



VNiVERSiDAD D SALAMANCA

ESTUDIO DE LOS DIFERENTES MODELOS DE REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA PREVIA A LA COLOCACIÓN DE IMPLANTES DENTALES OSTEOINTEGRADOS

TESIS DOCTORAL

YASMINA GUADILLA GONZÁLEZ

Salamanca, Junio 2010

A mi familia, donde están aquéllos que con su aliento tanto me animaron a comenzar, continuar y finalizar este trabajo. En especial a mis padres y a José.

*La ciencia se compone de errores, que a su vez, son los
pasos hacia la verdad.*

Julio Verne

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a las siguientes personas, sin las cuales no habría sido capaz de llevar a cabo esta Tesis Doctoral:

Al Profesor Francisco de Paula Collía por la dirección de esta Tesis, resaltando su dedicación, esfuerzo e inagotable ánimo. En él he encontrado a un amigo.

Al Dr. Ángel Alonso, quién tanto me enseñó y me embarcó en esta “cruzada”.

A todo el Departamento de Anatomía e Histología Humanas, de la Facultad de Medicina, por su calurosa acogida, y en especial a los técnicos de laboratorio, Javier y Rosa, por su paciencia y dedicación.

Al Dr. Antonio Cardoso, por su cooperación desinteresada en las mediciones histomorfométricas.

Al Dr. Javier Gavilanes, por su especial visión de las cosas.

La realización de esta Tesis Doctoral ha sido posible gracias a una subvención de CYT MAT 2007-63355 y RETICEF.

	Página
I. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	3
II. INTRODUCCIÓN	9
1. BIOLOGÍA ÓSEA	10
1.A. Organización del hueso	11
1.B. Histología ósea	12
1.C. Histogénesis ósea	25
1.D. Remodelación ósea	26
1.E. Embriología y osificación de los huesos maxilares	31
2. PATOGÉNESIS DE LA PERIODONTITIS: DESTRUCCIÓN DEL SOPORTE ÓSEO DENTARIO	35
3. REGENERACIÓN ÓSEA	37
3.A. Terapéuticas de Regeneración Ósea	38
3.B. Materiales de injerto	41
3.C. Autoinjerto: hueso autólogo	41
3.D. Aloinjerto: Hueso liofilizado	43
3.E. Biomateriales	47
3.F. Factores de crecimiento óseo	52
3.G. Plasma rico en plaquetas (PRP)	65
III. OBJETIVOS	74



IV.	MATERIAL Y MÉTODOS	76
1.	MUESTRA	77
2.	MÉTODOS	78
3.	INSTALACIONES	78
4.	PROTOCOLO QUIRÚRGICO	78
4.A.	Material quirúrgico	78
4.B.	Material complementario	79
4.C.	Planificación preoperatoria	79
4.D.	Técnica quirúrgica	80
5.	PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO	84
5.A.	Inclusión	84
5.B.	Tinciones	87
6.	MATERIAL ICONOGRÁFICO	89
V.	RESULTADOS	90
1.	ESTUDIO HISTOLÓGICO	91
2.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	152
VI.	DISCUSIÓN	159
VII.	CONCLUSIONES	175
VIII.	BIBLIOGRAFÍA	177



I. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN



La boca ha ocupado una parte importante en las relaciones humanas desde las épocas primitivas y, a menudo, se han centrado en ella ritos y supersticiones de diferentes regiones de la Tierra.

Así se han encontrado cráneos en Europa, China, India, África o Japón, en los que había extracciones y mutilaciones dentarias como expresión de ciertos ritos mágicos(1).

En la Europa Prehistórica existía la costumbre de arrancar los dientes usando una piedra a modo de martillo y un trozo de madera como escoplo.

Los primitivos consideraban cualquier enfermedad como injuria de un agente externo o como el signo de la cólera de los Dioses (2), y daban un origen sobrenatural a todo aquello que no tenía una explicación clara; surgiendo así la figura del hechicero, curandero, sacerdote, mago o chamán. Personas consideradas como seres superiores que, en la ciencia de que las enfermedades se debían a la influencia de seres sobrenaturales, intentaban ahuyentarlas con bailes y danzas alrededor del enfermo.

En el valle del Nilo(1) surgieron los primeros médicos, que fueron considerados como seres divinos que tenían poder para destruir los demonios que atacaban los dientes, por lo que las oraciones y sacrificios eran los métodos rituales donde se utilizaban toda suerte de elementos como ratones, ranas, sesos, miel...

Estos conocimientos se transmitieron de generación en generación a través de las anotaciones y observaciones señaladas en papiros primitivos.

Desde muy antiguo el hombre ha querido reemplazar los dientes perdidos. Con este objeto se ha valido de diversos materiales bien de origen animal como conchas, marfil, huesos, dientes de cadáveres humanos o animales, o bien de origen vegetal la madera, para realizar aparatos removibles o fijos en la boca(1) (2) (Fig. 1, Fig. 2).

Los primeros intentos de prótesis fija parecen remontarse al año 2500 a.C. Se atribuye a Imhotep, conocido como el Santo Patrono de la Medicina Egipcia, una muestra de dos molares ligados con alambre de oro, encontrados por Junker en 1914 en una momia perteneciente a la IV o V dinastía.



En Siria existen referencias (600-400 a.C.) de prótesis en las que cuatro dientes inferiores sujetaban entre ellos dos dientes de marfil tallados que reemplazaban a dos incisivos perdidos. Los seis dientes estaban unidos por hilos de oro.

Esta técnica la conocieron los fenicios, grandes navegantes y comerciantes, que la dieron a conocer a los etruscos, romanos e israelitas hasta la era cristiana.



Fig. 1 Mandíbula con conchas sustituyendo a tres dientes incisivos.



Fig. 2 Puente encontrado en tumba etrusca.

En Sidón, ciudad fenicia, en 1862, Gaillardot encontró una parte de maxilar superior con dos caninos y los cuatro incisivos unidos con alambre de oro, procediendo dos de estos incisivos de otra persona.

Esta exhibición tecnológica, sin lugar a dudas, fue transmitida a España a través de los contactos comerciales y mercantiles de la época.

Pero la primera evidencia de sustitución de dientes enclavados en el propio hueso mandibular la encontramos en la cultura maya (2), en un resto mandibular hallado en Honduras en 1931 por el Dr Wilson Popenoe y datado en el 600 d. C. aproximadamente. Se trata de tres implantes endo- óseos realizados a partir de conchas y que sustituyeron, en vida del individuo, a tres incisivos inferiores (Fig. 1).

La aparición de Hipócrates, considerado padre de la Medicina Científica, marcó la base que posteriormente desarrollarían etruscos y romanos. Hipócrates sólo consideraba la extracción de la pieza cuando ésta estaba floja, pues la exodoncia resultaba peligrosa. A partir de esta época, la extracción dentaria se realizará por razones quirúrgicas y no místicas ni rituales.

La boca cobraba gran importancia en Grecia y así Apuleo afirmaba que era *“el vestíbulo del alma, la puerta de los discursos y el pórtico del pensamiento”*.

En la época romana, Galeno (166-201) recogió todos los conocimientos médicos y fue fuente bibliográfica de estudio hasta los albores del Renacimiento. Se basó en el método hipocrático de la observación y el estudio previo al diagnóstico y

tratamiento, pero al crecer su fama basó sus teorías en suposiciones. Para él, la extracción dentaria era un recurso extremo.

Hasta entonces, la prótesis era ejercida por artesanos y mecánicos que posteriormente hacían las extracciones de los dientes dolorosos o destruidos por la caries. Con ello aparecen los especialistas siendo el comienzo del arte del dentista como profesional independiente de la medicina o la cirugía.

En la Edad Media el mundo islámico asimiló el saber grecorromano traduciendo al árabe los escritos de Aristóteles, Galeno... y escribieron tratados que compendaban las tres culturas. Destacó Abulcasis que en "El Método" habla de cómo hacer las extracciones, así como reimplantar dientes, fijarlos, etc.

En el resto de Europa son los monjes, en los monasterios, los encargados de traducir y ordenar las ideas de las diferentes culturas.

En este período la Odontología es practicada por barberos que se iniciaron con los monjes a los que, en principio, afeitaban y de ellos aprendieron ciertas prácticas quirúrgicas.

Se produce un gran avance en la descripción anatómica, histológica y fisiológica de la cavidad oral y dientes.

La Odontología no avanza apenas hasta que Pierre Fauchard (1678-1761) ordena todos los conocimientos sobre la Odontología, iniciando para la misma una etapa fecunda llena de ciencia y con personalidad propia. Rompió con el ocultismo de la profesión tratando de extender los tratamientos y remedios, así como colaborando con el gobierno francés en la reglamentación de la profesión, exigiendo un examen para su ejercicio, elevándola así a un rango más digno.

En el S.XVIII la Odontología avanza a la zaga de la Medicina donde aparecen una serie de personajes que aportan nuevos conceptos a la Ciencia, y así nos encontramos con Bichat que aporta su doctrina anatomoclínica, Virchow su patología celular, Pasteur y Koch sus teorías sobre microbiología, Lister sus conceptos sobre asepsia y antisepsia, y Schonlein sus conceptos fisiopatológicos. La cirugía aparece representada por Simpson y Liston.

Hasta ahora, para la sustitución de piezas perdidas se habían utilizado materiales no dentarios cuyo uso era generalmente insatisfactorio pues absorbían olores y se decoloraban, y dientes humanos, que eran escasos y caros, y la mayor parte de la gente sentía repugnancia natural al ponerse el diente de un cadáver en la boca.

En el S. XVIII John Hunter (2) argumentó sobre las ventajas de trasplantar los dientes de un humano vivo directamente al maxilar de otro humano, y su gran prestigio hizo que se aceptara este procedimiento más de lo conveniente. Aconsejaba usar dientes de jóvenes que aún no tuvieran la raíz totalmente formada, y cuyo



tamaño se ajustara la máximo al alvéolo post extracción receptor. Estos implantes cayeron en desuso tras la divulgación de repetidos fracasos, el reconocimiento del riesgo de transmisión de enfermedades, especialmente la sífilis, y la aparición de los dientes “minerales” o de porcelana.

Es en este siglo cuando se comienzan a preparar dientes de porcelana, aparece el caucho, las vulcanizadoras, el torno a pedal, la anestesia y la amalgama. Además de Pierre Fauchard y Jonh Junter, destacará en odontología Philip Pfaff, considerado como el padre de la prótesis dental.

En el S.XIX dentro de la cirugía se superaron tres barreras que permitieron su desarrollo definitivo: el dolor, la hemorragia, y la infección.

La cirugía periodontal y remodelación ósea (1) tienen como precursores al alemán Newmann, al polaco Cieszynski y al sueco Widman.

Actualmente, el tratamiento con implantes osteointegrados constituye una de las alternativas más predecibles para la sustitución de dientes perdidos, cumpliendo las expectativas funcionales (estéticas, masticatorias y fonatorias) de los pacientes.

El éxito de los implantes dentales se basa en su osteointegración al tejido óseo remanente, lo que depende, en parte, de la cantidad y calidad del sustrato óseo así como de su capacidad de regeneración. La insuficiente disponibilidad ósea para la estabilización de los implantes es una de las circunstancias más frecuentes en la práctica implantológica. Por ello, el aumento del sustrato óseo mediante técnicas regenerativas, constituye una de las líneas de investigación más importantes en la actualidad. Así, los injertos óseos autógenos, en bloque o particulados, sustitutos óseos, biomateriales, membranas y factores de crecimiento suelen emplearse de forma aislada o combinada para incrementar la cantidad de hueso de forma previa o simultánea a la colocación de los implantes osteointegrados.

Sin embargo la capacidad de conseguir regeneración ósea es limitada y es ahora, con un mayor conocimiento acerca de los factores de crecimiento, cuando empiezan a aparecer estudios esperanzadores en el campo de la regeneración ósea, basados en promover la diferenciación, migración y proliferación de las células involucradas en la regeneración ósea. Existen en la actualidad muchas líneas de investigación, que incluyen desde la utilización de factores de crecimiento como PDGF, IGF y proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) en estudios de regeneración ósea, hasta la aplicación de hormona de crecimiento (GH).

El descubrimiento de factores de crecimiento en el adhesivo de fibrina autólogo (AFA), despertó el interés de los investigadores, en el sentido de utilizar este producto no sólo como agente osteoconductor y vehiculizador de injertos (3), sino como posible agente osteoinductor (4)(5). En 1995, Slater(6), en un trabajo *in vitro*, obtuvo un aumento en la proliferación y diferenciación de osteoblastos humanos así como en la síntesis de matriz extracelular al cultivar dichos osteoblastos en presencia de factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF).



En 1997, Whitman(7) observó las diferencias entre el AFA y el plasma rico en plaquetas (PRP), proponiendo algunas aplicaciones del PRP en cirugía bucal y maxilofacial, como reconstrucciones mandibulares, fisuras palatinas y procedimientos relacionados con la colocación de implantes como la elevación de seno.

En 1998, Marx (8) observó la existencia de un incremento del número de plaquetas en el PRP de un 338% con respecto a los niveles plaquetarios en sangre periférica, mostrando la presencia de al menos tres factores de crecimiento PDGF, TGF- β 1y β 2, para los que existían receptores en el hueso trabecular. Mezcló este preparado junto con injerto óseo autógeno en reconstrucciones mandibulares y valoró, mediante radiografías panorámicas, que producía una aceleración de la regeneración ósea y aumento en la densidad del hueso neoformado a los 6 meses respecto del grupo control. La activación del PRP la realizaba mediante la adición de trombina bovina al PRP.

En 1999, Anitua (9) presentó un grupo de pacientes que presentaba enfermedad periodontal y susceptibles de tratamiento implantológico, y otro de pacientes con fracturas verticales en dientes que se sustuirían mediante implantes unitarios. Utilizando plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) consiguió unos resultados significativamente mejores, desde el punto de vista de la regeneración y maduración ósea, respecto al grupo control (sin nada), y exento de riesgos para el paciente.

A la vista de esta situación, creemos que el estudio de la aplicación de hueso autólogo y/o liofilizado, y de plasma rico en factores de crecimiento (PRFG), por separado o asociados, en la regeneración ósea posterior a extracciones dentarias, y previo a la colocación de implantes dentales, justifica la realización de este trabajo como Tesis Doctoral.



II. INTRODUCCIÓN



En este apartado describiremos la biología ósea, como base sobre la que comprender la regeneración del hueso alveolar postextracción de la pieza dentaria. Haremos una descripción de la histología ósea, los diferentes mecanismos de regulación de la regeneración y remodelación ósea así como los distintos factores de crecimiento implicados, con el fin de suministrar la información necesaria para la comprensión de la dinámica ósea subyacente a la colocación de implantes.

A continuación nos centraremos en la estimulación de la regeneración ósea de los maxilares, haciendo hincapié tanto en las diferentes técnicas y procesos, como en los distintos materiales que se usan habitualmente en odontología, procurando explicar, con aval científico, los pros y contras de cada uno de ellos.

1. **BIOLOGÍA ÓSEA**

El tejido óseo representa la parte principal del esqueleto. Es un tejido conectivo especializado, caracterizado principalmente por su matriz orgánica mineralizada. Lejos de ser una sustancia inerte, es un tejido vivo con importantes funciones para el organismo, como la provisión e integridad mecánica para la *locomoción*, siendo el lugar de inserción de los músculos. Ofrece una eficaz *protección* mecánica al cerebro, médula espinal, órganos del tórax y abdomen (10); asimismo es de suma importancia su implicación en las vías metabólicas asociadas con la homeostasis mineral sirviendo como reservorio de iones Calcio, Fósforo, Potasio y otros. Además, el hueso es el principal lugar de hematopoyesis ya que acoge en su seno a la médula ósea hematopoyética (11), y recientes descubrimientos sostienen su importante papel como componente del sistema inmune (12) (13).

Son características especiales su fortaleza y resistencia con un mínimo peso, así como gran elasticidad (14).

La morfología y tamaño de cada hueso parecen diseñados a propósito, pues su adaptación a las funciones en las que se ven implicados es perfecta, manteniendo la fuerza, elasticidad y resistencia apropiadas (15).



1.A. ORGANIZACIÓN DEL HUESO

La arquitectura del tejido óseo y la disposición de sus componentes está asociada a su función según la ley de Wolff (16) “La forma sigue a la función”; macroscópicamente existen dos formas fundamentales de organización ósea, como hueso trabecular en el interior, y como hueso cortical en el exterior, ambas dispuestas en casi todos los huesos del organismo, tanto en los huesos largos como en los cortos, en diferente cantidad y distribución.

El **tejido óseo esponjoso** o **hueso trabecular** (Fig. 3) está compuesto por finas hojas, las trabéculas, que se entrecruzan con túbulos formando así un delicado entramado de distribución irregular, que alberga y sirve de soporte a la médula ósea.

La unidad básica de este tejido es la *osteona trabecular*, que tiene forma de disco plano y espesor variable según su localización; en general las osteonas son más anchas en la dirección de la carga ofreciendo así mayor resistencia a la compresión (16). Las trabéculas anchas poseen varias osteonas, están dispuestas en el sentido de la carga y ofrecen mayor resistencia a la compresión, así como mayor elasticidad pues ceden a la torsión.

Las trabéculas delgadas sólo poseen una osteona y están colocadas en perpendicular al eje de la carga.

El tejido óseo compacto o hueso cortical (Fig. 4) forma una masa compacta sin espacios visibles, y presenta una mayor organización morfofuncional (17). Su masa es cuatro veces mayor que la del hueso esponjoso (18).

Está constituido, en su mayor parte, por matriz ósea formando unas láminas que envuelven a conjuntos de canales denominados sistemas de Havers. Éstos incluyen una serie de canales longitudinales, los conductos de Havers que albergan en su interior 1 ó 2 capilares, vasos linfáticos, fibras nerviosas y tejido conectivo. Además, entre estos sistemas se encuentran zonas irregulares de tejido óseo laminar, los sistemas intersticiales.

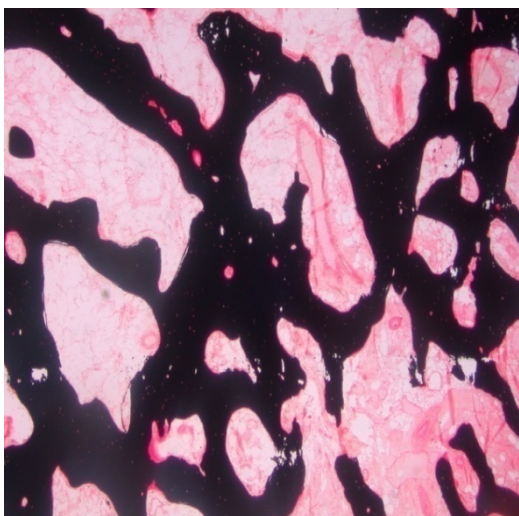


Fig. 3 Hueso trabecular. (Von Kossa)

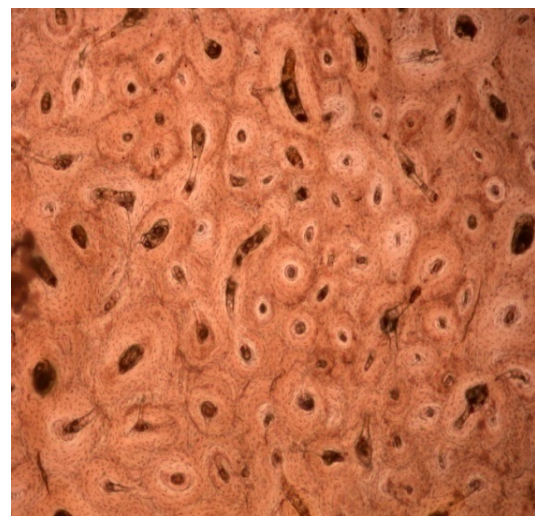


Fig. 4 Hueso compacto. (Desgaste)

Externamente está rodeado por el *periostio* (Fig. 6), una capa de tejido conectivo denso de gran capacidad osteogénica; e internamente por una delgada capa de tejido conectivo rico en células, el *endostio* (Fig. 5), que recubre el espacio medular y los espacios de la sustancia esponjosa. Ambas capas celulares presentan capacidad osteogénica.

El *periostio* (Fig. 6) está a su vez compuesto por dos capas, la más externa fibrosa, en íntimo contacto con el músculo y otros elementos de tejidos blandos; está poblada por células similares a fibroblastos indiferenciados, vasos sanguíneos y abundantes fibras de colágeno gruesas, *fibras de Sharpey*, que sirven como anclaje ya que penetrarán hasta zonas profundas del hueso. La capa más interna, en contacto íntimo con el hueso, se conoce como *lámina cambiante* y está poblada por células de apariencia fibroblástica, muchas de ellas serán progenitoras de condrocitos y osteoblastos. Esta lámina contribuye al crecimiento óseo por aposición durante el desarrollo del hueso y es responsable de la expansión en diámetro de los huesos largos (18).

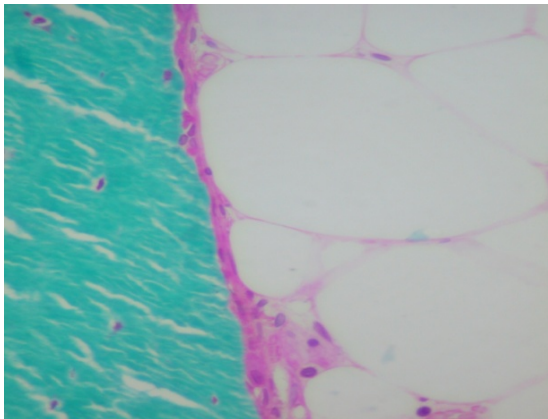


Fig. 5 Relación Endostio- Médula ósea. (Goldner)

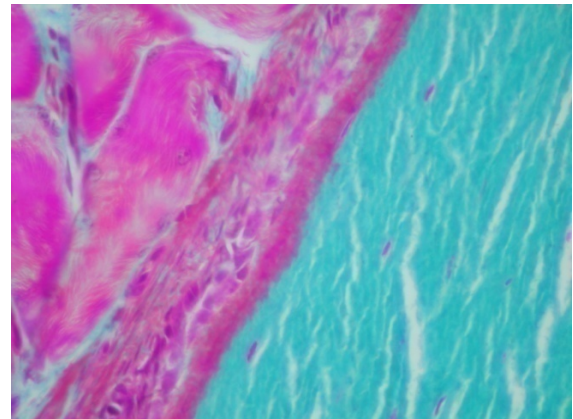


Fig. 6 Relación Periostio- Músculo. (Goldner)

Existe otro sistema de canales conductores de vasos, son los conocidos como *conductos de Volkmann*, que se orientan perpendicularmente a la osteona y cuya función principal es la de comunicar los conductos de Havers entre sí y con las superficies interna y externa del hueso.

1.B. HISTOLOGÍA ÓSEA

El tejido óseo está formado por una fase orgánica y otra inorgánica. El 70% en peso es mineral, del 5% al 8% es agua y el resto corresponde a la fase orgánica. El 98% de la fase orgánica es colágeno tipo I y algunas proteínas no colágenas lo que formará la matriz ósea; las células forman el 2% restante (19).

La **MATRIZ ÓSEA EXTRACELULAR** está formada por un componente orgánico y otro inorgánico o mineral. Consta de un andamiaje de fibras colágenas entreteljadas

entre las que se encuentran pequeños cristales de hidroxiapatita carbonatada [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], y depósitos de carbohidratos y lípidos. Se encuentra mineralizada en un porcentaje muy elevado de su volumen (99%) y es la responsable de las propiedades biomecánicas del hueso.

El **componente orgánico** juega una amplia variedad de funciones, determinando la estructura y las propiedades mecánicas y bioquímicas del tejido. Los factores de crecimiento, las citoquinas, y las proteínas de la matriz extracelular hacen pequeñas contribuciones al volumen total de hueso y grandes contribuciones a su función biológica. A todo este conjunto se denomina sustancia fundamental y representa un 10-20%. El 80-90% restante corresponde a fibras de colágeno.

La **sustancia fundamental** está formada por carbohidratos y proteoglicanos entre los cuales están condroitín-sulfato y ácido hialurónico, y por otras moléculas proteicas secretadas por los osteoblastos que se encuentran en pequeña proporción (10-15%) como osteocalcina, sialoproteína ósea y osteonectina (implicadas en la adhesión celular), osteopontina, y factores de crecimiento (20).

La *osteocalcina* y la *sialoproteína ósea* son exclusivas del tejido óseo mineralizado; las libera el hueso durante la desmineralización, reflejando así su asociación con la fase mineral (21).

La *osteocalcina* representa menos del 15% de las proteínas no colágenas; se modifica de forma característica por la vitamina K lo que hace que esté ligada a los factores de la coagulación. Está estimulada por hormonas osteotrópicas, vitamina D_3 activa y Paratiroidea (PTH) ambas implicadas en la activación osteoclástica (21).

La *sialoproteína ósea* se expresa coincidiendo con la aparición del primer cristal mineral en cemento y hueso (22) y parece que interviene en la iniciación de la formación de estos cristales. Su expresión está favorecida por factores que estimulan la formación ósea como los miembros de $\text{TGF}\beta$ (Factor de Crecimiento Transformante β) y glucocorticoides (23).

La *osteopontina*, en contraste, es un potente inhibidor del crecimiento de cristales de hidroxiapatita(23), y como su transcripción está también estimulada por la vitamina D_3 , esta proteína queda implicada en el proceso de reabsorción ósea. Pero su expresión está asimismo activada por los miembros de $\text{TGF}\beta$ y glucocorticoides, de manera que se implica en la formación ósea(23).

La *osteonectina* es una glicoproteína adhesiva que se une a las superficies celulares, a la hidroxiapatita, trombospondina I y colágeno. Tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de cristales de hidroxiapatita y posee también elevada afinidad por los lugares de fijación del calcio. Parece muy implicada en la remodelación rápida de tejidos. Modula las interacciones de las células con la matriz extracelular (24).

La *lisil oxidasa* y la proteína ácida de matriz rica en tirosina (*TRAMP* o dermatopontina) son proteínas de la matriz tanto ósea como dentinaria. Mientras que la lisil oxidasa es una proteína cross-linking del colágeno, la TRAMP tiene propiedades de proteoglicanos y células de unión (21).



Otras proteínas que podemos encontrar son *péptidos de pro-colágeno*, *trombospondina*, *fibronectina* y *vitronectina* que modulan las herramientas celulares, y la enzima fosfatasa alcalina, importante para que ocurra la mineralización del tejido (21).

Los osteoblastos expresan otras proteínas involucradas en la modulación de la osteoclastogénesis como son osteoprotegerina, RANKL (de la familia de TNF) y el factor estimulante de las colonias de macrófagos (M-CSF)(25) (Fig. 11, pág.20).

A parte de las proteínas producidas por las células formadoras de hueso, también hay proteínas derivadas de la sangre como albúmina, α 2HS glicoproteína e inmunoglobulinas (21).

Entre los *factores de crecimiento* y *citoquinas* se encuentran el Factor de crecimiento Transformante β (TGF β), Factor de crecimiento tipo Insulina (IGF), los Factores de Necrosis Tumoral (TNF_s), las Interleukinas (IL) y las Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMP₂₋₁₀). Estas proteínas tienen importancia en la regulación de la diferenciación, activación, crecimiento y recambio de las células óseas. Asimismo, estos factores de crecimiento sirven como factores que encadenan los procesos de formación y remodelación ósea.

Las ***fibras colágenas*** están constituidas por varios tipos de colágeno distribuidos en las siguientes proporciones: tipo I en alrededor del 95%, tipo V en menos del 5% y tipos III y XII en menos del 1 % (26) (27). El colágeno tipo I forma haces de fibras que son la estructura básica de los tejidos conectivos.

El colágeno tipo III está entremezclado con fibras de tipo I(21) para formar las fibras de Sharpey, que unen el periostio con el hueso (25) y en el caso de los maxilares se insertarán desde el ligamento periodontal en el hueso laminar uniéndose al alvéolo para conferir estabilidad a la unión con el diente.

La expresión del colágeno tipo XII está relacionada con el esfuerzo mecánico (21) y la alineación de las fibras colágenas, como se demuestra en la maduración del ligamento periodontal(26).

Mientras que los tipos I, V y XII se expresan por los osteoblastos, el tipo III y algo del XII los producen los fibroblastos durante la formación, en maxilares, del ligamento periodontal.

Las moléculas *cross-linking* (28) (lisinas y lisinas modificadas) confieren a las fibrillas de colágeno su alta resistencia a la tensión al estabilizarlas dentro de las fibras de estructura superior en que se organizarán y que orientaron los osteoblastos de forma específica durante la formación del hueso.

En el hueso de rápida formación, *hueso plexiforme*, primario, no laminar o reticular, como el que se produce durante el desarrollo o en los lugares de reparación, las fibras se extienden sin orden dejando un gran volumen de espacio interfibrilar que se ocupa por cristales minerales y proteínas ácidas asociadas.



En el hueso maduro, *hueso laminar*, secundario o haversiano, las fibras colágenas forman láminas altamente organizadas en cuyas sucesivas capas las fibras están orientadas perpendiculares unas a otras con pequeños espacios interfibrilares que también quedarán ocupados por cristales minerales y proteínas.

El colágeno proporciona al hueso las propiedades elásticas (flexibilidad) y de resistencia a la tracción. Además, en condiciones normales, limita el movimiento de otros componentes del tejido y la matriz, regula la deposición de cristales de hidroxiapatita en el hueso, y desempeña un importante papel en la regulación y diferenciación de varias células y tejidos.

El ***componente inorgánico***, es decir, las ***sales minerales*** representan el 75% del peso seco de un adulto. La mayor parte, aproximadamente el 95%, son depósitos cristalinos de fosfato de calcio, impregnados por impurezas que componen el restante 5%. Estos cristales son casi idénticos a los del mineral hidroxiapatita, y están dispuestos en varas finas y paralelas, en estrecha relación con las fibras de colágeno. Confieren al tejido óseo la dureza, rigidez y resistencia a la compresión (29). También hay algo de fosfato de calcio amorfo.

Además, el mineral de los huesos contiene numerosos iones diferentes, entre ellos magnesio, potasio, sodio, carbonato y citrato. La hidroxiapatita suele presentar, aunque en pequeña proporción, sustitución de algunos grupos fosfato por carbonato e hidroxilos por cloruros o fluoruros lo cual modifica las propiedades físicas de la fracción mineral lo que puede tener importantes efectos biológicos y ser crítico en el normal funcionamiento del tejido (30). Habitualmente el hueso laminar se encuentra más densamente mineralizado que el plexiforme.

Aquella parte de la matriz ósea que no se encuentra mineralizada se denomina *osteoides*, está organizada en forma de finos ribetes que tapizan la superficie de algunas trabéculas y cavidades intracorticales, y constituye menos del 1% del volumen total del hueso.

Las **CÉLULAS ÓSEAS**

Los ***osteoblastos*** son las células formadoras de hueso ya que sintetizan el componente orgánico de la matriz ósea: colágeno tipo I, proteínas no colágenas y factores de crecimiento. Durante el desarrollo embrionario de los maxilares llegan, desde la región facial, para formar el hueso alveolar que acogerá a los dientes. Su función principal es sintetizar y secretar la matriz ósea orgánica (31), adicionalmente unir de forma precisa las fibras del ligamento periodontal, en continua remodelación, al hueso alveolar (32) y, a la vez que controlan el depósito de las sales minerales, también inician la reabsorción ósea elaborando varias proteasas neutras. Puesto que contienen los receptores de la mayoría de mediadores del metabolismo óseo, incluyendo la reabsorción ósea, podemos decir que juegan un papel crítico en la regulación del recambio o *turn-over* óseo.



Se originan a partir de la misma célula pluripotencial, CFU/F, que se puede diferenciar hacia una amplia línea mesenquimal celular: osteoblastos, adipocitos, condrocitos y mioblastos (25). Existe una íntima relación entre la diferenciación de adipocito y osteoblasto hasta el último momento (33); entre las señales que dirigirán hacia la osteogénesis en preferencia a la adipogénesis se incluyen la BMP-2 y el receptor de BMP así como el TGF- β_1 (33). A la vez, la vitamina D₃ va a inhibir la adipogénesis (34).

La proliferación y diferenciación del grupo celular (*pool*) osteoprogenitor está influenciado por varios factores reguladores. El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) son importantes en la estimulación de la expansión del CFU/F (18).

El reclutamiento de la CFU/F se estimula por las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) que son producidas por las células del estroma de la médula ósea. Las BMP estimulan la diferenciación terminal de los osteoblastos y el efecto conjunto es el aumento de la formación de hueso.

Basándonos en estudios morfológicos e histológicos, las células de la serie osteoblástica se pueden categorizar en cuatro formas diferentes *in vivo*, *preosteoblasto*, *osteoblasto maduro*, *osteocito* y *células de revestimiento o lining cells* (25), correspondiendo a un grado distinto de diferenciación.

Podemos decir que, en general, los osteoblastos pasan por tres estadios funcionales: *a*) proliferación celular y síntesis de los componentes orgánicos de la matriz ósea, momento en el que se expresa la fosfatasa alcalina en superficie, *b*) maduración de la matriz ósea, y *c*) depósito de mineral.

La línea celular osteoblástica expresa y produce varias citoquinas y factores de crecimiento que se almacenan en la matriz extracelular ósea y tienen acción local sobre la formación y reabsorción de hueso. Entre ellas se encuentran las interleuquinas IL-1, IL-6, con acción atrayente de osteoclastos, la IL-11 que estimula la formación de osteoblastos, IL-6 promueve la diferenciación de osteoblastos y tiene efectos anti apoptosis de los mismos (18); entre los factores de crecimiento están el factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I), factor de crecimiento transformante- β (TGF- β), factores de crecimiento fibroblástico (FGFs) y prostaglandinas como PGE₂ que junto a la hormona paratiroidea (PTH), para la que los osteoblastos tienen receptores de membrana, estimulan la producción de IGF-I por los osteoblastos; y proteínas morfogenéticas óseas (BMP) la mayoría de las cuales poseen función osteogénica.

La abundancia de TGF- β y BMPs en los estadios tempranos de la maduración osteoblástica, y la acción de BMP sobre la proteína P21 (que se expresa en el período de crecimiento) (18) pueden producir un mecanismo que no sólo promueva la diferenciación osteogénica, sino que estimule la apoptosis de células proliferadas que están recluidas en la superficie ósea y no pueden progresar hacia osteocito maduro.

Los *preosteoblastos* pueden expresar marcadores fenotípicos de los osteoblastos, por ejemplo la actividad fosfatasa alcalina, pero en menor grado que los



osteoblastos maduros. Los preosteoblastos no han adquirido algunas de las características de los osteoblastos maduros, así no hay evidencia de un retículo endoplasmático rugoso desarrollado (18).

El osteoblasto se caracteriza por su tamaño, morfología cúbica, núcleo redondo en la base de la célula (opuesta a la superficie del hueso en nueva formación), un citoplasma fuertemente basófilo, rico en una isoenzima específica de la fosfatasa alcalina, y al ser una célula típicamente secretora, su retículo endoplasmático rugoso presenta amplias cisternas de contenido granular denso, y un prominente aparato de Golgi circular localizado entre el núcleo y el ápice celular (25).

La actividad fosfatasa alcalina, que da la característica basófila al citoplasma, es un marcador ampliamente aceptado de la formación de nuevo hueso así como de actividad temprana de osteoblastos, y se considera crítica en la iniciación de la mineralización. Varios osteoblastos en síntesis de matriz osteoide conforman un *frente osteoblástico* (Fig. 7).

Los osteoblastos se encuentran unidos entre sí por cortas y finas prolongaciones; esta comunicación intercelular, así como la interacción célula-matriz, es importante para la diferenciación y maduración de los osteoblastos.

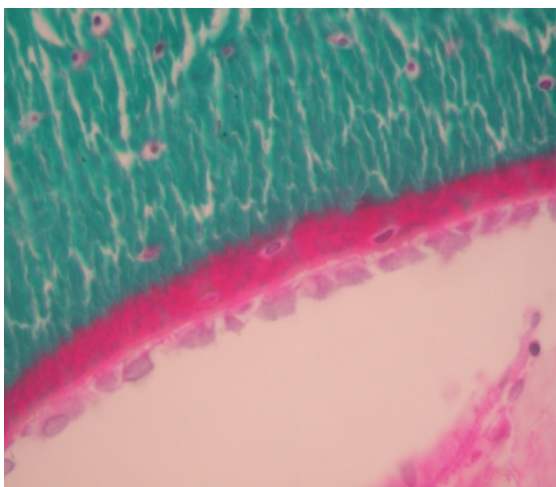


Fig. 7 Frente osteoblástico. (Goldner)

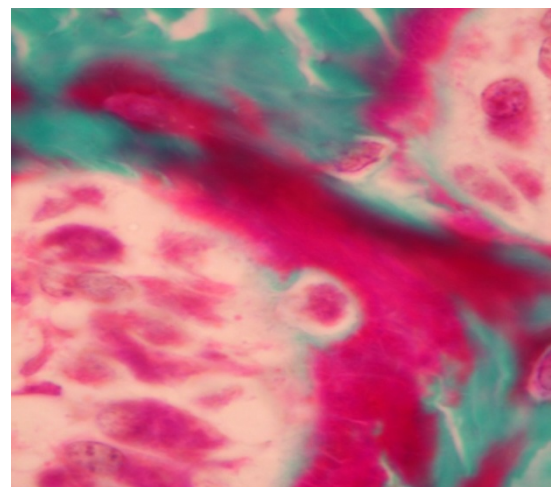


Fig. 8 Proceso osteoblasto- osteocito. (Goldner)

Los osteoblastos pueden permanecer en la superficie ósea, o quedar rodeados por la matriz que sintetizan. En el primer caso, una vez finalizada la síntesis de matriz, se aplanan y pasan a convertirse en **células de revestimiento** o *lining cells* que en el hueso del adulto cubrirán la mayoría de superficies óseas formando un epitelio plano simple cuyas células poseen menos organelas que los osteoblastos activos (35) y que parece desarrollar un importante papel en el remodelado óseo(36). Esta capa se considera una barrera selectiva entre el hueso y otros compartimentos fluidos extracelulares, y contribuye a la homeostasis mineral regulando el flujo de calcio y fosfato desde y hacia los fluidos óseos (18). Descansa sobre otra muy delgada de

osteóide (matriz ósea no mineralizada) lo que es muy importante porque la reabsorción ósea nunca ocurre sobre superficies cubiertas por este epitelio.

A medida que la matriz ósea, secretada por los osteoblastos, va siendo mineralizada, las células se diferencian en osteocitos que quedarán rodeados por la misma. La evolución de osteoblasto a osteocito dura de 3 a 5 días (18) (Fig. 8).

El **osteocito** se considera la célula más madura de la línea osteoblástica. Es una célula de forma estrellada, cuyo cuerpo celular permanece en una cavidad denominada *laguna osteocitaria*. Uniendo unos osteocitos con otros así como con las células de revestimiento y los osteoblastos, existen unas finas prolongaciones (Fig. 9) que discurren por canalículos incluidos en la matriz ósea (25), *conductos calcóforos*, y de esta manera se comunica el interior con el exterior del hueso.

El osteocito joven es bastante parecido al osteoblasto salvo por su menor volumen ya que tiene menos organelas, pero según va madurando se va incluyendo más profundamente en la matriz ósea mineralizada y aparecen en su citoplasma depósitos de glucógeno. El osteocito no puede dividirse y posee escasa actividad metabólica, en cambio, su preservación es necesaria para que el hueso mantenga sus propiedades biomecánicas, detectando el estrés mecánico y las microlesiones de la matriz y transmitiendo las correspondientes señales a las células de revestimiento, lo cual permite, a su vez, a éstas modular localmente el remodelado óseo (37). Las tensiones mecánicas inducen factores para la proliferación, diferenciación y actividades anabólicas de los osteoblastos (18).

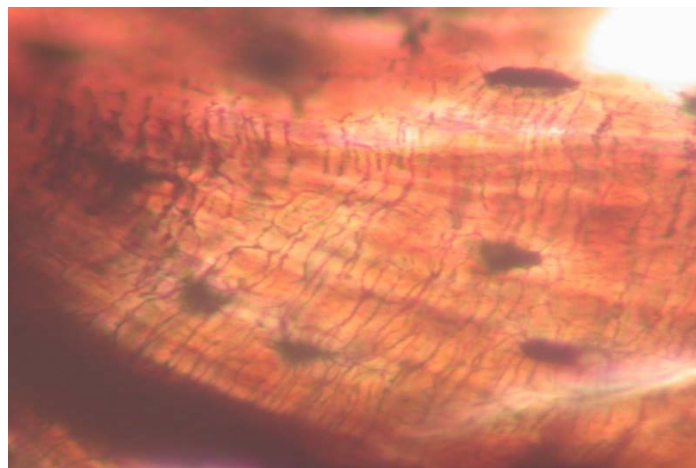


Fig. 9 Prolongaciones osteocitarias. (Desgaste)

En las superficies inactivas del hueso, los osteoblastos se organizan en una capa de células aplanadas formando el *endostio* próximo a la médula ósea y también bajo el periostio, separándolo de las superficies no mineralizadas.

Los **osteoclastos** (Fig. 10) son células enormes con un diámetro de hasta 100µm. Es la principal, aunque no única, célula reabsortiva del hueso. Es un miembro de la familia monocito –macrófago y se origina a partir de la célula madre de los granulocitos y macrófagos en la médula ósea (CFU-GM) (18), que se diferencia primero en las células progenitoras de osteoclastos. Éstas llegan hasta el tejido óseo por el torrente sanguíneo, se ubican allí y se diferencian en preosteoclastos, células mononucleadas. Varias de ellas se fusionan formando así los osteoclastos multinucleados maduros.

El número de núcleos es muy variado, generalmente con un máximo de diez, siendo proporcional a la actividad celular; pueden ser de diferente morfología y se localizan en el extremo celular más alejado de la superficie ósea sobre la que se asientan.

Poseen varios aparatos de Golgi y son muy ricos en mitocondrias, probablemente representan la célula con mayor concentración de estas organelas(18).

También son abundantes las enzimas lisosomales, siendo la más estudiada la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) que le confiere al citoplasma su característica acidófila.

Los osteoclastos se localizan en unas cavidades poco profundas llamadas *lagunas de Howship* o compartimento subosteoclástico (25) (Fig. 10). En la superficie orientada hacia el tejido óseo reabsorbido (Fig. 10) presentan un *borde fruncido* durante la etapa de adhesión –reabsorción, que se perderá cuando el osteoclasto se separe. La actividad TRAP polariza el borde fruncido; al igual que otras enzimas lisosomales, la TRAP se secreta en el microambiente reabsortivo (25), donde va a desfosforilar la osteopontina, así como a alterar sus propiedades adhesivas (18).

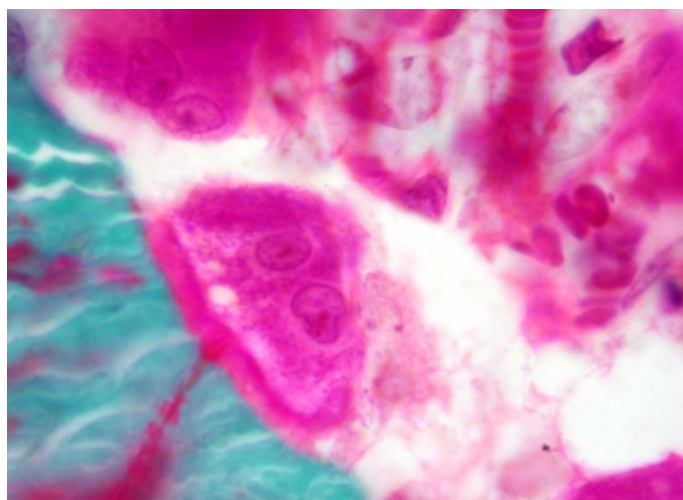


Fig. 10 Osteoclasto. (Goldner)

El osteoclasto tiene la función de reabsorber el hueso, comenzando por la parte inorgánica, solubilizando el mineral y, posteriormente, digiriendo la parte orgánica (38), lo que incluye también a las células óseas.

El paso inicial es la unión del osteoclasto a la matriz ósea, seguido de la formación de un microambiente extracelular ácido, proceso mediado por la bomba protónica ATPasa en el borde fruncido de la célula polarizada. Al estar acidificado se produce la movilización de mineral y la subsecuente solubilización de la fase orgánica del hueso. Los productos originados son englobados por el osteoclasto y transportados en su interior hacia la superficie no reabsortiva (25). Cuando la célula está inactiva, el borde fruncido desaparece y el osteoclasto entra en una fase de reposo. Se produce la acumulación de filamentos de actina alrededor del perímetro del borde fruncido, en el lugar en que la membrana se une al hueso, en los márgenes de la laguna de Howship, formándose el sellado de la laguna de reabsorción ósea(25). Varios osteoclastos forman un *frente osteoclástico* o *de resorción* que reabsorben hueso hasta una *línea de reversión* a partir de la cuál se formará, posteriormente, nuevo hueso(39).

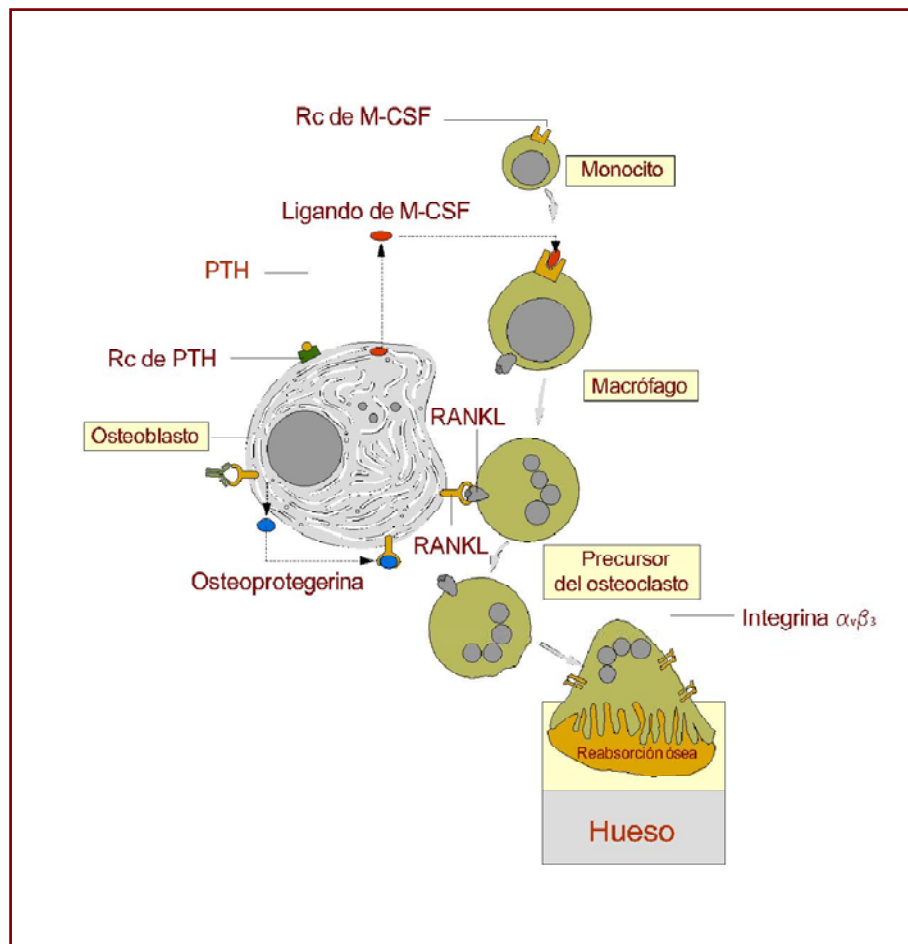


Fig. 11 Los osteoblastos regulan la formación de los osteoclastos.

La modulación de la osteoclastogénesis (Fig. 11) se produce por proteínas expresadas por los osteoblastos. Cuando el monocito llega desde la médula a la zona de formación y remodelación ósea, expresa en su superficie un receptor para M-CSF

(factor estimulante de las colonias de macrófagos). Se transforma en macrófago y se le une M-CSF (expresado por osteoblastos) de manera que se induce la expresión de RANK en su superficie y se produce la fusión de varias células formándose células multinucleadas. Esta molécula se une al RANKL expresado por el osteoblasto y así pasa el macrófago a preosteoclasto (célula no funcional). Para ser funcional, deberá aparecer el borde fruncido en esta célula (25).

El osteoblasto sintetiza osteoprotegerina que posee elevada afinidad por el RANKL de manera que, al impedir la unión RANK-RANKL, modula en negativo la génesis de osteoclastos (25).

La hormona paratiroidea estimula la expresión de M-CSF y RANKL modulando en positivo la osteoclastogénesis (25).

La actividad de los osteoclastos será intermitente según las demandas metabólicas, y será regulada directamente por la calcitonina y la vitamina D₃ (25).

El ciclo vital del osteoclasto no se conoce muy bien aunque se sabe que se dirige hacia una muerte celular programada (40).

A lo largo de esta descripción histológica se han nombrado repetidamente **los factores de crecimiento** de los que, debido a su gran importancia en la regulación de los procesos celulares así como en el metabolismo óseo, se procede a detallar a continuación su mecanismo de acción.

Los factores de crecimiento (FC) son, generalmente, proteínas pequeñas que las células secretan en el espacio intercelular y que desempeñan un papel fundamental como mediadores biológicos en la regulación de la migración, diferenciación y proliferación celular. Se unen a receptores específicos de la superficie de las células para posteriormente activar un segundo mensajero, que es una proteína tirosinquinasa que inducirá una determinada respuesta en el núcleo celular.

La estimulación celular se realiza bien por un sistema autocrino, es decir, las células producen y responden al mediador biológico, o por un sistema paracrino en el que la célula que produce el factor se encuentra en las proximidades de las células a las que afecta (41). Los procesos celulares como proliferación, diferenciación y apoptosis son regulados por señales generalmente externas a la propia célula que las ejecuta, estando mediados por mensajeros primarios, producidos por células secretoras, que interactúan con receptores específicos en las células efectoras.

La transducción de señales es el proceso mediante el cual las células perciben cambios en su ambiente y se produce una reacción celular (Fig. 12). La transducción de señales extracelulares comienza con su reconocimiento mediante sus receptores específicos de membrana plasmática; posteriormente se activan las cascadas de reacciones intracelulares (vías de transducción o señalización intracelular) que



transmiten la señal al citoplasma y al núcleo, donde se activa la transcripción de genes en respuesta a las señales recibidas (42) (43).

El receptor (*K* en la Fig. 12) consta de un dominio extracelular de unión al ligando (señal extracelular), un segmento transmembrana helicoidal y una porción citoplásmica (Fig. 12). La parte extracelular contiene dos dominios ricos en cisteína a los que puede unirse una serie de factores de crecimiento, el segmento lipófilo central ancla el receptor en la membrana celular, y el dominio intracelular es una proteína tirosin-quinasa con un segmento carboxilo-terminal regulador al que se unen los sustratos de la tirosin-quinasa.

Las interacciones (Fig. 12) entre las proteínas y el complejo receptor activado estimulan las proteínas *ras* y provocan el comienzo de una cascada de episodios de fosforilación y la activación de las kinasas MAP (proteínas activadas por mitógeno) (44). Las proteínas kinasas activadas por mitógeno (MAPK) transmiten la señal al núcleo a través del citoplasma. El proceso de transmisión de señales tiene como fin último regular, en el núcleo, los mecanismos moleculares responsables de la regulación de la transcripción génica que provocará un cambio en el comportamiento de la célula.

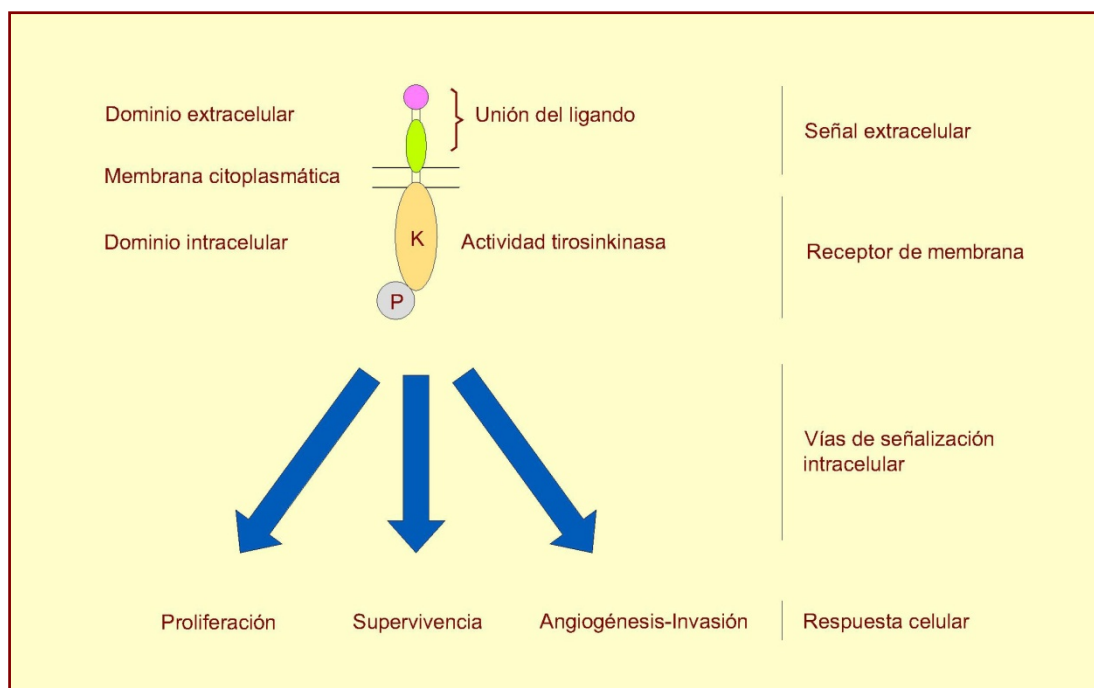


Fig. 12 Dominios del receptor de la membrana plasmática. Regulación de la actividad celular.

