización de implantes intradentales y preparación del sitio para el implante.

REACCIONES ADVERSAS

No se han descrito. Para su uso y dosis que pueden variar tanto de protistas de origen animal no se pueden incluir resultados reacciones alérgicas.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Para facilitar la identificación de Osteodens® deberá estar implante en conjuntos directos con tejido óseo bien vascularizado (en ciertos casos se recomienda preparar el tejido óseo con una fresa). En grandes deficiencias la mezcla con hueso autólogo puede mejorar la vascularización ósea. Diversas investigaciones han informado que mientras la vascularización ósea histológica e histomorfométrica de procedimientos de elevación de seno maxilar donde fueron empleadas como relleno diferentes matrices minerales, se observó que la hincapié de tejido óseo a largo plazo y que en un primer período de 8 - 12 meses el volumen trabecular medio (VTM) está comprendido entre el 14 - 44 % con inclusiones de gránulos de la matriz utilizada como relleno. Se ha informado también, que la reacción de las partículas de relleno óseo se ven afectadas y que se han encontrado gránulos en el área del implante aun hasta 6 años luego de haberse realizado el mismo.

Cada unidad de Osteodens® es de un solo uso. Descartar cualquier remanente. No reutilizar. No utilizar después de la fecha de vencimiento indicada. No debe utilizarse el producto en caso de vómito durante su almacenamiento.

CONTRAINDICACIONES

Esta contraindicado en aquellas personas que presenten: énfasis aguda o crónica en el área quirúrgica (osteomielitis), enfermedades metabólicas (diabetes, hipoparatiroidismo, osteoporosis), osteoporosis, afeciones renales y hepáticas graves, diabetes vascular en el área de aplicación y en aquellas a las que se les ha indicado áreas altas de cortejo óseo.

CONSERVACION

Mantener entre 15° - 35° C.

PRESENTACIONES

Osteodens® E
Gránulos estériles. Granulometría 0.25 - 1.0 mm y 1-2 mm en vales de 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 g.
Líquido estéril. Aproximadamente 2 cm³.

Osteodens® C
Gránulos estériles. Granulometría 0.5 - 1.0 mm, en vales de 0.5 g.

PRODUCTO MÉDICO DE UN SOLO USO ESTERILIZADO POR RADIACIÓN. GABRIELA
PRODUCTO MÉDICO AUTORIZADO POR LA ANMAT (PH 1924-01).

PHARMATRIX

Editorial por Laboratorios Pharmatrix, Div. Theratrol Pharma S.A.
Avenida 239 - Barrio Pardo, Buenos Aires, Argentina.
Director Técnico: Sergio Parodi, Farmacéutico
Laboratorio Argentino

Matriz de un solo uso estérilizado elaborada a partir de granules bovinos de Argentina.