El núcleo actúa como integrador de todas las señales que recibe, interpretando la respuesta adecuada para conseguir, en cada órgano y tejido, el equilibrio entre proliferación, diferenciación y apoptosis. Estos tres procesos mantienen en las células

normales tanto circuitos de regulación positiva, o de activación, como circuitos de regulación negativa, o de inhibición (44).

HISTOLOGÍA DEL HUESO ALVEOLAR

La particular formación de la apófisis alveolar obedece a su función futura, ya que acogerá a las piezas dentales, algo único en el organismo; en ella no se insertarán músculos sino solamente el ligamento periodontal; exteriormente está cubierta por mucosa oral (Fig. 13).

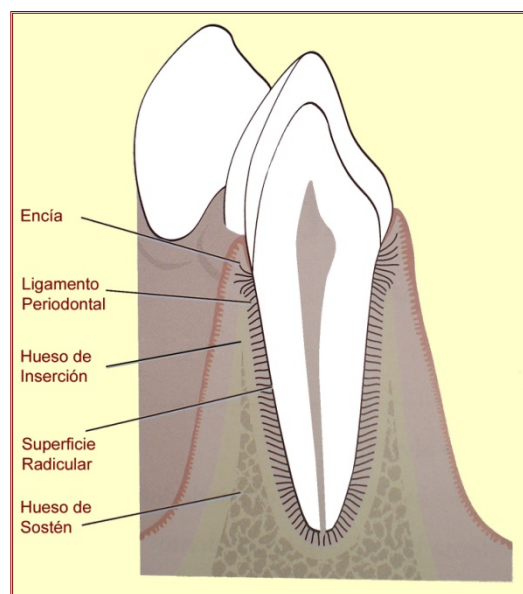


Fig. 13 Relaciones del hueso alveolar.

La compacta de origen periodóntico posee varias denominaciones que atienden a diferentes características de la misma.

Debido a su mayor radio opacidad respecto al resto del hueso alveolar trabecular, aunque no esté más mineralizado que éste, se la conoce como *lámina dura*.

Está constituida por un tejido óseo laminar, cuyas laminillas corren paralelas a la superficie alveolar, lo que le da el nombre de *hueso fasciculado*(45).

También se llama *lámina cribosa* porque en ella se insertan y la atraviesan numerosos haces de fibras provenientes del ligamento periodontal, *fibras de Sharpey*, que se encuentran empaquetadas y considerablemente calcificadas(46). Además está perforada por múltiples foraminas, por las que pasan vasos y nervios hacia y desde el ligamento periodontal(47), que se pueden considerar como conductos de Volkmann.

Desde el punto de vista funcional se denomina *hueso de inserción*, ya que al ser donde se insertan las fibras del ligamento periodontal, es parte involucrada en la

articulación alveolo- dentaria. Y así, el resto de tejido óseo del reborde alveolar, se denomina *hueso de sostén* o *hueso alveolar*(46) (Fig. 13).

El *hueso alveolar* es de origen mesenquimático (45), y está constituido por tejido óseo esponjoso o medular que se encuentra muy desarrollado en los tabiques o septos alveolares, y se presenta también en algunas de las tablas vestibulares y linguales (47). Está compuesto por trabéculas, espículas y espacios medulares, por lo que presenta gran variedad en la densidad radiográfica. Las trabéculas están compuestas por tejido óseo laminar, con finas fibras colágenas aunque, las más anchas, pueden contener sistemas de Havers. La médula ósea la forman adipocitos y estructuras vasculares, que acogen células mesenquimáticas indiferenciadas (45).

El tamaño y forma de las trabéculas está determinado genéticamente, aunque se ven también influenciados por la actividad alveolar a lo largo de la vida. Se orientan de manera que puedan resistir apropiadamente las fuerzas que soporta el maxilar. Según su imagen radiográfica, se distinguen dos tipos de trabéculas:

Trabéculas de tipo I: son regulares, gruesas y de disposición horizontal; típicas de la mandíbula.

Trabéculas de tipo II: son finas, delicadas y de disposición irregular; comunes en el maxilar superior (48).

Los espacios entre trabéculas están ocupados por médula ósea. En individuos jóvenes es médula ósea roja, hematopoyética, pero con la edad se transforma en médula ósea amarilla cargada de adipocitos e incapaz de producir células sanguíneas (48).

La complejidad geométrica derivada de dientes multiradiculares dentro del hueso alveolar y la respuesta de estos tejidos a la masticación y otras fuerzas dentro de la cavidad oral, produce un intrincado patrón de remodelación ósea que no obedece a la remodelación Haversiana clásica (47). La continua acomodación de las fibras de Sharpey durante la remodelación añade mayor complejidad a este proceso (32).

La *compacta* de origen perióstico es continuación de la cortical del hueso maxilar teniendo su misma estructura, función, relación y origen: está formada por hueso laminar penetrado por una cantidad moderada de fibras del periostio.

El tejido óseo compacto de ambas corticales, es de origen medular y presenta laminillas con disposición más irregular, algunas de las cuales constituyen sistemas de Havers, mientras otras describen amplias curvas que se continúan con las trabéculas medulares. El tejido óseo compacto de ambas regiones es rico en glicosaminoglicanos sulfatados, lo que se interpreta como un tejido susceptible de una mayor mineralización ante distintos estímulos (46).

En el maxilar superior es más abundante el hueso trabecular mientras que en la mandíbula del adulto suele serlo el hueso cortical.



Es muy importante conocer la cantidad y relación existente entre hueso cortical y trabecular previo a cada actuación, pues el cortical va a resistir las fuerzas de tensión y torsión, y el trabecular las de compresión (29).

A la vez que el crecimiento y desarrollo de los maxilares determina la posición de los dientes, algo de reposicionamiento de los mismos puede alcanzarse por las fuerzas oclusales y hábitos parafuncionales (48). A lo largo de la vida, se modificará la posición de las piezas dentarias en el plano vertical al continuar la erupción, y en el horizontal por la migración fisiológica hacia mesial que ocurre en los humanos (47); y cualquier traslación de la pieza dentaria, deberá ser acompañada íntimamente por la unidad anatómica formada por la pared alveolar y el hueso de soporte que la rodea (47).

Con la edad, se va a producir un aumento en la densidad de las trabéculas por osteoesclerosis, pero también una disminución de la misma por osteoporosis, sobre todo en la mujer y durante la menopausia. A la vez se producirá una reabsorción fisiológica en sentido vestibulo- lingual más pronunciada en vestibular del maxilar y lingual de la mandíbula (48).

1.C. HISTOGÉNESIS ÓSEA

En el organismo se va a producir tejido óseo de diferentes maneras según sea el tipo de hueso que se esté formando.

El tipo de osificación está estrechamente relacionado con la futura función del hueso; así, en las zonas de crecimiento expuestas a tensiones, el mecanismo de osificación es intramembranoso, ya que el hueso tolera mejor la tensión pues crece sólo por aposición. En cambio, donde existen presiones la osificación es endocondral. El cartílago, por ser flexible, soporta mejor la presión y el crecimiento es de tipo aposicional e intersticial.

Osificación intramembranosa

Se produce directamente en el tejido conectivo del feto y ocurre sólo en los huesos planos del cráneo, partes del maxilar superior, cuerpo mandibular y en la mayor parte de la clavícula(48).

Se realiza a expensas del mesénquima. Los centros de osificación se caracterizan por poseer abundantes capilares, fibras colágenas y osteoblastos que elaboran sustancia osteoide, la cuál se dispone formando trabéculas que constituyen una red tridimensional esponjosa. En los espacios intertrabeculares el mesénquima se transforma en médula ósea. El tejido mesenquimatoso circundante externo a las zonas



osificadas se diferencia en periostio, estructura a partir de la cuál se originan las nuevas trabéculas(48).

A este tejido, tejido óseo primario no laminar, lo sustituye después del nacimiento un tejido óseo secundario laminar. En las zonas periféricas del hueso, el tejido óseo se dispone como tejido compacto formando las tablas externa e interna. En la zona intermedia el tejido óseo es de variedad esponjosa y se denomina *diploe* o *areolar* (48).

Osificación endocondral

Ocurre en la mayoría de los huesos del organismo, incluyendo la rama ascendente de la mandíbula.

Tiene lugar sobre un molde preformado de cartílago hialino que guiará la formación ósea; este cartílago experimentará numerosos cambios histológicos, desde la proliferación e hipertrofia celular a la calcificación de la matriz cartilaginosa, erosión por invasión vascular, formación de tejido osteoide y posterior mineralización, lo que lo habrá convertido en tejido óseo (48) (Fig. 14).

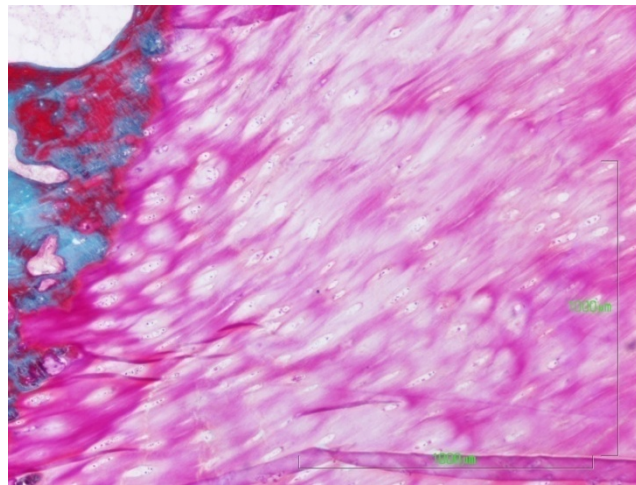


Fig. 14 Cartílago hialino osificándose. (Goldner)

1.D. REMODELACIÓN ÓSEA

Es un proceso de sustitución del hueso recién formado y del antiguo por una secuencia de reabsorción- producción en la que participan dos linajes celulares diferentes, los osteoblastos y los osteoclastos. Es un proceso continuo a lo largo de la vida y tiene lugar en múltiples localizaciones dependiendo de las necesidades.

Su objetivo es acondicionarse continuamente a las necesidades, reparar las lesiones microscópicas óseas y mantener la homeostasia del calcio en el organismo (25).

La regulación de la remodelación ósea es un proceso complejo que involucra hormonas y factores locales que actúan de forma autocrina y/o paracrina en la generación y actividad de células óseas diferenciadas.

Se hipotetiza que cubriendo el hueso hay una fina capa de osteoide, colágeno no mineralizado, que debe desintegrarse previo a la acción de los osteoclastos, lo que tiene lugar cuando las células de revestimiento se activan (49) seguramente ante una señal de los osteocitos y a través de las prolongaciones que los unen, secretando colagenasa la cuál eliminará esta capa superficial no mineralizada. Una vez degradado el osteoide de la superficie, se retraen los osteoblastos y dan paso a los osteoclastos que fagocitarán osteocitos y matriz extracelular para comenzar la remodelación ósea(48).

Finalizado el proceso de degradación ósea lo osteoclastos mueren por apoptosis, y sus restos celulares serán fagocitados por células macrofágicas(48).

Una vez que la fase degradativa del ciclo de remodelación se completa, los osteoclastos son reemplazados por células de la línea osteoblástica y así, las lagunas de Howship que quedaron vacías serán invadidas por osteoblastos que generarán nuevo hueso, completando así el proceso de recambio o *remodelado óseo*(48).

Diferentes hormonas y factores de crecimiento tienen especial relevancia en la regulación del metabolismo óseo.

Los osteoblastos, como ya se comentó anteriormente, producen una serie de sustancias que tienen su papel en la remodelación ósea al influir sobre ellos mismos.

La *IL-6* promueve su diferenciación y tiene efectos anti- apoptosis en los osteoblastos(18).

Los *TGF-β* (entre los que están las BMP) atraen por quimiotaxis a las células osteoprogenitoras, estimulan la maduración de osteoblastos y directamente la síntesis de colágeno, de entre ellos el $TGF-β_1$ estimula a los osteoblastos a incrementar la producción de manera autocrina(18).

Los *FGFs* (Factor de crecimiento fibroblástico) son mitógenos clásicos del *pool osteoprogenitor*, y también son moduladores de la diferenciación osteoblástica (18).

La acción de las *BMP* es muy compleja modulando el crecimiento, osteoinducción, incluso apoptosis, lo que dependerá de cada BMP específica, así como de su concentración y del fenotipo celular progenitor (Tabla 12). Así, la BMP_2 induce rápidamente la diferenciación de osteoblastos a partir de células del estroma medular (50).



Los *glucocorticoides* regulan numerosos genes que expresan osteoblastos, lo que contribuye a la formación de hueso, incluyendo citoquinas, factores de crecimiento y proteínas de la matriz ósea (18).

Las actividades anabólicas de los osteoblastos están reguladas, en gran medida, por los IGF I y II (Factor de crecimiento análogo a la insulina) que se expresan en osteoblastos activos. Los IGF estimulan la proliferación celular y la síntesis de colágeno (51) y, al mismo tiempo, inhiben la degradación de matriz colágena decreciendo la transcripción de colagenasa-3 (18).

La síntesis de IGF-I está regulada por mediadores fisiológicos de la formación ósea, mientras que la *PTH* la estimula, los glucocorticoides y factores de crecimiento FGF-2 y PDGF-2 la inhiben (18).

La *insulina* estimula a los osteoblastos para la formación y mineralización de la matriz ósea, e indirectamente afecta a la formación de hueso a través de la estimulación del IGF-I producido en el hígado (52).

La *hormona del crecimiento* (GH) se necesita para alcanzar la masa ósea normal, y sus efectos anabólicos están mediados aparentemente por la producción local de IGF-I (52).

La *PTH* promueve la diferenciación de preosteoblastos, pero suprime los estadios tardíos de maduración (18).

En general, los *factores de crecimiento* y las *hormonas esteroideas* son los elementos más influyentes en los osteoblastos inmaduros, pudiendo modificar radicalmente su programa de diferenciación cuando se añaden a las células proliferativas (18).

Hay varias sustancias endógenas que intervienen en la regulación de la actividad de los osteoclastos.

Estimulan la reabsorción ósea al promover la diferenciación de osteoclastos la PTH, vit D₃, IL-1, IL-6, TNF α , y TGF α ; mientras que promueven su apoptosis factores como calcitonina, TGF β , estrógeno, interferón γ (IF γ) y familias específicas de bifosfonatos(53).

La *PTH* produce estimulación de la reabsorción ósea por sus propiedades osteoclastogénicas (Fig. 11, pág.20), ya que estimula la expresión de M-CSF y RANKL que son sustancias reclutadoras esenciales en la formación de osteoclastos, y porque también estimula la producción y transporte de lisosomas hacia el borde fruncido(25)(53).

La *vitamina D₃ activa* es un potente inductor de reabsorción ósea(53) ya que junto con PTH estimulan a los osteoblastos para la liberación de las *citoquinas* IL-1, IL-6 e IL-11 que favorecen la actividad del osteoclasto. IL-1, IL-3, IL-6 y otros son necesarias para la diferenciación de células madre hacia el precursor osteoclastico CFU-GM(53).



La IL-8 secretada por osteoclastos actúa inhibiendo la reabsorción ósea por vía autocrina a la vez que induce la neoangiogénesis en la zona(18).

Los *estrógenos* inhiben la producción de IL-6 por los monocitos y disminuyen la expresión del receptor de IL-1 en los osteoclastos(53).

Los *glucocorticoides* aumentan la actividad osteoclástica. Existe la hipótesis de que a bajas dosis se permite la diferenciación del precursor osteoclástico, mientras que a altas concentraciones se produce una gran reabsorción(54).

Además, los glucocorticoides suprimen la absorción intestinal de calcio, lo que unido al aumento de pérdida de calcio a nivel renal, produce un hiperparatiroidismo secundario cuyo efecto se amplifica al sensibilizar a las células óseas ante la PTH y vitamina D₃ activa(54).

Los glucocorticoides tienen también el efecto contrario ya que suprimen la expresión de IL-1 e IL-6 y dificultan la síntesis de prostaglandinas(54).

El exceso de *hormona tiroidea* (TH) promueve la pérdida de masa ósea; acelera la remodelación con abundancia de osteoclastos, osteoblastos y osteoide. Su efecto es indirecto siendo mediado por los osteoblastos (18).

Las hormonas esteroideas son muy variadas al igual que sus efectos. Se incluyen en este grupo glucocorticoides, 1,25 dihidroxicolecalciferol (vitamina D₃) y estrógenos que actúan como reguladores bifásicos de la remodelación ósea, tanto promoviendo la diferenciación de células en los estadios tempranos de la maduración, como inhibiendo actividades anabólicas y promoviendo propiedades reabsortivas del osteoblasto en los estadios finales. La vitamina D₃ también es esencial para la correcta formación ósea y absorción del calcio en el intestino(53).

En el ***hueso alveolar*** se producirá una remodelación fisiológica completa al producirse el recambio dentario, paso de la dentición decidua a la permanente(48).

El hueso alveolar inicial se reabsorbe al mismo tiempo que las raíces deciduas y se reemplaza por nuevo hueso alveolar que soportará los dientes permanentes(48).

La habilidad para remodelarse rápidamente facilita también la adaptación posicional de los dientes a las fuerzas funcionales mientras continúa el desarrollo de los maxilares (21)(46).

La formación de hueso alveolar es un pre- requisito para la regeneración de los tejidos perdidos por la enfermedad periodontal y para la integración de los implantes.

Cuando se produce la ***extracción dentaria***, en el alvéolo se van a suceder una serie de acontecimientos, por medio de los cuales se producirá la cicatrización, regeneración ósea, del mismo (55) (56) (57).

La regeneración ósea comienza en el momento del cierre de la herida. La secuencia que se expone a continuación, ha sido comprobada en ensayos sobre



perros, por lo que la temporalidad no tiene, necesariamente, que coincidir con la de humanos (39). Primeramente el alvéolo se rellenará de sangre formando un coágulo de fibrina. Se produce la agregación plaquetaria por medio de receptores superficiales de membrana y, debido a su degranulación, se libera el contenido proteico de sus gránulos α . Alguna de las proteínas liberadas, entre ellas los factores de crecimiento (FC) PDGF, IGF y TFG- β , tienen propiedades quimiotácticas por lo que atraen otras células al lugar. Además el PDGF estimula la mitogénesis de las células madre (56) (57).

El coágulo está en situación de hipoxia y pH ácido, frente al lecho receptor bien oxigenado y con pH neutro.

Al 3-4 día, la acción comenzada por los FC plaquetarios pasa a sustituirse por los FC liberados por los macrófagos que han sido atraídos tanto por la acción del PDGF como por el gradiente de oxígeno mencionado (57), y que se encargan, junto con los neutrófilos, de limpiar la herida de bacterias y tejido dañado (39).

Una parte del hueso traumatizado que mira hacia la herida, experimenta necrosis y es reabsorbido por la acción de osteoclastos (39).

La revascularización del coágulo de fibrina es muy activa formándose capilares y arteriolas desde el lecho receptor hacia el coágulo de fibrina que continúa en acidosis (56).

El tejido conectivo comienza su rápida reparación siendo su ritmo mitótico mucho más rápido que en las células osteocompetentes (TGF- β estimula a los preosteoblastos), estimulado por el FGF y TGF- β , de manera que se establece competencia entre ambos tipos celulares por rellenar el espacio vacío. Si el tejido conectivo rellena espacios que no le corresponden se formará reparación parcial por tejido de cicatrización en vez de regeneración (55).

Inicialmente, el proceso de nueva formación ósea, previo a la llegada del aporte vascular, depende de los osteoblastos localizados en el endostio expuesto, hecho que les permite absorber nutrientes directamente (57).

Entre los días 10-14 la angiogénesis se completa formándose anastomosis arteriolo- capilar. Ya se ha formado el entramado trabecular de colágeno y el coágulo de fibrina se encuentra bien oxigenado así como neutralizado su pH, hecho que frena la actividad de los macrófagos (55).

Los fibroblastos han proliferado sobre la matriz colágena para soportar el crecimiento de los capilares, formando un tejido conectivo provisional, cuya transición a tejido óseo ocurre a lo largo de las estructuras vasculares, alrededor de las cuales se congregan células osteoprogenitoras (principalmente pericitos) que se diferenciarán a osteoblastos (39). Otros osteoblastos (55) han proliferado desde el lecho receptor, iniciando su migración por el nuevo entramado de colágeno, para dar lugar al comienzo de la formación de la matriz de fibras colágenas que adoptan un patrón reticular (39).



El tejido conectivo de la herida se ha reparado y reepitelizado por completo (55) (56).

La osteoide se comienza a mineralizar en las porciones centrales, y algunos osteoblastos quedan atrapados en ella, dando lugar al hueso primario reticular que se caracteriza por su rápida formación a lo largo de vasos y una matriz colágena poco organizada en la que se observan abundantes osteoblastos atrapados (45). Los osteocitos se organizan en osteonas primarias con fibras colágenas dispuestas en paralelo, finalizando entre las 3-4 semanas la formación del hueso inmaduro, y concluyendo la fase de osteoconducción. Los osteoblastos incluidos en la matriz de osteoide segregan IGF y BMPs que controlarán la transformación de hueso inmaduro a hueso secundario (57).

A partir de entonces aparecen los primeros osteoclastos, por agregación monocitaria, que comenzarán la remodelación ósea hasta obtener un hueso trabecular organizado. En los procesos de reabsorción y remodelación ósea, por los osteoclastos, también se segregarán IGF y BMPs (57). Los osteoclastos reabsorben el hueso reticular hasta un cierto nivel, línea de reversión, que será el punto de partida de los osteoblastos para la formación del nuevo hueso secundario, de manera que en el interior quedará hueso primario, que más tarde será reemplazado. Aunque el proceso de remodelado comience de forma temprana, no concluirá hasta pasados varios meses (39), y variará según factores como el tamaño del defecto, edad, hábitos... (45).

1.E. EMBRIOLOGÍA Y OSIFICACIÓN DE LOS HUESOS MAXILARES

Los maxilares, tanto superior como inferior, comienzan su desarrollo alrededor de la séptima semana de vida intrauterina. Ambos proceden del primer arco branquial. Primero se inicia el desarrollo del hueso mandibular y poco después el del maxilar superior.

El **paladar** se va a formar a partir de la unión del paladar primario (premaxila) y paladar secundario (maxilar medio).

Al terminar la sexta semana intrauterina comienza la osificación del maxilar superior a partir de los puntos de osificación situados por fuera del cartílago nasal; uno a nivel anterior denominado *premaxilar*, y otro posterior llamado *postmaxilar*. La zona anterior está limitada hacia atrás por el conducto palatino anterior y lateralmente por dos líneas que parten de este punto hacia la zona distal de los incisivos laterales (58).

Paladar Primario (48)

Se desarrolla entre la quinta y sexta semana de gestación y surge a partir de la unión de los procesos nasales medios que van a formar el segmento intermaxilar o premaxilar; que está constituido por tres estructuras:



Componente labial que forma la parte media o *filtrum* del labio superior.

Componente maxilar que comprende la zona anterior del maxilar, los cuatro incisivos y su correspondiente mucosa alveolar.

Componente palatino de forma triangular con el vértice hacia atrás, que dará origen al paladar primario.

A partir del centro de osificación premaxilar rápidamente se forman trabéculas que se dirigen en tres direcciones: hacia arriba para formar la parte anterior de la apófisis ascendente maxilar; hacia delante en dirección a la espina nasal anterior; y en dirección a la zona de las apófisis alveolares incisivas (dependerá del desarrollo dentario).

Paladar Secundario (48)

Comienza su formación entre la séptima y octava semana de gestación, a expensas de la cara interna de los procesos maxilares.

El desarrollo y el crecimiento de los procesos palatinos inicialmente no es horizontal, sino oblicuo pues se ubica una parte a cada lado de la lengua debido a que este órgano está en plena formación y proliferación actuando así como obstáculo.

Del centro de osificación postmaxilar las espículas óseas siguen cuatro rutas diferentes: hacia arriba para formar la parte posterior de la apófisis ascendente del maxilar; hacia el suelo de la órbita; hacia la zona de la apófisis malar; y hacia la porción alveolar posterior (desde mesial de caninos hasta molares).

El conjunto de todas estas trabéculas forman la parte ósea externa del maxilar superior.

Al final de la octava semana, al descender la lengua y el suelo de la boca, los procesos maxilares modifican su dirección hacia arriba, luego se horizontalizan, lo que facilitará el contacto entre sí, dando origen a una fusión real de ambos procesos. De esta manera se constituye el paladar secundario entre la décima y undécima semana.

La osificación interna o profunda se inicia posteriormente. Las trabéculas van a avanzar por dentro de las crestas palatinas. Alrededor de las doce semanas los procesos palatinos laterales se fusionan con el paladar primario hacia adelante y con el tabique nasal hacia arriba para originar el *paladar duro*.

A la duodécima semana se fusionan paladar primario y secundario; como vestigio de esta unión quedará el agujero incisivo o palatino anterior. El rafe palatino resulta de la unión entre los procesos palatinos entre sí.

Puesto que la osificación del maxilar superior es, como se citó anteriormente, de tipo intramembranoso su crecimiento es por dominancia de las suturas intraóseas y



por el desarrollo de cavidades neumáticas (senos maxilares y frontales) influenciado por las funciones de respiración y digestión.

El crecimiento por el mecanismo de tipo sutural se realiza en los tres planos del espacio: hacia abajo y adelante por las suturas maxilomalar, frontomaxilar y cigomática temporal. En sentido transversal por la sutura mediopalatina, y el crecimiento vertical por el desarrollo de las apófisis alveolares.

Durante el período fetal la superficie externa de todo el maxilar, incluida la premaxila, es de aposición para permitir que aumente la longitud del arco cigomático junto con el desarrollo de los gérmenes dentarios. Además se produce reabsorción del lado nasal del paladar y por tanto un alargamiento vertical del maxilar.

La osificación de la **mandíbula** ocurre a partir del cartílago de Meckel (59), denominado cartílago primario, que sirve como guía o sostén, pero no participa. La osificación se efectúa en forma de una estructura paralela al cartílago y a su lado, por lo que se la denomina *osificación yuxtaparacondral* (60).

El inicio de la formación del tejido óseo se produce a las seis o siete semanas. Comienza en la vecindad del ángulo formado por las ramas del nervio mentoniano y del nervio incisivo, al separarse del dentario inferior. Al inicio es como un anillo alrededor del nervio mentoniano y, luego las trabéculas se extienden hacia atrás y hacia delante, en relación externa con el cartílago de Meckel (60).

La porción interna del cartílago de Meckel es la que sirve de guía al proceso de osificación intramembranoso del cuerpo mandibular. Más tarde este cartílago va involucionando, quedando algún resto en la sínfisis mandibular (59).

A las doce semanas aparecen en el mesénquima otros centros de cartílago independientes al de Meckel, que van a jugar un importante papel en la osificación endocondral de la rama ascendente mandibular. Existen tres centros cartilagosos secundarios, *coronoideo*, *incisivo* (sinfisal o mentoniano) y el *condíleo*; a parte de un cuarto cartílago llamado *angular* (48).

Los centros coronoideo y angular desaparecen en el feto a término, mientras que el incisivo se mantiene hasta los dos años de edad.

Durante la vida fetal las dos mitades de la mandíbula están unidas por una sínfisis cartilaginosa que en la vida postnatal será reemplazada gradualmente por tejido óseo (60).

El crecimiento de la mandíbula hacia abajo y adelante se desarrolla a expensas del cartílago condilar; en sentido vertical por el desarrollo de las apófisis alveolares; en sentido antero posterior por aposición en el borde posterior de la rama y por reabsorción en el borde anterior de la misma. En la cara lingual de la región incisal comienza la reabsorción después de las 16 semanas, lo que contribuye al crecimiento hacia delante de esta región del cuerpo mandibular (60).



A las 13 semanas la osificación de ambos maxilares ha concluido y a partir de los 7 meses del periodo embrionario ya comienza el proceso de remodelación.

El crecimiento postnatal será acelerado, sobre todo hacia los dos años, debido a las demandas funcionales. Hacia los siete años las proporciones de los maxilares con el resto de los huesos del cráneo se regularizan (60).

La mandíbula y el maxilar continuarán creciendo de forma armónica hasta su completo desarrollo. La estructura ósea se irá modificando y lo que en un principio era hueso muy vascularizado por la rápida aposición, será reemplazado lentamente por hueso maduro menos vascular. También se modificará la disposición de las trabéculas debido a las fuerzas masticatorias y así las trabéculas de las zonas molares estarán dispuestas de forma horizontal, mientras que lo estarán verticalmente en las zonas caninas(48).

La formación de las **apófisis alveolares** coincide en tiempo en ambos maxilares, y comenzará al finalizar el segundo mes del período embrionario (octava semana) cuando ambos maxilares contienen los gérmenes dentarios en desarrollo, rodeados parcialmente por las criptas óseas en formación.

En ambos maxilares se forma una lámina ósea externa que se continúa con una interna, dejando entre ambas un surco o canal que se abre hacia la superficie bucal. En este surco quedan contenidos los gérmenes dentarios y los paquetes vaso - nerviosos destinados a su irrigación e inervación(48).

Los gérmenes dentarios estimulan la formación de los alvéolos (cavidades destinadas a alojar raíces dentarias) a medida que pasan de la etapa pre- eruptiva a la etapa pre- funcional. Una vez completada la corona dentaria, con la formación de la raíz se conforman los tabiques óseos, de esta manera se incorporan gradualmente los alvéolos a los cuerpos óseos de los maxilares pasando a denominarse *apófisis alveolar*(46).

El hueso alveolar que se forma alrededor del germen dentario crece y se desarrolla, por tanto, con la erupción. Durante su formación, el hueso alveolar crece alrededor del diente y luego se une a la porción basal de los maxilares(61).

A medida que progresa el desarrollo radicular por inducción de la *vaina de Hertwig*, algunas células de la capa interna del saco dentario se aproximan a la superficie radicular, transformándose en cementoblastos, otras, se diferencian a fibroblastos formando la membrana periodontal, mientras que las más externas adquieren capacidad osteogénica diferenciándose en osteoblastos. Éstos, por un proceso de osificación intramembranosa originan trabéculas osteoides que poco a poco se irán calcificando. Las trabéculas están constituidas por un tejido óseo inmaduro que más adelante será remodelado y sustituido por tejido óseo secundario o laminar. Las áreas mesenquimatosas que permanecen entre las trabéculas óseas se diferencian posteriormente en médula ósea(61).



Una vez las trabéculas alveolares dispuestas en red alcanzan un cierto espesor, la aposición periférica hace que se produzca la formación de capas superficiales de tejido óseo cortical compacto. Se forman así dos placas de tejido óseo compacto con diploe intermedio de tejido esponjoso, estructura típica de los procesos alveolares(61).

El tejido óseo que forma las láminas corticales de los procesos alveolares tiene un doble origen: la capa más periférica es de origen periodóntico, es decir crece por aposición de las regiones osteogénicas del ligamento periodontal, y su zona más interna es de origen medular, formándose a expensas de los osteoblastos del tejido medular adyacente; la capa externa es de origen perióstico en su contorno, y medular en su interior(48).

2. **PATOGÉNESIS DE LA PERIODONTITIS: DESTRUCCIÓN DEL SOPORTE ÓSEO DENTARIO**

La **encia sana** presenta un número reducido de células inflamatorias lo que indica la constante disposición de los sistemas de defensa del individuo como resultado de la exposición continua a la flora bacteriana comensal bucal.

En animales experimentales libres de gérmenes se comprueba que están presentes neutrófilos, macrófagos, linfocitos, células plasmáticas, productos bacterianos y varios antígenos originados en la cavidad bucal capaces de penetrar la barrera epitelial y crear una reacción compleja en el tejido conectivo adyacente (62).

La **respuesta inflamatoria aguda** en el tejido conectivo de la base del surco gingival, ocurre en 2-4 días si la placa bacteriana se sigue acumulando en contacto con el epitelio gingival, apareciendo gran número de neutrófilos extravasculares como respuesta a la generación de sustancias quimiotácticas por la placa bacteriana; el exudado seroso y de proteínas séricas conducen a la formación de espacios edematosos y deposición de fibrina en el tejido conectivo (63).

También están presentes linfocitos y otras células mononucleares. En 4-7 días habrá alteraciones más extensas, lo que se denomina “lesión temprana” (63) con un infiltrado celular denso adyacente a la porción más profunda del epitelio del surco compuesto sobre todo por linfocitos seguido de células plasmáticas y macrófagos, persistiendo los signos de inflamación aguda. Los neutrófilos incrementan su número y tienden a agregarse de inmediato subyacentes a la lámina basal epitelial.

Mientras la densidad celular se incrementa en la porción infiltrada, la cantidad de colágeno correspondiente se reduce en más del 70% (63) decreciendo también el número de fibroblastos.



La continuidad de unión entre las células epiteliales se pierde y la integridad de la barrera se altera. Los neutrófilos migran a través del epitelio hacia el surco gingival, donde llevan a cabo su función de fagocitar bacterias acabando por englobarlas en vacuolas fagocíticas donde posteriormente vierten sus enzimas, observándose los cuerpos lisosomales libres indicativos de la degranulación neutrofílica (64).

En contraste, las células linfocíticas, reconocedoras del antígeno, regresan al tejido conectivo.

Al continuar presente la placa bacteriana en el surco gingival, la inflamación pasará a ser crónica.

Los neutrófilos formarán capas cerca de la lámina basal y se extenderán sobre una zona de células linfoides. Las células plasmáticas pasan a predominar en el infiltrado celular, constituyendo más del 90% del total, lo que confirma la naturaleza crónica de la lesión.

Además continúan presentes algunos macrófagos y mastocitos, resultando de la degranulación de estos últimos la liberación de histamina, proteasas y otras sustancias que aumentan la reacción inflamatoria.

Aunque la placa bacteriana esté muy próxima y el epitelio afectado en su estructura, los microorganismos no suelen penetrar la barrera epitelial en esta fase, debido a una capa de neutrófilos que muestran signos de fagocitosis activa y que los separa.

En la **periodontitis** los cambios del tejido conectivo existentes se diseminan hacia apical, afectándose las fibras colágenas dentogingivales y dentoalveolares. El infiltrado celular y el proceso de degradación de colágeno progresa lateralmente y hacia apical a distancia de la superficie radicular, no en el cemento ya que su superficie es relativamente resistente a la resorción debido a su contenido en flúor; el epitelio de unión migra apicalmente avanzando con él, en profundidad, el nicho bacteriano; existe reabsorción osteoclástica de la cresta del hueso alveolar lo que produce pérdida de las principales fibras de anclaje del ligamento periodontal. Más hacia apical, la inserción de fibras en el cemento parece normal.

En el caso de las **fracturas verticales** de las raíces de piezas dentarias el proceso destructivo es mucho más acelerado en el tiempo pues existe, desde el inicio de la lesión, una vía de contacto directo para la población bacteriana desde el exterior a una zona muy profunda del alvéolo dentario.



3. REGENERACIÓN ÓSEA

Cuando un tejido del cuerpo humano sufre un daño estructural, pueden ocurrir tres fenómenos; puede ser que el tejido sufra un proceso de *necrosis* con pérdida del mismo, de *reparación*, en donde se produce la restauración de dicho tejido sin que éste conserve su arquitectura original ni tampoco su función (tejido cicatricial), o puede experimentar un fenómeno de *regeneración* originándose un nuevo tejido que posee todas las propiedades indistinguibles del tejido original (39). El objetivo terapéutico, una vez que se produce daño tisular, será la regeneración.

Las células del cuerpo humano se dividen, según su capacidad para multiplicarse, en tres grupos fundamentales, *lábil*, *estable* y *permanente*. Las células *lábil* están continuamente dividiéndose, las células *estables* pueden ser estimuladas a entrar en la fase S del ciclo celular para dividirse, y las *permanentes* no se pueden dividir. En el adulto, hay tejidos formados por estos tres grupos, por ejemplo el tejido epitelial está formado por células lábil, los tejidos conectivos, y entre ellos el óseo, se forman por células estables, mientras que el tejido nervioso lo forman células permanentes sin capacidad regeneradora por sí mismas. Influyen también en la posibilidad de regeneración tisular el aporte vascular y factores mecánicos (50).

El tejido óseo es uno de los más dinámicos del organismo, reconociéndose una serie de actividades biológicas atribuibles al sistema esquelético: crecimiento, regeneración, modelado y remodelado.

Las estrategias de que disponemos para conseguir la regeneración tisular ósea se basan en la utilización de biomateriales artificiales o naturales, y proteínas que aporten las señales estimuladoras que desencadenen los acontecimientos necesarios para la regeneración. La médula ósea es una fuente de células precursoras con capacidad de diferenciación en distintos tipos celulares: osteoblastos, condroblastos, fibroblastos, mioblastos y adipocitos. Se ha demostrado la importancia de los factores de crecimiento y de las proteínas morfogenéticas (BMPs) en los procesos de proliferación, diferenciación y migración celular. Las células osteoprogenitoras se dividen en *determinadas e inducibles como precursoras osteogénicas* (39); las primeras poseen una capacidad intrínseca para proliferar y diferenciarse a osteoblastos, y se hallan en la médula ósea, endostio y periostio; mientras que las células inducibles son células mesenquimáticas en otros tejidos u órganos, que mediante estímulos específicos pueden convertirse en células formadoras de hueso. Las células osteoprogenitoras principales son los pericitos (células perivasculares de forma estrellada), pertenecientes a los vasos que penetran en la masa ósea durante su formación.

Existen tres mecanismos relacionados con el éxito en la regeneración ósea: la osteogénesis, la osteoinducción y la osteoconducción.



Osteogénesis: Es el proceso de formación y desarrollo de hueso nuevo (56). Los osteoblastos vivos son trasladados desde otras zonas del organismo hacia el lugar donde se necesitan. Este mecanismo es el que se produce en los injertos de *hueso autólogo*, en donde se establece una actividad de remodelado, que simultáneamente lleva a la reabsorción del material injertado y el reemplazo por hueso neoformado, para llegar a conseguir la incorporación total del injerto.

Osteoinducción: Es el proceso de formación de hueso durante el desarrollo embrionario, el crecimiento y la reparación en tejidos donde originalmente no existe. Se trata del proceso de estimulación de la osteogénesis (56). Se produce merced a la liberación de proteínas osteoinductivas (BMPs) que favorecen la diferenciación celular, haciendo posible la transformación del tejido conectivo (fibroblastos) en cartílago (condroblastos y condrocitos) que posteriormente será calcificado, invadido por vasos y finalmente reemplazado por hueso.

Osteoconducción: Consiste en la creación de un andamiaje o matriz física apropiada para la entrada de osteoblastos precursores en el defecto. Este proceso suele continuarse con la reabsorción progresiva del material injertado(55)(56).

La demanda de tratamientos implantológicos en pacientes que han permanecido edéntulos muchos años, cada vez es mayor, de forma que estos maxilares permanecen sin estímulo dentario funcional mucho tiempo por lo que se desencadena una atrofia ósea que complica la rehabilitación con implantes, atendiendo a la máxima “donde no hay hueso, no hay implantes”. La regeneración ósea trata de dar solución a estos problemas mediante procedimientos que pretenden crear hueso donde no lo hay, y así, las últimas vías de investigación concentran el esfuerzo en modificar el soporte óseo, tanto en calidad como en cantidad, allí donde la calidad ósea es deficiente o su distribución no es idónea.

3.A. TERAPÉUTICAS DE REGENERACIÓN ÓSEA

El hueso es un tejido que tiene la capacidad de restaurar su estructura original, y así cualquier lesión ósea crea osteoinducción, ya sea por células óseas o por células próximas a la lesión, mediante factores de crecimiento y factores de inducción ósea como las BMPs. Las BMPs inducirán la diferenciación de células osteoprecursoras (de periostio, endostio y espacios medulares) en osteoblastos que promuevan la formación de hueso. Esta capacidad de regeneración ósea tiene ciertas limitaciones, por lo que en casos de poca vascularización, inestabilidad mecánica, defectos demasiado grandes o competencia con tejidos inhibidores, puede fallar(65). De manera que para lograr el éxito en la regeneración ósea se requerirá previamente que haya aporte de células osteoformadoras o células con la capacidad de diferenciarse en ellas, que estén presentes estímulos osteoinductores para iniciar la diferenciación de las células mesenquimáticas en osteoblastos, y que exista un medio osteoconductor, que forme un andamiaje sobre el cual el tejido invasor pueda proliferar, y en el que las



células osteoprogenitoras estimuladas se puedan diferenciar en osteoblastos para formar hueso (55).

Para mejorar las condiciones de regeneración ósea en el lugar del defecto óseo, nace la Regeneración Tisular Guiada (RTG) en la que se pretende la regeneración periodontal, y de ella la Regeneración Ósea Guiada (ROG) que sólo promueve la regeneración de hueso.

Regeneración ósea guiada (ROG): Se basa en la diferencia de velocidad de regeneración de los distintos tejidos. Así el tejido conectivo se regenera más rápidamente que el tejido óseo, de manera que cuando se produce un defecto óseo, en el proceso de cicatrización acuden primero las células del tejido conectivo de revestimiento, impidiendo de este modo que las células óseas regeneren por completo el defecto. La ROG trata de evitar esta invasión celular y de inducir la formación ósea mediante la utilización de barreras. El mecanismo consiste en la creación de una barrera física para que la revascularización del defecto provenga del tejido óseo adyacente e impida la llegada de capilares del conectivo, ya que se produce un aislamiento del compartimento óseo, favoreciendo la regeneración ósea “guiada”. Los primeros estudios que demostraron la efectividad de este fenómeno fueron presentados por Nyman y Gottlow (66).

Los dispositivos de barrera o membranas deben tener unas propiedades: Biocompatibilidad, flexibilidad, adaptabilidad, conservación del espacio adecuado, efectividad como barrera celular, ausencia de citotoxicidad y protección del coágulo (65).

Existen membranas de diferentes materiales y formas, y se utilizan unas u otras en función de las necesidades originadas por el defecto a regenerar. Básicamente existen dos tipos de membranas: *reabsorbibles* y *no reabsorbibles* Tabla 1 pág.40.

Aunque el uso de membranas reabsorbibles o no reabsorbibles parece no variar los resultados en cuanto a cantidad obtenida de hueso regenerado(67) (68), cada una de ellas tiene sus ventajas e inconvenientes ya que en las reabsorbibles se deben usar aditamentos reabsorbibles para su estabilización (chinchetas, sutura) y no se puede conocer cuánto tiempo serán eficaces en su función oclusiva (69) (70), mientras que las no reabsorbibles tienen el inconveniente de que se espongan durante el proceso de cicatrización lo que comprometería la regeneración ósea al abrirse una vía de contacto con el medio oral que conllevaría a una posterior infección (67) (68) (71), y la obligación de una segunda cirugía para su retirada.

En cuanto a la posibilidad de infectarse el lecho bajo la membrana sin que exista exposición de la misma, resulta mayor en las reabsorbibles, ya que son permeables a *Streptococcus mutans* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (65).

Aunque la ROG es un procedimiento adecuado (72), se puede asociar al uso de injertos de sustitutos óseos, de forma que las membranas cumplirían la función añadida de preservar y estabilizar el injerto, y los materiales de injerto conseguirían mantener el espacio para así evitar el colapso (65).



No Reabsorbibles	ePTFE: politetrafluoretileno expandido (GoreTex®) ePTFE con refuerzo de titanio (GoreTex®) N PTFE: politetrafluoretileno expandido de alta densidad con poros nanométricos (Teflon®) Micromallas de titanio, vanadio...
Reabsorbibles	Colágeno (BioGide®) Ácido poliláctico y poliglicólico (Resolut®) Poliglactina 910 (Vicril®) Sulfato cálcico Hueso cortical desmineralizado (Lambone®) Poliuretano Copolímeros Sulfato cálcico Duramadre Dermis porcina Fibrina autóloga Periostio

Tabla 1: Tipos de membranas usadas en regeneración ósea.

El uso de las membranas no reabsorbibles en fenestraciones de implantes logra cerrar las mismas (70).

La tasa de supervivencia de los implantes colocados en hueso regenerado con ROG varía, según la revisión bibliográfica de Chiapasco en 2006 (73) entre el 92% y 100%, y Aghaloo en 2007 (74) la sitúa en el 95.5%.

Osteodistracción: A pesar de su utilización hace bastantes años en traumatología a partir de los trabajos de Ilizarov, en 1989(75), su incorporación al ámbito de la Cirugía Bucal es relativamente reciente. Se produce una fractura y en cada borde de la misma se coloca una microplaca; ambas microplacas junto con el tornillo que las une forman parte del osteodistractor. El tornillo se irá activando de manera que se van separando las dos partes de la fractura produciéndose el estiramiento del coágulo de fibrina creando así progresivamente un puente óseo entre ambos fragmentos(75).

Parece que la osteointegración de los implantes en el hueso distraído ocurre de la misma forma que en el hueso natural, siendo iguales los tiempos de carga de los implantes (76) así como la tasa de supervivencia de los mismos (77) que se encuentra en la mandíbula entre 90% y 100% en la revisión de Chiapasco de 2006 (73) y que confirma la de Aghaloo de 2007 (alrededor del 95 %) (74).

Al compararla con la ROG en la revisión de Esposito en 2006 (78) no se dilucida cuál es la más conveniente en cuanto a necesidad de aumento de volumen óseo vertical, si bien ambas técnicas son eficaces.

Aunque el proceso de obtención del nuevo hueso es lento, no se produce posterior reabsorción, resultando tan estable en el tiempo como el hueso nativo (79).



3.B. MATERIALES DE INJERTO

Entre los medios para mejorar el sustrato óseo destacan los *injertos óseos* que pueden proceder del mismo individuo, de otro de la misma especie o de diferente especie. Para sustituir a los injertos óseos aparecieron los biomateriales que se producen íntegramente en el laboratorio (Tabla 2).

MATERIAL	ORIGEN	CAPACIDAD	INCONVENIENTES
Autoinjerto	Hueso del paciente	Osteogénica	Morbilidad zona donante
Aloinjerto DFDBA: hueso deshidratado congelado desmineralizado FDBA: hueso deshidratado congelado	Hueso de la misma especie, pero diferente individuo	Osteogénica Osteoinductiva? Osteoconductiva	¿Riesgo de transmisión de enfermedades?
Xenoinjerto	Hueso de otra especie	Osteoconductiva	¿Riesgo de transmisión de enfermedades?
Biomateriales Aloplásticos	Material inerte	Osteoconductiva	Encapsulamiento

Tabla 2: Clasificación, origen propiedades de materiales para aumento óseo.

3.C. AUTOINJERTO: HUESO AUTÓLOGO

Desde la perspectiva exclusiva de crecimiento óseo, el mejor injerto es el de hueso autólogo ya que sus propiedades engloban los tres mecanismos implicados en la regeneración ósea ideal (osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción), puesto que proporciona células óseas, proteínas osteoinductivas como factores de crecimiento y BMPs, así como una importante matriz de soporte.

La actividad osteogénica está dominada por las células óseas mediante la formación de tejido osteoide; sin embargo no son sólo las células óseas del injerto las que contribuyen a la formación del hueso, ya que casi ninguna de ellas sobrevive al trasplante, sino que el injerto será invadido por células mesenquimáticas que después se diferenciarán a osteoblastos (80). El injerto también sufre una remodelación que conlleva, durante la fase de reabsorción, la liberación de factores de crecimiento y BMPs procedentes de la matriz, favoreciendo la osteoinducción. La estructura ósea del injerto, actúa como matriz del hueso neoformado, permitiendo el efecto osteoconductor.



El hueso autólogo se puede obtener de varias localizaciones, dependiendo de la cantidad y calidad del hueso que se quiera injertar (Tabla 3):

Extraoral	Cresta iliaca Calota Tibia
Intraoral	Mentón Rama ascendente mandibular Tuberosidad del maxilar

Tabla 3: Localizaciones para la obtención de injerto óseo autógeno.

Cada tipo de hueso tiene sus características ya que, aunque la reabsorción es mayor con hueso esponjoso, su incorporación es más rápida que con hueso cortical. La reabsorción que tiene lugar tras el injerto es menor con hueso de mentón, rama ascendente o calota (origen intramembranoso) que con el obtenido de la cresta iliaca (origen endocondral). Además recientemente se ha comprobado que los injertos de origen membranoso poseen más factores de crecimiento (IGF y TGF- β) que los de origen endocondral (81).

Su gran reabsorción inicial es un gran inconveniente (79), asumiéndola en elevaciones de seno en un 40% inicialmente (82), y aún así se considera como el material más fiable por ser altamente osteoconductor. El estudio comparativo de Simunek, en 2008 (83), con otros biomateriales (BioOss[®] o TCP β) para elevación de seno confirma que el hueso autólogo es el más apropiado.

La combinación de hueso autólogo con BioOss[®] (mineral de hueso bovino desproteínizado) al 50% es muy recomendable ya que a las propiedades del injerto de hueso autólogo se une la matriz para neoformación ósea aportada por el BioOss[®] (84) y aunque la sustitución total del injerto por hueso sea más lenta (85) la misma se realiza con mucha menor reabsorción inicial (86) (82); en cambio el resultado de injerto de hueso autólogo en elevación sinusal no mejora si la proporción es de un 10-20% de hueso autólogo con 80-90% de BioOss[®] (83).

Con objeto de evitar la gran reabsorción inicial en los márgenes de bloques de autoinjerto Lee, en 2008 (87), coloca aloinjerto mineralizado humano y, según su ensayo, consigue unos bordes más regulares en las crestas óseas, no apreciándose reabsorción ósea en la zona pasado un año.

El proceso de invasión de vasos en el injerto es rápido, y a los tres meses el hueso neoformado ya está bien irrigado, incluso mejor que el hueso nativo (88).

Para prevenir la remodelación del injerto de hueso autólogo, Gielkense (89) evaluó en ratas el uso de diferentes membranas, ácido poliláctico, colágeno y ePTFE, concluyendo que ninguna de ellas mejoraba el resultado.



Con el propósito de perder el mínimo posible de hueso autólogo durante la cirugía se diseñaron filtros para aspiradores quirúrgicos, para poder utilizar las virutas de hueso recogidas como material de injerto, pero se ha demostrado el peligro de usarlo (70) ya que se observa mayor cantidad de infecciones en los procesos en los que se ha utilizado este material, probablemente debido a que se mezcla con la saliva y productos de irrigación quirúrgica.

3.D. ALOINJERTO: HUESO LIOFILIZADO

Los aloinjertos proceden de otros individuos de la misma especie y surgen como una alternativa al hueso autólogo ya que poseen amplia disponibilidad y no hay necesidad de un segundo campo quirúrgico. Se suministra a través de bancos de tejidos que procesan el hueso de donantes, como se explicará, hasta obtener el preparado comercial.

Fueron los estudios de Urist, de 1965, los que promulgaron sus efectos beneficiosos ya que publicó que los injertos de segmentos de matriz ósea desmineralizados y liofilizados inducían la neoformación ósea (osteoinducción) (90). Su mecanismo de acción está basado en su contenido en BMPs (proteínas morfogenéticas óseas) y en otras proteínas no colágenas, que tienen la capacidad de inducir la formación de nuevo hueso ya que promueven la diferenciación de células mesenquimales a condroblastos que formarán cartílago el cual, posteriormente, será invadido por vasos y así, finalmente, se formará hueso por el proceso de osificación endocondral (65) (90).

Se comenzó a usar en regeneración periodontal (que implica todo el espacio periodontal con sus tres tipos de tejido, hueso, cemento y ligamento periodontal) sobre diferentes animales; Sepe, en 1978, presentó un trabajo con FDDBA en el que se mostraba un resultado del 60% casos de regeneración periodontal (91), pero otros autores matizaron, posteriormente, lo impredecible que resultaba el grado de regeneración (92).

Se observó gran éxito, en animales de experimentación, dentro de la regeneración tisular guiada (RTG) (93) (94), comprobando unos autores que sólo era beneficioso su uso en defectos mayores a 4mm de profundidad (95), mientras que otros encontraron que en defectos de 6mm(96), así como circunferenciales (97), no mejoraba su uso respecto a RTG sola. Su utilización en ROG tampoco se ha mostrado beneficiosa (71) (98) (65).

Se comercializan dos formas de hueso liofilizado, desmineralizado (lo que se conoce en inglés con las siglas DFDBA que corresponden a la denominación Aloinjerto de Hueso Deshidratado Congelado Desmineralizado), y sin desmineralizar (FDDBA). Entre ambas preparaciones no hay diferencias significativas en cuanto a sus resultados en regeneración ósea (99), pero sí en cuanto a su comportamiento; tanto en mandíbulas de monos (100) como de humanos (101) se observó que el FDDBA



estimulaba más temprana y rápidamente la formación de nuevo hueso que el DFDBA, lo que contrasta con lo que ocurre en cráneo de cerdo (102) (103) en donde se muestra más efectivo el injerto de DFDBA; este hecho se puede explicar debido a que ambos huesos son de diferente origen embriológico, y así, el DFDBA es más eficaz en regeneración de tipo endocondral (102) (103), mientras que el FDBA lo es en la intramembranosa (99) (100). La formación de nuevo hueso con DFDBA, en mandíbulas humanas, siempre comienza adyacente al margen del hueso antiguo (101), presentando remineralización parcial las partículas adyacentes al hueso nativo, mientras que según se alejan se reabsorben más lentamente y no muestran remineralización ni osteoconducción (104), tendiendo a quedar rodeadas por tejido conectivo fibroso (101), mientras que con FDBA la formación de hueso comienza centrada en el defecto y las partículas se rodean de osteoide con osteoblastos (101). Esto puede deberse al hecho de que los osteoclastos no pueden fijarse a tejidos no mineralizados, de manera que el DFDBA debe reabsorberse por la acción de macrófagos, que es más lenta, y además no pueden iniciar el nuevo proceso de osteosíntesis (65). Al mezclar ambos aloinjertos con matriz derivada del esmalte, la regeneración ósea resulta mejor en el grupo con FDBA (105).

Sus resultados en regeneración ósea son menos satisfactorios que los obtenidos con hueso autógeno (98), aunque mezclarlo con el mismo parece mejorar los resultados del autólogo para regenerar defectos periodontales de 1 y 2 paredes (106).

Cuando se comenzó a utilizar el aloinjerto como sustituto del hueso autólogo, se defendió su uso por su buena capacidad osteoinductora conservada y muy buena osteoconductora, utilizando la matriz ósea descalcificada total (107) o parcialmente (108).

Mellonig, en 1981 comparó, en un estudio sobre cráneo de cerdos, la capacidad osteoinductora de hueso autólogo, DFDBA y FDBA, llegando a la conclusión de que, en este caso, el mejor era DFDBA seguido del autólogo y finalmente el FDBA (103). Pero la capacidad osteoinductiva de los preparados de DFDBA resulta controvertida, y así, mientras algunos autores defienden que el DFDBA sí posee esta característica (103) (109) (110), otros argumentan que la osteoinducción es mínima (111), y para la mayoría sólo posee capacidad osteoconductora (97)(98) (101) (112) (113) (114).

La raíz de estas opiniones podría deberse a las grandes diferencias existentes entre los distintos preparados debido a los procesos de obtención (109) de los diferentes bancos de hueso (115). La capacidad osteoinductora depende de la cantidad de BMPs que se conserve en la matriz ósea, que siempre será menor que en el hueso fresco (115), y aunque ésta no sufre variación por el diferente sexo de los donantes (116), sí disminuye con el incremento de edad de los mismos (110). La concentración de BMPs es muy baja en relación con la de IGF-II y TGF β , siendo seguramente subóptima para los procedimientos de regeneración periodontal(117).

En un estudio *in vitro*, Carnes midió el potencial osteoinductivo de DFDBA y concluyó que el preparado libera factores insolubles con capacidad osteoinductora



(118), y que si el DFDBA absorbe factores activos, se inactivarán en su interior. Este hecho se relaciona con un estudio de Li (119) en el que analizó una muestra de DFDBA para identificar BMP₂ y BMP₄ sin hallar ninguna de ellas; se trató la muestra con rhBMP₂ y rhBMP₄ y, posteriormente, se analizó encontrando sólo pequeños fragmentos de las mismas (BMP), lo que indica que en el DFDBA hay una sustancia desconocida que degrada las BMP presentes.

En un estudio sobre ratones se pueden apreciar pequeños centros de osificación al activar el DFDBA inactivo con BMP humana (120) obteniéndose resultados satisfactorios al activar el DFDBA inactivo con rhBMP₂ (116).

La remineralización del hueso neoformado también va a depender de la edad del paciente objeto de regeneración, ya que los jóvenes poseen concentraciones mayores en calcio y fósforo (118).

Para conocer el tamaño óptimo de partícula se estudió sobre monos la eficacia de diferentes diámetros y se comprobó que la partícula pequeña (100-300 µm) de FDDBA tiene mayor potencial osteogénico que la grande (1000-3000 µm) aunque también se reabsorbe en mayor cantidad (121), de la misma manera ocurre en el DFDBA así que las partículas óptimas deben estar entre 250-500 µm (122).

En cada banco de hueso, en sus preparaciones comerciales, incluyen partículas de diferentes tamaños y formas, y estas formas se conservarán dentro del nuevo hueso formado (115) ya que quedan presentes partículas de DFDBA durante largo tiempo incluidas en tejido conectivo denso (4 semanas en perros) (123) (124), y en el hueso neoformado (8 semanas en ratas) (111) (6 meses en humanos) (113) incluso cuando se mezcla con otros materiales de injerto (con TCP, 6 meses en humanos) (125). Como se ha comentado anteriormente, esto se debe a que la reabsorción de las partículas de DFDBA la llevan a cabo los macrófagos en vez de los osteoclastos(65), así que el recambio óseo está muy disminuido (123) (124). A los 4 años la mayoría de las partículas de DFDBA se han reabsorbido y han sido sustituidas por nuevo hueso (126).

Se puede conseguir, según Boyan en 2006, que queden menos partículas residuales si se añade al DFDBA moléculas de ácido hialurónico(110) obteniendo similar formación de nuevo hueso con esta mezcla que con BioOss® y DFDBA, para Schwartz (127), y superior en un 50% a la mezcla con TCP (fosfato tricálcico) (127).

Aunque la formación de nuevo hueso es muy lenta, tardando años en completarse, su calidad, para Simion (126) es suficiente para soportar la carga de implantes dentales, mientras que no lo es para Becker(98).

Como ya se ha comentado, los preparados comerciales son muy variables por lo que en ocasiones se presenta el DFDBA en estado inactivo, forma en la cuál no se produce formación de nuevo hueso (116) (120), y para activarlo se puede mezclar con diferentes cantidades (0.5-1 mg/ml) de rhPDGF-BB (factor de crecimiento derivado de plaquetas BB recombinante humano). Con esta mezcla se puede conseguir una regeneración periodontal adecuada (128) (129). Al añadir rhPDGF-BB a DFDBA, o



FDDBA, se va a obtener una mejora en la capacidad regenerativa de los mismos, tanto ósea como periodontal (129).

En un trabajo sobre mandriles, Blumenthal combinó DFDBA con una glicoproteína de tejido conectivo humano y consiguió restitución histológica del espacio periodontal(130).

Proceso de preparación del DFDBA comercializado.

El proceso de desmineralización y liofilización del hueso cortical debe garantizar un producto final estéril, pero que conserve íntegra su capacidad osteoinductora.

Comienza con la selección de los donantes, realizando un estudio médico y social del individuo así como una valoración de su estado clínico. Se excluirán aquellos calificados como de alto riesgo al presentar enfermedades infecto-contagiosas, inmunológicas, del colágeno, neurológicas, degenerativas, neoplásicas y/o metabólicas (131).

En primer lugar se toman muestras de sangre para cultivos aeróbicos y anaeróbicos, y exámenes serológicos tipo HB_sAg, RPR, HIV- anticuerpos tipo p24Ag, HTLUI anticuerpo y HCV.

Posteriormente, se procede a la obtención del *hueso cortical* del donante a partir de huesos largos, pues es donde se encuentra mayor contenido en proteínas morfogenéticas óseas (BMPs). Se debe realizar en las primeras veinticuatro horas después del fallecimiento para evitar la destrucción enzimática de las BMPs. La obtención de los tejidos se realiza bajo rigurosas técnicas de asepsia y antisepsia en habitaciones con ambiente aséptico máximo (clase 10). Se utiliza material e instrumental desechable para cada pieza distinta y éstas se envasan individualmente para evitar contaminaciones cruzadas.

Comienza el procesamiento del hueso obtenido; primero se corta a un tamaño de partícula de 500µm- 5mm para aumentar la eficacia de la eliminación de grasa y desmineralización del injerto(132). Se realiza una limpieza mecánica (lavados repetidos con solución estéril) de los tejidos blandos, células y grasas, para eliminar detritus y otros productos de contaminación. Se desengrasa y deseca totalmente sumergiéndolo en alcohol etileno al 100% durante 1 hora(132) consiguiendo también destruir bacterias en su forma vegetativa y desactivar de manera eficaz los virus.

Después se tritura, reduciéndolo a partículas de 250- 750 µm de diámetro.

La desmineralización con ácido clorhídrico elimina el calcio, mantiene la matriz ósea y expone las proteínas inductoras de hueso. Mediante la descalcificación se inactivarán los virus, ya que su ADN se fragmenta y degrada (133). El virus VIH se inactiva completamente, pero como la acción es pobre frente a esporas bacterianas y de origen fungal se aplica la solución VIP (Proceso de Inactivación de Virus). Tiene



efecto bacteriológico, fungicida y antiviral, así mismo solubiliza y elimina las células sanguíneas y grasas de los tejidos, mejorando el contacto y la acción de los productos que se utilizan para el lavado mecánico del hueso (la solución estéril, el ácido y la propia solución VIP).

El hueso se lava con una solución neutralizadora de fosfato sódico para eliminar el ácido residual(132).

Si se detectan restos de flora no patógena específica de la piel se utiliza un agente físico; los tejidos son irradiados con radiación gamma a dosis bajas, adecuada para reducir la concentración bacteriana en un grado logarítmico de 6. Cuando la radiación se realiza a dosis bajas y a bajas temperaturas, se ha demostrado que no se afecta la osteoinductividad del injerto. Si se hiciera a temperatura ambiente podría afectar a las propiedades osteoinductivas debido a la energía calorífica liberada durante el proceso de esterilización con radiación gamma (131).

Las partículas se sellan en frascos de vidrio al vacío y se transportan al lugar de almacenaje, donde se conservan a -80°C en congelación con nitrógeno líquido, durante 1-2 semanas para interrumpir el proceso de degradación, y hasta tener los resultados de los exámenes serológicos que deben ser negativos(132) (134) (135) y, si no lo fueran, las partículas se someterán a otra serie de tratamientos para garantizar un mayor margen de seguridad, o serán descartadas para su uso(132).

El riesgo de infección por VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) se calcula uno de cada ocho millones, y se calificó como muy remoto (134).

Finalmente se envasa, en frascos de cristal, y sella al vacío para su distribución y uso, protegiéndolo de la contaminación y degradación, además de facilitando su almacenaje(132).

El proceso de congelado- desecado elimina más del 95% del contenido de agua del hueso(132). La desmineralización del hueso cortical humano permite que el injerto conserve las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), la liofilización disminuirá la antigenicidad, y su presentación en partículas aportará máxima área de superficie de interacción con las células nativas del lecho receptor.

3.E. BIOMATERIALES

El cuerpo humano tiene la capacidad de identificar cualquier sustancia extraña insertada en él, para posteriormente rechazarla o admitirla.

Los biomateriales son sustancias inertes, de origen natural o sintético, empleadas para sustituir o incrementar los tejidos biológicos. Poseen la habilidad de llevar a cabo la respuesta adecuada para el huésped ante una situación dada (136).



En la regeneración ósea, su finalidad es favorecer la osteoconducción, es decir servir de estructura o andamiaje para el depósito de hueso nuevo.

Las características más importantes que debe reunir un biomaterial para la regeneración ósea en Odontología están recogidas en la Tabla 4 (137).

Están disponibles en gran variedad de texturas, tamaños y formas. La forma y temporalidad de su reabsorción varía dependiendo de la estructura química del material, porosidad y tamaño de la partícula. En general, cuanto mayores son las partículas permanecen más tiempo en el lugar donde se han colocado ya que tardan más en reabsorberse. La capacidad osteoconductiva será mayor cuanto más poroso sea el material, pero también se reabsorberá más rápidamente. Por ello las características físicas en las que más se investiga son el tamaño y la porosidad de los biomateriales, en función de las cuales se establece su capacidad de reabsorción y posterior sustitución por hueso neoformado. El diámetro mínimo de los poros que permite el paso de las células óseas, y así el crecimiento óseo, es de 100 μm (138); normalmente se emplean materiales con poros entre 100 μm y 500 μm que posibilitan el crecimiento óseo tanto en el interior de los poros como alrededor de los mismos. El significado clínico de estas características físicas, es permitir un crecimiento más extenso y una mayor superficie de unión entre el hueso neoformado y el biomaterial (139).

Dentro de los sustitutos del hueso destaca desde hace años la hidroxiapatita (HA) y más recientemente el fosfato tricálcico (TCP), los biovidrios y los polímeros, en un intento de avanzar en el tratamiento de los biomateriales a favor de una mejor interacción con los tejidos.

Compatibilidad biológica
Osteoconductividad
Radio- opacidad
Rechazo al crecimiento de los patógenos orales
Hidrofilia
Posibilidad de suministro en partículas o molde
Actividad eléctrica de superficie
Microporosidad
Ausencia de acción alérgica
Resistencia elevada a la compresión
Precio económico
Facilidad de uso y manipulación

Tabla 4: Características idóneas de un biomaterial de regeneración ósea.

Actualmente se persigue que un material no sólo sea biocompatible, sino que sea bioactivo, esto es, que reaccione con el huésped para favorecer las respuestas tisulares.



La **hidroxiapatita** (HA) es probablemente el material más investigado y examinado hasta la fecha como sustituto óseo; no en vano, contiene una proporción de calcio-fosfato de 1,67, idéntica al mineral óseo, y con un módulo de elasticidad parecido. Aunque existen diferencias en las propiedades fisicoquímicas entre la HA autógena y la HA cerámica, esta forma mineral es el elemento inorgánico principal del sistema esquelético, siendo éste el argumento que mejor justifica su utilización.

Se puede obtener sintéticamente o derivar de materiales naturales (hueso, algas o corales) (140). En la Tabla 5 se presenta una clasificación atendiendo a su origen y características principales.

Dentro de las hidroxiapatitas se encuentra el hueso liofilizado bovino, BioOss®, que es el xenoinjerto de uso más frecuente en nuestro campo. Presenta entre un 60-70% de porosidad lo que facilita la migración osteoblástica por su estructura a la vez que estimula una buena vascularización (141). Posee buenas propiedades osteoconductoras observándose formación de nuevo hueso en contacto con las partículas de injerto (142). Aunque se produce la integración completa del injerto, y son los osteoclastos los encargados de llevar a cabo su reabsorción, ésta es muy lenta pudiéndose apreciar partículas del mismo incluso años después (143).

Aunque el comportamiento de BioOss® es peor que el del hueso autólogo solo (83), está recomendado mezclarlos (BioOss® con hueso autógeno), puesto que a la matriz para la neoformación ósea se le suma la aportación de factores de crecimiento y proteínas para la osteogénesis (84), y disminuye la gran reabsorción inicial del injerto de hueso autólogo mezclado al 50% (86) (82), pero no si la combinación es 10-20% de hueso autólogo con BioOss® al 80-90% (83). La mezcla de ambos acelera el proceso de sustitución progresiva por hueso (85) que es muy lenta en el BioOss®.

ORIGEN	TIPOS	NOMBRE COMERCIAL	REABSORBIBLES
SINTÉTICAS	Densas	Osteograft®	NO
		Periograft®	NO
	Porosas	Bioapatite®	NO
		Osteogen®	SI
NATURALES	Coralina	Interpore®	Lentamente
	Ficógena	Algipore®	Lentamente
	Bovina	Bio-Oss, Laddec®	Lentamente
	Equina	Biogenmix®	Lentamente
	Porcina	Osteobiol®	Lentamente
COMBINADAS	Bovino-Colágeno	Bio-Oss Collagen®	Lentamente

Tabla 5: Tipos de hidroxiapatitas.



La invasión vascular de hueso neoformado por BioOss® tarda 6 meses en alcanzar el nivel conseguido por injerto de hueso autólogo a los 3 meses (88), pero el crecimiento de hueso resulta más estable en el tiempo con BioOss® consiguiendo mayor superficie de contacto con el implante dental(144), al tiempo que se aprecia que la reabsorción ósea alrededor del implante es similar a la observada en hueso nativo (145) lo que podría implicar mejor supervivencia de los implantes dentales colocados en ese hueso neoformado.

El uso de BioOss® asociado a membranas, mejora el resultado de las mismas incrementando el nivel del margen gingival en los implantes inmediatos postextracción (70).

El **fosfato tricálcico β** (TCPβ), comercialmente Cerasorb®, es una cerámica bioactiva que promueve la formación ósea mediante el intercambio de calcio y fósforo con el hueso nativo. Aunque es un componente del hueso, su proporción de calcio-fosfato es de 1.51, algo diferente a la del hueso. El fosfato tricálcico es osteoconductor y proporciona una base adecuada para el depósito de nuevo hueso.

Actualmente es un material muy utilizado en los países anglosajones. Posee una microporosidad del 20-30% mientras que la macroporosidad (100-500 μm), interconectada, es mayor del 70%. Se presenta comercialmente en forma de partículas esféricas (141).

Su mayor inconveniente es que, inicialmente, la mayoría de las partículas son aisladas por tejido fibroso, no comenzando la invasión del injerto por parte del tejido óseo hasta los 14 meses. Se considera, por tanto, su velocidad de disolución media-baja, pues no se sustituye completamente hasta los 2 años (146).

Al comparar TCPβ con BioOss® en elevaciones de seno el comportamiento del segundo se muestra más adecuado que el de TCPβ(83).

Los **biovidrios** o vidrios bioactivos (Perioglass®, BioGran®) fueron descubiertos por Hench, en 1970 (57), generalizándose su uso desde los años ochenta en ortopedia, cirugía plástica y otorrinolarigología, llegando veinte años después a la Odontología. Su mayor ventaja es la de ser integrado por los tejidos en lugar de ser aislado por el tejido fibroso. El vidrio bioactivo está formado en un 45% por dióxido de silicio, pero además contiene óxido de sodio al 24.5%, óxido de calcio al 24.5% y pentaóxido de fósforo al 6% (57). Su mecanismo de acción consiste en promover la formación de una capa de hidroxiapatita biológicamente activa que los unirá al hueso y a los tejidos blandos (fijación bioactiva).

Cuando un vidrio bioactivo se pone en contacto con fluidos orgánicos se originan tres reacciones: difusión, disolución y precipitación. Debido a ellas el sodio se separa del vidrio, se disuelve el óxido de silicio y se forma un gel de sílice, cargado negativamente, que va a ser el lugar de nucleación para la formación de carbonato y fosfato cálcico. Sobre éste se va formando hidroxicarbonato de apatita. Además el



sílice soluble activa la adsorción de factores de crecimiento, fundamentalmente TGF- β 1, sobre el gel de sílice y los cristales de hidroxicarbonato de apatita, con lo que se produce una rápida proliferación de osteoblastos, los cuales al sintetizar matriz osteoide, que posteriormente se mineralizará, permitirán el crecimiento de hueso (147).

Los **polímeros** se emplean en ortopedia desde los años treinta. Entre sus múltiples utilidades destacan: la fabricación de lentes de contacto, válvulas cardíacas protésicas, prótesis de cabeza de fémur y cementos óseos ortopédicos. Dentro de este tipo de materiales poliméricos hay que destacar el polímero sustituto de tejido duro (Hard Tissue Replacement) (H.T.R.[®]), compuesto por un núcleo de polimetilmetacrilato (PMMA), que es hidrófobo y una capa externa de polihidroximetilmetacrilato (PHEMA) e hidróxido de calcio, que son hidrófilos y proporcionan la carga negativa, lo que favorece la formación ósea (148) e impide la colonización bacteriana. Es microporoso y no reabsorbible.

Distintos autores han examinado la respuesta tisular y la interfase entre hueso y HTR en animales de experimentación (149) (150). La primera reacción observada en la interfase hueso/HTR, es que el material es bien aceptado a juzgar por el estado terminal de la reacción inflamatoria de los tejidos adyacentes, en los que se pueden observar varias células procedentes de la sangre, fundamentalmente macrófagos, en contacto con el HTR, como respuesta normal del organismo ante la presencia de biomateriales. En una segunda fase aparece otra población de células en la interfase de unión, que morfológicamente no se corresponden con osteoblastos, tratándose presumiblemente de fibroblastos y células pluripotenciales (stem cell), con capacidad de transformarse en osteoblastos. Se ha utilizado con éxito en el relleno de defectos óseos y periodontales así como en técnicas de cirugía preprotésica de aumento de reborde alveolar(151).

El potencial osteoconductor del HTR ha sido comparado, en ensayos experimentales, con el de la hidroxiapatita aunque los resultados mostraron que la misma posee un potencial de estimulación ósea mayor que la resina de metacrilato, parece necesario disponer de estudios a largo plazo que investiguen la respuesta ósea frente a este biomaterial (152). Presenta la desventaja de no ser un biomaterial reabsorbible, ya que no puede eliminarse por osteoclastos ni macrófagos y por lo tanto no se produce la desesada sustitución progresiva por hueso nuevo (152).

Existen otros polímeros reabsorbibles basados en compuestos de ácido poliláctico y ácido poliglicólico (Fisiograft[®]). Se comercializan en diversas formas y tamaños y se han utilizado sobre todo en zonas de extracción del tercer molar para mantener el coágulo. Estudios con compuestos de ácido poliláctico y poliglicólico en forma granulada, han demostrado la presencia de una leve reacción inflamatoria en el tejido circundante y una fina cápsula conectiva alrededor de las partículas del material, que precede a una reabsorción progresiva del biomaterial por hueso regenerado, aunque de peor calidad que el hueso maduro (153).



3.F. FACTORES DE CRECIMIENTO ÓSEO

Como ya se ha explicado anteriormente, los Factores de Crecimiento (FC) son mediadores biológicos que regulan la quimiotaxis, diferenciación, proliferación y síntesis celular en los procesos de reparación tisular. Por lo tanto, ya que para lograr la regeneración ósea y periodontal se requieren la proliferación y migración de las células del ligamento periodontal, la síntesis de matriz extracelular, la diferenciación de cementoblastos y osteoblastos, parece que los factores de crecimiento pueden representar una gran ayuda (80).

A partir del estudio de Urist de 1965 (90), en el que implantó en músculo de ratas hueso desmineralizado consiguiendo formación de nuevo tejido óseo a partir del mismo, se atribuyó a unas proteínas contenidas en ese injerto la capacidad osteoinductora, y se las llamó Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMPs) (90). Al mismo tiempo que se identificaban estas proteínas, fueron descubriendo otras, los factores de crecimiento, algunos de los cuales contribuyen a la regeneración ósea.

Los factores de crecimiento con mayor importancia en la regeneración ósea se presentan en la Tabla 6.

PDGF: Factor de crecimiento derivado de las plaquetas. IGF: Factor de crecimiento análogo a la insulina. TGF- β : Factor de crecimiento transformante tipo β (entre los que se encuentran las BMPs). FGF: Factor de crecimiento fibroblástico. VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular. EGF: Factor de crecimiento epidérmico.

Tabla 6: Factores de crecimiento con importancia en la regeneración ósea.

Entre los tipos celulares productores de factores de crecimiento implicados en la regeneración ósea (Tabla 7, pág.53) (154) están los fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales y leucocitos (especialmente macrófagos). Además existen lugares de almacenamiento, como son las plaquetas y el hueso.

FACTOR DE CRECIMIENTO	PROCEDENCIA
PDGF (AA y BB)	Plaquetas, macrófagos, matriz ósea, células epiteliales, células endoteliales*, células musculares lisas
IGF-I	Plasma, células epiteliales, células endoteliales, fibroblastos*, células musculares lisas*, osteoblastos, matriz ósea
TGF- β (1 y 2)	Plaquetas, macrófagos, osteoblastos, linfocitos T, condrocitos inmaduros*
bFGF	macrófagos, células endoteliales, osteoblastos*, condrocitos maduros e inmaduros, matriz ósea
EGF/ TGF- α	Plaquetas, macrófagos, células epiteliales, eosinófilos

Tabla 7: Procedencia de Factores de Crecimiento.* se hipotetiza por resultados de experimentos in vitro. (154)

El modo de transportar los factores de crecimiento al lugar donde se necesita promover la regeneración ósea constituye un dilema por el que se investigan diferentes alternativas:

El *EDTA* (etilen diamino tetra acetato): parece aconsejable ya que sobre superficies tratadas con este producto y factores de crecimiento rhPDGF-BB y BMP-2, se promovió la regeneración periodontal mediante un incremento tanto de la proliferación como de la diferenciación celular (155).

Las *esponjas de quitosán con fosfato tricálcico (TCP)*: están avaladas por los resultados de un estudio que indican que el PDGF-BB cargado en la esponja de quitosán/TCP produce un efecto osteogénico en la regeneración ósea *in vivo* (156).

Posteriores estudios sobre PDGF se basan en el uso de la *ingeniería genética*, como medio para transportar los factores de crecimiento a los tejidos (157).

Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF)

Se le denominó de esta manera por encontrarse por primera vez en los gránulos alfa de las plaquetas (4), aunque también puede encontrarse en otros tipos celulares como monocitos y fibroblastos (158), macrófagos, células endoteliales, células epiteliales y en la matriz ósea (159). En la sangre se encuentra en una proporción de $0.06\text{ng} / 10^6$ plaquetas.



El PDGF es una proteína termoestable (100°C) y catiónica, con un punto isoeléctrico muy básico de 10,2 (160) y un peso molecular de 30.000 daltons (161) (162). Posee una estructura dimérica formada por dos cadenas de aminoácidos denominadas A y B que se asemejan en un 60%. La cadena A está constituida por 121 aminoácidos mientras que la B está compuesta por 125 aminoácidos (160). Dos genes se encargan de la codificación del PDGF. La cadena A está codificada en el cromosoma 7 y la cadena B en el brazo largo del cromosoma 22 (159).

Es muy abundante en la matriz ósea donde se ha encontrado en tres formas(4) (161) (162): PDGF-AA, PDGF-BB y PDGF-AB. Existen dos receptores para el PDGF: el receptor PDGF α para PDGF-AA, PDGF-BB y PDGF-AB y el receptor PDGF β para PDGF-BB y PDGF-AB. La capacidad de ciertas estirpes celulares de interactuar con los diferentes PDGF depende de la presencia de receptores α ó β en su membrana. Como en todos los factores de crecimiento, su actividad está mediada por una proteína tirosínquinasa (Fig. 12, pág.22).

Ambos receptores inducen respuesta mitogénica; pero el receptor β , a diferencia del α , interviene en la estimulación quimiotáctica. El PDGF-BB, como quimiotáctico, es el doble de potente que el PDGF-AA para las células del tejido conectivo (163).

El PDGF estimula células de origen mesenquimatoso como las células óseas, los fibroblastos, las células de la microglia y células musculares lisas (163).

Al encontrarse dentro del coágulo, lidera la revascularización, la síntesis de colágeno, y la regeneración ósea. Va a producir una serie de efectos positivos(154) en la curación de la herida, como son el aumento de la mitogénesis (por lo que habrá mayor número de células de cicatrización) y de la angiogénesis, potenciación de la función de fibroblastos y osteoblastos así como de la diferenciación celular, sinergismo con otros factores de crecimiento acelerando sus efectos celulares(154).

Varios estudios han demostrado que el PDGF es un potente factor quimiotáctico y mitogénico de los fibroblastos periodontales, los cementoblastos y los osteoblastos (164).

PDGF estimula la proliferación de fibroblastos del ligamento periodontal (165) (166) (167) (168) (169) (170) (171) en mayor medida que de fibroblastos gingivales (168) (172) (173), poseyendo todos ellos extraordinaria respuesta quimiotáctica hacia el PDGF (166). Aunque los mayores estimuladores de la mitogénesis en las células del ligamento periodontal humano sean PDGF-BB y PDGF-AA para algunos autores (167), otros defienden que las tres formas de PDGF estimulan las células del ligamento periodontal, siendo el PDGF-BB el más potente en su efecto seguido del PDGF-AB y por último el PDGF-AA (163) (169). La concentración óptima de PDGF-BB es de 50 ng/ml o superior para la estimulación de células del ligamento periodontal humano *in vitro*, promoviendo la adherencia de los fibroblastos del ligamento periodontal tanto en



superficies radiculares de dientes periodontales tratadas con HCl como en superficies no tratadas (174) (175).

Además de la proliferación, PDGF incrementa también, de manera dosis-dependiente, la migración de los fibroblastos del ligamento periodontal, (170) (171) y gingivales, éstos últimos en mayor medida(173).

Los osteoblastos poseen una gran cantidad de receptores de PDGF que responden al PDGF-AA y PDGF-BB, aunque sólo sean capaces de producir PDGF-AA y no PDGF-BB(176).

El epitelio gingival es una fuente importante de PDGF-AA y BB, siendo PDGF-AA un importante modulador en los estadíos iniciales de la inflamación, mientras que el PDGF-BB tiene un papel mayoritario en momentos más tardíos de la cicatrización(177).

El PDGF incrementa la proliferación de las células óseas pero no favorece la diferenciación osteoblástica (178). También aumenta la producción de osteopontina, aunque disminuya la de osteocalcina y sialoproteína en células óseas. Bajo exposiciones prolongadas, reduce la actividad de la fosfatasa alcalina y la mineralización ósea(179).

Los estudios *in vitro* realizados tanto sobre células de origen animal como humano arrojan resultados semejantes en cuanto a que el PDGF podría contribuir al reclutamiento de células óseas durante la reparación y remodelado óseo (166) (171). El cultivo de osteoblastos humanos en presencia de PDGF produce un aumento en su proliferación y diferenciación así como un incremento en la síntesis de matriz extracelular (6). El PDGF-BB estimula la síntesis de colágeno, la proliferación y la quimiotaxis, aunque los mejores resultados en las funciones quimiotácticas y mitogénicas se obtienen con la combinación de varios factores de crecimiento, siendo la más efectiva el PDGF-BB con IGF-I (166).

Respecto a los estudios *in vivo* sobre la regeneración ósea y periodontal, comenzaron a finales de los '80; en 1987, cuando Sprugel comprobó, en ratas, cómo podía inducir la formación de tejido de granulación (180).

Posteriormente se realizaron estudios sobre otros modelos animales como los perros Beagle y monos Rhesus para comprender mejor el papel de los factores de crecimiento en los mecanismos de regeneración ósea y periodontal. Lynch realizó una serie de estudios en perros Beagle, para comprobar que la utilización de factores de crecimiento aumentaba la regeneración periodontal. En un primer estudio histológico, a las dos semanas de la aplicación local de PDGF/IGF-I, observó la neoformación de hueso alveolar con diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles. Toda la superficie de hueso nuevo se encontraba cubierta por una capa continua de células osteoblásticas. La capacidad para estimular la regeneración era debida a los efectos que tienen los factores de crecimiento sobre las células mesenquimales(181). A las cuatro semanas de la aplicación de PDGF/IGF-I se incrementaba el metabolismo óseo produciéndose un aumento significativo de la altura y la densidad ósea, en



comparación con los controles. Además comprobaron que en los lugares control no se regeneraba el aparato de sostén periodontal sustituyéndose por un epitelio largo de unión, mientras que era correcta la regeneración en los test(182). En la misma línea Rutherford encontró en primates que con la aplicación de PDGF-BB/IGF-I inducía una regeneración periodontal significativa. Los factores de crecimiento eran capaces de inducir la regeneración de aproximadamente el 50% de los tejidos en un periodo de tiempo de 4 semanas(183) (184). En un estudio simultáneo sobre monos y perros Beagle para comparar los efectos de combinar PDGF/IGF-I en la estimulación de la regeneración periodontal, se observó en ambos grupos de animales un aumento significativo en la regeneración periodontal respecto a los controles(185). Similares hallazgos se han obtenido en humanos (186). Un nuevo ensayo sobre regeneración periodontal en monos, mediante el uso de PDGF aplicado individualmente o en terapia combinada de PDGF-BB/IGF-I a una dosis de 10 µg/ml, se concluyó que cuando sólo se utiliza el PDGF-BB, es posible la formación de nueva inserción, pero no de relleno óseo (187), algo que se confirma en el estudio de Roussy 2007 (188), que encuentra negativo su uso en regeneración ósea, pues empeora la formación de nuevo hueso.

La evaluación de la asociación de PDGF con membranas en perros Beagle con defectos óseos experimentales se ha llevado a cabo en numerosos estudios. En un primer ensayo, se realizaron tres grupos de trabajo; el control en el que la terapia regenerativa sólo incluía membranas de PTFE-e, un segundo grupo utilizaba membrana de PTFE-e+PDGF y en un tercer grupo sólo se utilizó PDGF. Los resultados indicaron que el PDGF estimuló más la proliferación de fibroblastos respecto al grupo control, independientemente de su uso combinado con membranas o no(189). La terapia combinada RTG+PDGF-BB, promueve la regeneración periodontal de manera más rápida y significativa que cuando se usan membranas de PTFE-e solamente (190), expresándose la diferencia de relleno óseo del defecto en la terapia combinada en un 80% a las 8 semanas y 87% a las 11 semanas, mientras que con la membrana sólo a las 8 semanas 14% y a las 11 semanas el 60%(191).

La regeneración de hueso para la colocación simultánea o posterior de implantes se comenzó a estudiar posteriormente. En 1991, Sloan(192) hacía referencia a los posibles efectos beneficiosos que podría tener la aplicación de factores de crecimiento alrededor de los implantes colocados en huesos con una calidad ósea pobre (tipo IV) en los que conseguir una estabilidad primaria de los implantes es más complicado(192).

Lynch estudió la formación de hueso alrededor de implantes mediante la combinación de PDGF-BB/IGF-I a dosis de 4 µg. Los resultados del estudio indicaron que la aplicación *in vivo* de la combinación de estos factores de crecimiento promovía la regeneración del hueso alrededor del titanio durante las primeras fases de la cicatrización. A los siete días, los implantes a los que se aplicaron los factores de crecimiento, PDGF-BB/IGF-I, presentaban un porcentaje significativo de hueso en contacto con el implante (BIC, Bone Implant Contact) en comparación con los controles. El uso combinado de PDGF/IGF-I alrededor de los implantes podría acelerar y aumentar la osteointegración de los implantes, particularmente en lugares con densidad ósea deficiente (193).



En caso de no haber suficiente soporte óseo para la colocación de implantes, debido a defectos óseos o cresta alveolar estrecha que requiere aumento de anchura, se consideró positivo el uso de PDGF/IGF-I en combinación con membranas ya que la membrana podía mantener los factores de crecimiento en contacto íntimo con los implantes (71).

El uso de PDGF es muy controvertido pues los resultados son muy variables según el investigador. En revisión bibliográfica sobre el aumento localizado de cresta alveolar, Jung RE y cols en 2008 (194), concluyen que, de entre una serie de factores de crecimiento (BMP2, BMP7, PDGF) y PTH, en el que menos de acuerdo se está, respecto a su validez, es en el PDGF.

Los avances en tecnología recombinante permiten la obtención de proteínas, de forma sintética, en grandes cantidades, permitiéndose su comercialización y desarrollo. Actualmente, para su uso en regeneración ósea, sólo se comercializan rhPDGF-BB y rhBMP-2 (164).

En ensayos sobre animales el uso de rh-PDGF-BB para mejorar materiales de injerto consigue activar los preparados de hueso liofilizado que pueden ser inactivos según su elaboración (128) (129) (195). No parece mejorar la incorporación del BioOss® al tejido óseo de nueva formación (196), ocasionando además, en estudio de Lioubavina-Hack (196) en ratas, que a los 3 meses, la cantidad de nuevo hueso mineralizado sea menor que usando únicamente el material de origen bovino, si bien es cierto que se iguala a los 5 meses. Así mismo rh-PDGF- BB mejora los resultados de una matriz sintética en cuanto a curación de la herida, regeneración del hueso, y aceleración de la curación del defecto tanto periodontal como periimplantario (197). En cuanto a crecimiento vertical de cresta alveolar, en perros, usando un bloque de hueso bovino desproteínizado asociado a membrana de colágeno y rh-PDGF-BB, se valoró que al complementar con rh-PDGF-BB se mejoraban los resultados(198).

Añadir rh-PDGF-BB a TCP- β , en humanos, en defectos periodontales de una, dos o tres paredes, incrementa el éxito en cuanto a reducción de la recesión gingival y relleno óseo del defecto (199) tanto clínica como radiográficamente (200) siendo el recambio óseo mayor en la mezcla(201).

Factor de Crecimiento análogo a la Insulina (IGF)

Los factores de crecimiento análogos a la insulina (IGFs) son una familia de proteínas séricas de cadena simple que presentan una secuencia homóloga en un 49% a la proinsulina. Se han descrito dos polipéptidos, el IGF-I, y el IGF-II. El IGF-I, es una proteína formada por 70 aminoácidos con tres puentes disulfuro, posee un peso molecular de 7.689 Kd y un punto isoeléctrico de 8,4. El IGF-II, es un péptido neutro de 67 aminoácidos y un peso molecular de 7.471 Kd (51).



Estos factores de crecimiento son sintetizados por diferentes tejidos, como el hígado, tejido muscular liso y placenta, transportándose en el plasma como un complejo con proteínas específicas de adhesión (IGF BP)(202).

ESTUDIOS IGF <i>in vitro</i>		
Autor y año	Procedencia celular	Acción del IGF
Koch G (1998) (203)	Calota rata	Estimula formación matriz ósea mediante inducción proliferación celular y secreción componentes de matriz extracelular. Los osteoblastos producen localmente IGF I- IGF II
Blom S (1992) (204)	Rata	IGF I Efecto mitogénico y estimulación ADN en fibroblastos ligamento periodontal.
Matsuda N (1992) (166)	Rata	Efecto mitógeno y q ^o táctico en fibroblastos ligamento periodontal. Sinergismo con PDGF-AB
Rutherford RB (1992) (205)	Humano	IGF I Sinergismo con PDGF para síntesis ADN en fibroblastos ligamento periodontal.
Nishimura F (1996) (170)	Humano	IGF I-II incrementan migración células ligamento periodontal y fibroblastos gingivales de forma dosis- dependiente.

Tabla 8: Estudios IGF *in vitro*.

Entre sus acciones biológicas (Tabla 8) se puede destacar (51) (206) su capacidad para estimular la síntesis de matriz ósea ya que tiene un efecto directo sobre los osteoblastos, estimulando su proliferación y diferenciación, a la vez que produce un aumento de la proliferación de las células osteoprogenitoras. Al mismo tiempo, produce estimulación de la actividad mitogénica y quimiotáctica de las células del ligamento periodontal así como de la síntesis de glucógeno en el hígado. Posee la capacidad de actuar sinérgicamente con el PDGF aumentando la regeneración periodontal (154) (Tabla 8, Tabla 9).

ESTUDIOS IGF <i>in vivo</i>			
Autor y año	Animales/ humanos	Ensayo clínico	Acción del IGF
Lynch SE (1989) (181)	Perros	Enfermedad periodontal con defectos horizontales	PDGF-BB e IGF-I Aumento aposición ósea crestal.
Lynch SE (1991) (182)	Perros	Defectos verticales	Aumento regeneración ósea
Lynch SE (1991) (193)	Perros	Defectos peri- implantes	PDGF-BB+ IGF-I mayor relleno óseo y contacto hueso-implante (BIC)
Becker W (1992) (71)	Perros	Implantes post extracción con dehiscencias. GBR.	PDGF + IGF-I mayor regeneración y densidad ósea.
Rutherford RB (1992) (183)	Monos	Enfermedad periodontal	PDGF + IGF-I mejor regeneración periodontal mayor aposición ósea en cresta.
Giannobile WV (1994) (185)	Perros/ monos	Enfermedad periodontal	PDGF + IGF-I promoción de regeneración periodontal.
Howell TH (1997) (207)	Humanos	Enfermedad periodontal	rhPDGF-BB+ IGF-I mucho mayor neoformación ósea

Tabla 9: Estudios IGF *in vivo*.



Factor de Crecimiento Transformador (TGF)

Se le denominó de esta forma ya que se aisló por primera vez en tejidos transformados, en concreto, de sarcomas, únicos de los que inicialmente se podía extraer. Se trataba de un factor que promovía la transformación de los fibroblastos, en cultivo celular, alterando su fenotipo para convertirlos en tumorales(208).

Existen dos tipos de factor de crecimiento transformante, $TGF\alpha$ y $TGF\beta$.

TGF α : Está estrechamente relacionado con el EGF, con el que tiene en común un 42% de secuencia de aminoácidos. Se unen a los mismos receptores de membrana estableciéndose competencia entre ambos. Está codificado por un gen localizado en el cromosoma 2. Su peso molecular es de 5.600 daltons. Se sintetiza como un precursor de 160 aminoácidos, aunque la parte activa sólo consta de 50 aminoácidos (208).

Entre sus acciones biológicas destaca (209) el aumento de la proliferación y migración de células epiteliales unido a la inhibición de la actividad de los osteoblastos, liberación de iones calcio del hueso y efecto angiogénico. Asimismo, interviene en el desarrollo tumoral tanto de una forma autocrina como paracrina.

TGF β : es un dímero formado por dos subunidades de 112 aminoácidos, unidas por puentes disulfuro. Tiene un peso molecular de 25.000 daltons. El gen que lo codifica se ha localizado en el brazo largo del cromosoma 19. Esta molécula pertenece a la superfamilia de proteínas que incluye $TGF\beta_1$ hasta $TGF\beta_6$ y proteínas morfogenéticas óseas (BMP) entre otras (209).

Prácticamente todas las células sintetizan $TGF-\beta_1$; actúa como factor de crecimiento paracrino cuando proviene de plaquetas degranuladas o de macrófagos, y como autocrino cuando actúa sobre la membrana de la propia célula que lo produce. Y como todas las células expresan receptores para los TGF, $TGF-\beta_1$ afecta de alguna forma a todos los procesos fisiológicos (210). Produce tanto inhibición como estimulación de la proliferación de células mesenquimales, endoteliales y transformadas. Así mismo, mejora la deposición de matriz colágena extracelular aumentando la síntesis e inhibiendo la degradación, al tiempo que influye en la activación de la quimiotaxis y mitogénesis de osteoblastos precursores. Produce estimulación de la transformación fenotípica de fibroblastos e inhibición de la proliferación de células epiteliales. Además posee efecto inmunosupresor (210) (Tabla 10 y Tabla 11, pág.60).

Algunos autores han sugerido que la efectividad del $TGF\beta$ en prodedimientos de regeneración ósea depende, en gran medida, del sistema en que se transporta mejorando su efecto, por ejemplo, si es en cápsulas de gelatina (211) o en un hidrogel (212).



ESTUDIOS TGFβ <i>in vitro</i>		
Autor y año	Origen celular	Acción de TGFβ
Matsuda N (1992) (166)	Ratas	Inhibición de mitosis células ligamento periodontal
Oates TW (1993)(167)	Humanos	Menor acción mitótica sobre fibroblastos ligamento periodontal que PDGF
Dennison DK (1994) (168)	Humanos	Mayor incremento de proliferación fibroblastos ligamento periodontal que gingivales
Nishimura JF (1996) (170)	Humanos	Estimulación de la migración de fibroblastos lig period y gingivales es dosis dependiente
Jin Gao (1999) (209)	Ratas	Células ligamento periodontal expresan múltiples Rc TGFβ Rc TGFβ2 > Rc TGFβ3
Chien HH (1999) (213)	Ratas	Isoformas 1,2,3 importantes para la inducción de diferenciación de fibroblastos de ligamento periodontal y la síntesis de proteínas no colágenas de la matriz extracelular
Joo L (1999) (214)	Osteoblastos en superficie de HA	Favorece la proliferación osteoblastos, dosis dependiente

Tabla 10: Estudios TGFβ *in vitro*.

ESTUDIOS TGFβ ₁ <i>in vivo</i>			
Autor y año	Animal/humano	Diseño clínico	Acción de TGFβ ₁
Bosh C (1996) (215)	Ratas	Defectos cráneo	No promueve regeneración ósea
Pack M (1998) (216)	Ovejas	Furcas grado III, GTR	Favorece regeneración ósea
Wikesjö UM (1998) (217)	Perros	GTR defectos óseos	No diferencias
Steinvoll S (1999) (218)	Humanos	Enf periodontal crónica	Estimula los procesos de cicatrización
Ruskin JD (2000) (219)	Perros	Defectos cresta alveolar	Aumenta regeneración ósea

Tabla 11: Estudios TGFβ₁ *in vivo*.

Dentro del Factor de Crecimiento Transformante se encuentran englobadas las Proteínas Morfogenéticas Óseas (BMPs) cuyas funciones biológicas son muy variadas como se expresa en la Tabla 12, pág.61 (50). En general, su principal efecto es la osteoinducción, ya que inducen la diferenciación de células multipotenciales que producen cartílago y hueso (57). Poseen acción sinérgica con IGF I en la diferenciación y proliferación de osteoblastos (57).

Las BMPs tienen la capacidad de activar un injerto inactivo de DFDBA (120) consiguiendo pequeños centros de osificación, lo que corrobora el estudio de Schwartz con rhBMP₂ (BMP₂ recombinante humana) (195).



Tipo de BMP	PROPIEDADES	FUNCIONES	LOCALIZACIONES
BMP-1	Proteinasa de procolágeno C	-Activa otras BMPs	
BMP-2	Osteoinductiva	-Embriogénesis -Diferenciación de osteoblastos, condrocitos y adipocitos -Puede influenciar en la actividad de osteoclastos -Puede inhibir la cicatrización ósea	huesos bazo riñones cerebro hígado corazón placenta
BMP-3 osteogenina	Osteoinductiva	-Promueve el genotipo condrogénico	pulmones riñones cerebro intestino
BPM-4	Osteoinductiva	-Embriogénesis	pulmones riñones hígado meninges
BMP-5	Osteoinductiva	-Embriogénesis	pulmones riñones hígado
BMP-6		-Embriogénesis -Maduración neuronal -Regula la diferenciación condrocítica.	pulmones riñones cerebro útero músculos piel
BMP-7 proteína osteogénica 1	Osetoinductiva	-Embriogénesis -Reparación de huesos largos y alveolar -Diferenciación de osteoblastos, condroblastos y adipocitos	huesos glándulas adrenales pulmones riñones vejiga cerebro ojos corazón placenta bazo músculos
BMP-8 proteína osteogénica 2	Osteoinductiva	-Embriogénesis	
BMP-9	Osteoinductiva	-Estimula la proliferación, crecimiento y función de hepatocitos	
BMP-12 y 13		-Inhiben la diferenciación terminal de mioblastos	

Tabla 12: Las BMPs: Propiedades, Funciones y Localizaciones.



Wikesjö (220) no encuentra diferencias en la regeneración ósea, a las 8 semanas en perros, al variar la concentración de rhBMP₂ (0.05, 0.10, ó 0.20 mg/ml) usando como medio de transporte una esponja de colágeno (220); pero si la rhBMP₂ recubre a implantes de titanio, a las 8 semanas en perros, sí aumenta la regeneración ósea al incrementar la concentración de rhBMP₂, no siendo conveniente subir hasta los 3mg/ml porque a esta concentración el hueso que se forma es trabecular inmaduro y se incrementa la remodelación peri-implantaria (221).

La rhBMP₂ consigue resultados satisfactorios en cuanto a volumen óseo obtenido en elevaciones de seno (222) (223), aunque en el contacto hueso implante (BIC) no se produzca diferencia (224).

Su uso resulta positivo en defectos peri implantarios (225) (226) consiguiendo un relleno mucho mayor y buena osteointegración.

En alvéolos post extracción con ausencia de pared vestibular, se consigue relleno óseo con hueso idéntico al nativo insertando en el alvéolo una esponja de colágeno que transporta rhBMP₂, y si la concentración del FC es de 1.5 mg/ml se logra el doble de volumen óseo de relleno (227).

Más recientemente, en 2008, Wikesjö ha realizado ensayos consecutivos sobre primates (228) y perros (229), colocando implantes de titanio con superficie de óxido poroso recubierto de diferentes concentraciones de rhBMP₂, concluyendo que se formaba mayor cantidad de hueso alrededor de los implantes con rhBMP₂ que sin ella presentando, además, menor remodelación inicial, aunque también menor superficie de contacto hueso-implante (BIC).

La combinación rhBMP₂/ BioOss® contribuye positivamente a la regeneración y maduración ósea así como al contacto hueso- implante (230), y parece mejorar la formación de hueso alrededor de implantes fenestrados (78), cosa que no consiguen otros agentes activos como el PRP (Plasma Rico en Plaquetas).

También rhBMP₂, añadida al PRP, mejora la formación y densidad ósea obteniendo un efecto sinérgico entre ambos (231).

En la revisión bibliográfica de Jung RE y cols de 2008 para objetivar el mejor biomaterial para conseguir el aumento de hueso localizado en cresta alveolar, resulta ser rhBMP₂ el más satisfactorio (194).



Factor de Crecimiento Fibroblástico (FGF)

Es una familia de polipéptidos cuya misión es la de controlar funciones celulares, entre ellas la proliferación y diferenciación, en aquellas células derivadas del mesodermo y neuroectodermo. Aunque existen siete formas de FGF, se han descrito extensamente dos de ellas(232):

- El Factor de Crecimiento Fibroblástico Ácido (FGF- α).
- El Factor de Crecimiento Fibroblástico Básico (FGF- β).

El **FGF β** es una cadena peptídica simple compuesta por 146 aminoácidos, su punto isoeléctrico se encuentra alrededor de 6 y su peso molecular entre 16.000 y 18.000 daltons (232).

El **FGF α** es un péptido de 140 aminoácidos, con un punto isoeléctrico comprendido entre 5,6-6 y un peso molecular de unos 15.000 daltons(232).

Estos dos factores de crecimiento están codificados por diferentes genes pero son similares en estructura y función. Sus cadenas peptídicas son homólogas en un 55%. Son potentes mitógenos y quimiotácticos para las células endoteliales y para gran variedad de células mesenquimatosas como los fibroblastos, osteoblastos, células musculares lisas, condrocitos y mioblastos esqueléticos. Ambos FGF se almacenan en la matriz ósea y podrían ser de gran importancia en la regulación osteoblástica (233).

Entre sus acciones biológicas se encuentran la estimulación de la angiogénesis por un mecanismo directo, al promover la mitosis y migración de células endoteliales; y tanto la estimulación como la coordinación de la mitogénesis de múltiples tipos celulares durante el crecimiento, mantenimiento y reparación tisular (Tabla 13 Tabla 14).

Aunque produce disminución de la cantidad de matriz producida, incrementa el número de osteoblastos, por lo que finalmente su efecto es beneficioso en la formación ósea (57).

Con la acción sinérgica de otros factores de crecimiento, va a estimular al máximo la síntesis de ADN y el crecimiento celular (234).

ESTUDIOS FGF β <i>in vitro</i>		
Autor y año	Tipo celular	Acción del FGF β
Terranova VP (1989) (235)	Células ligamento periodontal Células endoteliales	Estimulación de proliferación y migración de ambas Adhesión a dentina descalcificada
Tweden KS (1989) (236)	Células endoteliales	Estimulación de proliferación y migración
Palmon A (2000) (237)	Células ligamento periodontal	Potente regulador del colágeno tipo I

Tabla 13: Estudios FGF β *in vitro*.



ESTUDIOS FGFβ <i>in vivo</i>			
Autor y año	Animal/ Humano	Tipo de ensayo	Acción del FGFβ
Eppley BL (1991) (238)	Conejos	Autoinjerto óseo en tejidos irradiados	Mejora cicatrización y relleno óseo
Schliephake H (1995) (239)	Mini cerdos	Injerto óseo subperióstico con membrana ác. Poliláctico e implantes	No diferencias
Takayama S (1997) (240)	Humanos	Células ligamento periodontal	Inducción crecimiento células inmaduras
Sasaki T (1998) (241)	Humanos	Fibroblastos gingivales	Relación niveles FGF en suero y agrandamiento gingival por fenitoína
Hosokawa R (2000) (242)	Perros	Injerto óseo con membrana ePTFE	Acelera regeneración ósea
Rossa C (2000) (243)	Perros	Furca grado III y membrana	Mejora la regeneración periodontal
McCracken M (2001) (244)	Ratas	Colocación implantes	Incrementa producción hueso peri- implante

Tabla 14: Estudios FGFβ *in vivo*.

Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF)

Se aisló originalmente a partir de cultivos celulares de hipófisis. Se trata de una proteína homodimérica cuya secuencia de aminoácidos tiene una similitud del 24% con el PDGF-BB, pero como se une a distintos receptores va a inducir diferentes efectos biológicos. Es un mitógeno potente y selectivo para las células endoteliales con importante acción angiogénica *in vivo* (245). Parece involucrado en el inicio de la gingivitis y su paso a periodontitis, pero no en la consecución de la misma (Tabla 15).

ESTUDIOS VEGF <i>in vivo</i>			
Autor y año	Animal/ Humano	Tipo de ensayo	Acción del VEGF
Booth V (1998) (246)	Humanos	En enfermedad periodontal	Menores niveles que en salud
Cornellini R (2001) (247)	Humanos	Tejidos peri implantarios	Menores niveles en peri- implantitis
Johnson (1999) (248)	Humanos	Encía normal e inflamada	Importancia como factor de inicio gingivitis y progresión a periodontitis
Roussy Y (2007) (188)	Ratas	Defectos óseos	Mejora la formación de hueso nuevo

Tabla 15: Estudios VEGF *in vivo*.



Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF)

El EGF es una proteína de cadena simple de 53 aminoácidos con tres puentes disulfuro en su estructura. Posee un peso molecular de 5.300-5.500 daltons. Este factor de crecimiento ha sido aislado en las glándulas salivales, glándulas de Brunner, plaquetas, fluido amniótico y cerebrospinal. Se ha comprobado que el EGF estimula la síntesis de ADN y el crecimiento celular de gran variedad de células incluyendo a las células epiteliales, endoteliales y de origen mesodérmico (249).

Entre sus acciones biológicas se encuentran (250) sus efectos mitogénicos y quimiotácticos en fibroblastos (Tabla 16, Tabla 17) y células epiteliales, la estimulación de la formación de tejido de granulación, y la inhibición de la liberación de ácido por la mucosa gástrica.

ESTUDIOS EGF <i>in vitro</i>	
Autor y año	Acción del EGF
Thesleff I (1987) (251)	Elevado número de Rc en restos epit Malassez
Modéer T (1990) (252)	Fenitoína aumenta nº Rc en fibroblastos
Matsuda N (1992) (166)	Aumenta efectos quimiotácticos en fibroblastos ligamento periodontal Suprime síntesis colágeno
Nishimura JF (1996) (170)	Incremento, dosis dependiente, de migración fibroblastos ligamento periodontal y gingivales

Tabla 16: Estudios EGF *in vitro*.

ESTUDIOS EGF <i>in vivo</i>	
Autor y año	Acción del EGF
Cho MI (1988) (253)	Elevado número Rc en fibroblastos lig periodontal, preosteoblastos y precondrocitos
Hormia M (1993) (254)	Concentración en saliva mucho mayor en pacientes con Periodontitis Juvenil

Tabla 17: Estudios EGF *in vivo*.

3.G. PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

La estimulación de la regeneración de los tejidos del organismo ha sido uno de los retos más anhelados por los especialistas; el estudio de los factores de crecimiento junto con el descubrimiento de su liberación por parte de las plaquetas condujo al desarrollo del concentrado de plaquetas autólogo. El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se define como el contenido en plaquetas en forma de sobrenadante obtenido por centrifugación de sangre anticoagulada (255).



Las plaquetas desempeñan un papel fundamental dentro del PRP ya que constituyen la principal fuente de actividad mitógena en el plasma sanguíneo y van a funcionar como vehículo portador de factores de crecimiento y de otras proteínas que desempeñan un importante papel en la biología ósea. De este modo, el objetivo de los tratamientos con PRP es aumentar el número de plaquetas que, de forma natural, están presentes en los procesos regenerativos, y con ello aumentar la cantidad de factores de crecimiento en la zona lesionada.

La aplicación de la fibrina y otros hemoderivados ha sido utilizada en cirugía vascular y traumatología desde la década de los ´70 (256). El uso del coágulo de fibrina en el campo de la cirugía oral y maxilofacial lo refiere Matras en 1982 (256), el cuál describió las cualidades de este producto y su aplicación como sellado de tejidos, hemostático y acelerador de la cicatrización. Posteriormente, en 1985, el mismo autor (257) presentó los casos en los que utilizaba este coágulo: anastomosis de nervios, hemostasia en defectos de tejidos blandos, y como sustituto de la sutura en la fijación de injertos de piel y fracturas óseas. El coágulo de fibrina desarrollado por Matras (256) se comercializó en Europa bajo el nombre de Tissel®, sin embargo este producto no fue aprobado en EEUU por el riesgo de transmisión viral. Este hecho hizo que se desarrollaran sistemas para la preparación autóloga de este material (258), aunque también surgieron inconvenientes, como el coste y su largo tiempo de preparación.

El descubrimiento de factores de crecimiento en el adhesivo de fibrina autólogo (AFA), despertó el interés de los investigadores, ya que este producto podía actuar no sólo como agente osteoconductor y transportador de injertos, sino como posible factor osteoinductor (4) (5).

En 1994, Tayapongsak (3) introdujo la novedosa idea de la aplicación de un coágulo de fibrina en la reconstrucción de defectos mandibulares junto con injerto óseo autógeno, constatando radiográficamente más rápida consolidación ósea, y atribuyendo a la red de fibrina un incremento de la osteoconducción sobre las células osteógenas del injerto. También refiere su utilización como vehículo para la compactación de injertos, aunque ya se utilizara de esta manera habitualmente en traumatología (259). El objetivo que se propusieron los investigadores fue aumentar la concentración de factores de crecimiento en ese coágulo, comenzando así las investigaciones sobre lo que hoy conocemos como plasma rico en plaquetas (PRP).

El adhesivo de fibrina autólogo (AFA) debe diferenciarse del PRP, puesto que el primero es un concentrado múltiple de fibrinógeno, factor XIII, y fibronectina y posee baja concentración en factores de crecimiento, mientras que el PRP es un concentrado plaquetario rico en factores de crecimiento. Whitman, en 1995, (7) detalló las diferencias entre el AFA y el PRP proponiendo algunas posibles aplicaciones del PRP en cirugía bucal y maxilofacial, como reconstrucciones mandibulares, procedimientos de elevación de seno, fisuras palatinas y los relacionados con la colocación de implantes.

En 1998, Marx y cols (8), aplicaron sus estudios sobre PRP, y refirieron la existencia de un incremento del número de plaquetas en este concentrado de un 338% con respecto a los niveles basales plaquetarios, mostrando la presencia de al



menos tres factores de crecimiento (PDGF, TGF- β 1 y TGF- β 2), y refiriendo la existencia de receptores en el hueso para dichos FC. La utilización de este preparado junto con injerto óseo autógeno en reconstrucciones mandibulares demostró que producía una aceleración y aumento en la densidad del hueso formado a los 6 meses respecto del grupo control, valorado mediante radiografías panorámicas. La activación del PRP la realizaron mediante la adición al preparado de trombina bovina (8).

En 1999, Anitua (9) refirió la utilización del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) en pacientes que presentaban enfermedad periodontal, susceptibles de tratamiento implantológico, y en pacientes con fracturas verticales en dientes que se sustuirían mediante implantes unitarios, con resultados significativamente mejores, desde el punto de vista de la regeneración y maduración ósea con respecto al grupo control y además, este procedimiento estaría exento de riesgos, de contagio o rechazo, para el paciente. Según el mismo autor, el gel de PRGF al contener fibrina actúa en la fase inicial como estroma provisional y por su contenido en factores de crecimiento favorece la quimiotaxis, la proliferación y la diferenciación celular. En 2006, Esposito y cols (78) realizan una revisión bibliográfica de la que se deduce que usar PRP no mejora la formación de hueso en fenestración de implantes.

TÉCNICAS PARA LA OBTENCIÓN DE PRP

Existen diferentes protocolos para la obtención del concentrado plaquetario, de acuerdo a distintos sistemas e incluso a cada autor; así sólo en un sistema es necesario un único centrifugado (PRGF BTI Vitoria, España), mientras que en los demás se requieren dos ciclos, ya sea en quirófano o en gabinete dental (Curasan PRP Kit, Smart PReP System, PCCS 3i, Plasma Seal, PRP Friadent- Schütze method y Platéele Concentrator) (Tabla 19). De todos ellos, tan sólo el Smart PReP y el PCCS están aceptados por la FDA (Federación Dental Americana) para la producción de PRP. En España, el método más habitual es el PRGF BTI implants GAC medicale, que es el que se ha utilizado en el presente trabajo experimental y cuyo proceso de obtención se detalla en el apartado Material y Método (pág.81).

La variabilidad de sistemas es, actualmente enorme, pero no todos ellos buscan obtener un PRP similar, sino que cada uno pretende acompañar el concentrado plaquetario con algún otro componente (260) (Tabla 18).

CONCENTRACIÓN DEL PRP

Una importante razón para mejorar los métodos para aislar el PRP es el uso potencial de los factores de crecimiento autógenos de las plaquetas. Sin embargo no existe consenso en lo denominado *concentración óptima del concentrado plaquetario*, a pesar de que existen estudios comparativos entre los distintos sistemas de obtención de PRP. En tres interesantes artículos Weibrich evaluó la capacidad de concentrar plaquetas y factores de crecimiento con diversos sistemas de producción de PRP (Tabla



19). Se evaluaron la plasmaféresis de banco de sangre (Blood Bank), Curasan Kit, Smart PreP, Friadent, PCCS y PRGF (261) (262) (263) (264).

Los análisis muestran que la mayor concentración de plaquetas se consigue con PCCS (265) obteniendo con ello altos valores en factores de crecimiento. Se aprecia que con el sistema Curasan existe un elevado recuento de PDGF, y no de plaquetas, que concuerda con el alto número de leucocitos que presenta, ya que éstos son también productores de PDGF (266). Por otro lado, se observa una relación directa entre el concentrado de plaquetas y el recuento de TGF- β en todos los sistemas.

Sistema de obtención PRP	Productos en PRP
Vivostat, PRGF	Plaquetas
Curasan Kit, Regen Plateltext, Magellan Smart PReP, PCCS	Plaquetas y Leucocitos
Fibrinet	Plaquetas y Fibrina
Choukroun	Plaquetas, Leucocitos y Fibrina

Tabla 18: Clasificación de sistemas de obtención de PRP, según los productos obtenidos.

Número centrifugados	Sistema	[n ^o P/ μ l] Plaquetas	[n ^o L/ μ l] Leucocitos	(ng/ml) PDGF-AB	(ng/ml) TGF-b1	(ng/ml) IGF-I
2	Banco de sangre	1.434.300	160	133,59	268,65	85,37
	Curasan Kit	908.500	30.130	233,70	95,02	101,72
	Smart PReP	1.227.890	19.261	208	77,2	91,4
	Friadent-Schütze	1.440.500	21.691	251,6	196,8	72,8
	PCCS	2.232.500	15.300	251,8	467,1	91,0
1	PRGF	513.630	65	47	73	

Tabla 19: Concentración de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento con diferentes sistemas de obtención (261) (262) (263) (264).

La concentración de IGF-I fue similar en todos los procedimientos (261). Aunque el sistema Friadent concentra mayor número de plaquetas y factores de crecimiento que el Smart PReP, el autor considera el Smart PReP mejor sistema que el Friadent basándose en su mayor facilidad de manejo y menor tiempo de preparación (263). El sistema PRGF concentra una menor cantidad tanto de PDGF-AB como de TGF- β (264), y posee la ventaja de realizarse con un único ciclo de centrifugado.



Según los estudios de Weibrich, existe una amplia variabilidad en las concentraciones de factores de crecimiento obtenidas en función del sistema elegido, aunque parecen necesarios estudios posteriores que determinen que estas variaciones tengan clínicamente un efecto biológico diferente.

El mismo autor opina que la edad y el sexo no son factores modificadores de la concentración de plaquetas en sangre (262) y, aunque teóricamente los niveles de factores de crecimiento en el PRP dependen del número de plaquetas concentradas (267), los datos obtenidos por Weibrich no demuestran una correlación estadísticamente significativa entre ambos parámetros (262). La diferencia vendría justificada por la elevada variación interindividuo respecto a la cantidad de los distintos tipos celulares involucrados en la producción o almacenamiento de los factores de crecimiento, por lo que cada persona necesitaría diferentes concentraciones de plaquetas para conseguir un efecto biológico similar; y así, aunque la concentración plaquetaria óptima del PRP todavía no ha sido descrita, Weibrich (268) llega a sugerir que mientras concentraciones por debajo de 1.000.000/ μ l presentan un efecto subóptimo, concentraciones superiores podrían, paradójicamente tener efectos inhibitorios.

Otros autores como Marx (8) consideran que más que la concentración de factores de crecimiento en el PRP, lo importante es la concentración de receptores para los mismos en las células diana.

Para una mejor comprensión de la evolución de los estudios del PRP se han agrupado en tres bloques, uno inicial *in vitro* y dos bloques *in vivo*, uno sobre animales y otro sobre humanos.

Los estudios *in vitro* tratan de dilucidar los posibles efectos del PRP sobre las células óseas. La inhibición de la diferenciación osteoblástica atribuida al PRP (269) en altas concentraciones, y dentro de él a los factores de crecimiento PDGF (270), EGF (271), y TGF β (270) a altas concentraciones (5-10ng/ml), se valora por los bajos niveles de ALP (fosfatasa alcalina) observados. Al mismo tiempo, la alta concentración de PRP incrementa la proliferación osteoblástica (269) (272) lo que puede deberse a su alto contenido en PDGF (270) que posee un elevado poder mitógeno. También tiene este efecto el TGF β a altas concentraciones (5-10ng/ml) (270), así como el IGF-I (271), aunque este último tenga poca presencia dentro del PRP frente al PDGF y TGF β 1(273) que limitarán su efecto. Bajos niveles de TGF β (<1ng/ml) favorecen la diferenciación observada en altos niveles de ALP y osteocalcina (270).

Parece muy relevante el poder sinérgico de los factores de crecimiento ya que su aplicación conjunta demuestra efectos sinérgicos en la proliferación celular y la síntesis de proteínas colágenas y no colágenas de la matriz.

Varios autores, en estudios sobre células humanas y de diferentes animales, consideran que el concentrado de plaquetas promueve las funciones proliferativas y quimiotácticas de las células óseas (274) posiblemente debido a un efecto sinérgico de todos los factores de crecimiento existentes en el concentrado plaquetario (275) (276). Por otra parte la acción de estos factores de crecimiento provoca un descenso tanto de



la actividad de ALP como de la formación de mineral(277). Estos datos sugieren que los componentes solubles contenidos en el concentrado plaquetario pueden afectar al proceso de cicatrización ósea modulando diferentes funciones de las células óseas.

EXPERIMENTACIÓN ANIMAL: APLICACIÓN DE PRP										
Autor año	Animal exper.	Proceso clínico	pruebas	resultados	PRP	PRP +Bio Oss	PRP +hº autólogo	PRP+ hºliof	PRP+ TCP	PRP+ Otros
Fennis JP (2002) (278)	cabras	Resección áng mand	Clínica Rx	Mejora formac hº			v			
Kim SG (2002)(279)	perros	Defectos peri impl	Histología Histomorf	Mejora formac hº				v		
Kim SG (2002) (280)	perros	Defectos peri impl	Histología Histomorf	Aumenta BIC						v
Aghaloo TL (2002)(281)	conejos	Defectos craneales	Histología Rx	No diferencias	∅		∅			
Fürst G (2003) (282)	Mini cerdos	Elevación seno	Histología	Mejor inic No dif final		∅				
Zechner W (2003) (283)	Mini cerdos	Post exo+ impls	Histología	Inicialm mejora BIC	v					
Schlegel KA (2003) (284)	Cerdos	Def óseo en frontal	Micro Rx	No diferencias			∅			∅
Jakse N (2003) (285)	Ovejas	Elevación seno	Histología Histomorf	No diferencias			∅			
Kovács K (2003) (286)	Perros	Post exo	Histología Histomorf	Acelera remod hº						v
Choi BH (2004) (287)	Perros	Resección mandíbula	Histología	No diferencias			∅			
Aghaloo TL (2004)(288)	Conejos	Defectos cráneo	Histomorf Rx	Mejora formac hº no inicial		v				
Fennis JP (2004) (289)	Cabras	Resección áng mand	Histología Histomorf	Mejora formac hº			v			
Yazawa M (2004) (290)	Conejos	Def mand y cráneo	Histología Rx	Acelera inicio reg.h	v				v	
Roldán JC (2004) (291)	Mini cerdos	Elevación seno	Histomorf Micro Rx	No mejora a rhBMP7						∅
Roldán JC (2004) (292)	Mini cerdos	Elevación seno	Histomorf Micro Rx	Mejora formac hº		v	v			
Wiltfang J (2004) (293)	Mini cerdos	Defectos cráneo	Micro Rx Inm Histol	Mejoría inicial		∅	v/∅		∅	
Schlegel KA (2004) (294)	Cerdos	Defectos cráneo	Histología Micro Rx	Mejoría inicial			v/∅			
Weibrich G (2004) (268)	Conejos	Impls en def. fémur	Histomorf	No diferencias	∅					
Fontana S (2004) (295)	Ratas	Impls en def. tibia	Histomorf	Mayor reg. hº	v					
Suba Z (2004) (296)	Perros	Post exo	Histología Histomorf	Acel. inic, > mesénqu osteogénico					v	
Velich N (2004) (297)	Perros	Defectos mandíbula	Histología Histomorf	Mejora reg. Hº					v	
Jensen TB (2005) (298)	Perros	Cóndilo fémur	Histomorf	No diferencias				∅		



EXPERIMENTACIÓN ANIMAL: APLICACIÓN DE PRP										
Autor año	Animal exper.	Proceso clínico	pruebas	resultados	PRP	PRP +Bio Oss	PRP +hº autólogo	PRP+ hºIiof	PRP+ TCP	PRP+ Otros
Butterfield KJ (2005) (299)	Conejos	Elevación seno	Histología Histomorf	No diferencias			∅			
Sánchez AR (2005) (300)	Perros	Defcs 3 paredes peri-impl	Histomorf	Mejora BIC No difs reg Hº				∅		
Aghaloo TL (2005) (301)	Conejos	Defectos cráneo	Rx	Mejora reg. Hº				√		
Masahiko N (2005) (302)	Perros	Furcas grado II	Clínica Histología	>crecim. h <invas.Epit						√
Pryor ME (2005) (303)	Ratas	Defectos cráneo	Histología Histomorf	No diferencias						∅
Pryor ME (2005) (304)	Ratas	Defectos cráneo	Rx	No diferencias						∅
Thorwath M (2006) (305)	Cerdos	Defectos en Frontal	Micro Rx	No diferencias		∅				
Thorwath M (2006) (305)	Cerdos	Defectos en Frontal	Micro Rx	Inic peor mineraliz Final no dif			∅			
Plachokova A (2007) (306)	Ratas	Defectos cráneo	Histología Histomorf	Mejor inic No dif final		√/∅			∅	
Roussy Y (2007) (188)	Ratas	Defectos cráneo	μ tomografía	No diferencias	∅					
Akça K (2007) (307)	Conejos	Defectos cresta alv	Histología	Mejor 6s No dif 8s	∅					
Park EJ (2008)(231)	Ratas	Defectos cráneo	Histología Rx	Sinérgico rhBMP2						√
Pieri F (2008) (308)	Mini cerdos	Elevación seno	Histomorf	Mejor formac hº y BIC						√
Hatakeyama (2008) (309)	Conejos	Defectos parietales	Histología Rx	No difs en 15 días			∅			
Plachokova A (2009) (310)	Ratas	Defectos parietales	Histología μtomograf	Mejor 2s No dif post			√/ ∅			
Simon BI (2009)(311)	Perros	Alvéolo post extracción	Histología Clínica	Mejor solo No difs con DFDBA	√			∅		
Nagata MJ (2009)(312)	Conejos	Defectos parietales	Histología Histomorf	Mejor 4se No dif post			√/ ∅			
Anitua E (2009) (313)	Cabras	Defectos óseos	Histología	Acelera formac hº e integr impl	√					
Pessoa RS (2009) (314)	Monos	Alvéolos post exo	Histología Histometr	> producc hº trabecul	√					
Torres J (2010) (315)	Conejos	Defectos cráneo	Rx Histolog Histomorf	>Aumento vertical		√				
Mioloro M (2010) (316)	Conejos	Defectos mandíbula	Histología Rx	No diferencias			∅			

Tabla 20: Resultados de diferentes estudios que evalúan el uso de PRP en experimentación animal. ∅ no se observan efectos beneficiosos con el uso de PRP, √ Se observan efectos beneficiosos con el uso de PRP



EXPERIMENTACIÓN SOBRE HUMANOS: APLICACIÓN DE PRP									
Autor y año	Proceso clínico	Pruebas	Resultados	PRP	PRP+ Bio Oss	PRP +hº autólogo	PRP+ hºliof	PRP+ TCP	PRP+ otros
Marx RE (1998-99) (8) (154)	Reconstrucción mandíbula defs óseos	Rx	> concentración trabecular en 6 meses			√			
Anitua E (1999) (9)	Alvéolo post extracción	Histología Clínica Rx	Acelera formación epitelio y reg ósea	√		√			
Kassolis JD (2000)(317)	Aumento cresta alv. y Elevación seno	Histología Clínica	Reduce a mitad tiempo cicatrización				√		
Rosenberg E (2000) (318)	Elevación seno	Rx	Reduce a la mitad tiempo cicatrización			√			
Shanaman R (2001) (319)	Aumento cresta alv	Clínica	No diferencias	∅					
Danesh-Meyer MJ (2001) (320)	Elevación seno	Histología	No diferencias		∅		∅		∅
Robiony M (2002) (321)	Osteodistracción	Clínica	Aceleración reg ósea			√			
Froum SJ (2002)(322)	Elevación seno	Histología	No mejora calidad h		∅	∅			
Wiltfang J (2003)(323)	Elevación seno	Histomorf	Algo > formación hueso					∅ √	
Rodríguez A (2003)(324)	Elevación seno	Rx	Algo > formación hueso		√				
Philippart P (2003) (325)	Elevación seno	Histología	Mejora reg ósea y facilita su uso			√			
Wojtowicz A (2003) (326)	Relleno alvéolo post avulsión	Rx	Correcta formación ósea		√				
Oyama T (2004)(327)	Defectos tablas óseas	TAC	Mejora integración injs			√			
Hanna R (2004) (328)	Defectos periodont 2 paredes	Rx Clínica	Mejora reg periodontal		√				
Mazor Z (2004) (329)	Elevación seno	Rx Clínica	Acelera cicatriz tejs blandos y reg ósea			√			
Simon D (2004) (330)	Exo 3er molar	Clínica Rx	Mejora cicatriz tejs blandos Acelera reg ósea	√					
Okuda K (2005) (331)	Defs interprox P Crónica	Clínica Rx	Mejoría clínica y Rx						√
Steigman M (2005) (332)	Elevación seno	Rx	Se puede usar si altura >7mm	√					
Döri F (2007) (333)	Defs óseos P Crónica GTR	Clínica	No diferencias		∅				



EXPERIMENTACIÓN SOBRE HUMANOS: APLICACIÓN DE PRP									
Autor y año	Proceso clínico	Pruebas	Resultados	PRP	PRP+ Bio Oss	PRP +hº autólogo	PRP+ hºliof	PRP+ TCP	PRP+ otros
Lee CY (2008) (334)	Elevación seno	Histología Histomorf	Supervivencia 100% impls en 6 meses de carga inmed			√			√
Döri F (2008) (335)	Defos óseos P Crónica GTR	Clínica	No diferencias						∅
Döri F (2008) (336)	Defos óseos P Crónica GTR	Clínica	No diferencias					∅	
Gürbüz B (2008) (337)	Exo 3er M mandibular	Escintigrafía ósea	No diferencias	∅					
Torres J (2009)(338)	Elevación seno	Histología Histomorf	Aumenta vol nuevo hueso		√				
Döri F (2009)(339)	Defos óseos P Crónica	Clínica	No diferencias		∅				
Rutkowski JL (2010) (340)	Exo 3er M mandibular	Rx digital	>densidad 2s =densidad 6s	√					

Tabla 21: Resultados de diferentes estudios que evalúan el uso de PRP en experimentación sobre humanos. ∅ no se observan efectos beneficiosos con el uso de PRP, √ Se observan efectos beneficiosos con el uso de PRP

El gel de Plasma Rico en Factores de Crecimiento(9)(56) tiene una serie de características que lo hacen muy indicado para su uso en clínica, representando una modalidad terapéutica asequible, tanto por economía como por infraestructura; así, Obarrio (341) (342) no sólo considera el efecto positivo del PRP debido a la liberación de factores de crecimiento y a su seguridad frente a infecciones (contiene elevadas concentraciones de leucocitos) y rechazos (es un preparado autólogo), sino también a sus propiedades físicas y químicas ya que, por su alto contenido en otras proteínas (fibrina, fibronectina y vitronectina) aporta hemostasia, osteoconducción, adhesividad y resistencia a la tracción para la estabilización del coágulo, así como de los biomateriales que se asocien, lo que tiene gran importancia en las primeras fases de los procedimientos de regeneración ósea. Así mismo, es biológicamente aceptable para la superficie radicular, favorece la angiogénesis y estimula la cicatrización de las heridas.

Por lo tanto parecen ser variadas las causas por las que el PRP actúa sobre procedimientos regenerativos tisulares.



III. OBJETIVOS



1. Observar microscópicamente la génesis ósea en defectos alveolares postextracción dentaria, sin realizar ninguna técnica de conservación del reborde alveolar apoyada en el uso de injertos.
2. Estudio comparativo entre los resultados derivados del primer objetivo y el uso de PRP (Plasma Rico en Plaquetas).
3. Estudio comparativo entre los resultados del primer objetivo y con el uso de hueso autólogo y/o liofilizado desmineralizado.
4. Estudio comparativo entre los resultados del primer objetivo y con el uso de hueso autólogo y/o liofilizado desmineralizado con PRP.
5. Estudio comparativo de las ventajas derivadas de la utilización de los diferentes modelos citados, y su posible aplicación clínica referida a la colocación de implantes dentales.



IV. MATERIAL Y MÉTODOS



1. MUESTRA

La elección de los pacientes se ha basado en sus necesidades de tratamiento con implantes osteointegrados consecuente a la extracción de piezas dentarias debido a su pronóstico imposible por enfermedad periodontal, fractura vertical o diente incluído sin posibilidad de colocar en la arcada (Tabla 22), con defectos óseos verticales mayores de 8 mm y/o circunferencial, y en los que exista dehiscencia o fenestración ósea de la tabla vestibular, debido a lo cual necesitarán de técnicas de regeneración ósea para obtener un volumen óseo adecuado para la colocación, en esos lugares, de los implantes dentales con técnica habitual.

ETIOLOGÍA	Frecuencia	Porcentaje
<i>Fractura vertical</i>	14	22%
<i>Infección Periodontal</i>	46	72%
<i>Incluidos</i>	4	6%
TOTAL	64	100%

Tabla 22: Distribución de la muestra según la etiología de la pérdida dentaria.

Todos los pacientes presentarán defectos óseos de similares características en, al menos, dos lugares de la misma arcada dentaria (Tabla 23), y ninguno de ellos será portador de enfermedad o adicción concomitante.

LOCALIZACIÓN	Frecuencia	Porcentaje
<i>Superior</i>	48	75%
<i>Inferior</i>	16	25%
TOTAL	64	100%

Tabla 23: Distribución por arcadas de los defectos óseos tratados en la muestra.



Se han incluido en el estudio 33 pacientes adultos con edades comprendidas entre 20-74 años, distribuidos por sexo según la Tabla 24.

SEXO	Frecuencia	Porcentaje
Mujer	15	45.5%
Hombre	18	54.5%
TOTAL	33	100%

Tabla 24: Distribución de la muestra por sexo.

2. MÉTODOS

Se han extraído las muestras de los lugares en que se colocarán implantes, puesto que de todas formas se eliminaría ese tejido óseo (\emptyset 3mm) al colocar el implante (\emptyset 4.1mm), y buscamos causar el menor daño posible al paciente.

3. INSTALACIONES

Para la fase clínica y quirúrgica se han utilizado las instalaciones de la Clínica PerioSalamanca, y para el procesado histológico el Departamento de Anatomía e Histología Humanas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

4. PROTOCOLO QUIRÚRGICO

4.A. MATERIAL QUIRÚRGICO

- Mango de bisturí circular
- Hojas de bisturí del nº 5
- Espejo intraoral
- Sonda periodontal
- 2 Jeringas de autoaspiración
- Agujas
- Irrigador de suero salino
- Aspirador quirúrgico
- 2 separadores de Minnesota
- Periostotomo
- Separador de Prichard
- Cincel de acción posterior



- Cureta universal 4R/4L
- Pinzas mosquito
- Pinza de 3 picos
- Pinza de Adson multidiente corta
- Pinza de Adson multidiente larga
- Pinzas Gubia
- Mortero óseo
- Raspador óseo
- Martillo
- Bateas
- Porta agujas de Castroviejo
- Tijeras de Mayo
- Sutura de ácido poliglicólico de 4/0
- Fresa de Trefina Ø 3mm Straumann®
- Motor de implantes de Nobel Biocare®
- Pieza de Mano de Nobel Biocare®
- Fresas de preparación del lecho implantario Straumann®
- Implantes dentales Straumann®, superficie SLA, Ø4.1mm, longitudes 10 y 12mm

4.B. MATERIAL COMPLEMENTARIO

- Hueso liofilizado: hueso cortical desmineralizado, desecado y congelado. Transplant Services Foundation, Barcelona, España.
- Centrífuga G.A.C. Medicafe España® BTI.
- Anestésico: Lidocaína con Adrenalina al 2%. Laboratorios Inibsa.
- Antisépticos:
 - Extraoral: Iodóforo (Betadine®) preoperatorio
 - Intraoral: Bisbiguanida Clorhexidina 0.2% (Perio-Aid®) preoperatorio y postoperatorio durante 15 días
- Antibiótico: Amoxicilina 1gr 1/8 horas durante 8 días postoperatorio
- Analgésico- Antiinflamatorio: Ibuprofeno 600mg 1/8 horas durante 8 días postoperatorio

4.C. PLANIFICACIÓN PREOPERATORIA

Puesto que los casos no fueron provocados, se llevó a cabo el diagnóstico previo a cualquier actuación por nuestra parte, habiendo estudiado con anterioridad todas las pruebas complementarias que creímos necesarias para realizar el tratamiento más adecuado a cada paciente (Fig. 15, pág.81); una vez confeccionado el diagnóstico, y elaborado el plan de tratamiento a seguir, se le explicó al paciente



solicitándole un consentimiento informado que nos autorizara a llevar a cabo las actuaciones convenientes.

Ya que ninguno de los pacientes escogidos para este estudio era portador de enfermedad o adición concomitante, no requerimos de medicación alguna previa a las actuaciones quirúrgicas a desempeñar.

4.D. TÉCNICA QUIRÚRGICA

- **Primera intervención:** extracción y colocación de injerto.

Se pretende eliminar el diente afectado y todo el tejido infeccioso circundante, dañando lo menos posible el soporte óseo, y realizando una técnica de conservación del reborde alveolar mediante injertos colocados en el alvéolo.

Para ello se hicieron incisiones intrasulculares alrededor de cada diente a extraer, y verticales de descarga o liberadoras para poder movilizar los colgajos de espesor total, que se levantaron hacia apical, más allá de la unión mucogingival, en la superficie vestibular con el fin de exponer los dientes a extraer. Después de extraer la pieza dentaria, se desbridó el alvéolo, y una vez el lecho alveolar estuvo totalmente limpio, se procedió a rellenarlo con el material de injerto escogido según la ocasión, bien fuera hueso liofilizado, hueso autólogo, plasma rico en factores de crecimiento o una mezcla de los mismos, o bien se dejó con sólo el coágulo de sangre.

En el **primer grupo** se dispuso en la clínica, en el momento de la cirugía, de frascos de hueso liofilizado del banco de hueso TSF que se hidrataron en suero salino previo a su uso.

En el **segundo grupo** se tomó hueso autólogo del paciente durante el acto quirúrgico, procedente de remodelado de cresta alveolar, de mentón (cortical y medular) o de cresta ilíaca (medular). Las partículas excesivamente grandes se machacaron con el mortero de hueso para adecuarlas. Se conservó hidratado en suero salino hasta su uso.

En el **tercer grupo** se realizó al paciente, previo al comienzo de la cirugía, una extracción de sangre venosa periférica de tantos tubos citratados como se estimó necesario, según las dimensiones del defecto óseo a rellenar. A continuación se procedió a la preparación del gel de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), según se explica a continuación.

En el **cuarto grupo** se prepararon tanto el hueso como el gel de plasma rico en factores de crecimiento y se mezclaron (Fig. 17, Fig. 18, Fig. 19, pág.82).

Finalmente, con el fin de conseguir el cierre primario de la herida, se suturaron los bordes con sutura de ácido poliglicólico de 4/0 logrando mínima retención de placa



bacteriana para obtener una mejor curación de la herida quirúrgica.

Se prescribió al paciente, Amoxicilina 1gr 1/8 horas e Ibuprofeno 600mg 1/8 horas, ambos durante 8 días, y enjuagues con Clorhexidina al 0.2% 3v/día durante 15 días, realizados 30 minutos después del cepillado dental.

La retirada de la sutura se realizó entre 10 y 12 días después.



Fig. 15 Rx previa donde se aprecia la destrucción ósea periapical.



Fig. 16 Rx a los 4 meses donde se observa el puente óseo neoformado.

Sistema de único centrifugado: BTI en gabinete dental.

- 1- Se realiza la extracción de sangre venosa periférica unos minutos antes de comenzar la cirugía. Se utilizan tubos estériles citratados (anticoagulante citrato sódico 13.8%).
- 2- A continuación se procede a la preparación del gel de plasma rico en factores de crecimiento centrifugando la sangre (centrífuga G.A.C. Medicafe- España® BTI) durante 7 minutos a 270 g (1400 r.p.m.) a temperatura ambiente, para estratificarla en tipos celulares.
- 3- El plasma se separa en fracciones mediante pipeteado meticuloso para no crear turbulencias en las porciones obtenidas. Los primeros 0.5cc pertenecen al plasma pobre en plaquetas, y por tanto pobre en factores de crecimiento. Los siguientes 0.5cc corresponden a un plasma con un número de plaquetas similar al de la sangre periférica. La fracción de plasma más rica en plaquetas y así en FC, corresponde a los siguientes 0.5cc, que se encuentran inmediatamente por encima de la serie roja.
- 4- Para provocar la formación del coágulo se añade ClCa al 10% en proporción de 0.05 cc por cada centímetro cúbico de PRP. Normalmente tardará entre 5 y 8 minutos en formarse, pero si se quiere acelerar el proceso basta con igualar la temperatura a la del cuerpo (37°C) y el coágulo se establecerá en 2-3 minutos.

5- Las dos primeras fracciones se activarán de la misma manera para obtener fibrina autóloga, útil como membrana o tapón hemostático, dado su alto poder cicatrizante.



Fig. 17 Hueso liofilizado y PRP no activado.



Fig. 18 Hueso liofilizado añadido al PRP activándose.

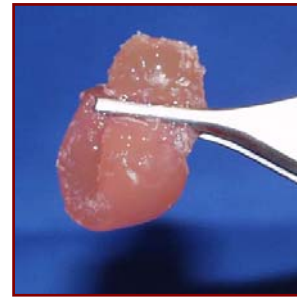


Fig. 19 Gel de PRP activo mezclado con espículas de hueso liofilizado.

- **Segunda intervención:** toma de biopsia y colocación del implante dental.

Transcurridos entre 2- 13 meses de curación de los tejidos, se citó al paciente para la intervención de colocación de implantes dentales, previo a la cuál se procedió a la obtención de una radiografía de control (Fig. 16, pág.81) de cada lugar en estudio.

De cada paciente se recogió un mínimo de 2 muestras, una de cada uno de los lugares donde se realizó regeneración por injerto, y otra de una localización donde no se colocó ninguna sustancia aunque existiera el defecto óseo (grupo control: curación natural).

Para obtener las biopsias y colocar los implantes dentales, una vez administrada la anestesia local, se diseñó un colgajo con incisión supracrestal y elevación de colgajo mucoperióstico (espesor total) con incisiones verticales liberadoras para obtener mejor visibilidad y mejorar el cierre posterior de la herida.

Ya expuesto el hueso, se identificaron los lugares objeto de estudio, y se evaluó clínicamente tanto su volumen como la calidad ósea obtenida.



Fig. 20 Fresa de treфина para obtención de biopsia.

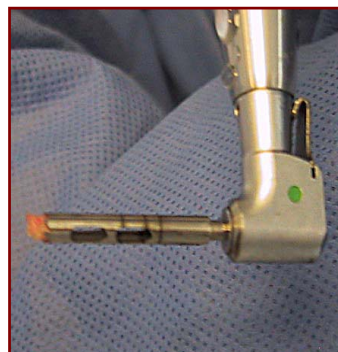
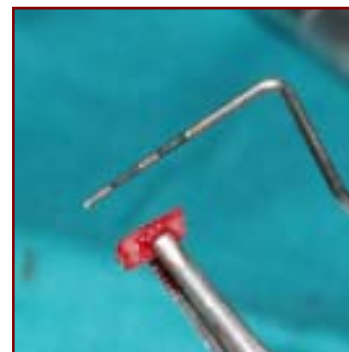


Fig. 21 Cilindro de hueso obtenido.



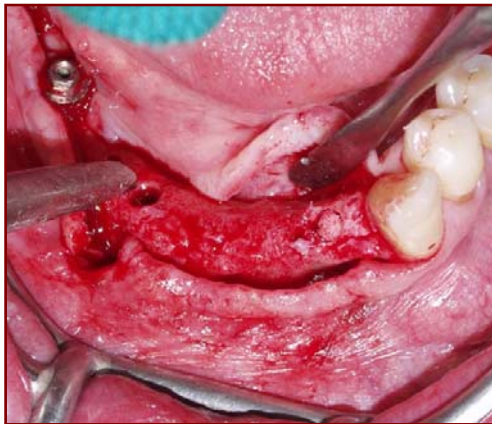


Fig. 22 Huellas de la fresa trefina sobre el hueso regenerado. Izq extraído, dcha en hueso.

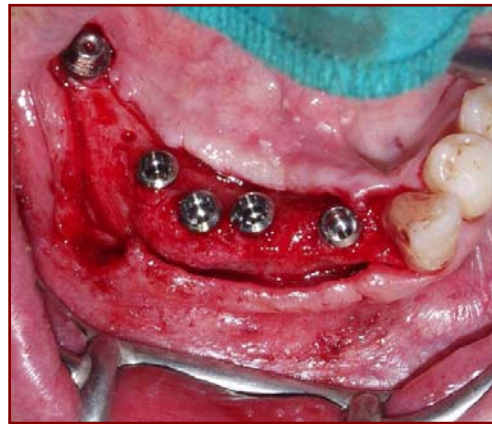


Fig. 23 Implantes colocados en los lugares de cilindros para analizar.

Una vez marcada la ubicación de cada implante, y que se correspondía con una localización de estudio, utilizamos una fresa de trefina (\varnothing 3mm, Straumann®) con irrigación de suero salino (Fig. 20, pág.82) tomando un cilindro de hueso con parte cortical y parte esponjosa (Fig. 21, Fig. 22), de 7 mm de longitud.

Cada cilindro se incluyó en un frasco con formol tamponado al 10%, etiquetado según un código previsto, y recogido en una base de datos confeccionada a tal efecto.

Se acabó de preparar el lecho implantario con las fresas necesarias, procediendo a colocar los implantes dentales (Straumann®, superficie SLA, \varnothing 4.1mm, longitudes 10 y 12mm) en el hueso alveolar regenerado (Fig. 23). Suturada la herida, se tomó un registro radiográfico de cada uno de ellos (Fig. 24).



Fig. 24 Radiografías periapicales de control, posteriores a la colocación de los implantes.

Se prescribió al paciente, al igual que ocurriera en la primera intervención, Amoxicilina 1gr 1/8 horas e Ibuprofeno 600mg 1/8 horas, ambos durante 8 días, y enjuagues con Clorhexidina al 0.2% 3v/día durante 15 días.

Pasados 7 días se retiró la sutura, haciendo en el mismo momento un nuevo control radiográfico.

Se realizaron nuevas revisiones cada mes, controlando posibles problemas en la cicatrización e insistiendo en los controles de placa al paciente.

Transcurridos 2 meses en inferiores y 4 meses en superiores, se comenzaron los trabajos de confección de la prótesis implantosoportada.

Cuando se conectaron definitivamente las prótesis, se hizo un nuevo control radiográfico, así como al año de función.

5. PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO

5.A. INCLUSIÓN

La muestra llega al Dpto de Histología donde habrá tubos de vidrio preparados con una base de de metil-metacrilato polimerizado, para proceder a la inclusión en metacrilato de las muestras de tejido óseo.

- **Preparación de los tubos**

Deben llenarse los tubos de vidrio con la mezcla de metil-metacrilato hasta una altura de 2.5 cm, cerrándose herméticamente con papel de parafilm® y depositándolos en la estufa a 32 °C hasta que el metil-metacrilato endurezca. Se sacan de la estufa y se tienen en reserva para la inclusión.

Componentes del metil-metacrilato

100 ml M-metacrilato (monómero estabilizado de hidroquinona)

20 ml Nonifenol poliglicol-éter acetato (Plastoid N)

2 ml Dibutil-ftalato

5 gr Peróxido de benzoilo



El catalizador (Peróxido de benzoilo) se adiciona de inmediato. Una vez preparada la mezcla, se guarda en un frasco cerrado, en nevera a 4 °C. Antes de abrir la botella se espera a que esté a temperatura ambiente.

- **Inclusión y corte de las muestras**

La pieza se ha fijado en formol por lo que se lava con agua destilada durante uno o dos días y se introduce en un cassette etiquetado. Posteriormente se deshidrata a temperatura ambiente y constantemente agitada, pasándola por alcoholes en orden creciente (70°, 96° y absoluto) 24 horas en cada uno.

A partir de este momento, se introduce en un recipiente con metil-metacrilato guardado en el frigorífico, para que la pieza se embeba en él.

Reposará 2 semanas en agitación.

A continuación en un tubo con la base de metacrilato se introduce la pieza y una etiqueta de papel cebolla con el código de la muestra, se recubre de metil-metacrilato, se etiqueta el tubo por fuera, y se tapa con parafilm para que no entre aire. Se mete en la estufa para su polimerización. Una vez polimerizado, entre 5 y 6 días, se rompe el tubo y queda sólo el bloque (Fig. 25, Fig. 26), que se comienza a cortar con una sierra para acercarse a la muestra, antes del corte definitivo (Fig. 27).

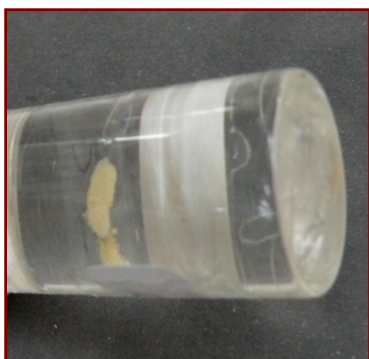


Fig. 25 Cilindro con pieza ósea incluida. Vista longitudinal



Fig. 26 Cilindro con pieza ósea incluida. Vista transversal.

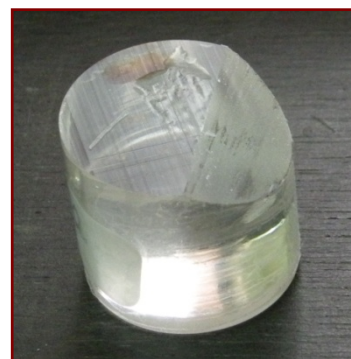


Fig. 27 Cilindro serrado con pieza ósea incluida.

Serrado el bloque, se lija y se coloca en el microtomo *Microm HM 350 S* (Fig. 28). Tanto el bloque como la cuchilla se pincelarán con alcohol de 70° constantemente. Los primeros cortes se realizan a 30µm hasta llegar a la pieza ósea, vigilando y mojando con alcohol.



Fig. 28 Cilindro colocado en el microtomo para su corte.

Una vez se llega a la pieza, se empieza a cortar a $5\mu\text{m}$ rehusando los primeros cortes que salen. Se pone el corte de $5\mu\text{m}$ sobre un portaobjetos gelatinado con gelatina de Haupt. Se echan encima unas gotas de alcohol de 95° y, pasados 5-6 minutos, se cubren con un film de polietileno y se aplanan con el dedo o con un rodillo de goma. El plástico no envuelve al porta sino que se deja colgando. Se van apilando los portas con los cortes cubiertos por el film uno encima de otro y cuando se tienen unos 30 se colocan en la prensa con unos soportes de madera o metacrilato de 5 ó 8 mm de grosor. Se aprieta la prensa hasta encontrar resistencia. Permanecerán en la estufa 24 horas a 60°C .

- **Gelatinado de los portaobjetos**

Composición de la gelatina de Haupt

- 1 gr de gelatina
- 100 ml de agua destilada
- 15 ml de glicerina
- 2 gr de fenol

Calentar el agua a 55°C y echar la gelatina. Cuando se enfríe añadir la glicerina y el fenol.

Para gelatinar el portaobjetos se pondrá una gota de gelatina sobre él y se extenderá ayudándonos con otro porta.

Como se ha comentado, una vez colocados los cortes sobre los portas se les cubre con un film plástico y se llevan a la estufa, durante 24 horas, con una prensa para que queden bien pegados al porta.

Sacar el film del polietileno, y desplastificar hasta agua destilada colocando los portas en metil-acetato durante unos 20 ó 30 minutos y lavando posteriormente en alcoholes decrecientes hasta agua destilada. A continuación se procede a la tinción.

5.B. TINCIONES

Las microfotografías que se presentan en este trabajo están realizadas con las técnicas que se exponen a continuación, por lo que se obviará su descripción en cada una de las figuras presentadas.

- Tinción de **Von Kossa**

1. Nitrato de plata al 3 %, 5 min.
2. Agua destilada, 5 min, dos veces.
3. Formol-carbonato de sodio, 5 min.
4. Agua corriente 10 min.
5. Sulfato de sodio al 5 %, 5 min.
6. Agua corriente, 10 min.
7. Ponceau de xilidina (Tabla 25) 45 min.
8. Lavado rápido en ácido acético al 1 %.
9. Lavado rápido en agua destilada.
10. Diferenciar en ácido fosfotúngstico- Orange G (Tabla 25) 7 min.
11. Lavado rápido en acético al 1 %.
12. Lavado rápido en agua destilada.
13. Deshidratar y montar.



- **Tinción Tricrómico de Goldner**

1. Hematoxilina férrica 15 min.
2. Agua corriente 10 min.
3. Ponceau de xilidina 45 min.
4. Lavado rápido en ácido acético al 1 %.
5. Lavado rápido en agua destilada.
6. Diferenciar en ácido fosfotúngstico- Orange G. 7 min.
7. Lavado rápido en ácido acético al 1 %.
8. Lavado rápido en agua destilada.
9. Verde luz (Tabla 25) 15 min.
10. Lavado rápido en ácido acético al 1 %.
11. Lavado rápido en agua destilada.
12. Deshidratar y montar.

- **Tinción Azul de Toluidina**

1. Azul de Toluidina 1% durante 10 min.
2. Alcohol de 100º 5 min.
3. Carboxilol 30 seg.
4. Aclarado en Xylol 3 pasos de 5 min cada uno.
5. Montar.

<i>Ponceau de xilidina</i>	<i>Ácido fosfotúngstico orange G</i>	<i>Verde luz</i>
200ml agua destilada	200ml agua destilada	200ml agua destilada
2gr Ponceau de xilidina	2gr ácido fosfotúngstico	0.4gr verde luz
0.4ml ácido acético glacial	1gr orange G	0.4ml ácido acético glacial
1gr fucsina ácida		

Tabla 25: Productos para las tinciones.



6. MATERIAL ICONOGRÁFICO

Para obtener las imágenes intraquirúrgicas, se utilizó una cámara fotográfica digital Nikon E-10.

Las radiografías digitales se capturaron con un aparato de radiografía intraoral Trophy CCX Digital Computer controlled X Ray Timer y Hardware de radiovisiografía RVG Trophy 2000.

Las imágenes microscópicas de las muestras histológicas se captaron utilizando una máquina fotográfica *Nikon digital Sight DS-smc* acoplada a un microscopio óptico *Nikon eclipse 90i*, y digitalizadas directamente por un programa capturador de imágenes *MetaMorph Meta Imaging Series 6.1*.

Para las mediciones histométricas se empleó una lupa *Zeiss- Stemi 2000-C* a la que se acopló la cámara *Nikon Digital Camera Dxm1200*, y el software de tratamiento de imágenes *MetaMorph Meta Imaging Series 6.1*.



V. RESULTADOS



1. ESTUDIO HISTOLÓGICO. MORFOMETRÍA

En el conjunto de pacientes que constituyen los distintos grupos experimentales de este estudio, concurrió la necesidad de realizar, al menos, dos extracciones dentarias, debido a diferentes causas que motivaban un pronóstico imposible para la conservación de las mismas. La posibilidad, en la actualidad, de colocar implantes dentales que sustituyan a las piezas dentarias perdidas, en un solo acto quirúrgico, al tiempo de la extracción, no estaba indicada con la técnica habitual, debido a que el volumen óseo existente tras la extracción dentaria era insuficiente a causa de la elevada discrepancia de diámetros (del alvéolo respecto al del implante) y la ausencia de integridad de la pared vestibular alveolar. Todo ello hacía imposible llevar a cabo, con éxito, la inserción de los implantes dentales siguiendo la técnica habitual. A causa de esto, se decidió conservar el espacio del alvéolo post extracción para obtener relleno de tejido óseo del mismo, válido para soportar los implantes dentales, sirviéndonos de diferentes materiales que, supuestamente, ayudan a la regeneración ósea, y que son de uso habitual en la clínica odontológica.



Los diferentes materiales empleados han sido la razón utilizada para dividir la muestra en los cuatro grupos del estudio, para así poder facilitar una mejor comprensión de los diferentes hallazgos encontrados.

Grupo I: En este grupo se incluyen aquellos alvéolos en los que, para obtener el proceso regenerativo necesario, para la colocación posterior del implante en una segunda fase, se realizó la sutura de los bordes quirúrgicos (a espesor total), sin ninguna maniobra adicional tendente a la regeneración ósea.

Grupo II: Engloba los casos en los que, ante las mismas necesidades, se realizó injerto de hueso (autólogo o liofilizado desmineralizado) en el alvéolo, con sutura quirúrgica de los bordes (a espesor total) promoviendo, supuestamente, la regeneración del hueso alveolar.

Grupo III: Esta muestra recoge los casos en los que se colocó, en el alvéolo post extracción, Plasma Rico en Plaquetas (PRP), suturando (a espesor total), posteriormente, los bordes de la herida.

Grupo IV: Está integrado por las muestras obtenidas de los casos en que se injertó, en el alvéolo post extracción, una mezcla de PRP con hueso autólogo y/o liofilizado desmineralizado, para a continuación proceder a la sutura (a espesor total).

La descripción de los casos, en cada grupo, se hará en orden cronológico ascendente (de menor a mayor tiempo desde la exodoncia a la toma de biopsia). Para guiar la exposición, se presenta, al inicio de cada grupo, una tabla con los resultados de las mediciones histomorfométricas realizadas, cuyos datos nos han proporcionado, entre otros, una gráfica de la secuencia temporal de la mineralización del tejido óseo neoformado.

Aunque se puede trazar una secuencia de cambios histológicos en las estructuras estudiadas, fundamentalmente tejido óseo y conectivo, en relación con el factor tiempo, existe una cierta variabilidad interindividual en la respuesta de los tejidos.

Por tanto, con fines expositivos, se procederá a la descripción de la secuencia temporal del proceso regenerativo, haciendo mención, cuando se considere útil o relevante, a peculiaridades individuales.



Grupo I

Este grupo comprende 20 casos, pertenecientes a 18 pacientes, en los que únicamente se practicó la extracción dentaria y posterior sutura de los bordes. Los periodos de tiempo de obtención de las muestras oscilan entre los 2 y los 13 meses. En la tabla adjunta (Tabla 26) se detallan el código de identificación, la pieza dentaria que fue extraída y la arcada a la que pertenecía, el porcentaje de mineral y no mineral obtenido en la medición histomorfométrica con la técnica de Von Kossa, los meses transcurridos hasta la toma de biopsia, la edad y sexo del paciente.

Identificación	pieza	arcada	% mineral	% no mineral	meses	edad	sexo
AAR	12	Sup	22,40	77,60	4	39	V
IFP	15	Sup	33,34	66,66	4	53	M
JASM	32	Inf	58,15	41,85	4	50	V
LP	26	Sup	47,14	52,86	4	46	M
UCR	44	Inf	82,79	17,21	4	54	V
CBB	11	Sup	14,25	85,75	4,5	43	V
CBB	22	Sup	49,13	50,87	4,5	43	V
JCG	32	Inf	39,99	60,01	4,5	55	V
CHFC	14	Sup	62,56	37,44	5	45	V
FFD	25	Sup	41,94	58,06	5	54	M
PJHM	16	Sup	38,31	61,69	5	45	V
PJHM	24	Sup	37,52	62,48	5	45	V
SSVG	21D	Sup	39,21	60,79	5	33	M
ID	15	Sup	16,51	83,49	6	57	M
JFG	28	Sup	38,23	61,77	6,5	57	V
JGC	15	Sup	39,44	60,56	7	52	V
PRC	15	Sup	38,72	61,28	8	35	M
FB	11	Sup	23,68	76,32	11	45	V
FGM	37	Inf	31,39	68,61	11	48	M
JIZV	24	Sup	51,45	48,55	13	38	V

Tabla 26: Grupo I. Mediciones histomorfométricas (%mineral versus %no mineral).



En la siguiente gráfica (Tabla 27) se detalla la secuencia temporal de mineralización, obtenida a partir de la tabla anterior; en ella se representan, en ordenadas los porcentajes de mineral, en color azul, y de no mineral, en color rojo; y en abscisas los distintos tiempos de menor (4 meses) a mayor (13 meses). A pesar de que existen grandes diferencias interindividuales, se puede extraer una tendencia a una mayor mineralización del tejido de la muestra en relación con el tiempo.



Tabla 27: Grupo I. Gráfica secuencial temporal de mineralización. Abscisas= Meses, ordenadas=%.

A continuación, pasamos a describir los distintos hallazgos histológicos encontrados en los cilindros óseos en los diferentes tiempos.

Transcurridos **4 meses**, se aprecia hueso trabecular rodeado de tejido conectivo (Fig. 29, pág.97), en sus variedades laxo, denso y escasamente adiposo (Fig. 29), muy vascularizado. Los vasos, de bordes irregulares, están muy dilatados; algunos de ellos transcurren paralelos a la superficie trabecular, la cual presenta, con frecuencia, un frente osteoblástico asociado, mientras que otros se encuentran inmersos en el interior del tejido conectivo (Fig. 29, Fig. 30, pág.97).

En las áreas donde el hueso es más maduro se empiezan a formar osteonas con hueso laminar (Fig. 31, pág.98), mientras que en las más inmaduras, abunda la sustancia osteoide asociada a un frente osteoblástico (Fig. 32, pág.98).

Quince días más tarde, a los **4.5 meses**, parece como si el proceso de síntesis ósea se frenara, dando una imagen constituida por un hueso trabecular quiescente, con escasa o nula sustancia osteoide y sin frentes osteoblásticos en la superficie ósea (Fig. 33, pág.99, Fig. 34, Fig. 35, pág.100). Este tejido óseo, dadas sus características de hueso primario, sufrirá procesos de adaptación y posterior remodelación ósea (Fig. 35).

A los **5 meses**, el hueso presenta escasa actividad osteosintética, con muy poca sustancia osteoide (Fig. 36, Fig. 37, pág.101), y asimismo se observan fenómenos de remodelación, atestiguados por el contorno irregular de los bordes trabeculares (Fig. 37). La mayor parte del tejido conectivo se ha transformado en tejido adiposo (Fig. 36, Fig. 37) aunque quedan restos de tejido conectivo denso (Fig. 36). La mayoría del tejido óseo se encuentra bien mineralizado (Fig. 37).

A los **6.5 meses** el cilindro de hueso está constituido por trabéculas gruesas anastomosadas entre sí formadas por tejido óseo organizado, laminar, (Fig. 38, pág.102) aunque quedan algunas áreas de hueso inmaduro de arquitectura desorganizada con osteocitos alojados en grandes lagunas osteocitarias (Fig. 38), y en el que se pueden observar fibras colágenas dispuestas sin orden aparente (Fig. 39, pág.102). La superficie de las trabéculas óseas presenta una moderada actividad osteosintética, con finos ribetes de sustancia osteoide en los bordes trabeculares y algo más anchos en los lugares de confluencia de las espículas óseas (Fig. 38).

Pasados **8 meses**, las muestras nos ofrecen un tejido óseo trabecular organizado, en gran parte remodelado, con presencia de escasa osteoide en la superficie trabecular (Fig. 40, pág.103). Se observan grandes vasos rellenos de sustancia, positiva a las tinciones, presumiblemente de naturaleza mineral (Fig. 40, Fig. 41, pág.103). Los espacios intertrabeculares están rellenos por conectivo laxo y adiposo (Fig. 40, Fig. 41). La superficie trabecular está tapizada por epitelio plano simple de tipo endóstico (Fig. 41).

A partir de los **11 meses** y hasta el final en la experiencia de este grupo, la mayor parte del tejido óseo, de arquitectura trabecular, es de tipo secundario o haversiano (Fig. 42, Fig. 43, pág.104) presentándose osteonas maduras, centradas por conductos vasculares, haversianos (Fig. 44, pág.105). Se observan células planas de recubrimiento en los bordes trabeculares (Fig. 42). El tejido conectivo, de variedades laxa y adiposa, está bien vascularizado (Fig. 42, Fig. 43). En ocasiones se observan vasos dilatados de eje mayor paralelo a la superficie trabecular (Fig. 43). No obstante, todavía es posible observar en el interior de algunas trabéculas la existencia de restos de tejido óseo primario no laminar (Fig. 45, pág.105).



Resumiendo, en este grupo podemos secuenciar la reparación natural del alvéolo post extracción. Hemos observado, con la técnica de Von Kossa, que a los 4 meses el tejido óseo trabecular ya se halla correctamente mineralizado, y comienza a organizarse de forma laminar (Fig. 31, pág.98). La síntesis ósea se presenta muy activa hasta los 4 meses (Fig. 29, pág.97, Fig. 32, pág.98), decayendo rápidamente a continuación (Fig. 33, pág.99). Es a partir del 5º mes cuando se comienzan a observar indicios de remodelación ósea que coincide con la existencia de trabéculas más finas (Fig. 37, pág.101). El tejido óseo no será mayoritariamente maduro hasta los 8 meses (Fig. 40, pág.103). Llama la atención, en este grupo, que aún a los 13 meses de evolución el tejido óseo no se encuentre totalmente remodelado, persistiendo algunas áreas de hueso inmaduro (Fig. 45, pág.105), en general en el interior de trabéculas cuya periferia está constituida por hueso laminar. La presencia de osteoclastos implicados en el proceso de reabsorción/ remodelación ósea no ha quedado patente, ya que no hemos encontrado ninguna célula de este tipo.

La evolución del tejido conectivo circundante es progresiva encontrándose, a los 4 meses, en menor cantidad la variedad densa que la laxa, y coincidiendo con la aparición de la adiposa (Fig. 29, pág.97). Ésta va aumentando hasta representar la mayor parte del componente conectivo a los 11 meses (Fig. 42, pág.104). La vascularización presenta características especiales, observándose a los 4 meses grandes vasos dilatados de finas paredes con contorno irregular, bien asociados a un frente osteoblástico, o inmersos en el tejido conectivo (Fig. 30, pág.97). Esta dilatación vascular prosigue hasta el final del estudio de este grupo (Fig. 43, pág.104). En ocasiones se encontraron estos vasos, adyacentes a los bordes trabeculares, rellenos de sustancias positivas a la tinción (Fig. 40, pág.103).



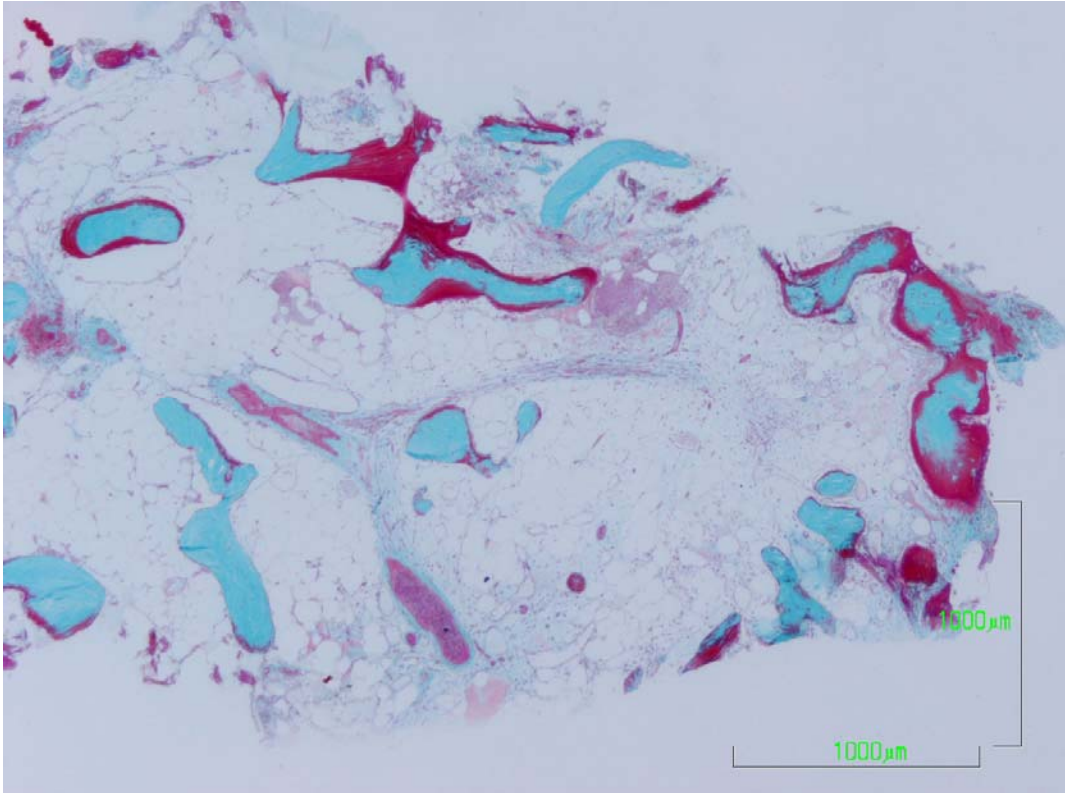


Fig. 29 Grupo I. 4 meses. Goldner. Panorámica con múltiples fragmentos de tejido óseo trabecular rodeados de tejido conectivo, en sus variedades laxo, denso y adiposo, sin distribución aparente y muy vascularizado. Se observan algunos vasos más dilatados en diferentes localizaciones.

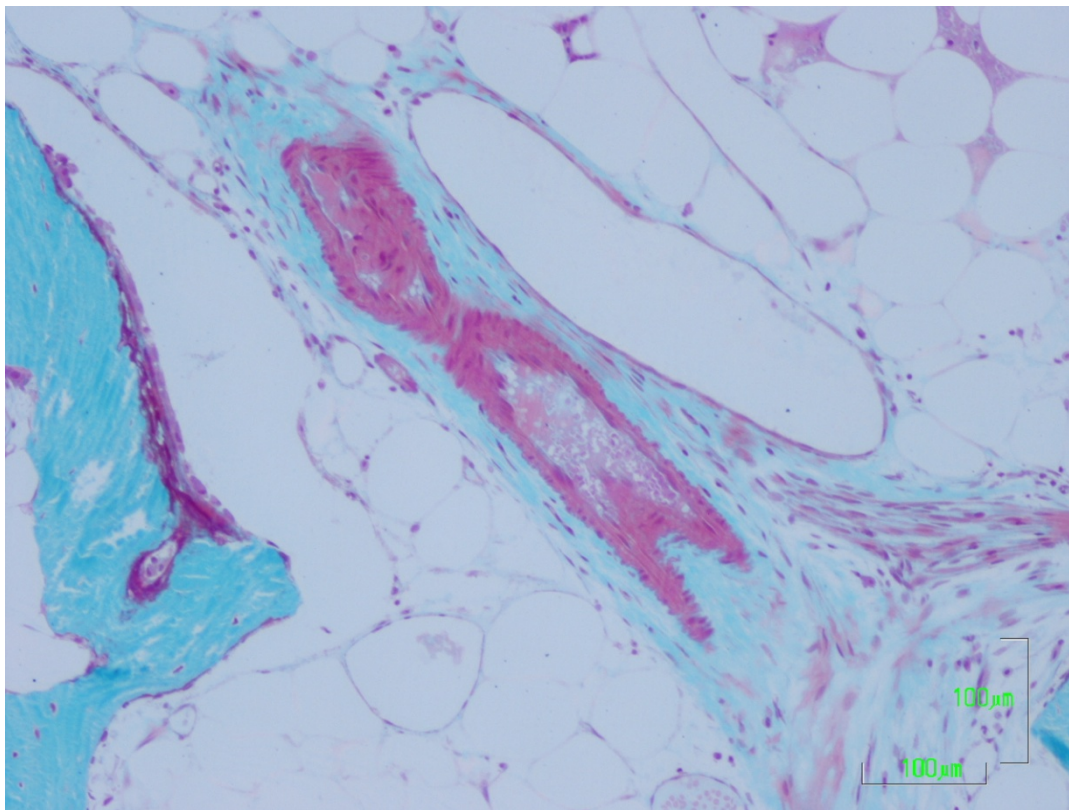


Fig. 30 Grupo I. 4 meses. Goldner. Semipanorámica mostrando grandes vasos; unos en el interior del tejido conectivo (laxo y adiposo), y otros, adyacentes al borde trabecular, el cuál presenta un frente osteoblástico activo. En el centro de la imagen, rodeado por tejido conectivo, se observa un vaso sanguíneo con pared muscular.

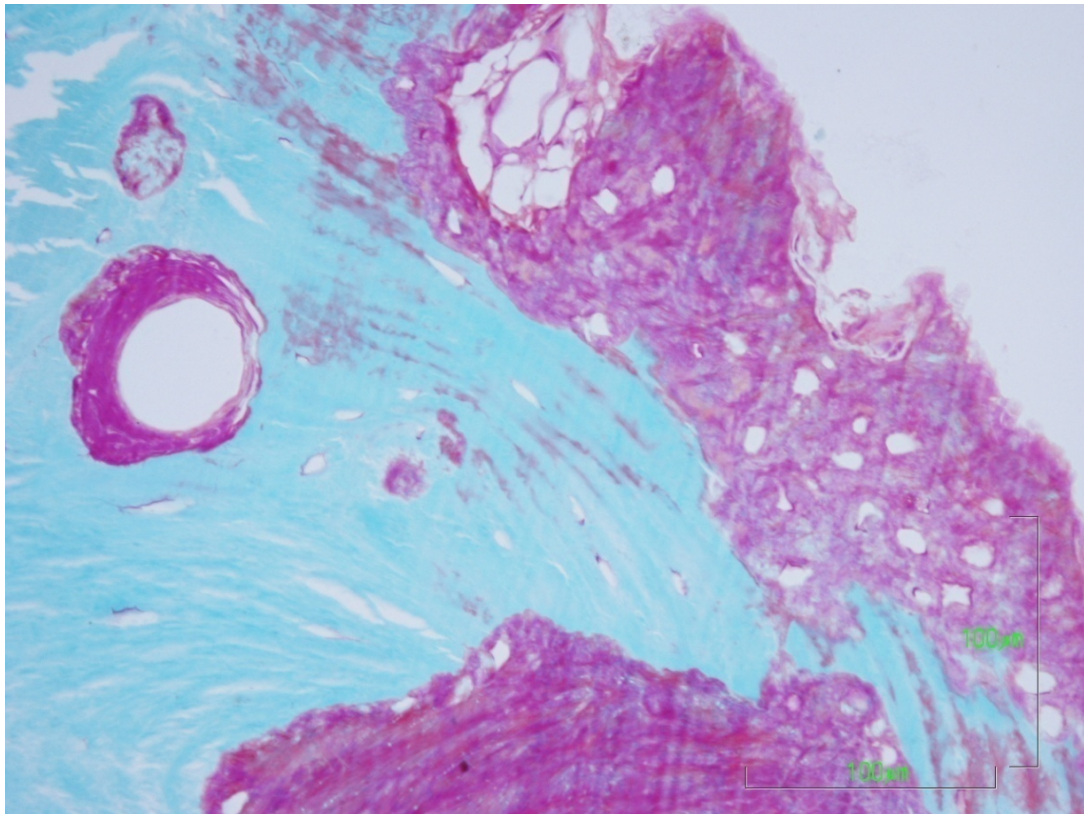


Fig. 31 Grupo I. 4 meses. Goldner. Semipanorámica mostrando canal vásculo- nervioso alrededor del que se está disponiendo hueso laminar (formación de osteona). Adyacente matriz osteoide activa con un foco de tejido adiposo.

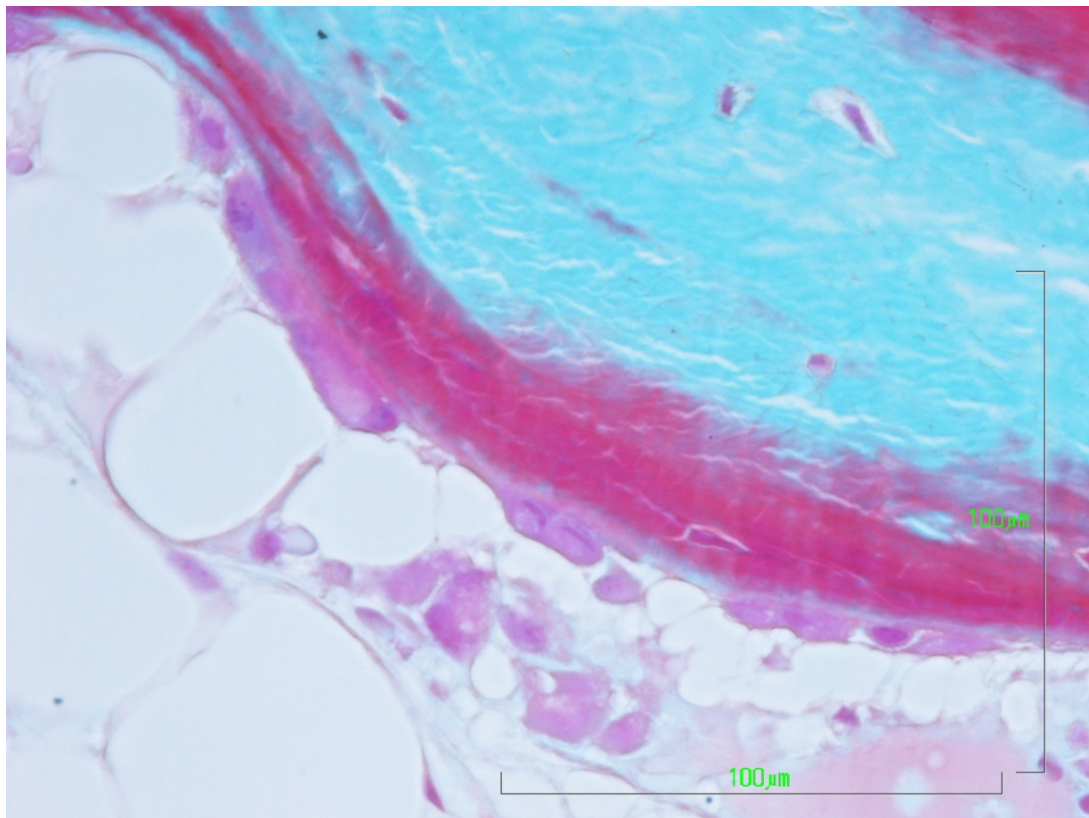


Fig. 32 Grupo I. 4 meses. Goldner. Detalle de frente osteoblástico que recubre a la sustancia osteoide en proceso de formación. Adyacente, se observa tejido adiposo.

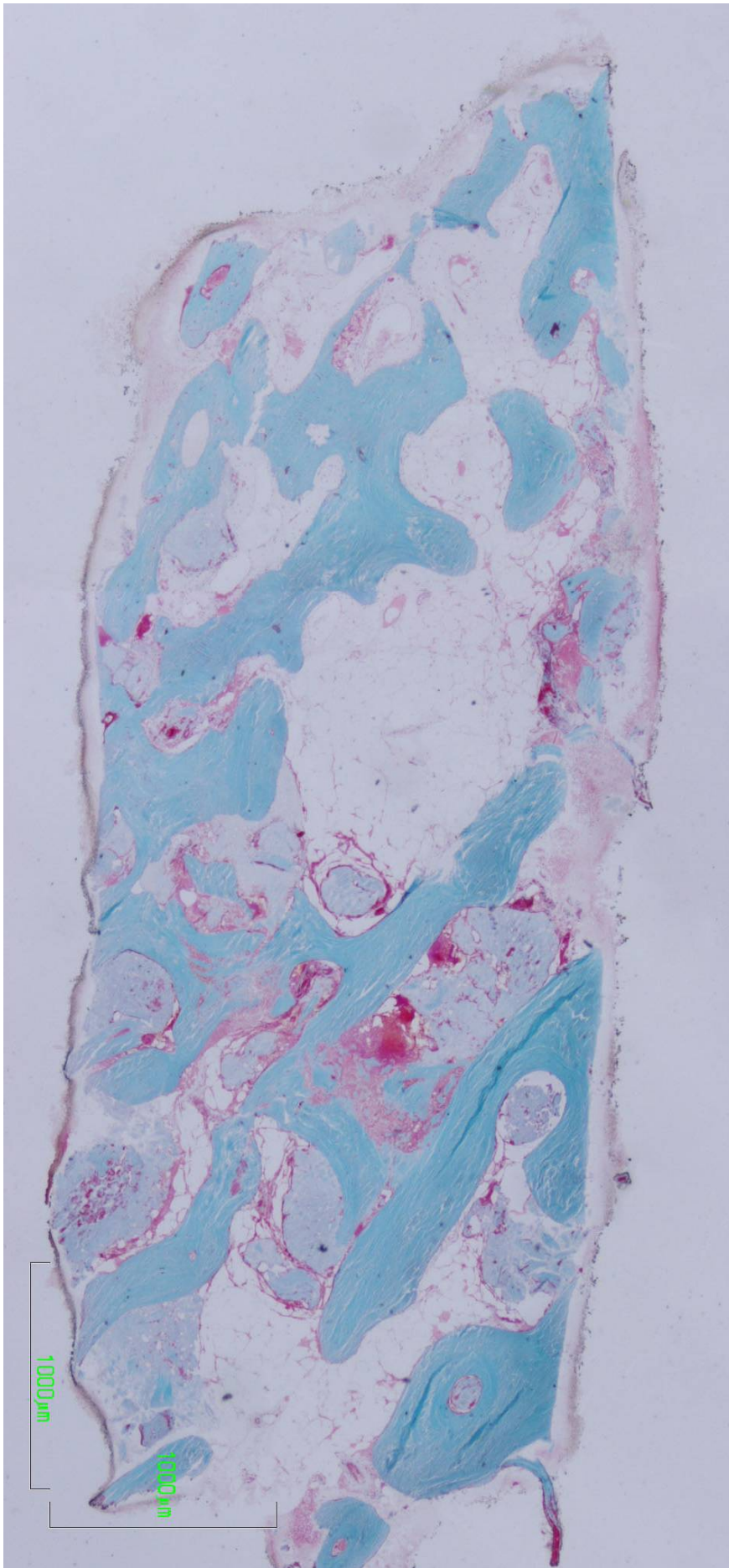


Fig. 33 Grupo I. 4.5 meses. Goldner. Panorámica de corte, longitudinal y medio, de cilindro en el que se observa tejido trabecular de hueso laminar quiescente, con canales vasculo conectivos que forman osteonas primarias. El tejido conectivo es, en su mayoría, adiposo.

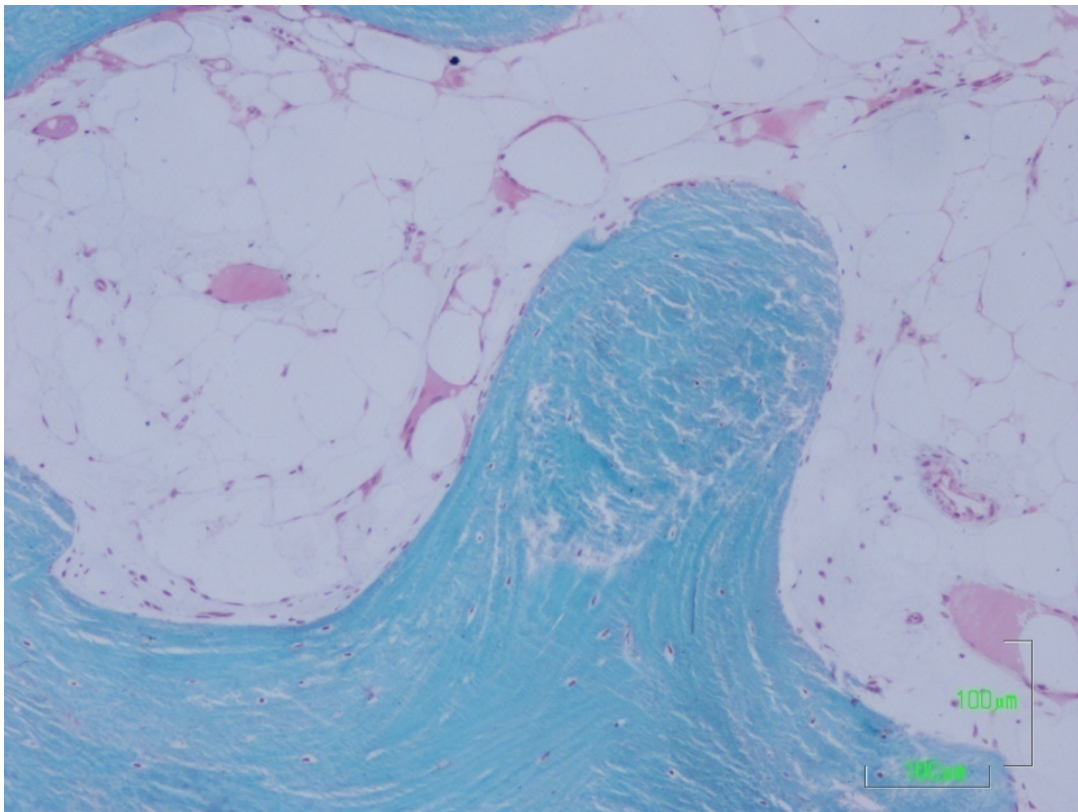


Fig. 34 Grupo I. 4.5 meses. Goldner. Semipanorámica de trabécula, de tejido óseo maduro, sin actividad. Está rodeada de tejido adiposo bien vascularizado.

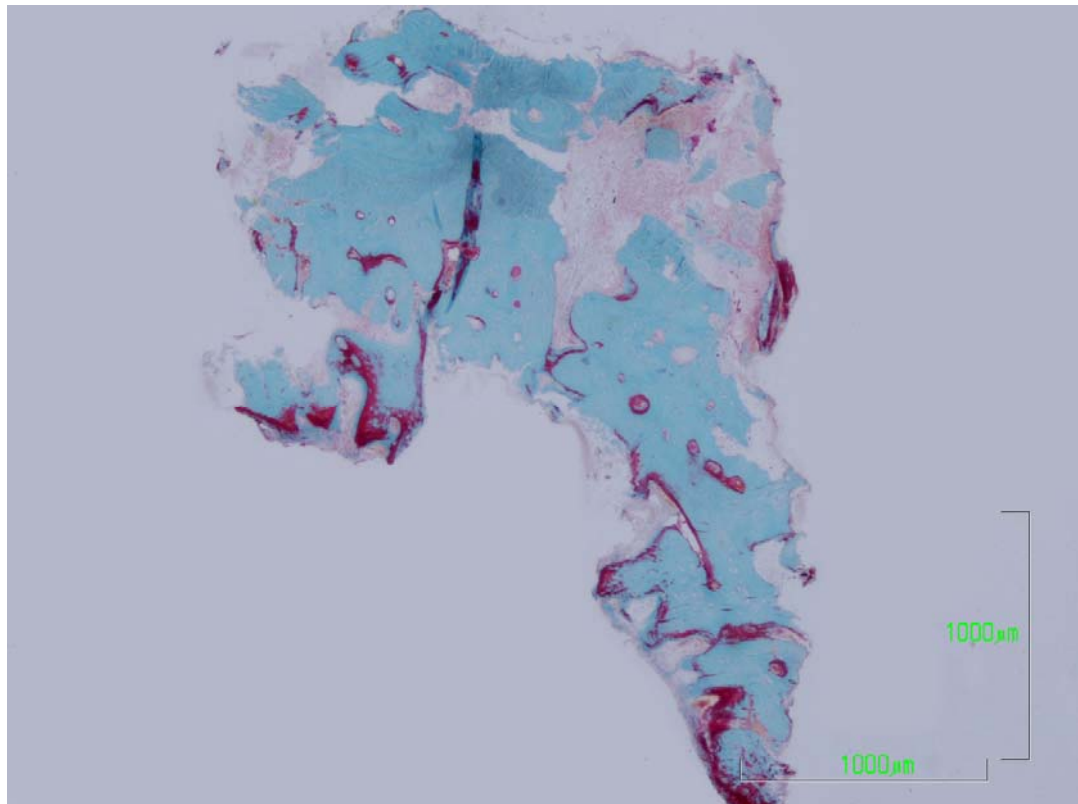


Fig. 35 Grupo I. 4.5 meses. Goldner. Panorámica de hueso compacto, con abundantes osteonas en formación, y escasa actividad osteosintética. No se aprecia remodelación ósea.

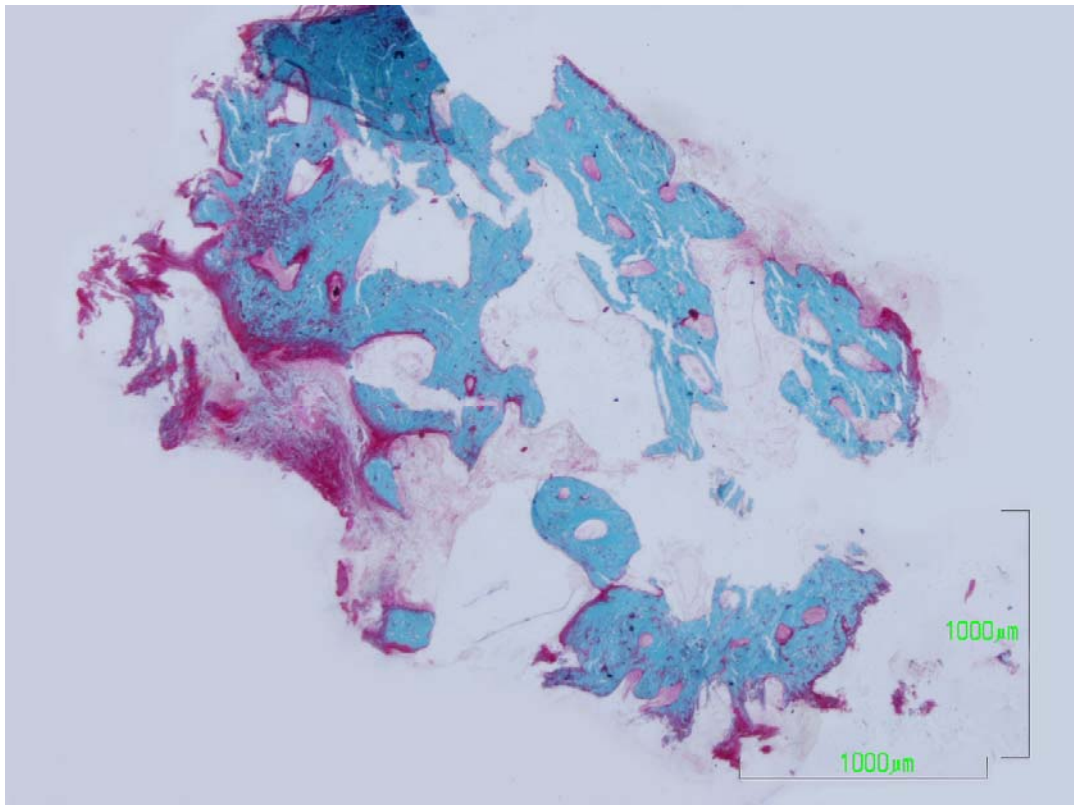


Fig. 36 Grupo I. 5 meses. Goldner. Panorámica que muestra tejido óseo trabecular con canales vasculares. Parece no remodelado y presenta escasa actividad de síntesis. El tejido conectivo es, en su mayoría, adiposo.

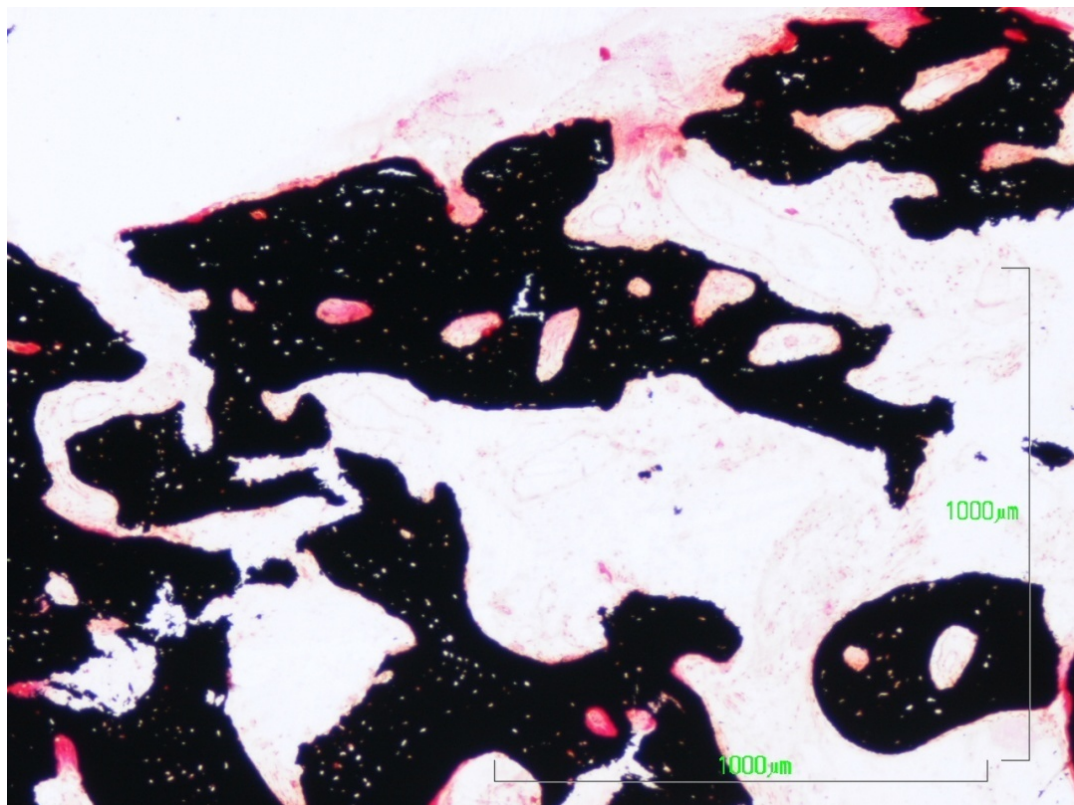


Fig. 37 Grupo I. 5 meses. Von Kossa. Panorámica que muestra tejido óseo bien mineralizado, de contorno trabecular irregular. En el interior de cada trabécula se observa desorden celular, y abundancia de lagunas vásculo- conectivas.

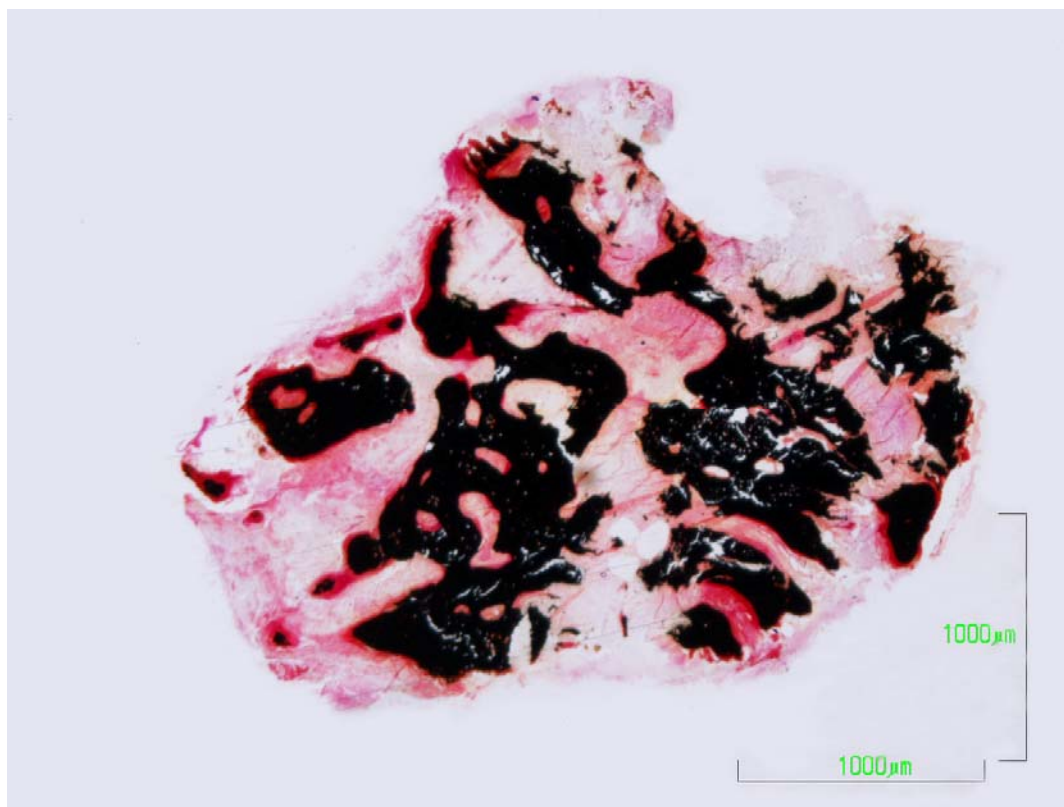


Fig. 38 Grupo I. 6.5 meses. Von Kossa. Panorámica que muestra hueso trabecular correctamente mineralizado y con moderada actividad osteoide. El tejido conectivo que rodea al hueso es de variedades denso y adiposo.

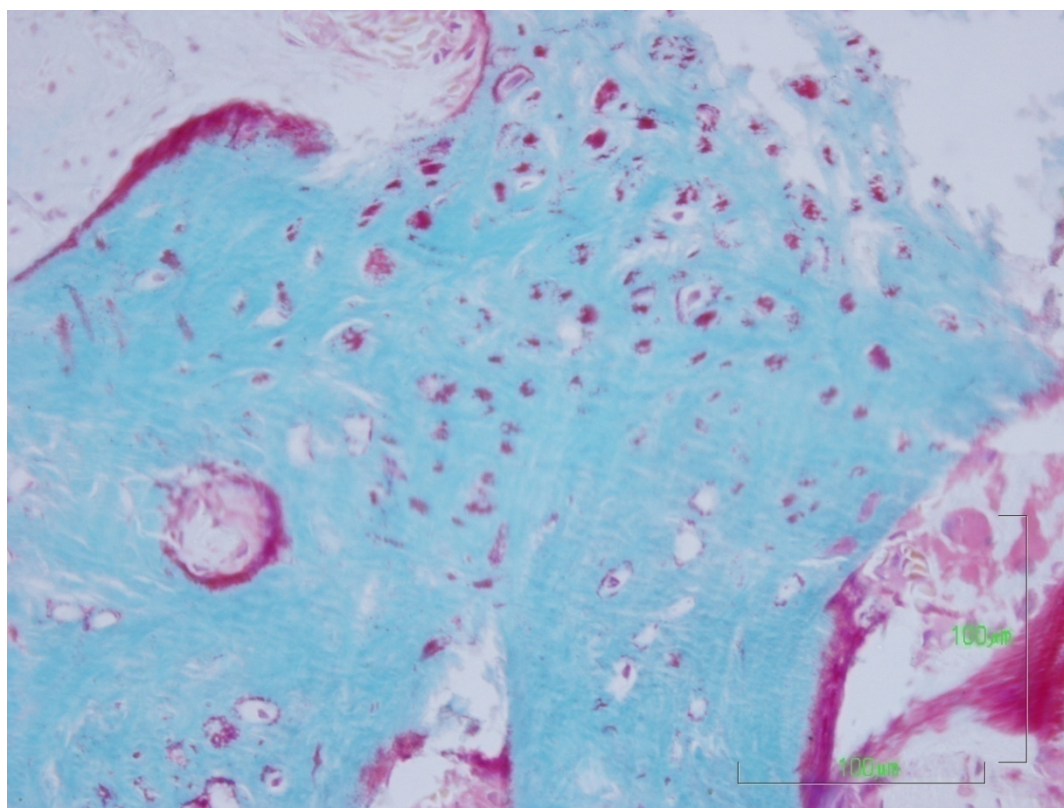


Fig. 39 Grupo I. 6.5 meses. Goldner. Detalle de fibras colágenas evidentes, la mayoría en corte transversal, dentro del tejido óseo no maduro, en el que se aprecian, en modo desordenado, grandes lagunas osteocitarias ocupadas por osteocitos. Los conductos vásculo-conectivos están tapizados, moderadamente, por matriz de osteoide.

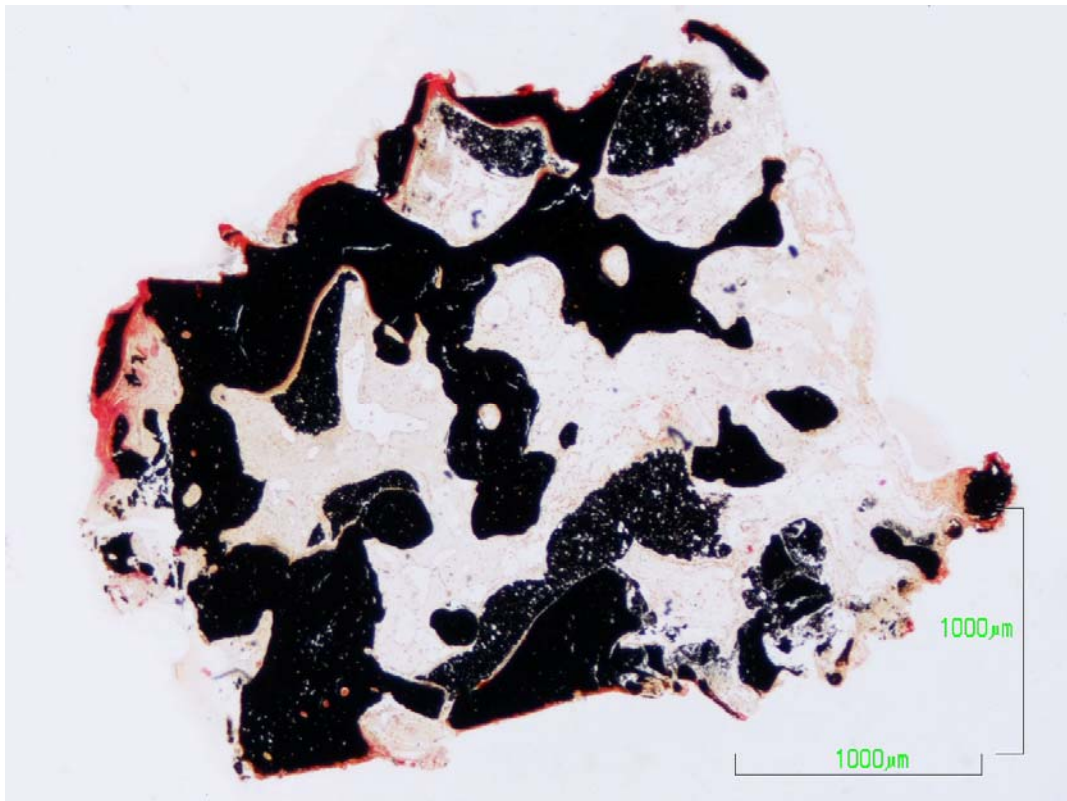


Fig. 40 Grupo I. 8 meses. Von Kossa. Panorámica de tejido trabecular maduro correctamente mineralizado. Adyacentes a los bordes trabeculares, se aprecian vasos dilatados rellenos de sustancia que capta el colorante. El tejido conectivo presente es laxo y adiposo.

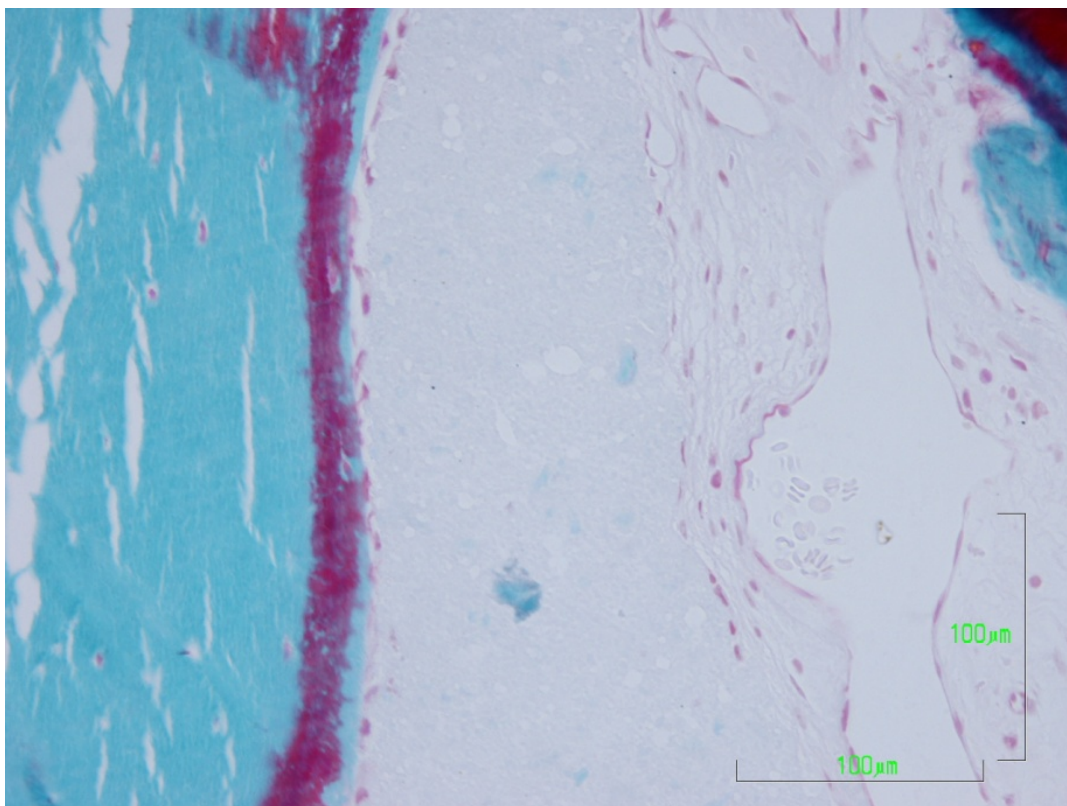


Fig. 41 Grupo I. 8 meses. Goldner. Detalle de endostio tapizando el borde trabecular de hueso maduro. Se observan vasos dilatados, uno de ellos en el interior del tejido conectivo, y el otro adyacente al endostio, relleno de sustancia positiva a la tinción.

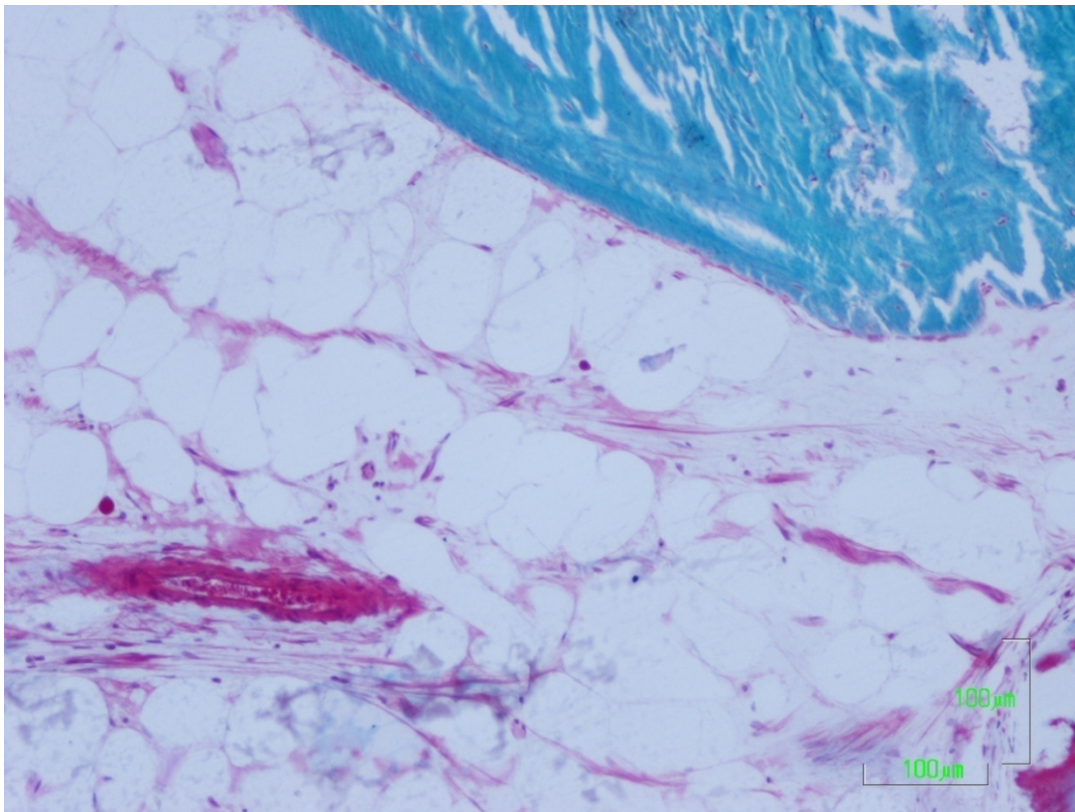


Fig. 42 Grupo I. 11 meses. Goldner. Células de recubrimiento en borde trabecular, que separan el hueso maduro del conectivo adiposo, en el que se aprecia un vaso arterial.

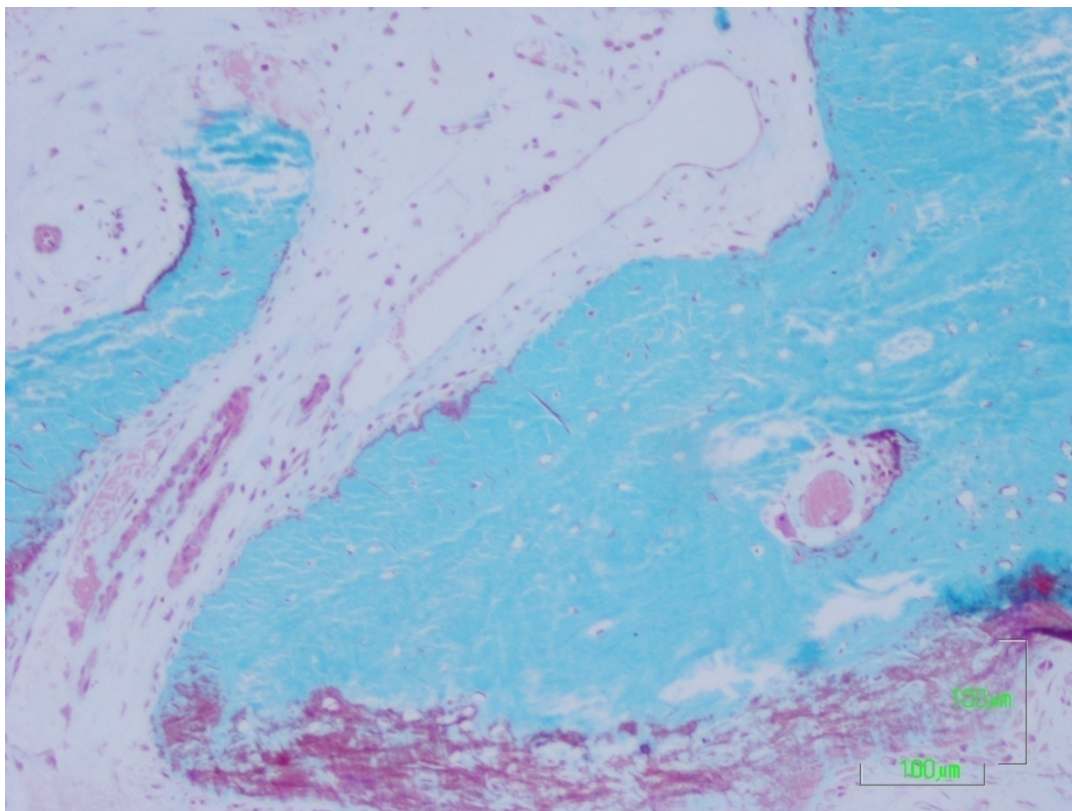


Fig. 43 Grupo I. 11 meses. Goldner. En paralelo al borde óseo, se observa un vaso dilatado dentro del conectivo laxo. En el hueso maduro se observa un conducto vásculo- conectivo, y en la zona inferior matriz de osteoide.

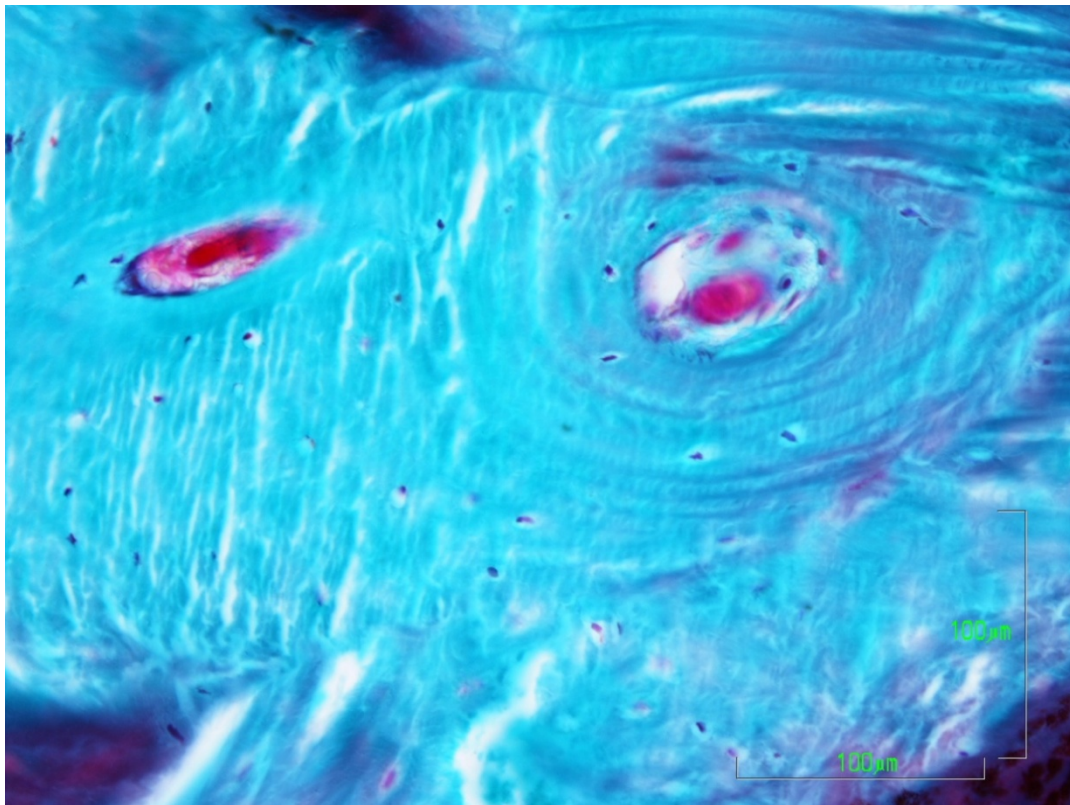


Fig. 44 Grupo I. 12 meses. Goldner. Detalle de dos osteonas limítrofes.

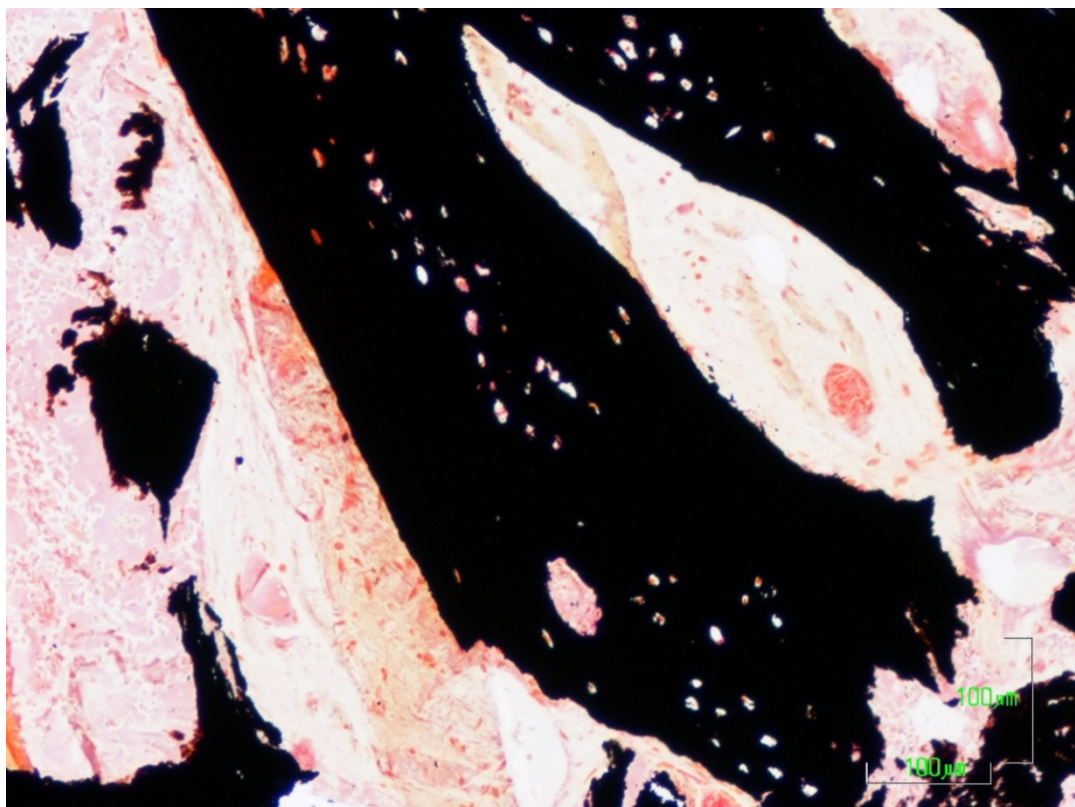


Fig. 45 Grupo I. 13 meses. Von Kossa. Semipanorámica que presenta trabéculas bien calcificadas, de bordes rectos (no remodelados), a veces tapizados por células de recubrimiento. Dibujando el eje central de la trabécula, se dispone una línea de células que proponen inmadurez en el interior trabecular.

Grupo II

Este grupo comprende los 8 casos a los que se trató el alvéolo postextracción con injerto de hueso liofilizado y/o autólogo de origen bucal, obtenidos de 7 pacientes. Los periodos de tiempo de obtención de la muestra oscilan entre los 4 y los 11 meses. En la tabla adjunta (Tabla 28) se muestran el código de identificación, la pieza dentaria que fue extraída y la arcada a la que pertenecía, el tipo de hueso injertado, el porcentaje de tejido mineralizado y no mineralizado obtenido en la medición histomorfométrica con la técnica de Von Kossa, los meses transcurridos hasta la toma de biopsia, la edad y sexo del paciente.

Identificación	pieza	arcada	hueso	% mineral	% no mineral	meses	edad	sexo
CGT	31	Inf	Autólogo	45,69	54,31	4	60	M
CGT	41	Inf	Autólogo	51,47	48,53	4	60	M
GEMA	14	Sup	Liofilizado	44,80	55,20	4	49	M
AC	22	Sup	Autólogo	28,84	71,17	5	32	V
MBG	46	Inf	Liofilizado	41,61	58,39	5	20	M
FH	25	Sup	Liofilizado	21,78	78,22	6	42	V
MMB	24	Sup	Autól+ Liof	13,31	86,69	6	66	M
FB	23	Sup	Liofilizado	19,04	80,96	11	45	V

Tabla 28: Grupo II. Mediciones histomorfométricas (%mineral versus % no mineral).

En la siguiente gráfica (Tabla 29), y a partir de los datos anteriores, se puede apreciar cómo el componente mineral hasta los 4 meses aparece en similares proporciones al componente no mineral, mientras que con el transcurso de los meses esta proporción se pierde en detrimento de la porción mineral hasta la finalización del seguimiento, sin apreciarse diferencias entre el uso de un tipo u otro de hueso, así como en la mezcla de ambos.



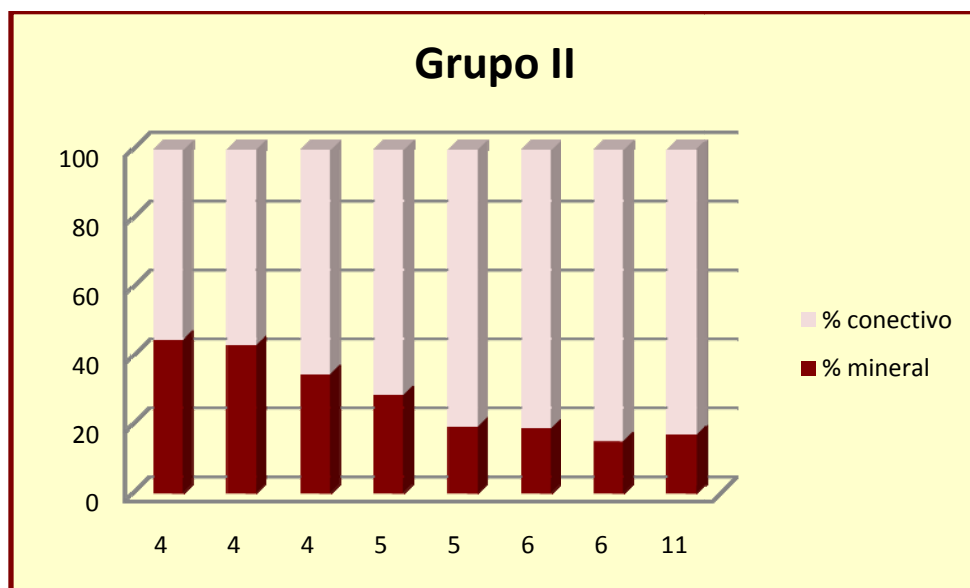


Tabla 29: Grupo II. Gráfica secuencial temporal de mineralización. Abscisas= Meses, ordenadas=%.

A continuación se procederá a describir los hallazgos histológicos propios de las muestras pertenecientes a este grupo, siguiendo para ello la secuencia temporal de menor a mayor tiempo.

A los **4 meses**, usando hueso autólogo, el tejido óseo se presenta, en su mayor parte, trabecular organizado (Fig. 46, pág.109), aunque en algunas zonas todavía no estructurado. La síntesis ósea aparece muy activa, con abundantes osteoblastos en la periferia de la osteoide (Fig. 47, pág.110). Simultáneamente, se observa actividad osteoclástica (Fig. 48, pág.110). El tejido conectivo laxo y adiposo posee gran vascularización; se encuentra algún vaso dilatado de eje mayor paralelo a la superficie trabecular (Fig. 47). Se aprecian zonas de tejido óseo acelular que parecen aisladas del resto, por el tejido conectivo que las rodea (Fig. 49, pág.111). Otras áreas se muestran deficientemente calcificadas, en paralelo al hueso mineralizado, únicamente separadas por un fino ribete de osteoide con su frente osteoblástico asociado (Fig. 50, pág.111).

Con el injerto de hueso liofilizado, el hueso es de tipo trabecular inmaduro con abundante matriz de osteoide (Fig. 51, pág.112).

A los **5 meses**, con hueso autólogo, el hueso trabecular aparece bien mineralizado en su mayoría. Presenta zonas de hueso acelular (Fig. 53, Fig. 54, pág.113) mal calcificado (Fig. 52, pág.112). En el interior de las trabéculas se pueden observar hileras de osteocitos con disposición longitudinal lo que denota mayor inmadurez (Fig. 55, pág.114) que en el exterior. El tejido conectivo es, mayoritariamente, laxo y adiposo (Fig. 52) aunque se presenta conjuntivo denso rodeando a espículas óseas acelulares (Fig. 52) y mal calcificadas (Fig. 52, Fig. 53, pág.113), que en ocasiones, produce invasión fibroblástica de las mismas (Fig. 54). El conectivo alberga abundantes vasos dilatados que se distribuyen tanto en su interior, como en paralelo a los bordes trabeculares (Fig. 52), y que, en algunos casos, aparecen

rellenos de sustancia positiva a la tinción (Fig. 55, pág.114). En las áreas no implicadas en síntesis ósea, las superficies trabeculares se encuentran tapizadas por un epitelio plano simple (Fig. 55). Aparecen zonas de hueso acelular deficientemente calcificadas (Fig. 52).

A los **6 meses**, con el hueso liofilizado, se observa hueso trabecular maduro remodelado, con leve actividad osteosintética (Fig. 56, pág.114). Algunas superficies inactivas están recubiertas por epitelio plano simple de tipo endóstico (Fig. 57, pág.115) o por células de revestimiento (Fig. 58, pág.115). En el interior trabecular, se aprecian áreas parcialmente desmineralizadas, con pequeñas esferas calcificadas sobre una matriz decalcificada de organización laminar (Fig. 59, pág.116), y rodeadas por hueso correctamente mineralizado y remodelado (Fig. 59). Esta imagen tiene su correspondencia en la técnica de Goldner (Fig. 58) donde estas esférulas se observan sobre un fondo aparentemente amorfo.

El tejido conectivo es de tipo laxo bien vascularizado, presentando algunos vasos de luces dilatadas con eje mayor paralelo a la superficie trabecular (Fig. 57, Fig. 59, pág.116).

Estos hallazgos histológicos han resultado similares ante la mezcla de hueso liofilizado y autólogo.

Pasados ya **11 meses**, con injerto de hueso liofilizado, el hueso es, en general, maduro y correctamente mineralizado, aunque continúan coexistiendo algunas áreas decalcificadas (Fig. 60, pág.116). Se observan estructuras haversianas acelulares en distintos grados de calcificación (Fig. 60), que no se han integrado en el proceso de regeneración ósea, ya que aunque conservan la estructura laminar de la matriz (Fig. 60, Fig. 61, pág.117), no corresponden a la morfología ósea del maxilar, de donde proviene la muestra. Continúan apareciendo pequeñas esferas tintoriales, que se asocian a áreas de descalcificación de injerto (Fig. 60, Fig. 61), y que según la ocasión se encuentran en áreas periféricas de las trabéculas o bien localizadas en el interior (Fig. 60, Fig. 61).

Haciendo una breve síntesis de los acontecimientos histológicos ocurridos en este grupo, lo que más llama la atención es la poca variabilidad encontrada respecto a la diferente naturaleza de los injertos utilizados, siendo la única diferencia notable el hallazgo de las esférulas tintoriales, que tan sólo se hallaron en aquellos casos en los que se utilizó el injerto de hueso liofilizado desmineralizado (Fig. 58, Fig. 59, pág.116 Fig. 60, Fig. 61, pág.117).

Desde los 4 meses ya nos encontramos con un hueso trabecular organizado con pequeños focos de hueso inmaduro, más abundantes en el caso de injerto de hueso liofilizado (Fig. 51, pág.112), y que se está empezando a remodelar a partir de canales vasculo- conectivos (Fig. 46, pág.109). Cabe señalar el hallazgo de actividad osteoclástica desde el 4º mes (Fig. 48, pág.110). La actividad osteosintética aparece



más reducida que en el anterior grupo, y ya en el 5º mes las superficies trabeculares no ocupadas por matriz de osteoide, aparecen tapizadas por un epitelio plano simple (Fig. 55, pág.114).

La asimilación de las partículas de injerto óseo parece diferir. En caso de hueso autólogo, las partículas acelulares, inicialmente aisladas (Fig. 49, pág.111), se comienzan a remodelar a los 5 meses (Fig. 52, pág.112) para quedar incluidas en el tejido óseo. En caso de hueso liofilizado desmineralizado, se observan, desde los 5 meses (Fig. 59, pág.116) en adelante (Fig. 60, pág.116), restos del injerto en forma de áreas que muestran pequeñas esferas minerales sobre estructuras matriciales laminares, todo ello inmerso en el tejido óseo maduro.

El desarrollo del tejido conectivo es similar al grupo anterior, apareciendo ya en el 4º mes vestigios de la variedad adiposa (Fig. 48, pág.110), y que progresivamente será más abundante. El tejido conectivo aparece muy bien vascularizado, con vasos dilatados, desde los 4 meses (Fig. 46, pág.109, Fig. 47, pág.110). Hemos encontrado a los 5 meses muestra de vasos rellenos de sustancia positiva a la tinción (Fig. 55, pág.114), que ya no han aparecido con posterioridad.

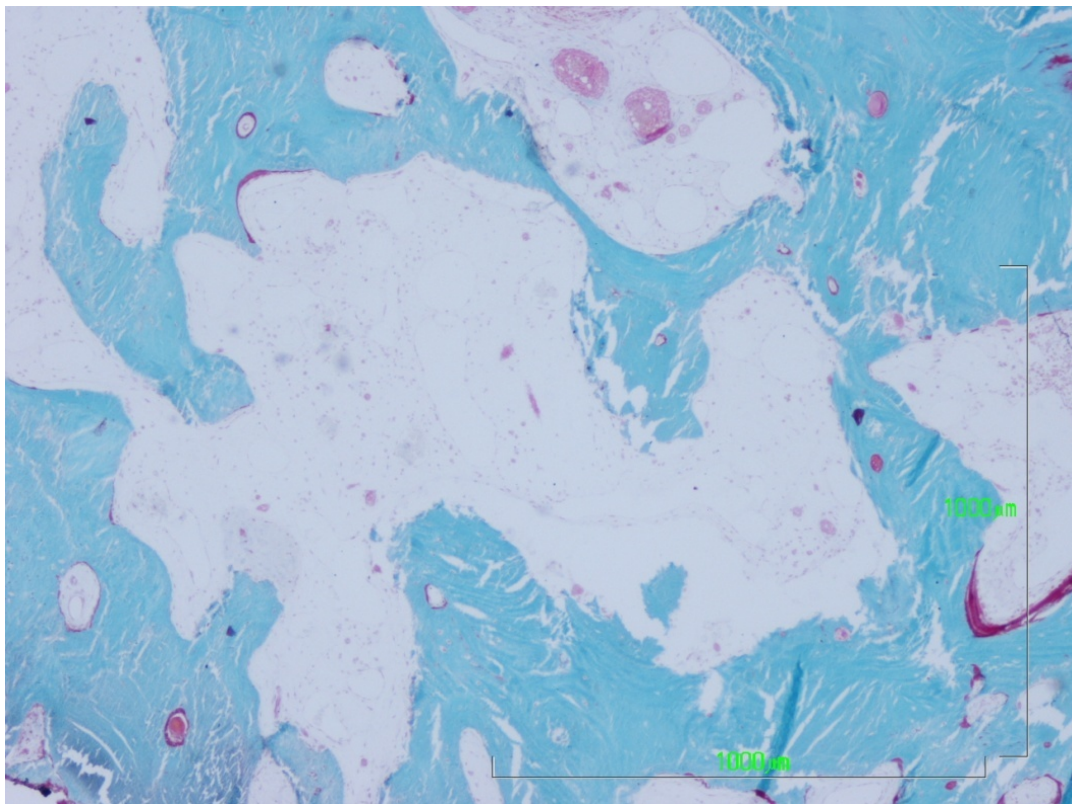


Fig. 46 Grupo II. 4 meses. Goldner. Panorámica mostrando hueso trabecular maduro con abundantes canales vásculo- conectivos. Presenta escasa síntesis. En el conectivo, laxo y adiposo, se observan vasos dilatados y paralelos a la superficie ósea.

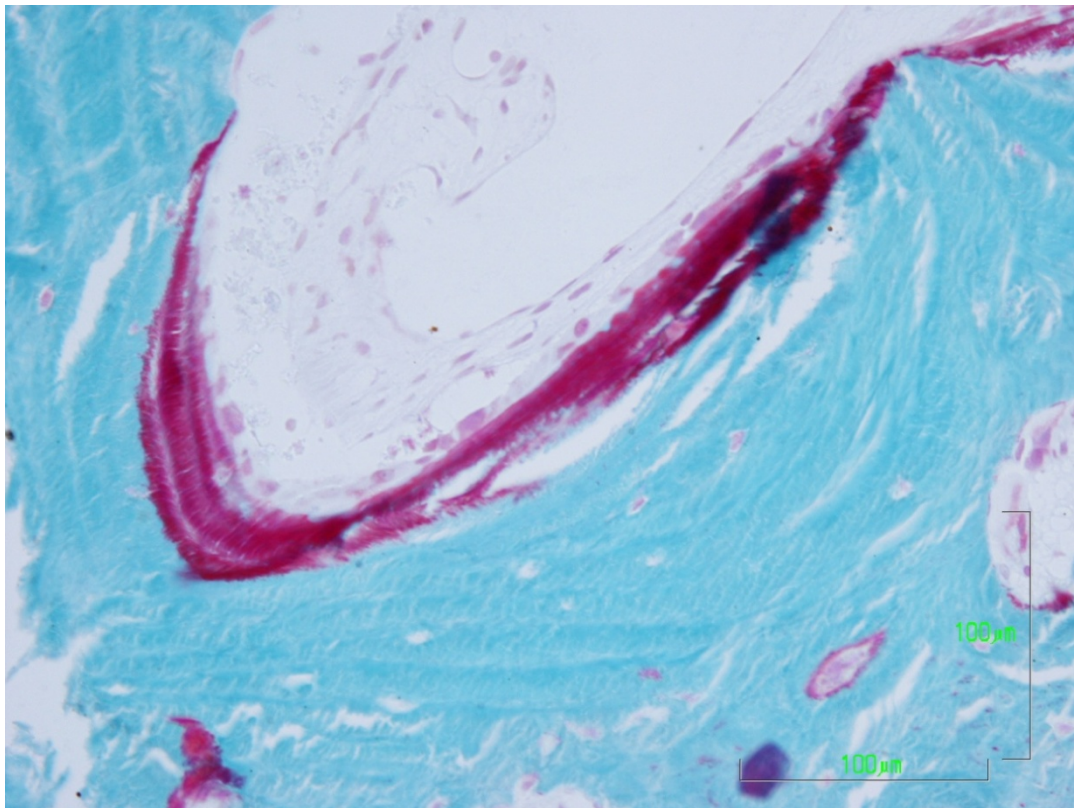


Fig. 47 Grupo II. 4 meses. Goldner. Detalle del margen de una trabécula de hueso inmaduro en el que se aprecia un frente osteoblástico activo. En el conectivo, paralelo a la trabécula, se observa un vaso dilatado de contorno irregular.

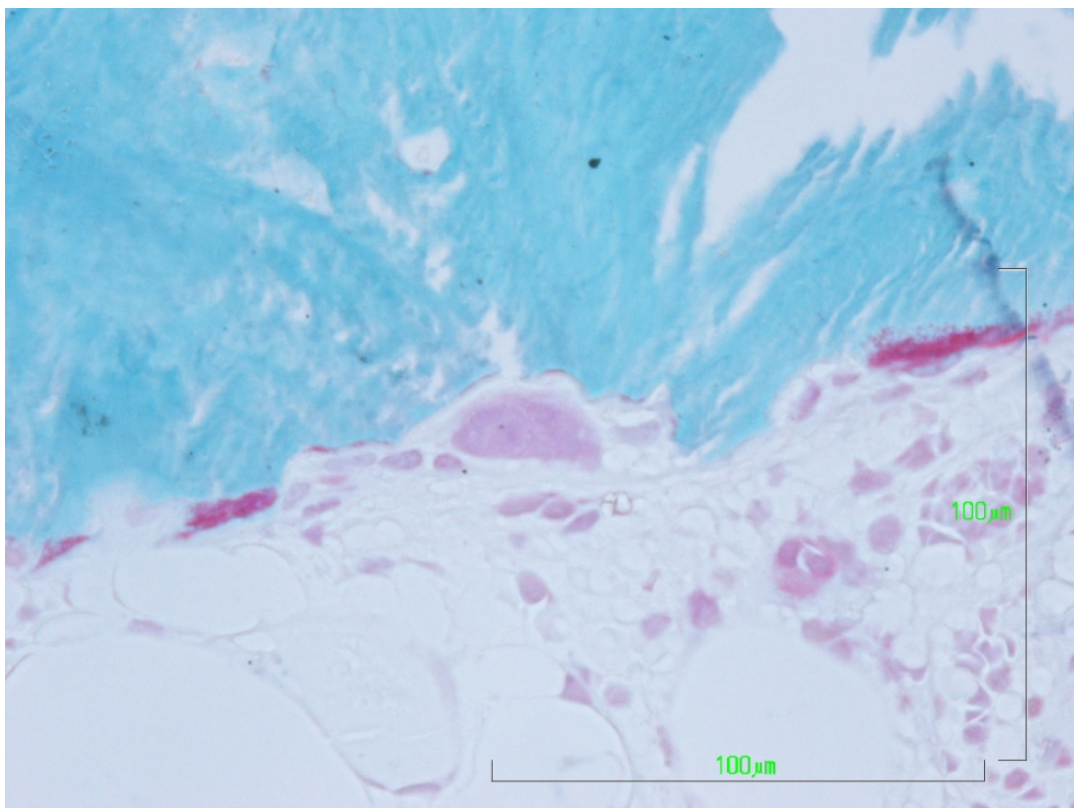


Fig. 48 Grupo II. 4 meses. Goldner. Detalle de osteoclasto en proceso de reabsorción de hueso inmaduro. El conectivo es de tipo adiposo.

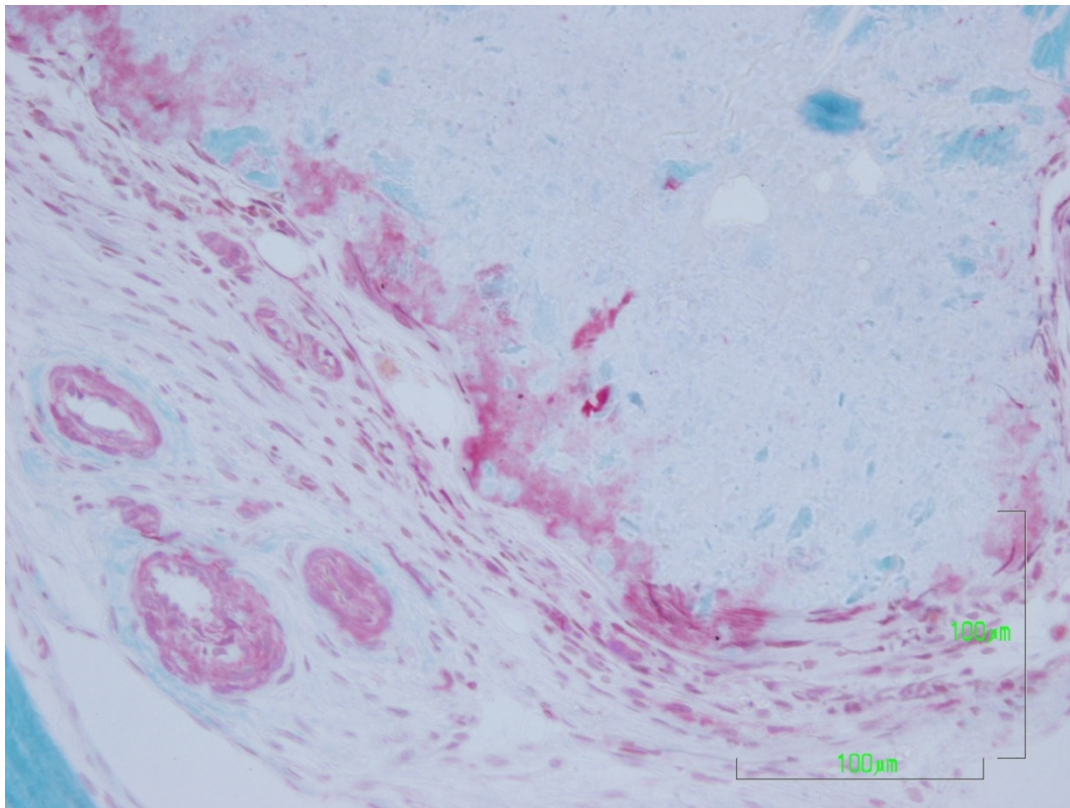


Fig. 49 Grupo II. 4 meses. Goldner. Detalle de tejido óseo acelular descalcificado, que parece aislado del resto por el tejido conectivo.

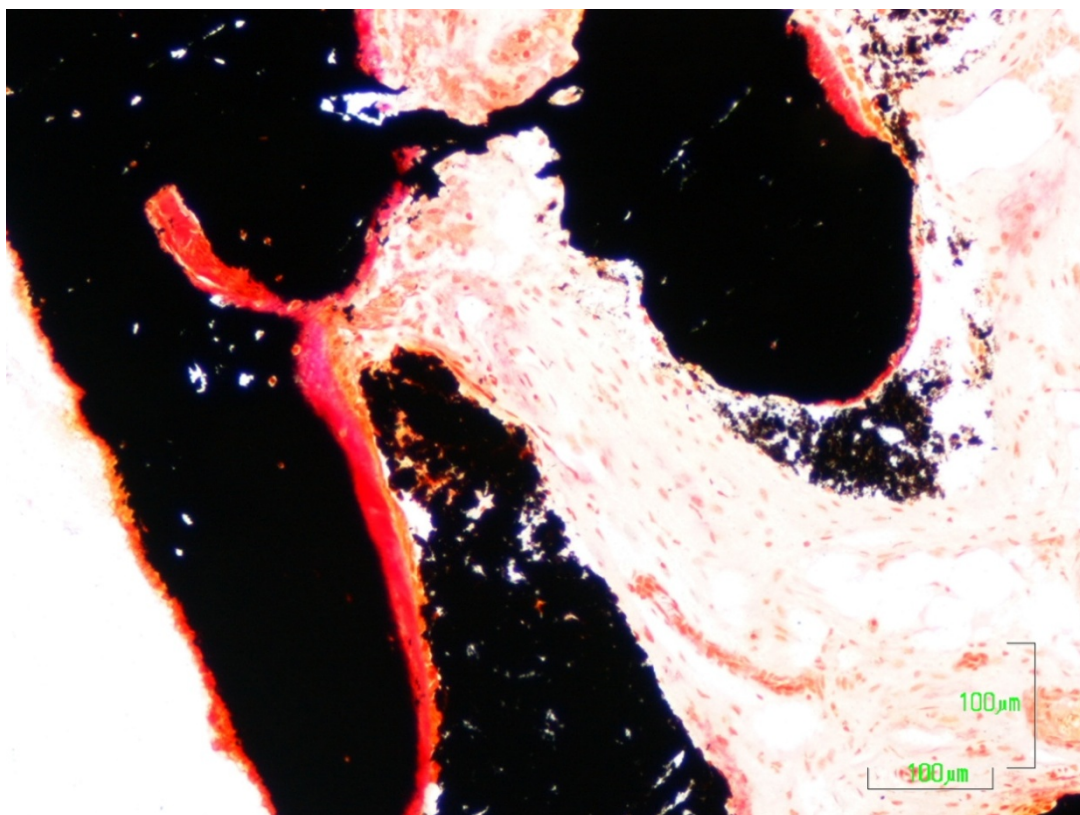


Fig. 50 Grupo II. 4 meses. Von Kossa. Semipanorámica que muestra hueso correctamente calcificado, adyacente al cual, se encuentran porciones de hueso medianamente descalcificado. Les separa la presencia de matriz osteoide con frente osteoblástico, en los tres casos.

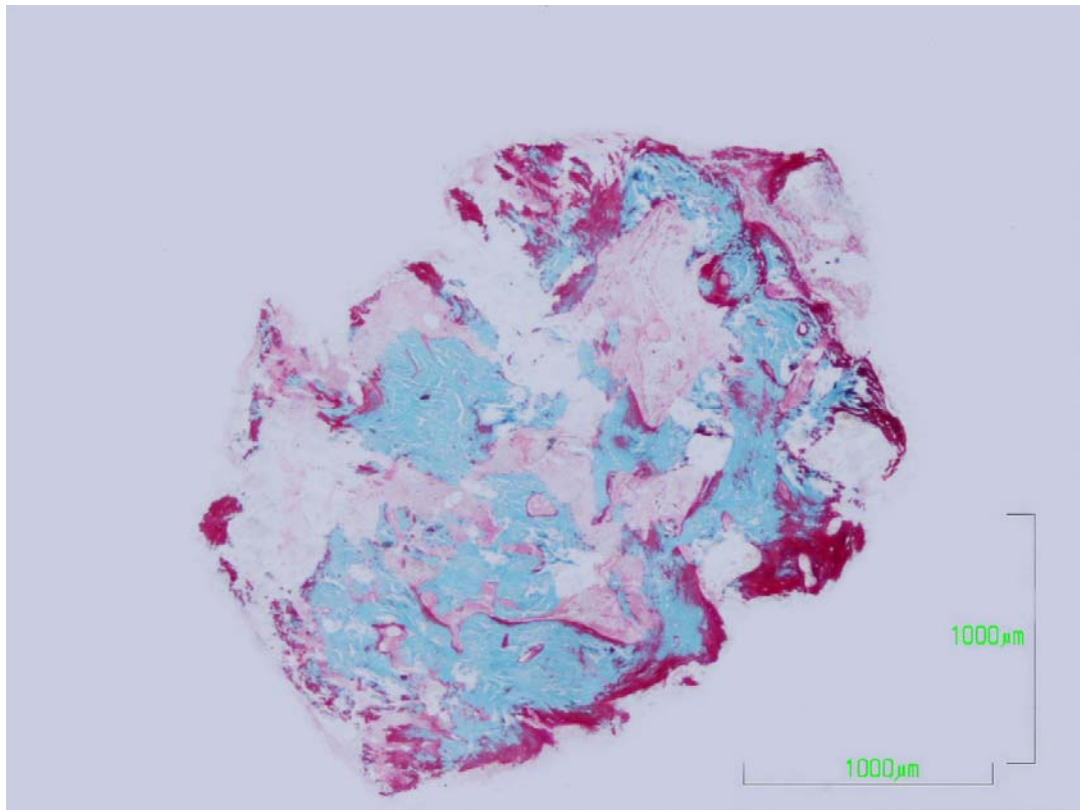


Fig. 51 Grupo II. 4 meses. Goldner. Panorámica donde se observa tejido trabecular inmaduro con abundante sustancia de característica tintorial similar a la osteoide.

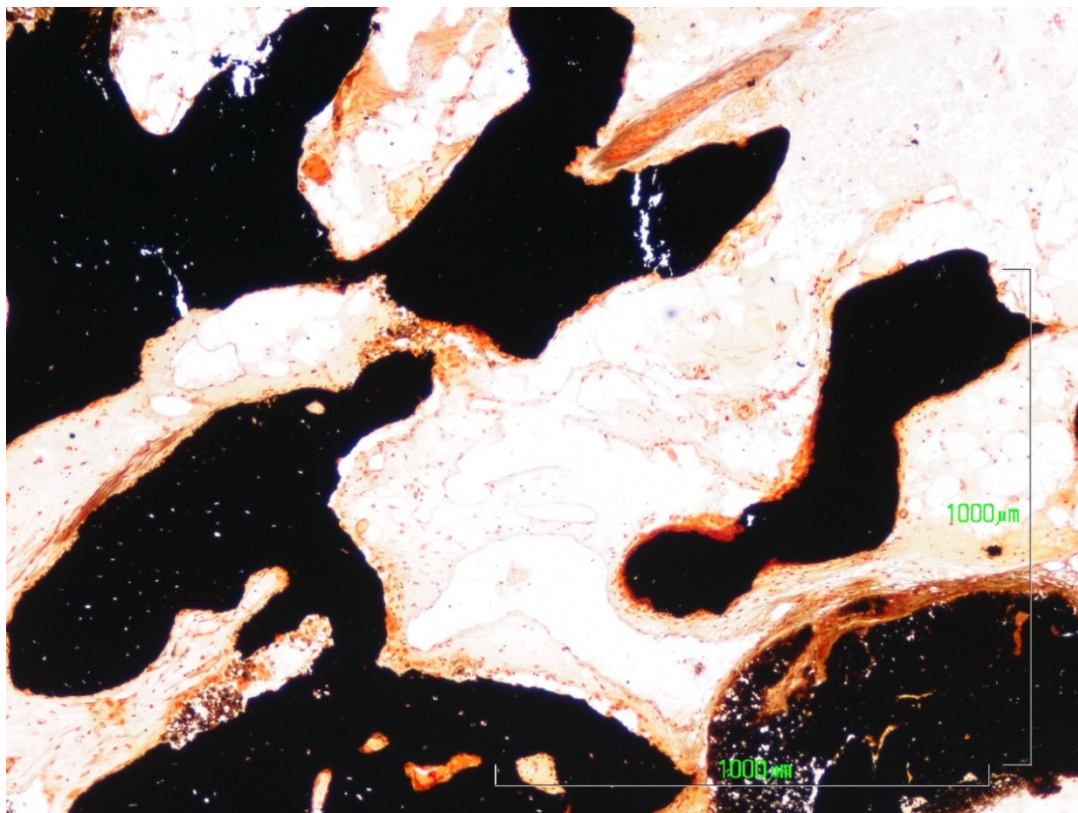


Fig. 52 Grupo II. 5 meses. Von Kossa. Panorámica de hueso trabecular bien mineralizado, en general. En la zona inferior aparece descalcificación ósea, rodeada de tejido conectivo denso. Se observan vasos dilatados en el tejido conectivo laxo y adiposo.

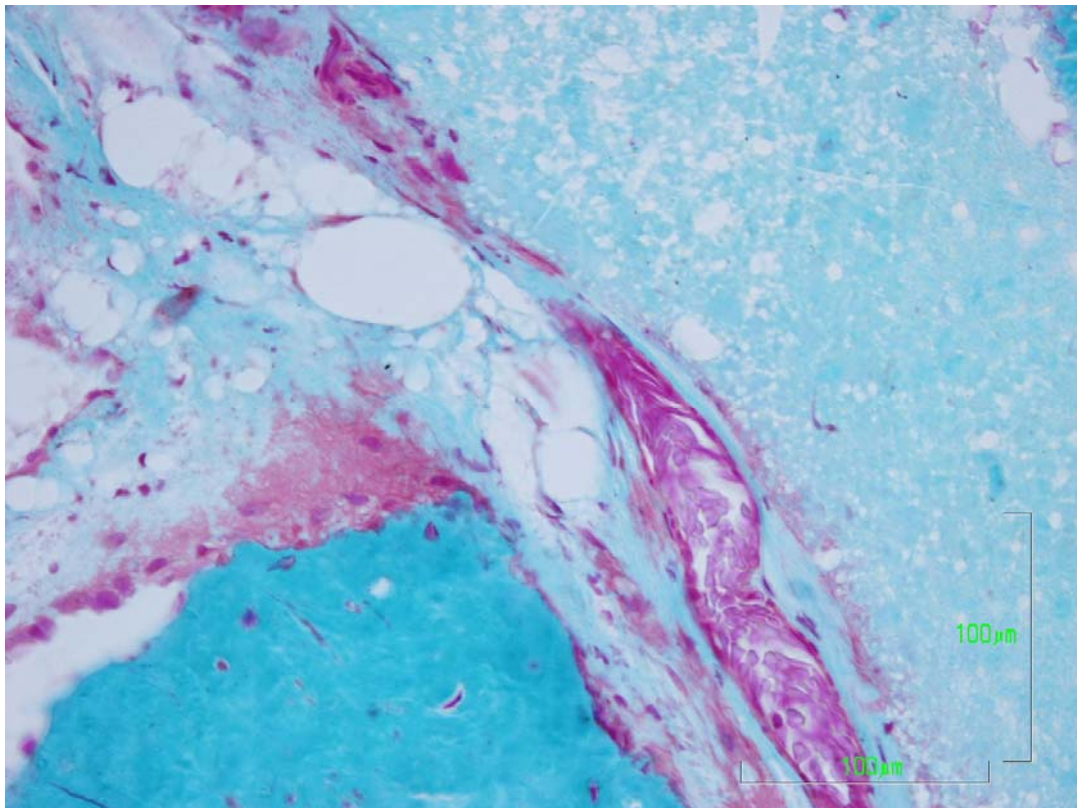


Fig. 53 Grupo II. 5 meses. Goldner. Semipanorámica de hueso acelular separado de hueso inmaduro por el tejido conectivo de variedades adiposo y denso.

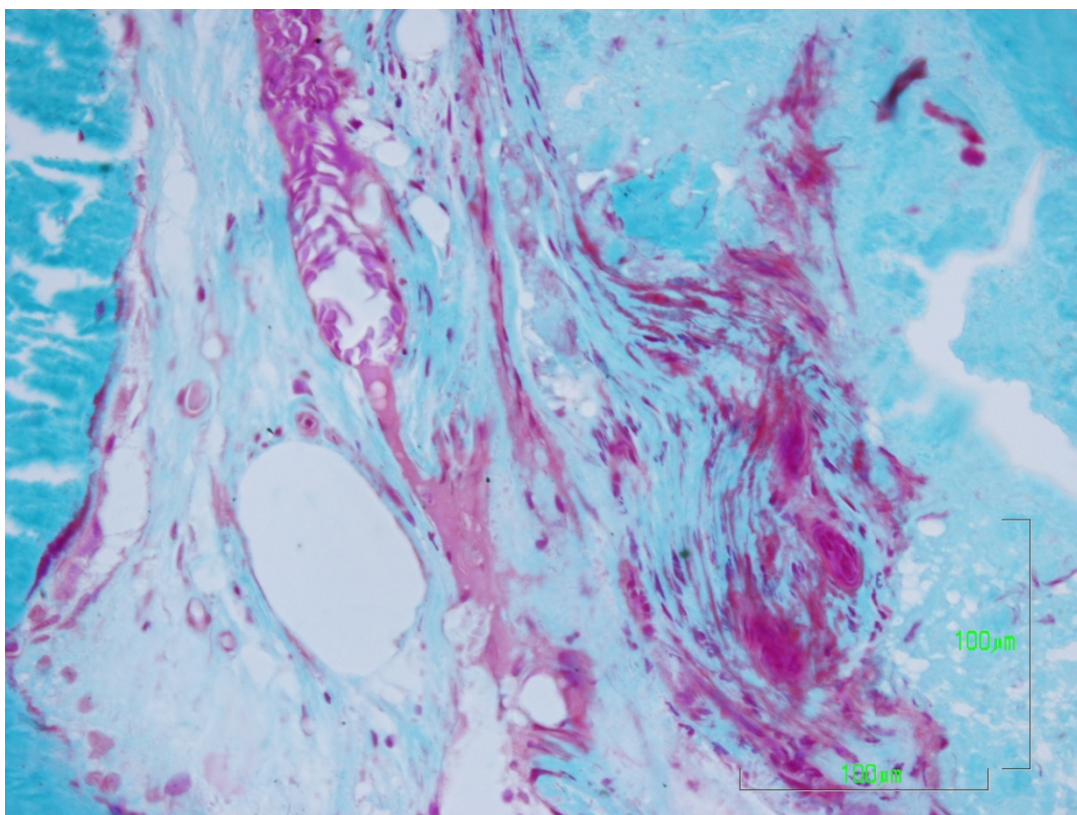


Fig. 54 Grupo II. 5 meses. Goldner. Semipanorámica que muestra tejido óseo acelular rodeado de conectivo denso que produce invasión fibroblástica. El conectivo laxo, a la izquierda, está muy vascularizado.

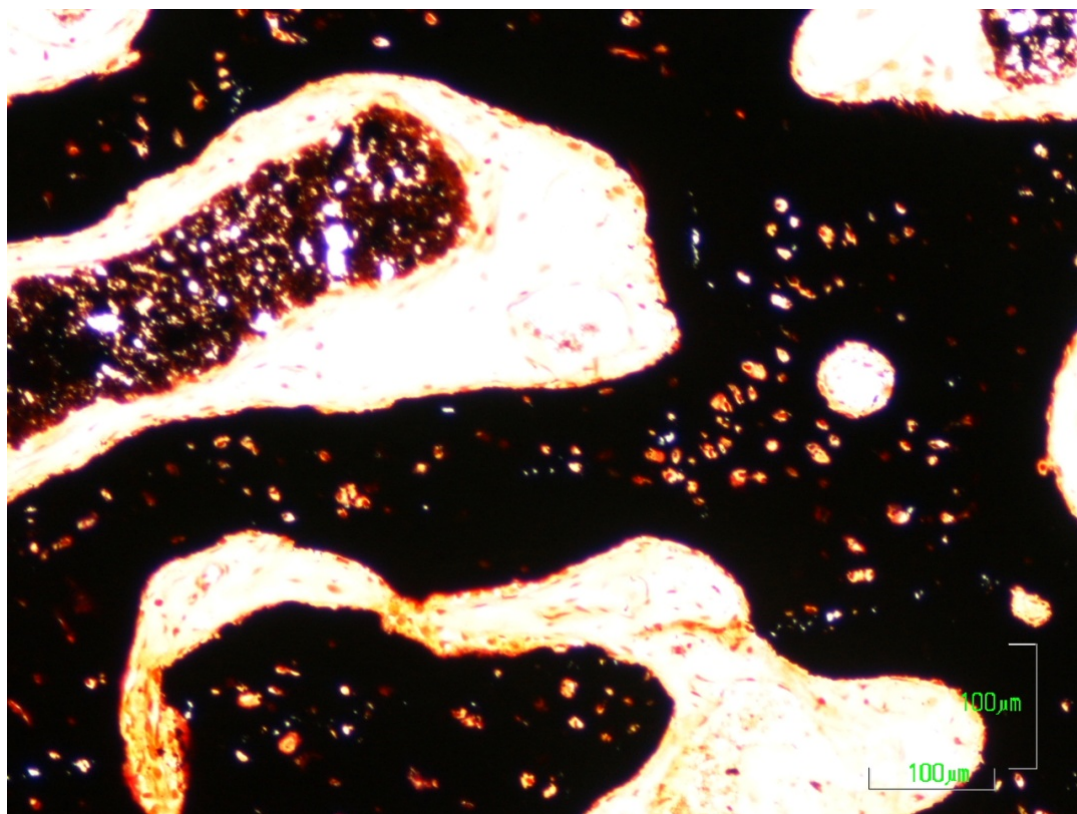


Fig. 55 Grupo II. 5 meses. Von Kossa. Semipanorámica de trabéculas óseas en las que se observa la hilera interior y longitudinal de osteocitos. En el conectivo laxo se aloja un vaso dilatado relleno de sustancia positiva a la tinción. Las superficies trabeculares aparecen cubiertas de células planas de revestimiento.

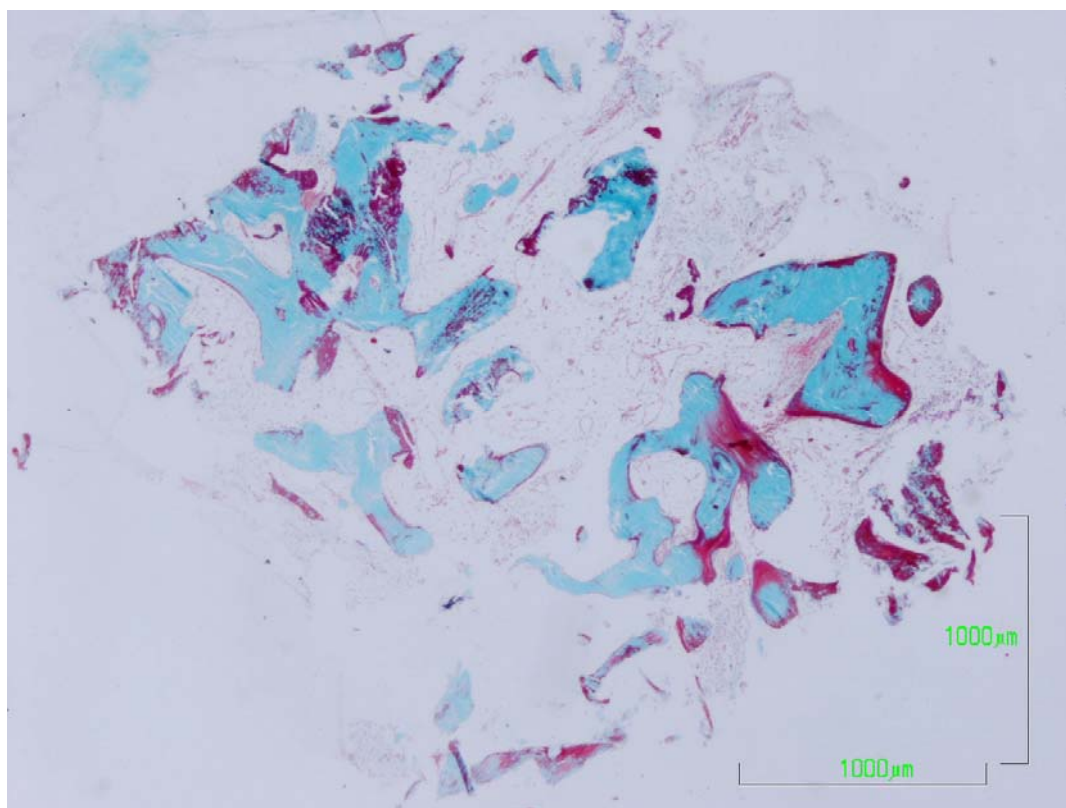


Fig. 56 Grupo II. 6 meses. Goldner. Panorámica que muestra hueso trabecular remodelado con leve actividad osteoide. En el interior del tejido óseo aparecen zonas de tinción roja, supuestamente mal calcificadas. En el conectivo laxo, vasos dilatados.

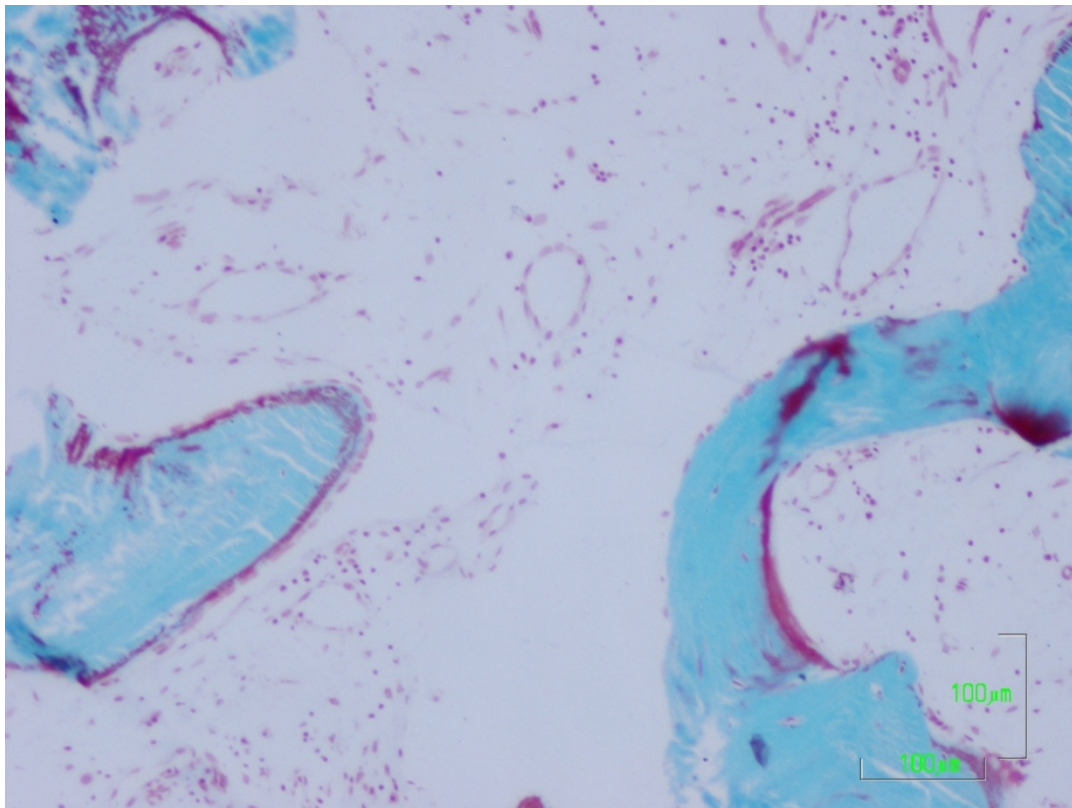


Fig. 57 Grupo II. 6 meses. Goldner. Semipanorámica de varias trabéculas de hueso maduro, algunas cubiertas por endostio y, otras levemente por matriz de osteoide. Aparecen grandes vasos paralelos a los bordes óseos. El tejido conectivo es de tipo laxo y se presenta bien vascularizado.

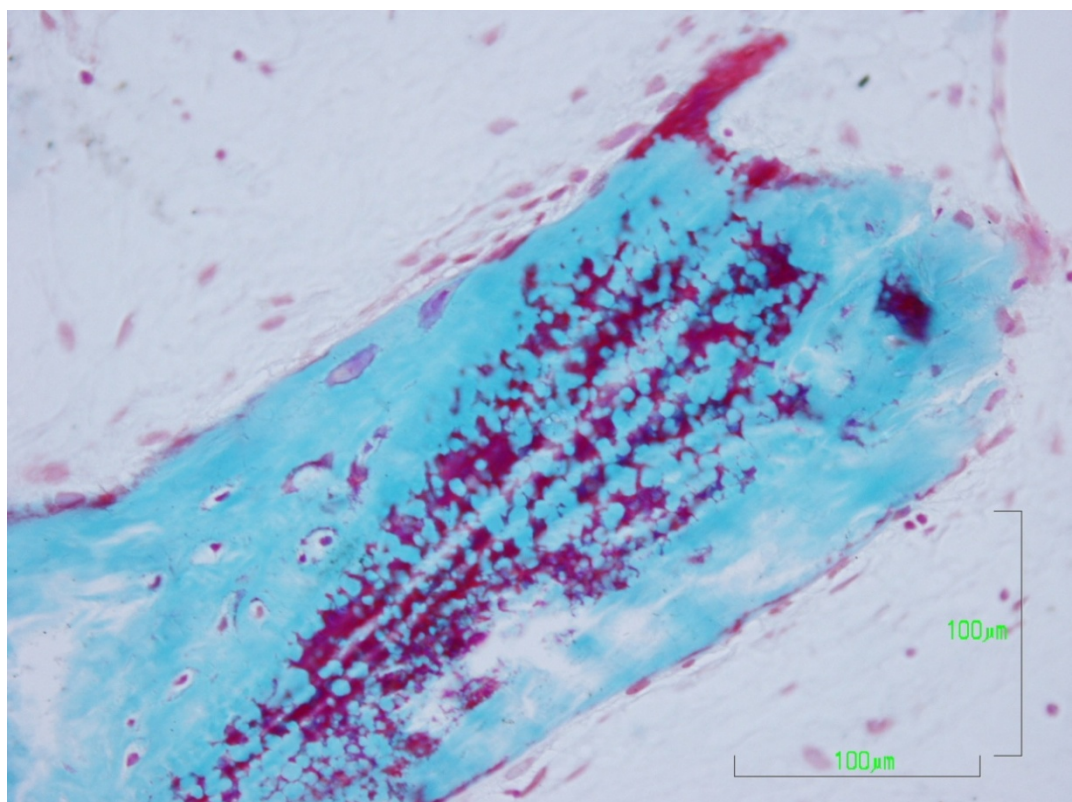


Fig. 58 Grupo II. 6 meses. Goldner. Detalle de trabécula con diferentes zonas de tejido óseo, interior mal mineralizado, y exterior superior inmaduro con osteocitos alojados en grandes osteoplasmas desordenados, y exterior inferior con hueso más maduro. Ambos bordes trabeculares están tapizados por células de revestimiento.

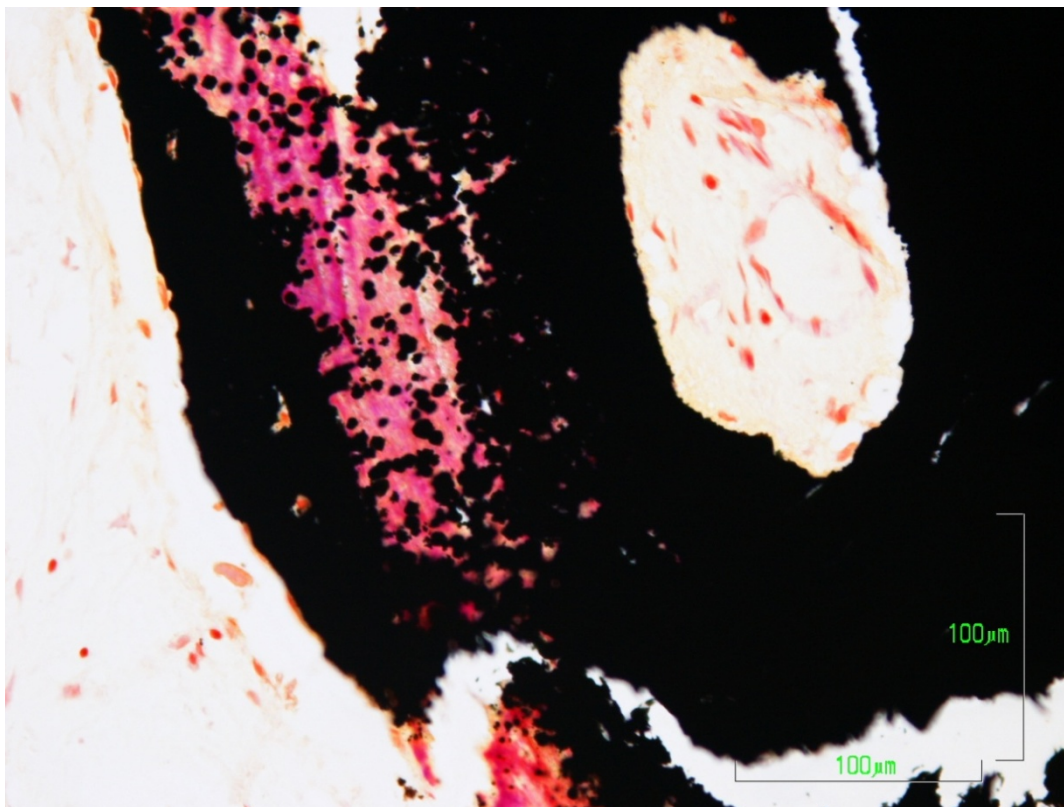


Fig. 59 Grupo II. 6 meses. Von Kossa. Detalle de interior trabecular donde se observa zona en descalcificación englobada por hueso correctamente mineralizado. El borde trabecular es irregular lo que denota que se ha remodelado. En el interior del hueso aparece una gran cavidad vásculo- conectiva.

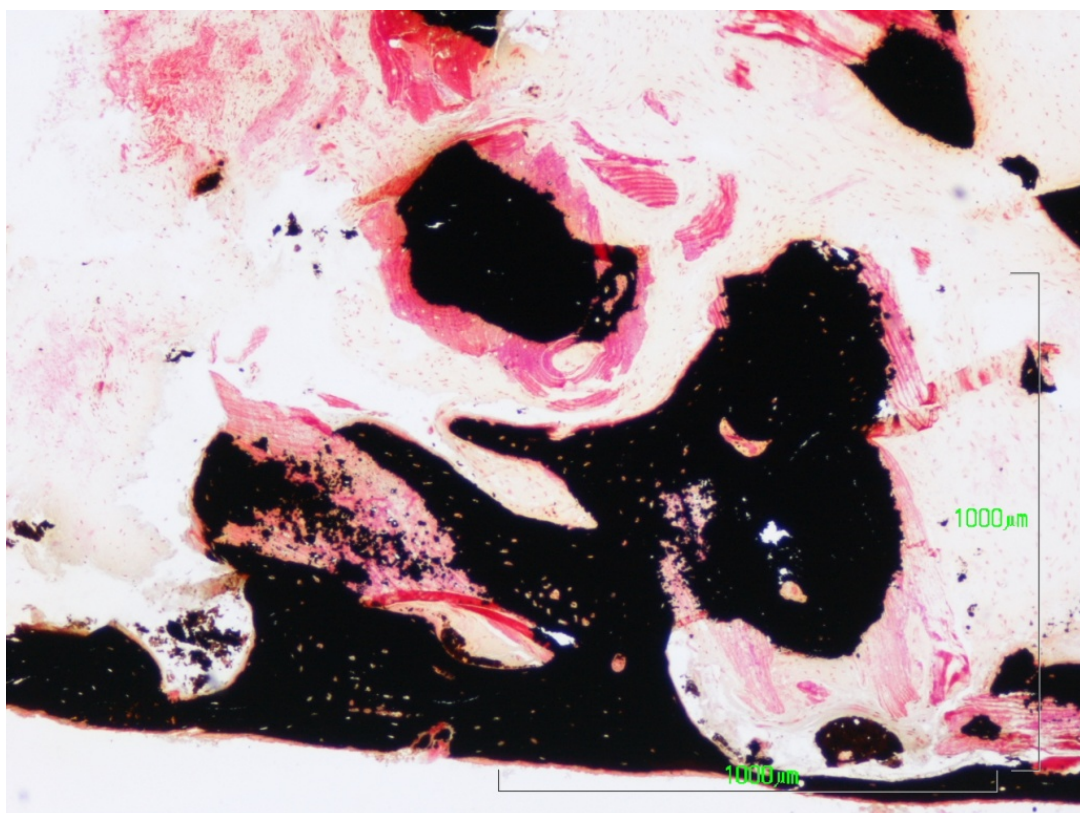


Fig. 60 Grupo II. 11 meses. Von Kossa. Panorámica donde se aprecian estructuras de hueso maduro descalcificadas, y otras, parece, en proceso de descalcificación, sin observarse separación entre las mismas y el tejido óseo correctamente mineralizado que las rodea.

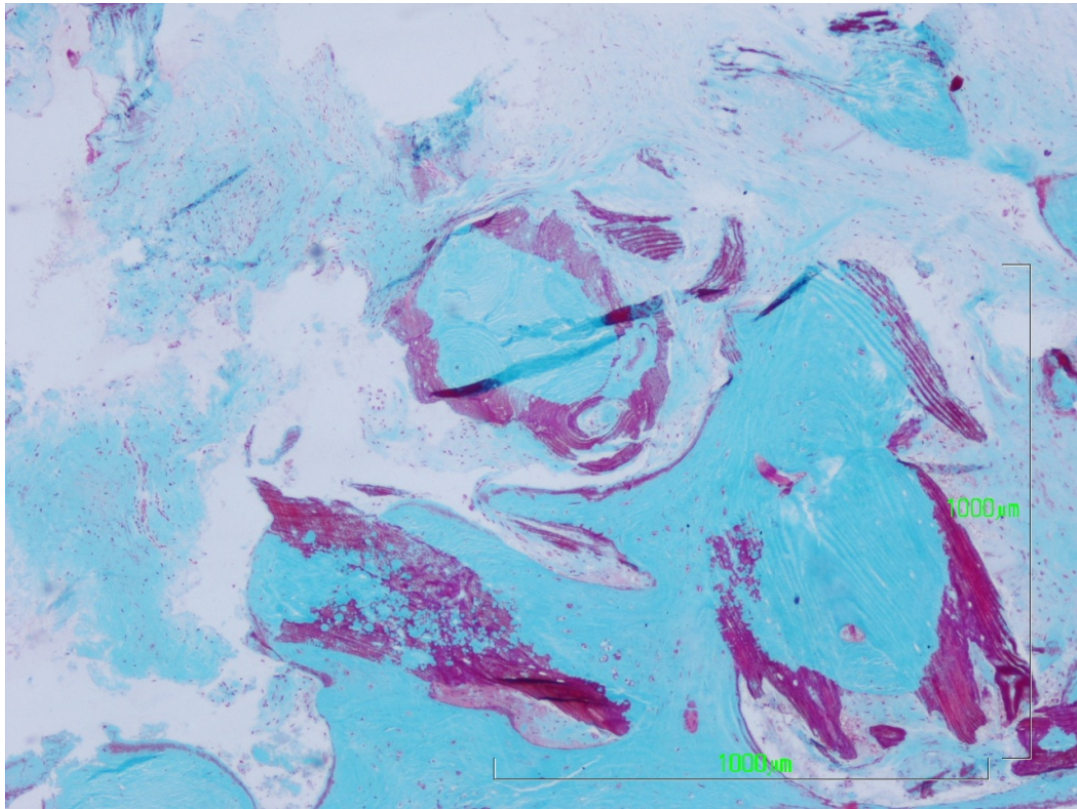


Fig. 61 Grupo II. 11 meses. Goldner. Panorámica donde se aprecian áreas desmineralizadas y otras en proceso de descalcificación sin aparecer signos de separación entre ellas y el hueso bien calcificado en que están incluidas.

Grupo III

Este grupo recoge 17 casos, de 12 pacientes, a los que se pretendió acelerar el proceso de regeneración ósea colocando en el alvéolo PRP, y posteriormente se les practicó la sutura de los bordes a espesor total. Los periodos de tiempo de obtención de las muestras comprenden desde los 4 a los 12 meses. En la tabla adjunta (Tabla 30) se detallan el código de identificación, la pieza dentaria que fue extraída y la arcada a la que pertenecía, el porcentaje de mineral y no mineral obtenido en la medición histomorfométrica con la técnica de Von Kossa, los meses transcurridos hasta la toma de biopsia, la edad y sexo de cada paciente.

Identificación	pieza	% mineral	% no mineral	meses	edad	sexo	arcada
AAR	13	22,49	77,51	4	39	V	sup
FSM	24	19,53	80,47	4	74	M	sup
LPG	23	21,98	78,02	4	35	M	sup
JM	34	36,98	63,02	4	46	V	inf
ABD	23	26,79	73,21	4,5	49	V	sup
PJHM	13	26,43	73,57	5	45	V	sup
PJHM	15	20,49	79,51	5	45	V	sup
PJHM	25	15,90	84,10	5	45	V	sup
PJHM	26	28,95	71,05	5	45	V	sup
JJ	14	21,14	78,86	6	40	V	sup
JGC	13	32,51	67,49	7	52	V	sup
PRC	26	33,19	66,81	8	35	M	sup
PRC	27	23,85	76,15	8	35	M	sup
SLP	22	47,05	52,95	8	50	M	sup
FGM	35	35,88	64,12	11	48	M	inf
BDA	32	18,92	81,08	12	49	V	inf
BDA	44	42,39	57,61	12	49	V	inf

Tabla 30: Grupo III. Mediciones histomorfométricas (%mineral versus % no mineral).

Se aprecian, incluso, variaciones intraindividuales en lugares de características similares de la arcada (BDA 32 y 42), lo que denota la gran variabilidad existente (Tabla 30, Tabla 31). Aunque inicialmente la porción mineral es muy inferior a la no mineral, en general, a partir del 5º mes, la relación entre ambas se iguala con el tiempo.

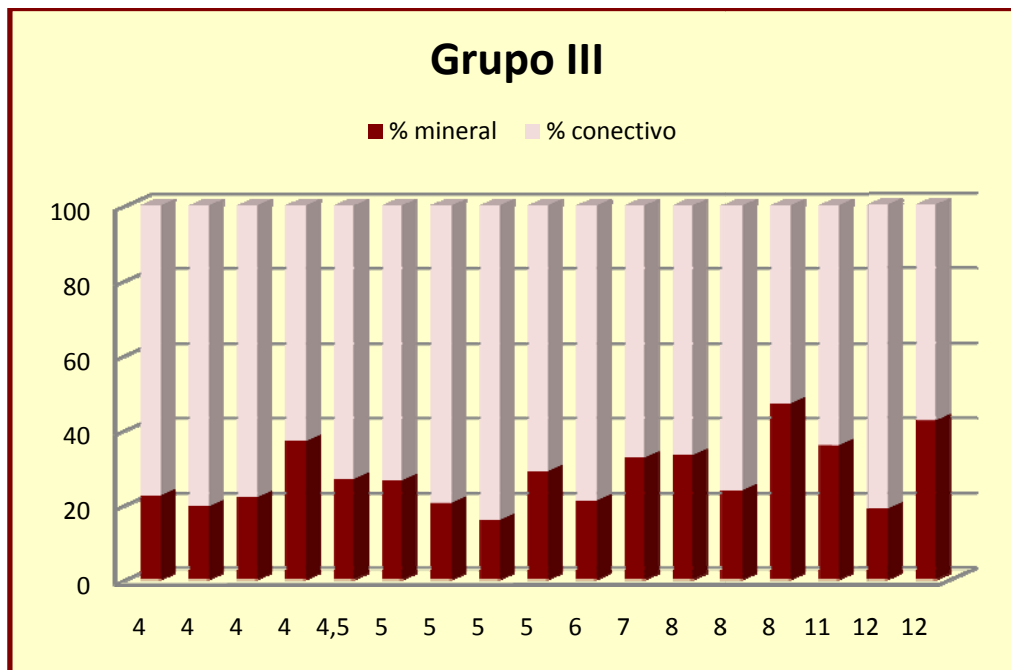


Tabla 31: Grupo III. Gráfica secuencial temporal de mineralización. Abscisas= Meses, ordenadas=%.

A los **4 meses**, se observa, con la técnica de Goldner, la existencia de abundante hueso, aunque llama la atención la deficiente mineralización del mismo (Fig. 62, pág.121). Dicho hueso está constituido por trabéculas gruesas anastomosadas (Fig. 62) que presentan, en su interior, grandes cavidades vásculo- conectivas (Fig. 62), todo ello en relación con abundante hueso poco o nada calcificado (Fig. 62). A mayor aumento, se observa que las trabéculas están constituidas por hueso primario, con osteocitos desordenados en grandes lagunas osteocitarias (Fig. 63, pág.121). El tejido conectivo inter trabecular corresponde a la variedad laxa, con abundantes y grandes vasos, de amplia luz y pared fina (Fig. 62). A mayor aumento, se aprecian los vasos, con pared muy fina, revestidos por un epitelio plano simple de aspecto endotelial (Fig. 64, pág.122). El tejido que rodea a los vasos, es conectivo laxo, con escasas fibras colágenas (Fig. 64). La técnica de Von Kossa demuestra la deficiente calcificación del tejido óseo primario (Fig. 65, pág.122), y en muchas zonas la osteoide no se encuentra revestida por osteoblastos (Fig. 65). La actividad osteoclástica, moderada (Fig. 64), se evidencia más en este grupo que en los anteriores.

Transcurridos **4.5 meses**, presenta una apariencia relativamente similar, con la salvedad de que el hueso presenta mayor calcificación (Fig. 66, pág.123) persistiendo las grandes cavidades vásculo- conectivas (Fig. 66). Y en algunas zonas, existe una remodelación de hueso primario a hueso laminar, secundario (Fig. 67, pág.123).

A los **5 meses**, el aspecto general del hueso es trabecular inmaduro, con abundancia de osteocitos, en sus grandes lagunas, dispuestos tanto en línea en el interior de las trabéculas (Fig. 68, pág.124), como aleatoriamente en el espesor de las mismas (Fig. 69, pág.124). Se está formando hueso secundario, apareciendo múltiples centros de organización ósea (Fig. 68, Fig. 70, pág.125). El conectivo es de variedad laxa y alberga vasos dilatados en su interior (Fig. 68). La técnica de Von Kossa evidencia la existencia de hueso primario bien calcificado, con escasa sustancia osteoide y poca actividad osteoblástica, así como un contorno irregular en la superficie trabecular (Fig. 68). En el interior de algunas trabéculas se observan cavidades vásculo- conectivas que traducen la actividad remodeladora del hueso primario (Fig. 68, Fig. 70).

El patrón descrito se conserva sin grandes cambios a los **6 meses**, e incluso, a los **7 meses**, se presentan signos de inmadurez como la presencia de fibras colágenas evidentes en el interior de la matriz ósea (Fig. 71, pág.125). La técnica de Von Kossa nos revela buena mineralización ósea así como escasa síntesis (Fig. 72, pág.126).

A los **8 meses**, el tejido óseo es más compacto y mineralizado (Fig. 74, pág.127), aunque quedan zonas internas de tejido óseo inmaduro (Fig. 73, pág.126); se está produciendo remodelación ósea activa, con abundancia de osteoclastos (Fig. 74, Fig. 75, pág.127) y escasa osteoide (Fig. 74). El tejido conectivo ha aumentado el componente adiposo, y cobran relevancia los vasos dilatados adyacentes al borde óseo, con ribete de osteosíntesis interpuesto entre ambos (Fig. 73).

A los **11 meses**, en el tejido persiste la remodelación para formar el hueso trabecular secundario. Restan áreas de hueso inmaduro en las zonas más internas de las trabéculas, que albergan abundantes canales vásculo- conectivos. Las trabéculas se encuentran tapizadas por epitelio plano simple, células de recubrimiento. El tejido conectivo es, cada vez, más adiposo, y presenta vasos dilatados (Fig. 76, pág.128). La remodelación ósea es muy activa, primando en apariencia, la reabsorción sobre la síntesis (Fig. 76, Fig. 77, pág.128), aunque esta última también se halla presente (Fig. 78, pág.129).

En resumen, en este grupo llama la atención sobre todo, la remodelación que persiste hasta las últimas tomas (12 meses) y la frecuente presencia de osteoclastos siempre más numerosos que en los grupos anteriores (Fig. 64, pág.122, Fig. 74, Fig. 75, pág.127, Fig. 77, pág.128). Asimismo, se observa una mayor síntesis de matriz ósea, que sin embargo, no se ve acompañada de calcificación de la misma, al menos inicialmente (Fig. 62, Fig. 63, pág.121).



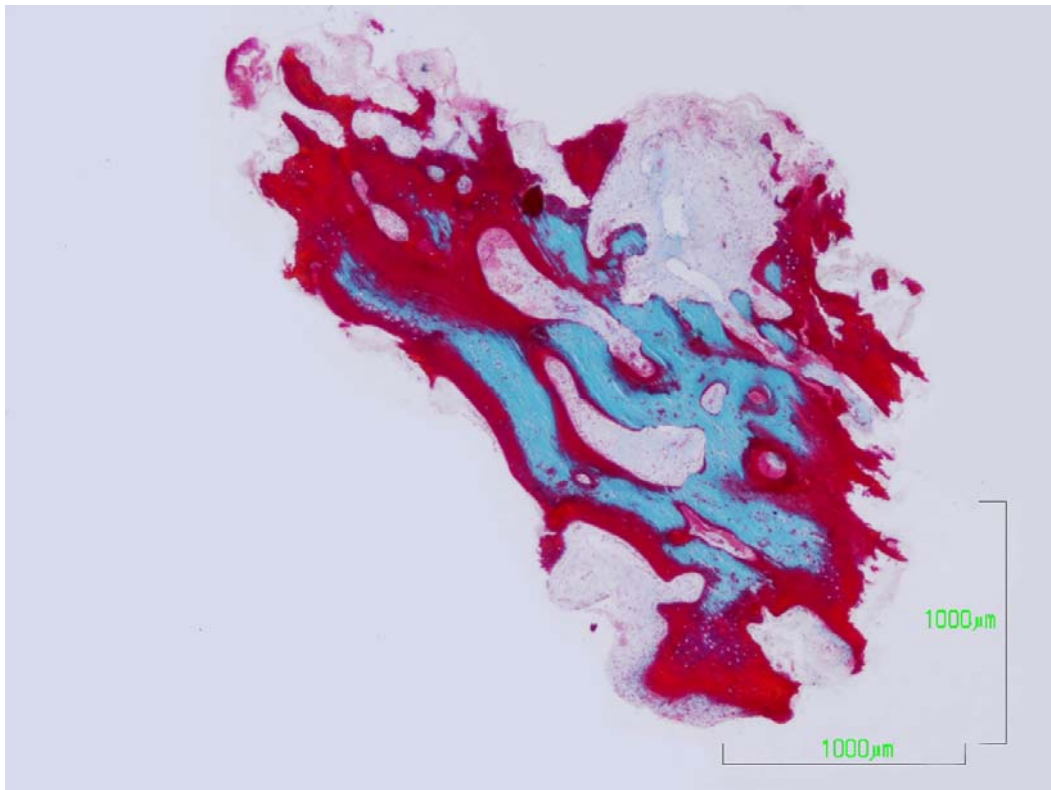


Fig. 62 Grupo III. 4 meses. Goldner. Panorámica que presenta hueso muy inmaduro con distribución anárquica de osteocitos, y abundante sustancia de características tintoriales similares a la matriz de osteoide, pero escasamente celular. Aparecen cavidades vículo- conectivas así como espacios medulares ocupados por conectivo laxo bien vascularizado, con presencia de algún vaso dilatado en su interior.

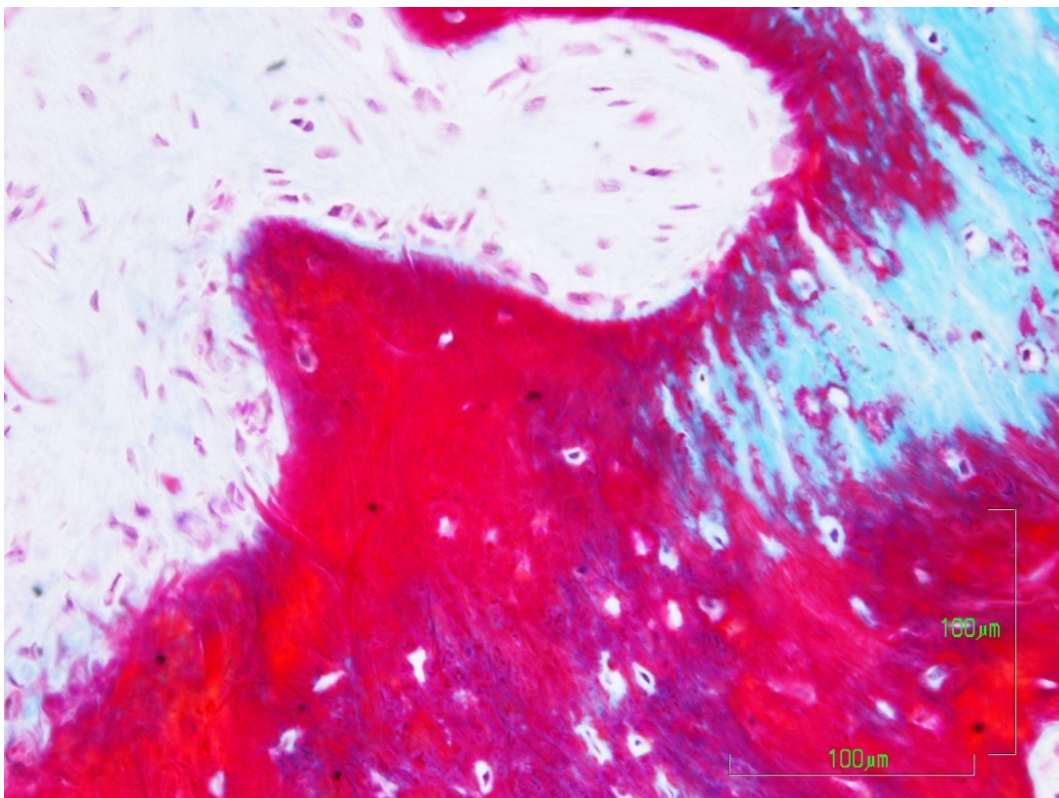


Fig. 63 Grupo III. 4 meses. Goldner. Semipanorámica de área de hueso inmaduro cuyo patrón tintorial está alterado. Presenta zonas con abundancia de osteocitos alojados en grandes lagunas osteocitarias desordenadas, y otras áreas acelulares con características tintoriales similares a la matriz de osteoide.

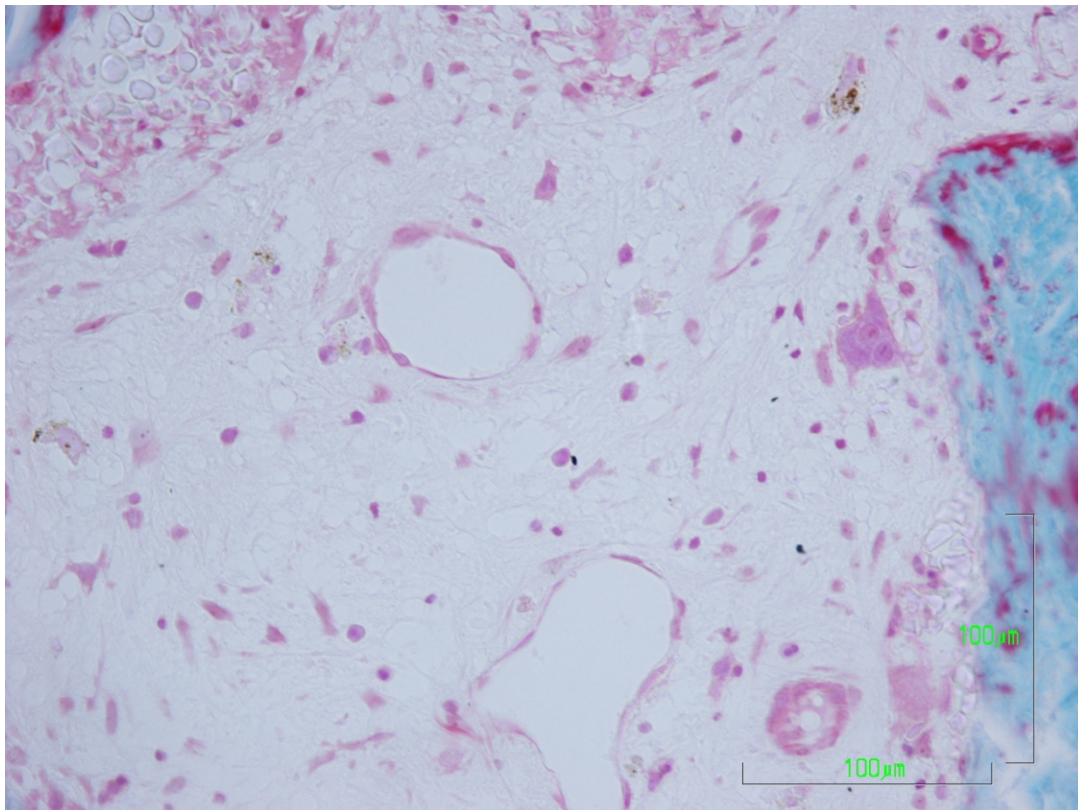


Fig. 64 Grupo III. 4 meses. Goldner. Detalle de osteoclasto en el borde óseo. El conectivo laxo se presenta bien vascularizado.

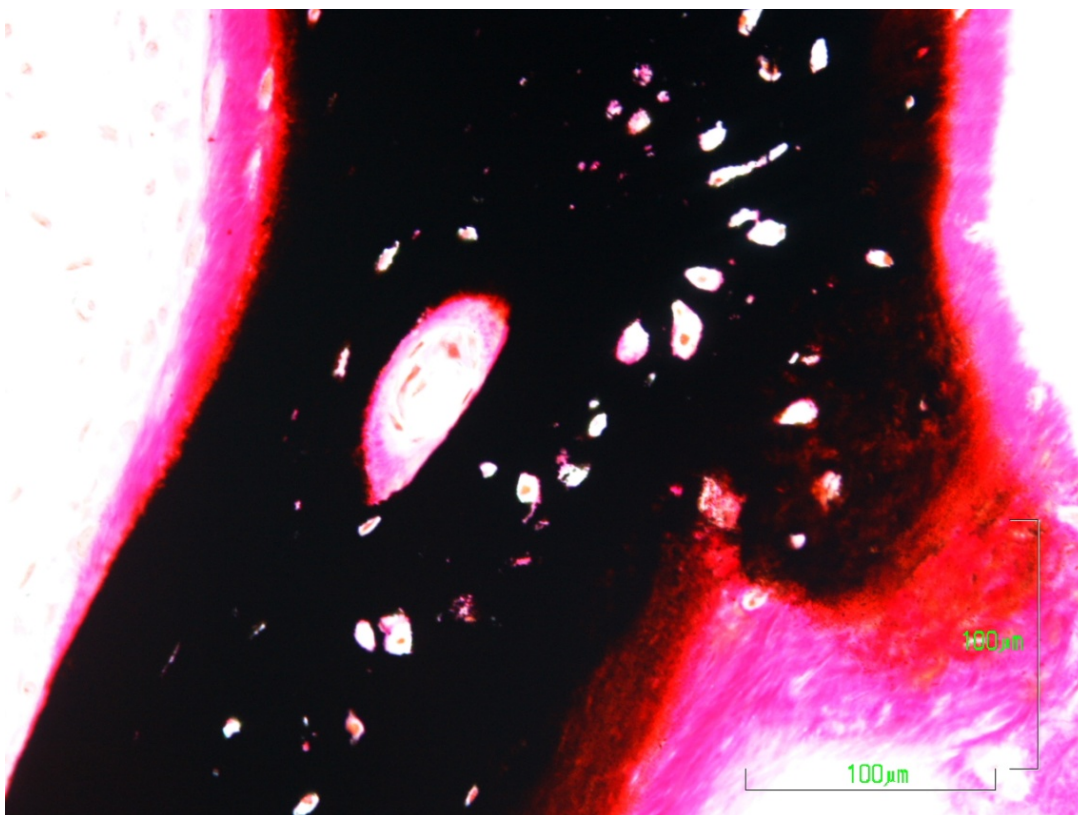


Fig. 65 Grupo III. 4 meses. Von Kossa. Detalle de la transición de matriz de osteoide (rosa) a hueso inmaduro mineralizado, siguiendo un patrón de calcificación alterado (rojo- negro).

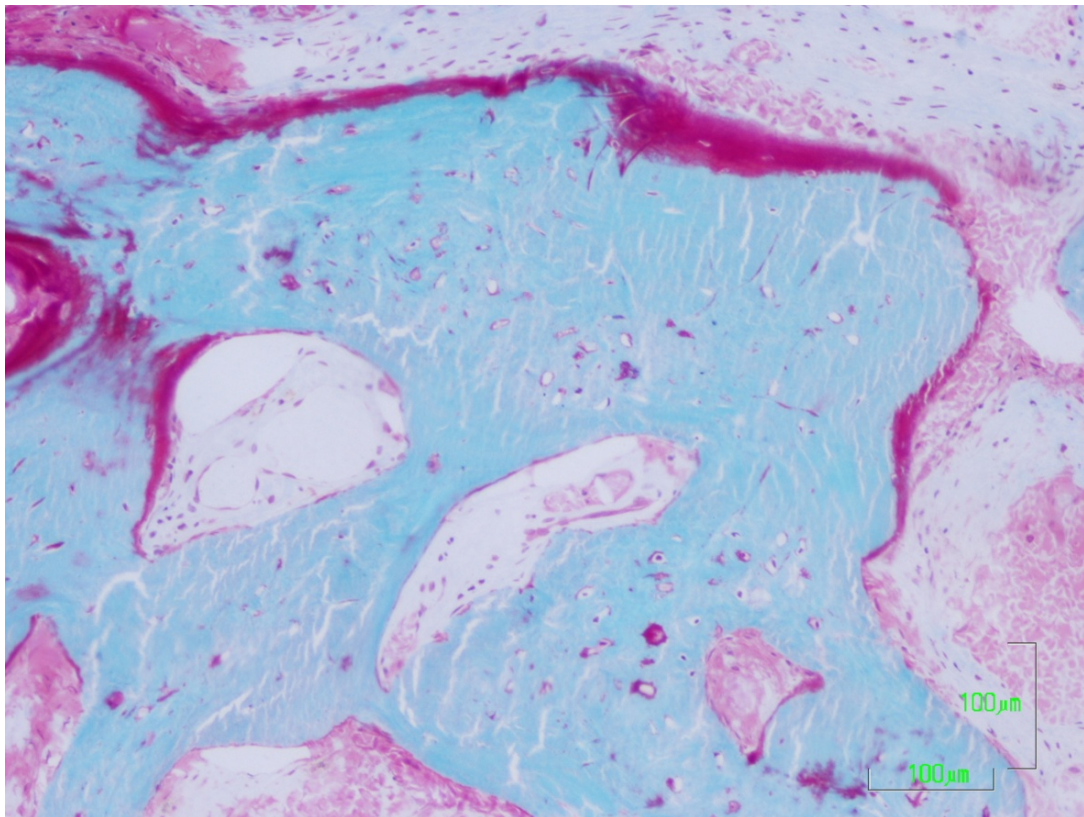


Fig. 66 Grupo III. 4.5 meses. Goldner. Semipanorámica de hueso inmaduro con grandes lagunas vásculo-conectivas en su interior. Se observa estrecho margen de matriz de osteoide.

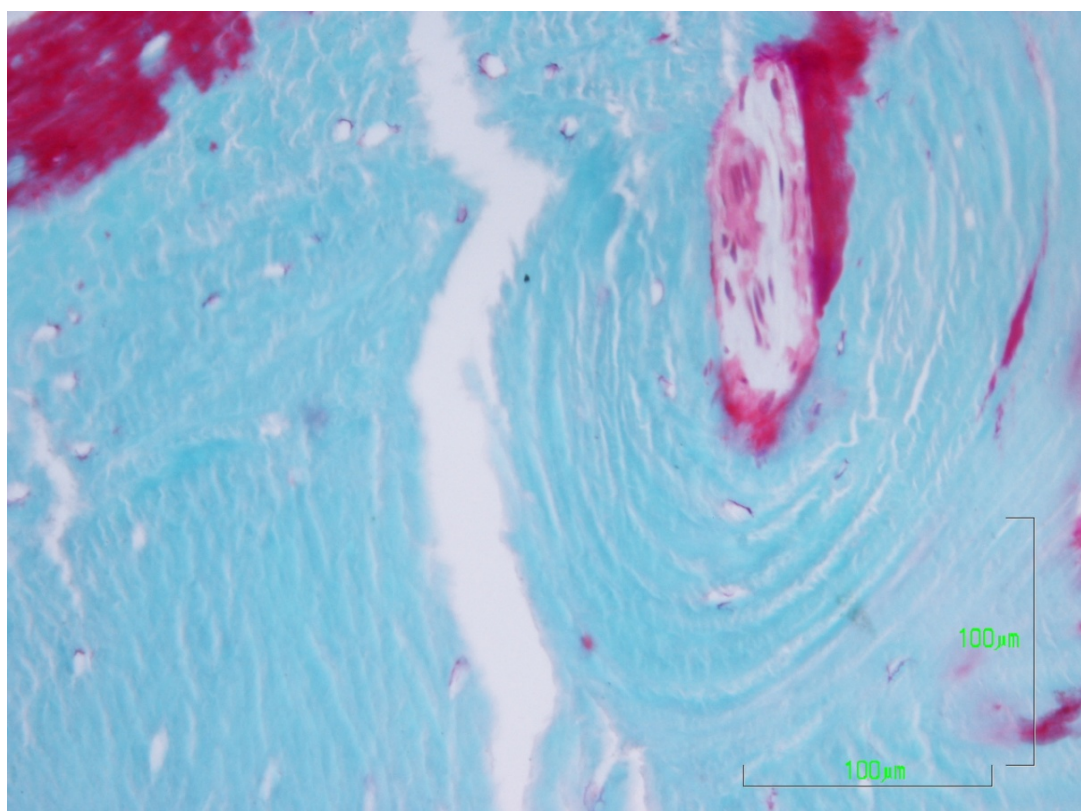


Fig. 67 Grupo III. 4.5 meses. Detalle de osteona adyacente a hueso inmaduro.

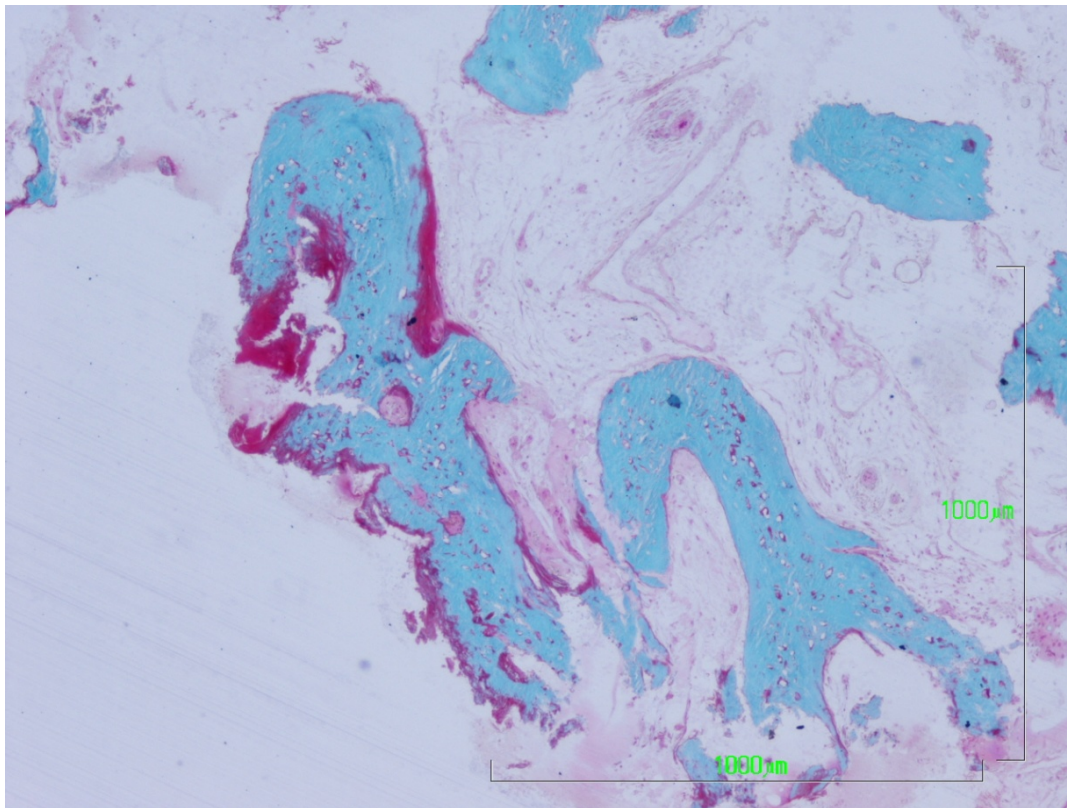


Fig. 68 Grupo III. 5 meses. Panorámica de hueso trabecular inmaduro, con osteocitos dispuestos en línea en el interior trabecular, y moderada actividad osteoide. En el conectivo, laxo, se observan algunos vasos dilatados.

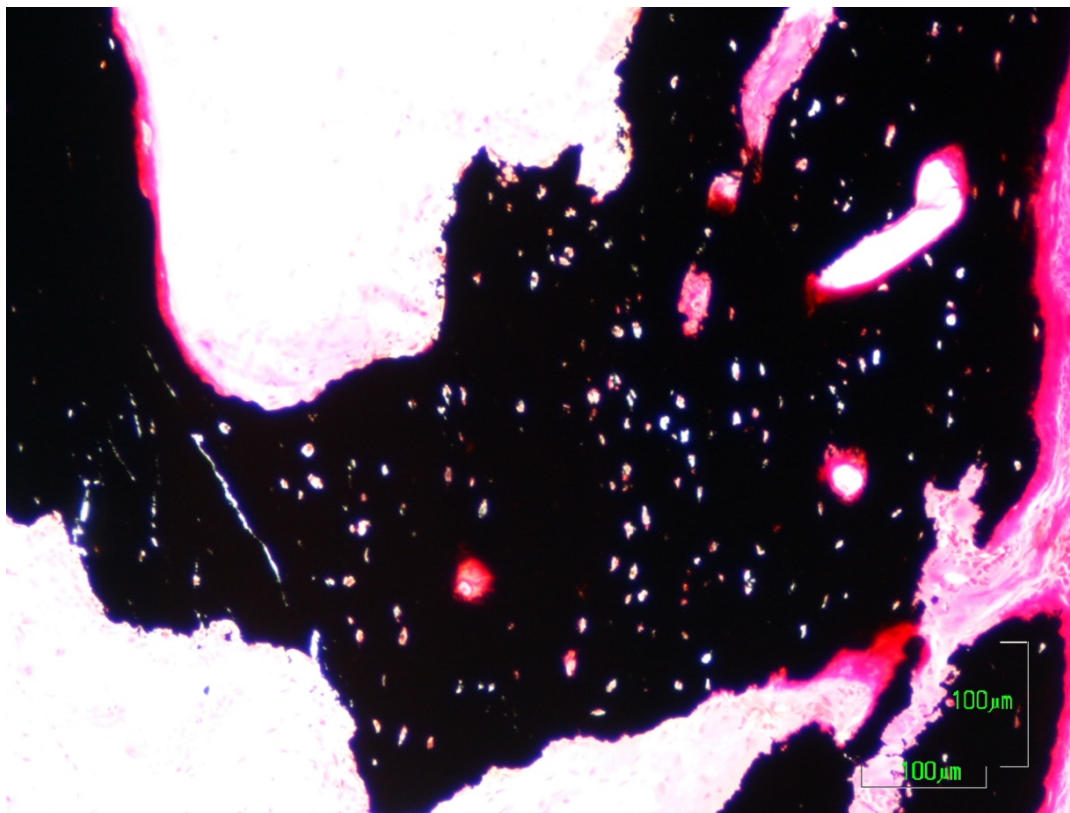


Fig. 69 Grupo III. 5 meses. Von Kossa. Semipanorámica de trabécula con bordes irregulares y leve actividad osteoide, formada por hueso inmaduro correctamente mineralizado. En su interior se observan varios canales vasculo- conectivos, y abundantes osteocitos sin orden aparente.

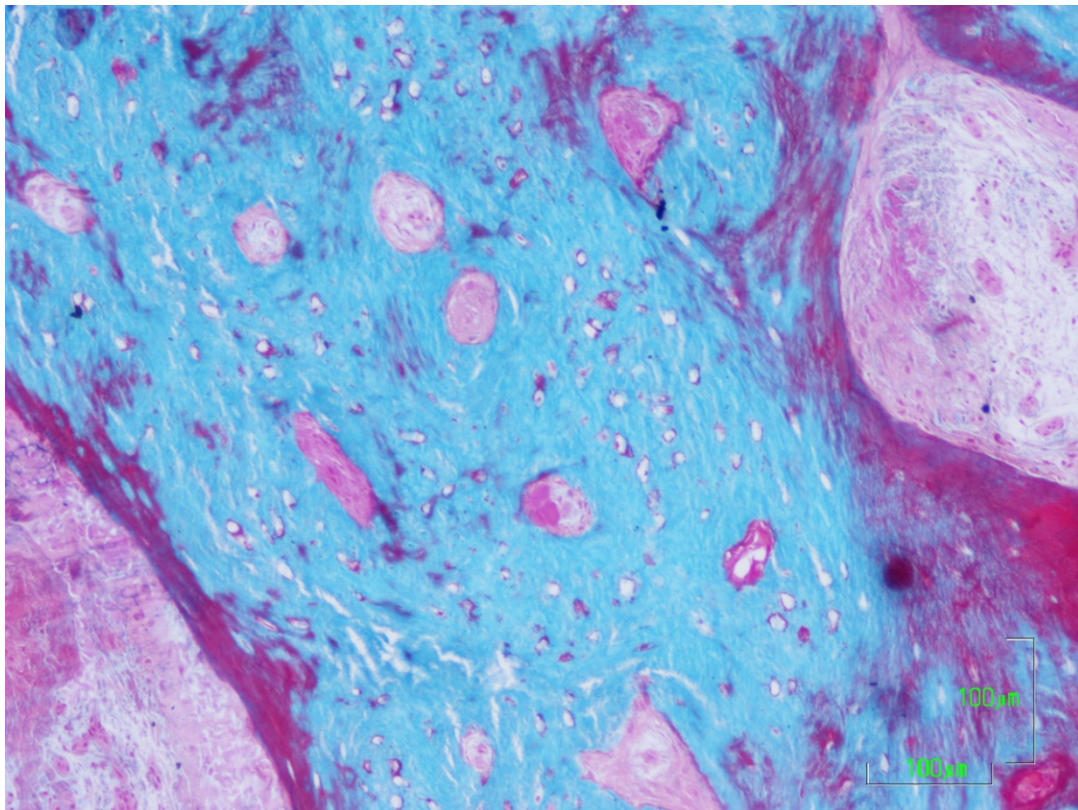


Fig. 70 Grupo III. 5 meses. Goldner. Semipanorámica en la que se aprecia hueso primario que alberga varias zonas de remodelación, lo que provoca relación de hueso inmaduro con hueso secundario.

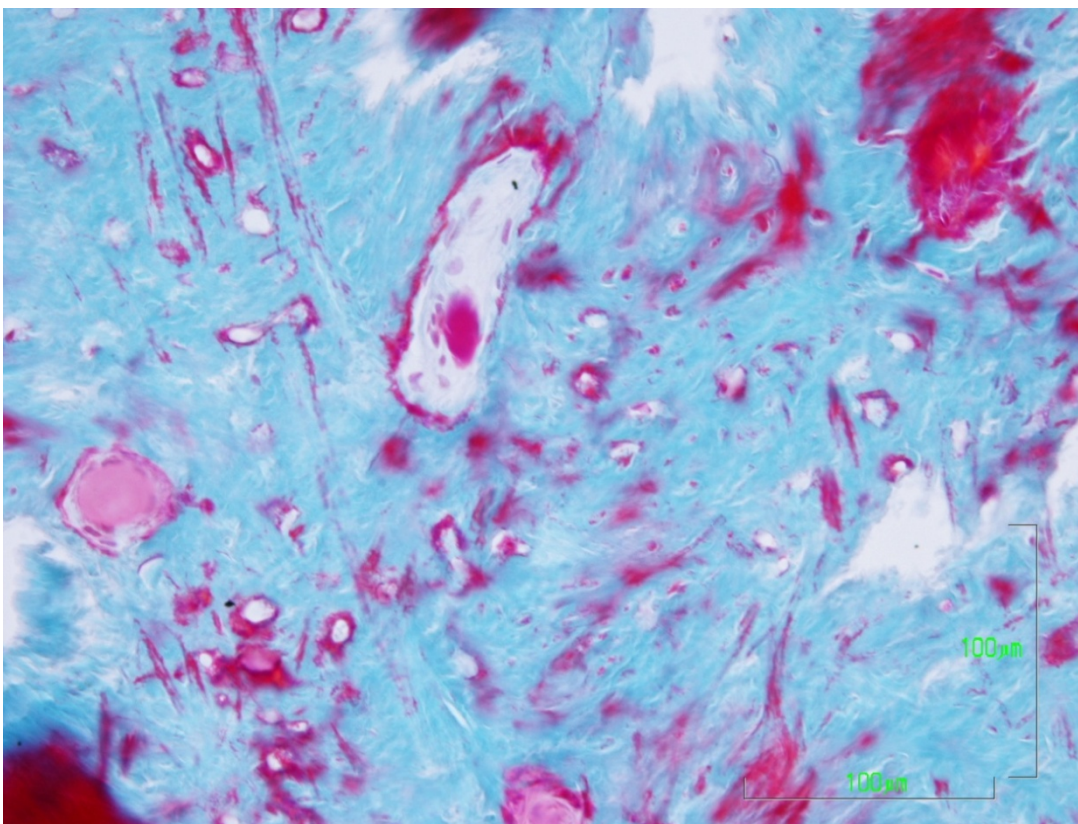


Fig. 71 Grupo III. 7 meses. Goldner. Semipanorámica de hueso inmaduro en la que se observan fibras de colágeno en diferentes posiciones, así como la elevada celularidad.

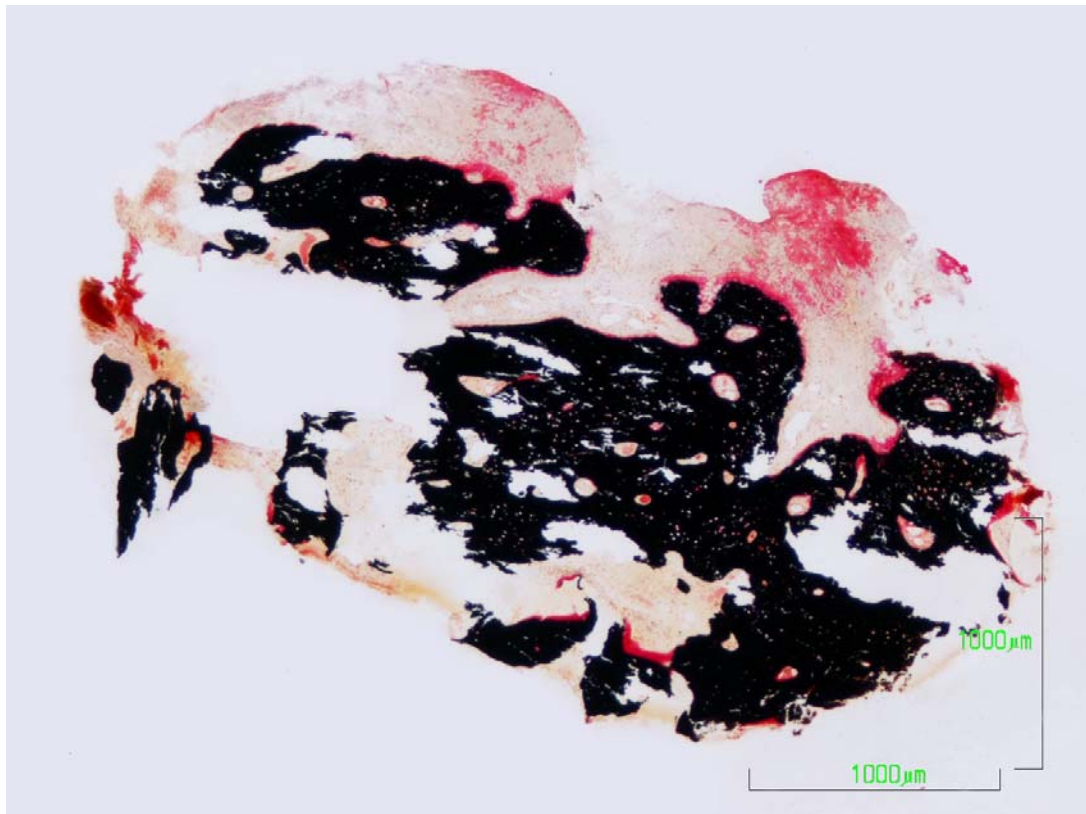


Fig. 72 Grupo III. 7 meses. Von Kossa. Panorámica que muestra hueso trabecular bien mineralizado con abundantes canales vásculo- conectivos en su interior. Se muestra leve actividad osteosintética.

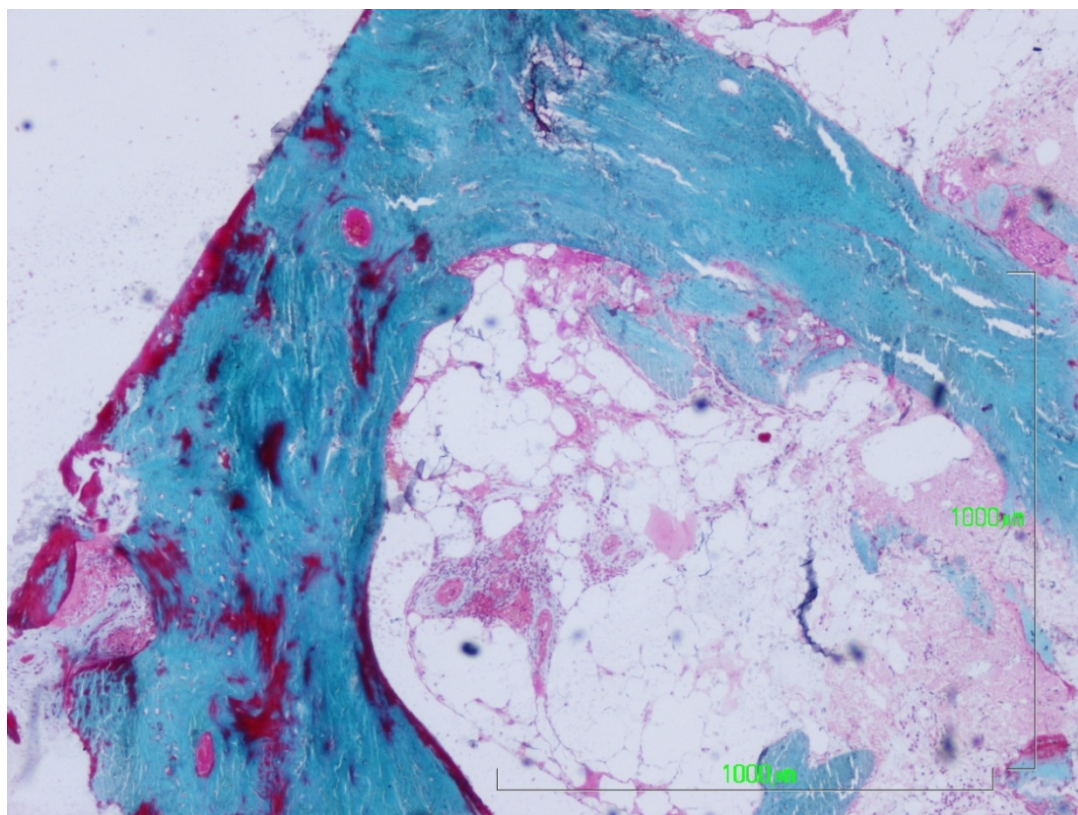


Fig. 73 Grupo III. 8 meses. Goldner. Panorámica donde aparece tejido óseo inmaduro y maduro, con tejido conectivo adiposo que acoge a vasos dilatados, alguno de ellos en paralelo al borde óseo, y separado del mismo por frente de osteosíntesis.

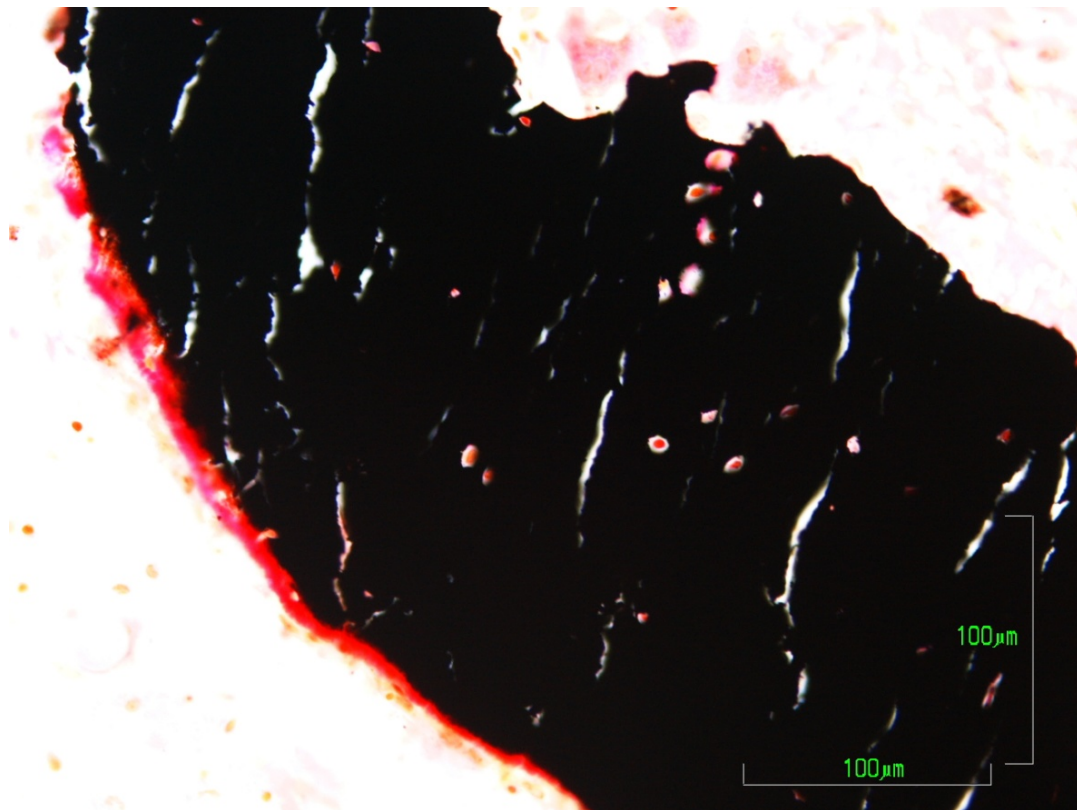


Fig. 74 Grupo III. 8 meses. Von Kossa. Trabécula correctamente mineralizada con un borde superior irregular en el que se observan osteoclastos, y un pequeño ribete de osteoide en inferior.

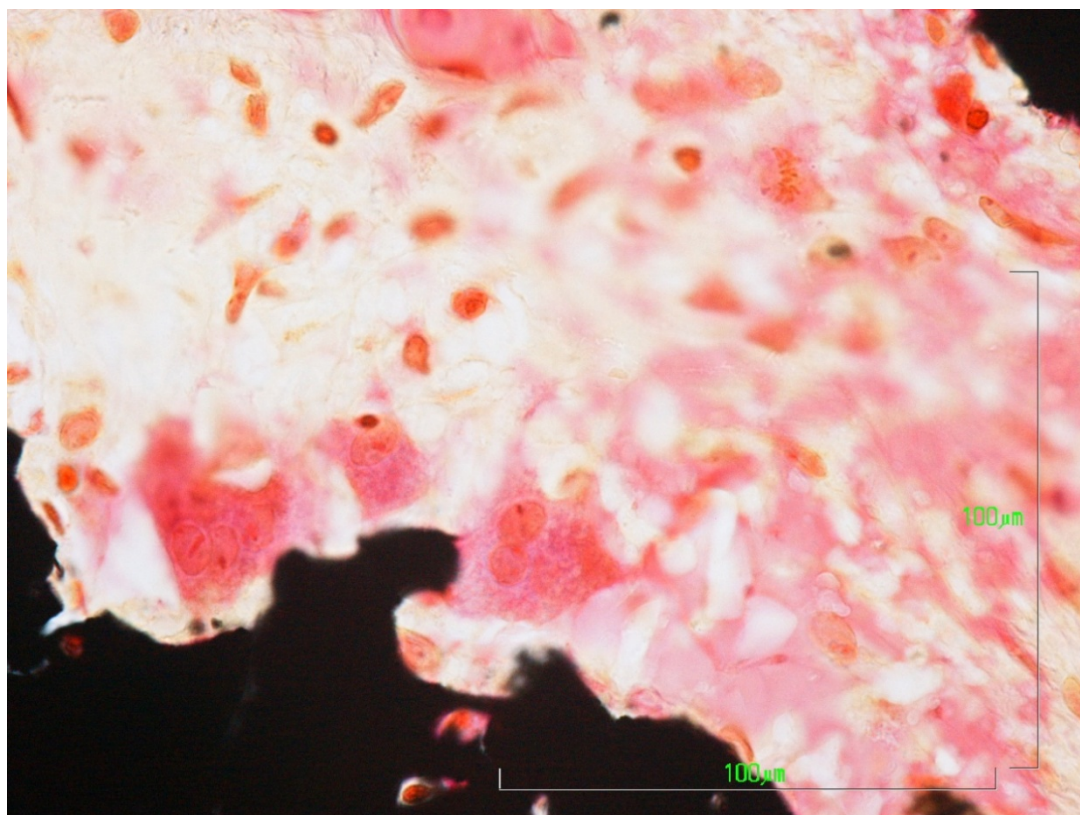


Fig. 75 Grupo III. 8 meses. Von Kossa. Detalle de los osteoclastos reabsorbiendo hueso.

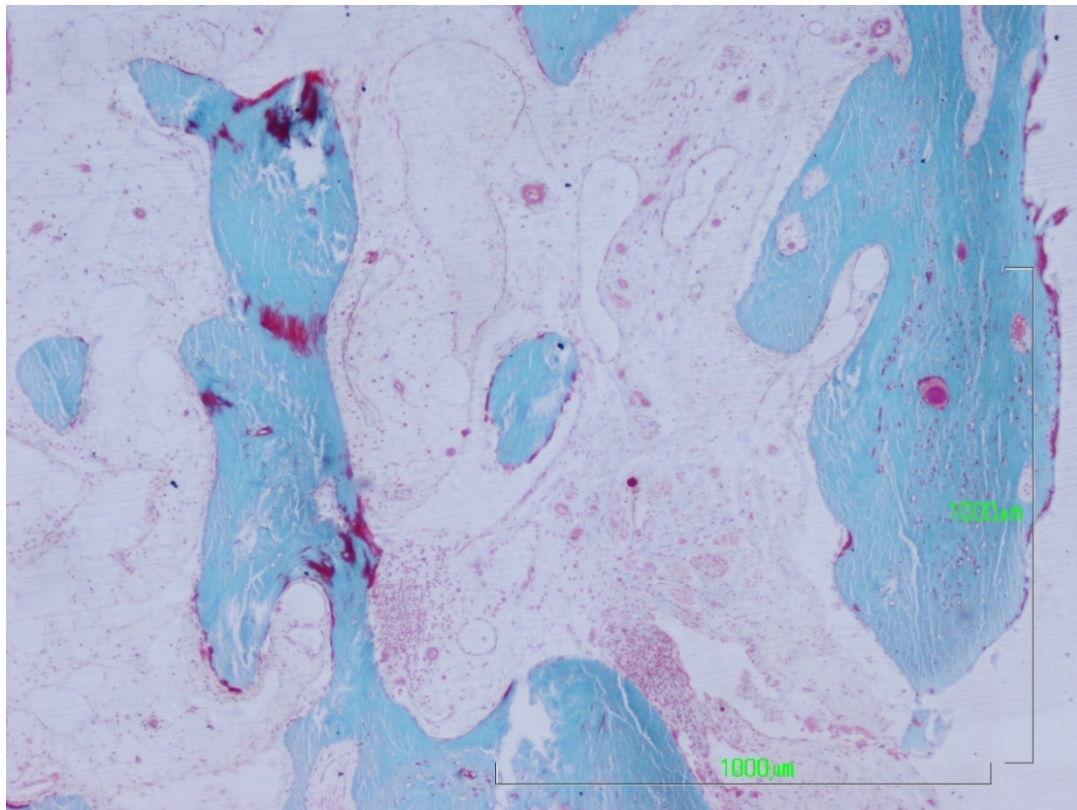


Fig. 76 Grupo III. 11 meses. Goldner. Panorámica que muestra hueso trabecular maduro en general, con zonas de inmaduro centradas. Los bordes están tapizados por células de recubrimiento, mostrando muy leve actividad osteoide. El tejido conectivo es de variedad laxo y adiposo, acogiendo en él vasos dilatados.

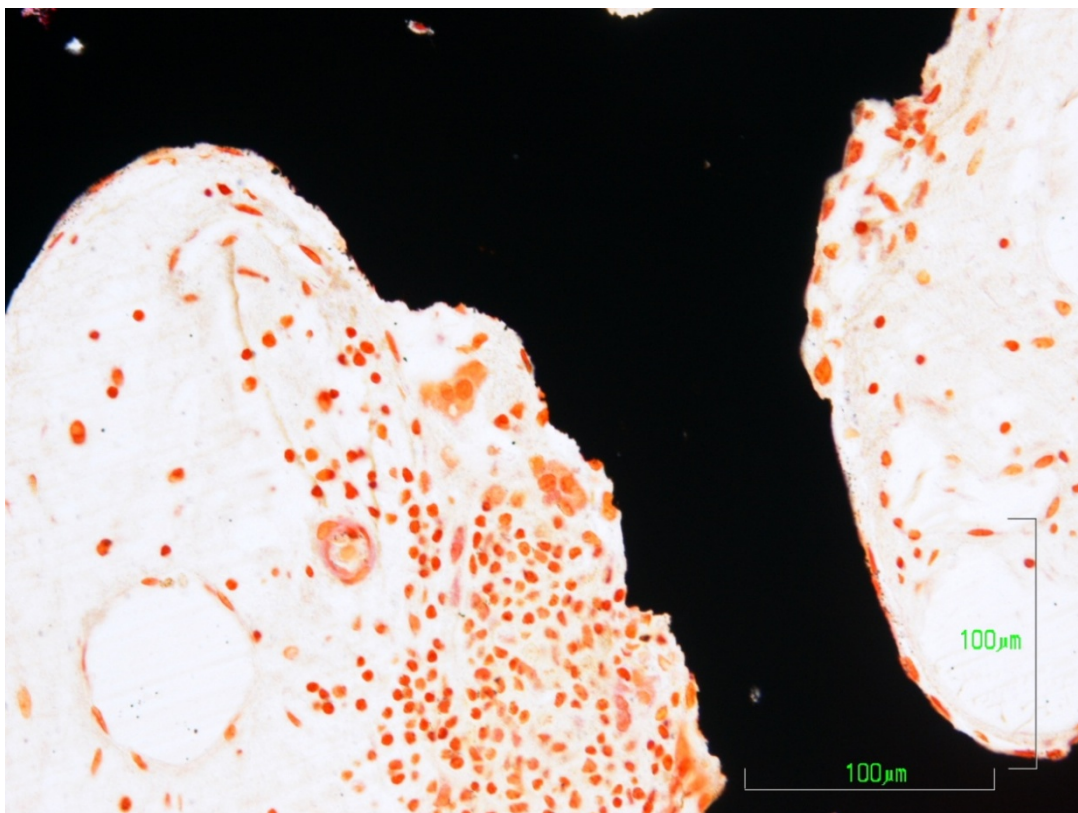


Fig. 77 Grupo III. 11 meses. Von Kossa. Detalle de osteoclastos de reciente formación por unión de macrófagos, situados en el frente reabsortivo (a la izquierda).

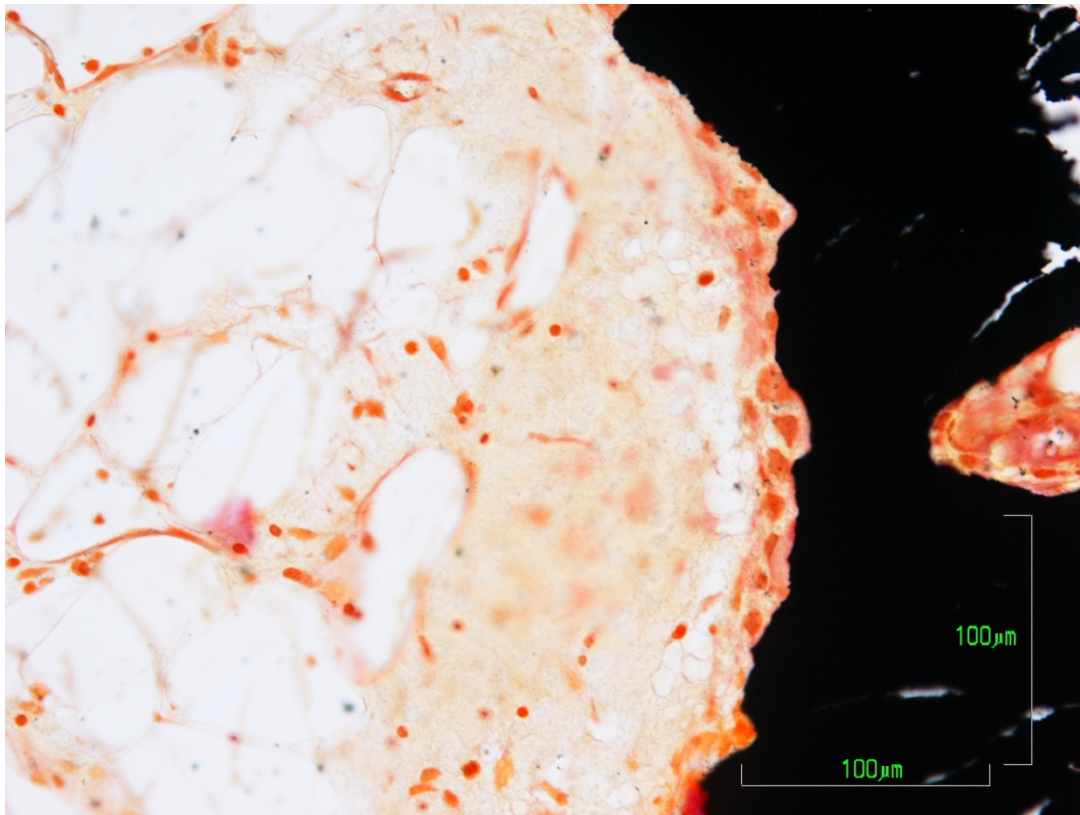


Fig. 78 Grupo III. 11 meses. Von Kossa. Detalle del escaso ribete osteoblástico.

Grupo IV

En este apartado se describen 19 casos, pertenecientes al mismo número de pacientes, a los que, tras practicarse la extracción dentaria, se les colocó PRP mezclado con diferentes partículas óseas. Dependiendo de la naturaleza de éstas, se ha realizado una división del grupo resultando los siguientes subgrupos:

IVa en que se injertó PRP con hueso autólogo de origen oral y que se compone de 6 casos.

IVb está formado por los 5 casos a los que se colocó PRP con hueso liofilizado desmineralizado.

IVc en que se rellenó el alvéolo con PRP más una mezcla de hueso autólogo bucal y hueso liofilizado desmineralizado, el cuál consta de 8 especímenes.

Los tiempos, desde la colocación de los injertos citados hasta la cirugía de toma de biopsia, oscilaron entre los 4 y 13 meses (Tabla 32).

Identificación	pieza	% mineral	% no mineral	meses	edad	sexo	Arcada
DRG	36	54,60	45,40	4	53	V	Inf
FSM	22	29,52	70,48	4	74	M	Sup
JASM	43	51,27	48,73	4	50	V	Inf
AC	13	20,34	79,66	5	32	V	Sup
FFD	23	14,63	85,37	5	54	M	Sup
ID	13	32,51	67,49	6	57	M	Sup
LP	27	16,32	83,68	4	46	M	Sup
NM	23	13,34	86,66	4	49	M	Sup
ABD	13	10,30	89,70	4,5	49	V	Sup
SSVG	21M	16,28	83,72	5	33	M	Sup
TR	47	40,95	59,05	7	31	V	Inf
IFP	13	18,97	81,03	4	53	M	Sup
UCR	42	19,77	80,23	4	54	V	Inf
CBB	13p	41,94	58,06	4,5	43	V	Sup
JCG	43	26,17	73,83	4,5	55	V	Inf
CHFC	13	66,32	33,68	5	45	V	Sup
JFG	23	21,09	78,91	6,5	57	V	Sup
SLP	12	82,16	17,84	8	50	M	Sup
JIZV	26	74,51	25,49	13	38	V	Sup

Tabla 32: Grupo IV. Mediciones histomorfométricas (%mineral versus % no mineral).



Las gráficas temporales de mineralización de los 3 subgrupos (Tabla 33, Tabla 34, Tabla 35) difieren tanto en la forma de la curva creada, como en la longevidad del estudio (a: 4-6 meses, b: 4-7 meses, c: 4-13 meses). Mientras que al usar hueso autólogo el componente mineral comienza cercano al 50%, descendiendo posteriormente, parece iniciar su recuperación en el 6º mes. El uso de hueso liofilizado desmineralizado, confiere poco mineral inicial, 15%, para ir en aumento a partir de los 7 meses. Al utilizar ambos tipos de hueso, no se compensa la proporción mineral, sino que también comienza bajo el componente mineral, 19%, y aumentará posteriormente alcanzando su pico a los 8 meses con en 82%.

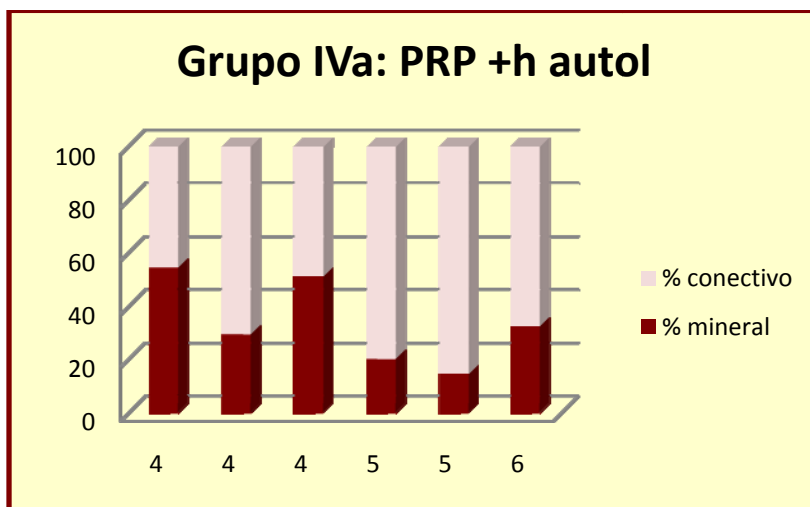


Tabla 33: Grupo IVa. Gráfica secuencial temporal de mineralización. Abscisas= Meses, ordenadas=%.

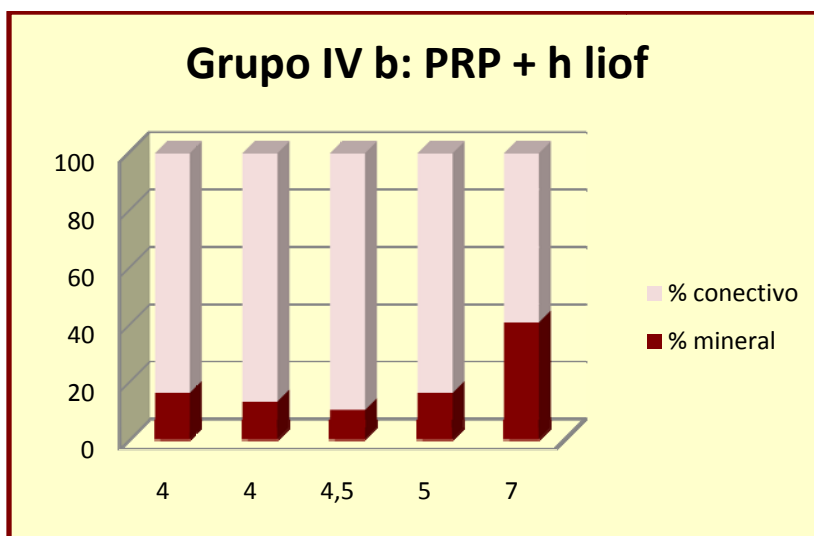


Tabla 34: Grupo IVb. Gráfica secuencial temporal de mineralización. Abscisas= Meses, ordenadas=%.



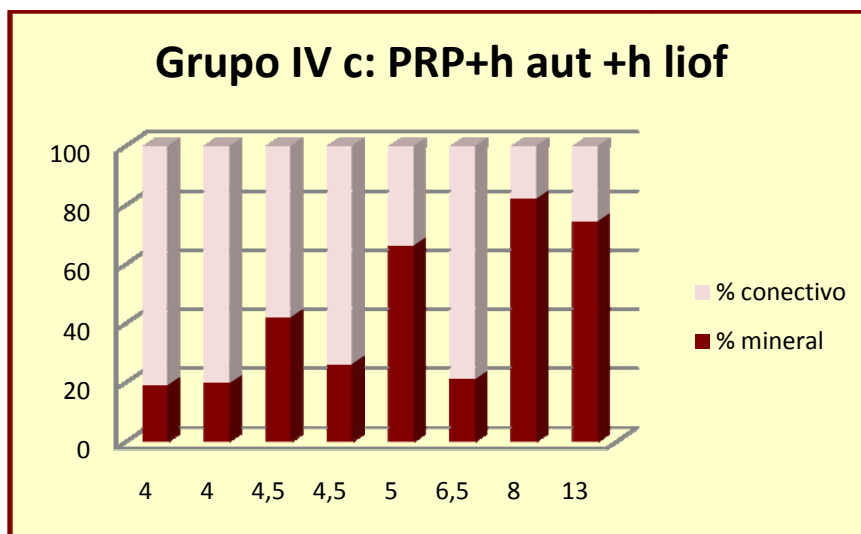


Tabla 35: Grupo IVc. Gráfica secuencial temporal de mineralización. Abscisas= Meses, ordenadas=%.

A los **4 meses**, con PRP + hueso autólogo, se presenta un tejido óseo inmaduro, con bastantes áreas sin mineralizar entremezcladas (Fig. 79, pág.133, Fig. 84, pág.136). Abunda la matriz de osteoide coexistiendo con algún signo de reabsorción (remodelación). Aparecen grandes cavidades medulares muy vascularizadas (Fig. 79). Se observan algunas células de revestimiento cubriendo a la matriz de osteoide, y escasamente, tejido conectivo adiposo (Fig. 80, pág.134).

Se aprecian zonas de hueso maduro que rodean a otras de hueso sin mineralizar (Fig. 81, pág.134). También se observan áreas de descalcificación, celulares, dentro del bloque óseo (Fig. 83, pág.135, Fig. 84, pág.136), así como espículas, acelulares, desmineralizándose, aisladas por conectivo fibroso (Fig. 82, pág.135).

A los **5 meses**, el tejido óseo continúa presentando procesos de remodelación y maduración. Hay menos matriz de osteoide, aunque sigue cubriendo algunos bordes óseos (Fig. 85, pág.136). Todavía quedan restos de espículas óseas injertadas, que están siendo reabsorbidas por células multinucleadas (Fig. 86, pág.137).

A los **6 meses**, el proceso de maduración continúa, observándose hueso secundario mineralizado adyacente a hueso descalcificado (Fig. 87, pág.137).

En una de las biopsias, se apreció metaplasia cartilaginosa, cartílago fibroso en trance de mineralización asociado con abundante tejido conectivo denso (Fig. 88, Fig. 89, pág.138).

En síntesis, la evolución del tejido óseo, en este grupo, comienza con hueso inmaduro, en el que se aprecian áreas no mineralizadas, y en el que coexisten signos de síntesis con otros de reabsorción (Fig. 79, pág.133, Fig. 83, pág.135). El hueso será mayoritariamente secundario a los 6 meses aunque en el interior trabecular continúe coexistiendo hueso inmaduro (Fig. 87, pág.137). Se pueden observar partículas de injerto óseo autólogo que están siendo reabsorbidas por osteoclastos (Fig. 86, pág.137), y que se continúan apreciando a los 6 meses (Fig. 87).

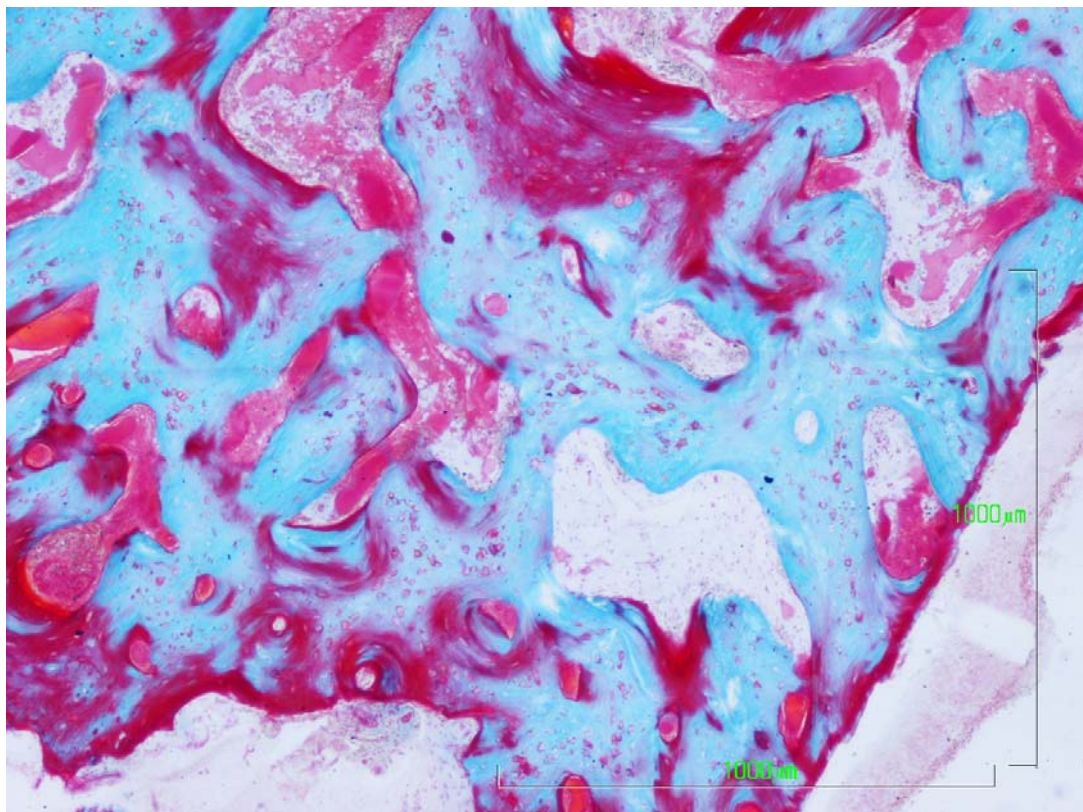


Fig. 79 Grupo IVa. 4 meses. Goldner. Panorámica que muestra tejido óseo inmaduro con grandes cavidades medulares. En su interior se observa abundante matriz osteoide no mineralizada.

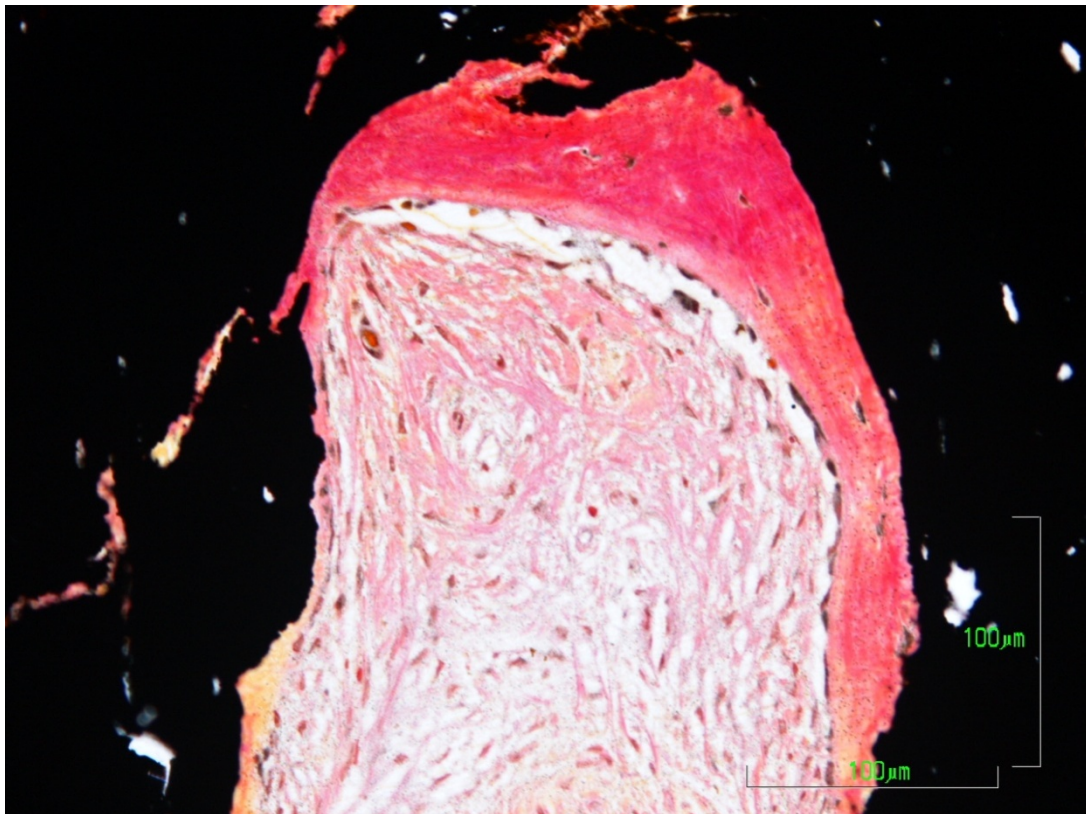


Fig. 80 Grupo IVa. 4 meses. Von Kossa. Detalle de células de revestimiento cubriendo a la matriz de osteoide (con osteocitos) y, adyacente, un pequeño ribete de tejido conectivo.

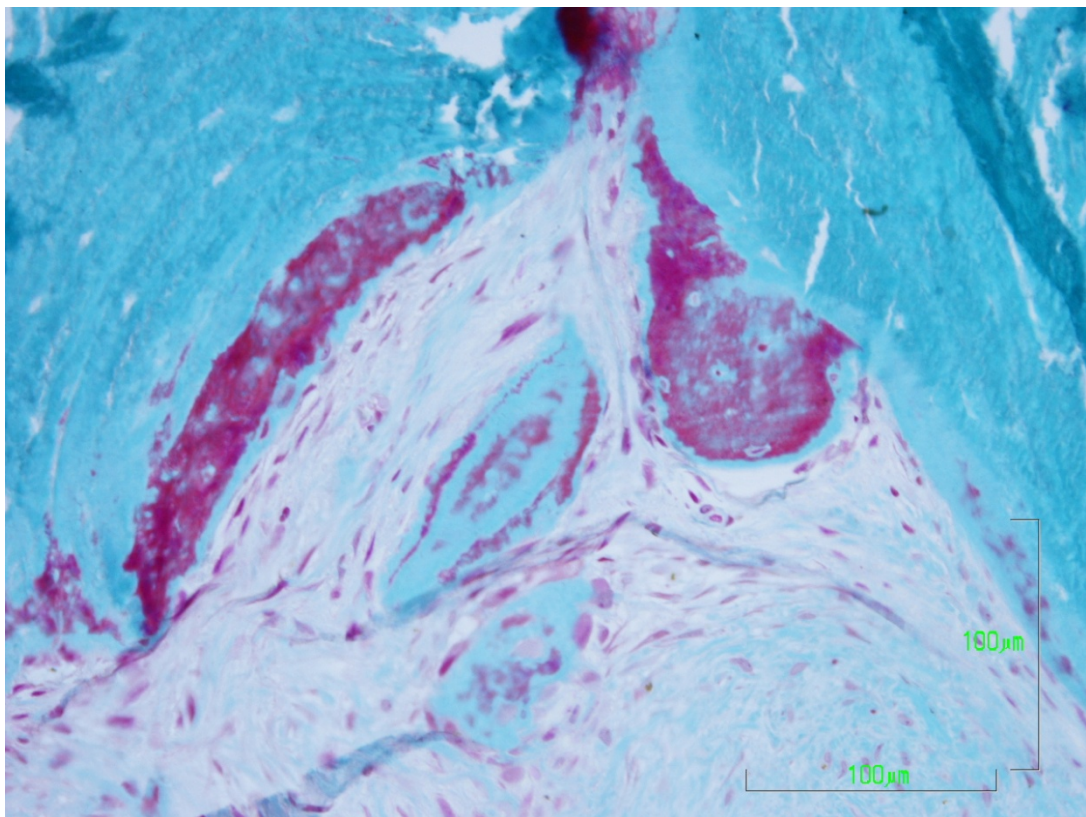


Fig. 81 Grupo IVa. 4 meses. Goldner. Detalle en el que se observa hueso maduro organizado, unido a zonas aparentemente no mineralizadas pero vitales. En el conectivo laxo se observan varias espículas óseas.



Fig. 82 Grupo IVa. 4 meses. Von Kossa. Semipanorámica con espículas óseas, acelulares y que están parcialmente descalcificadas, rodeadas por tejido conectivo denso.

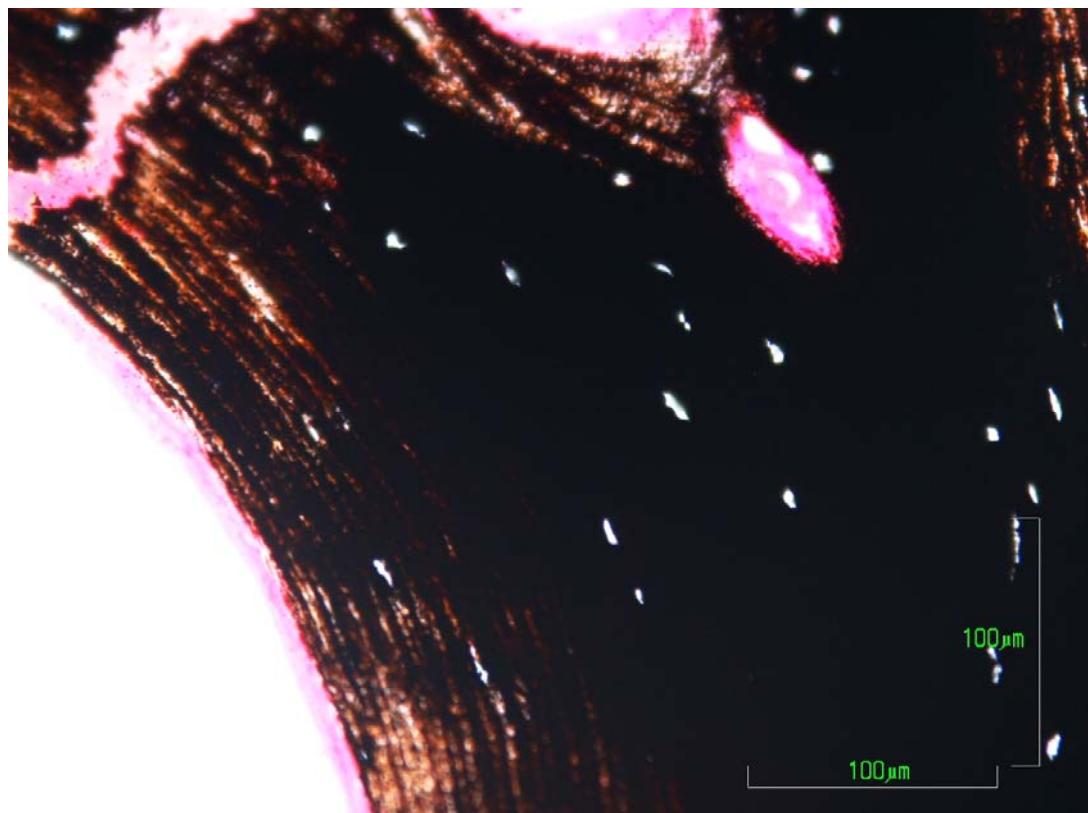


Fig. 83 Grupo IVa. 4 meses. Von Kossa. Detalle de hueso maduro, laminar, bien calcificado, con conductos vásculo- conectivos y, a la izquierda, hueso parcialmente descalcificado.

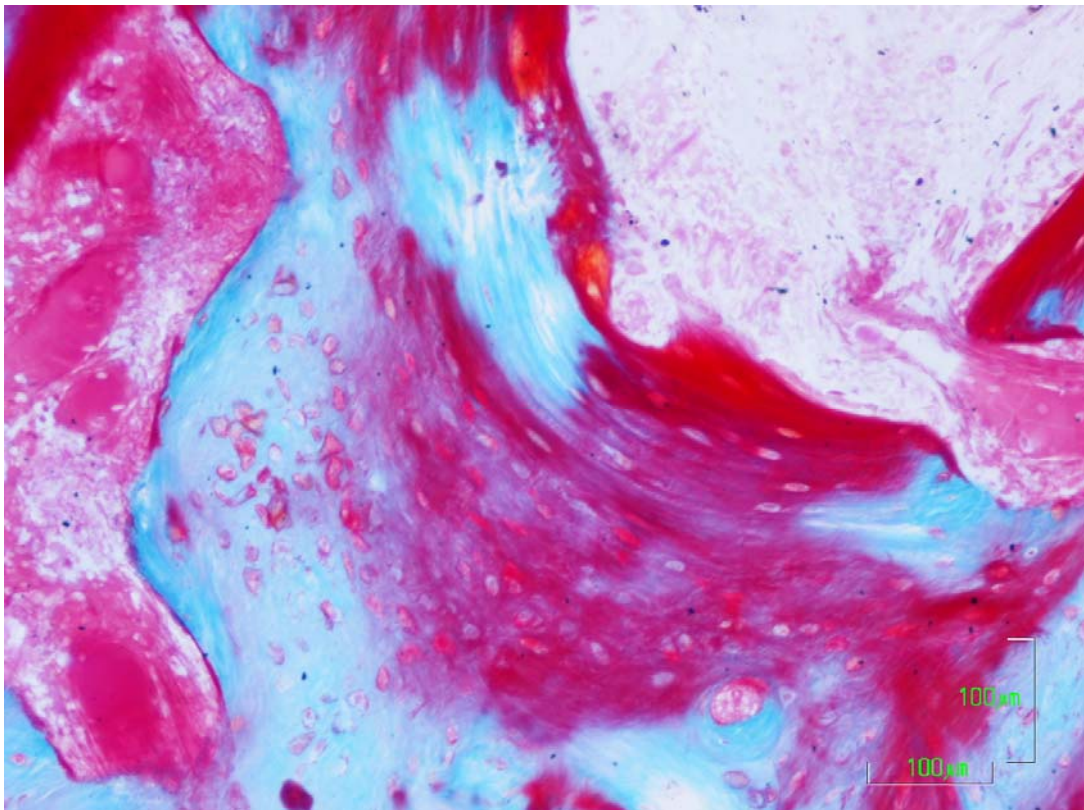


Fig. 84 Grupo IVa. 4 meses. Goldner. Semipanorámica de restos de hueso autógeno parcialmente rodeado por hueso inmaduro de nueva formación.

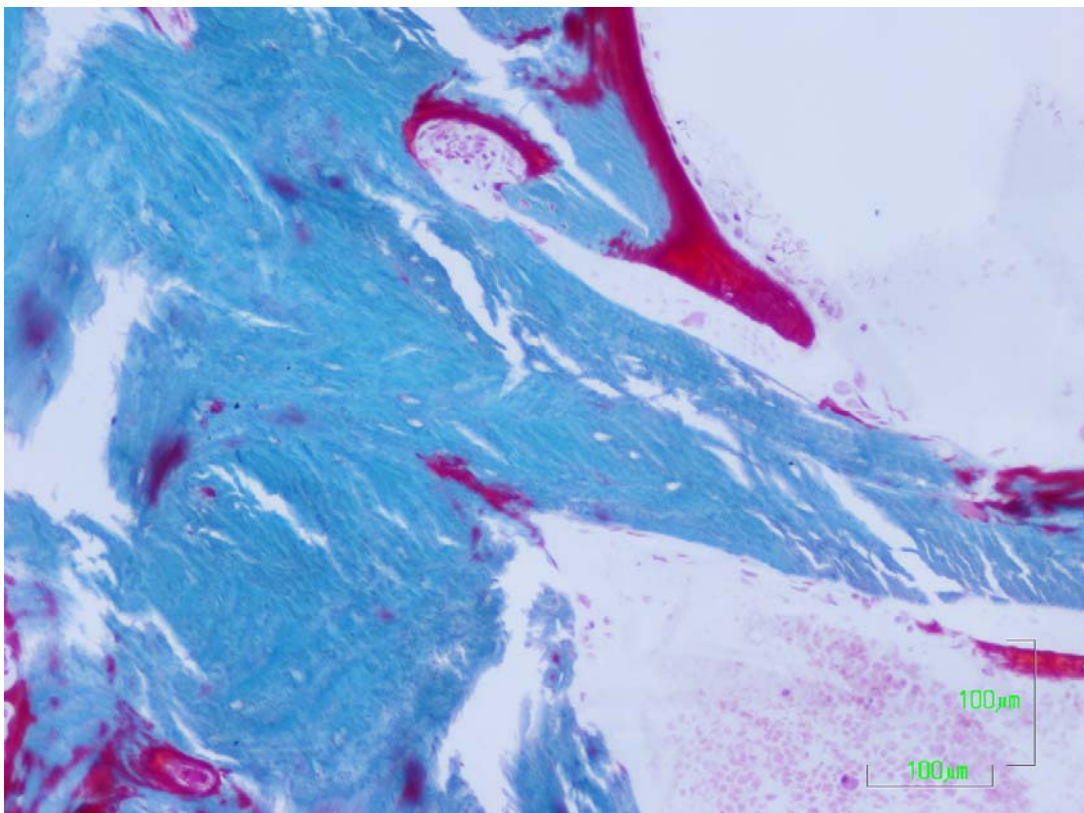


Fig. 85 Grupo IVa. 5 meses. Goldner. Semipanorámica de hueso más maduro con leve actividad de síntesis.

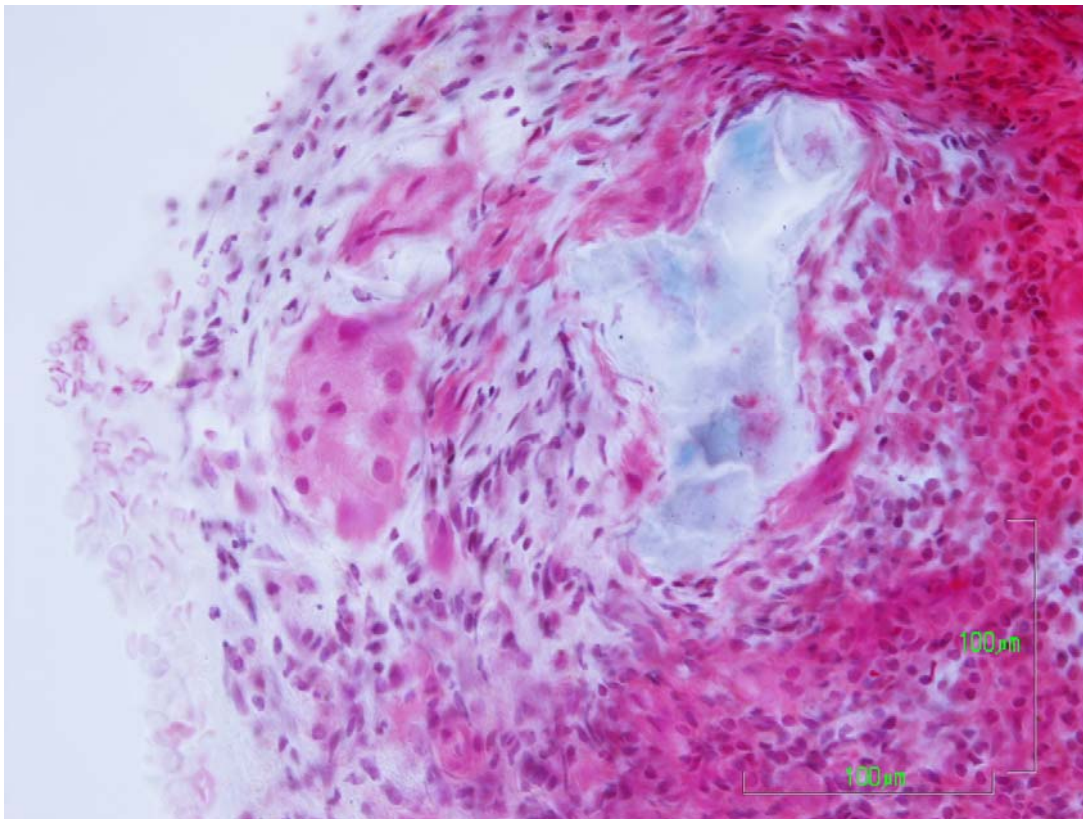


Fig. 86 Grupo IVa. 5 meses. Goldner. Detalle de células multinucleadas (posiblemente osteoclastos) reabsorbiendo espícula ósea acelular. Alrededor se observan abundantes células inflamatorias.

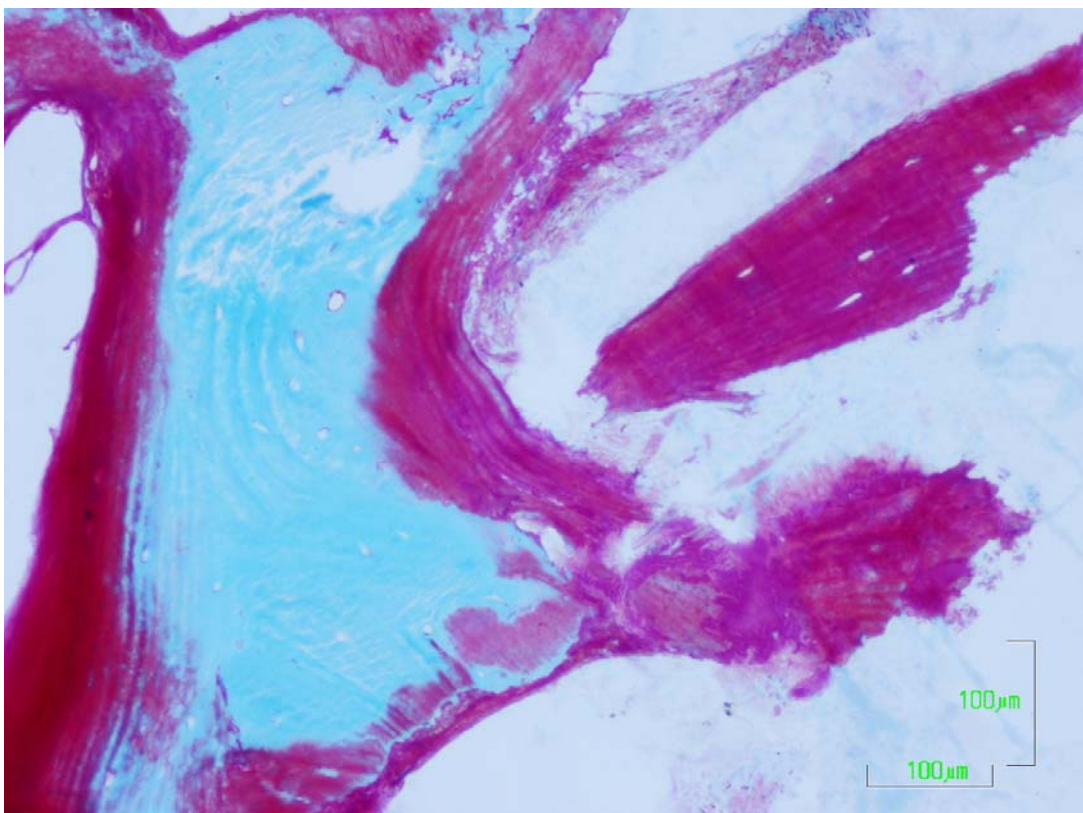


Fig. 87 Grupo IVa. 6 meses. Goldner. Semipanorámica que muestra hueso maduro laminar con zonas periféricas abundantes en osteoide, y espícula ósea acelular con caracteres tintoriales de sustancia osteoide.

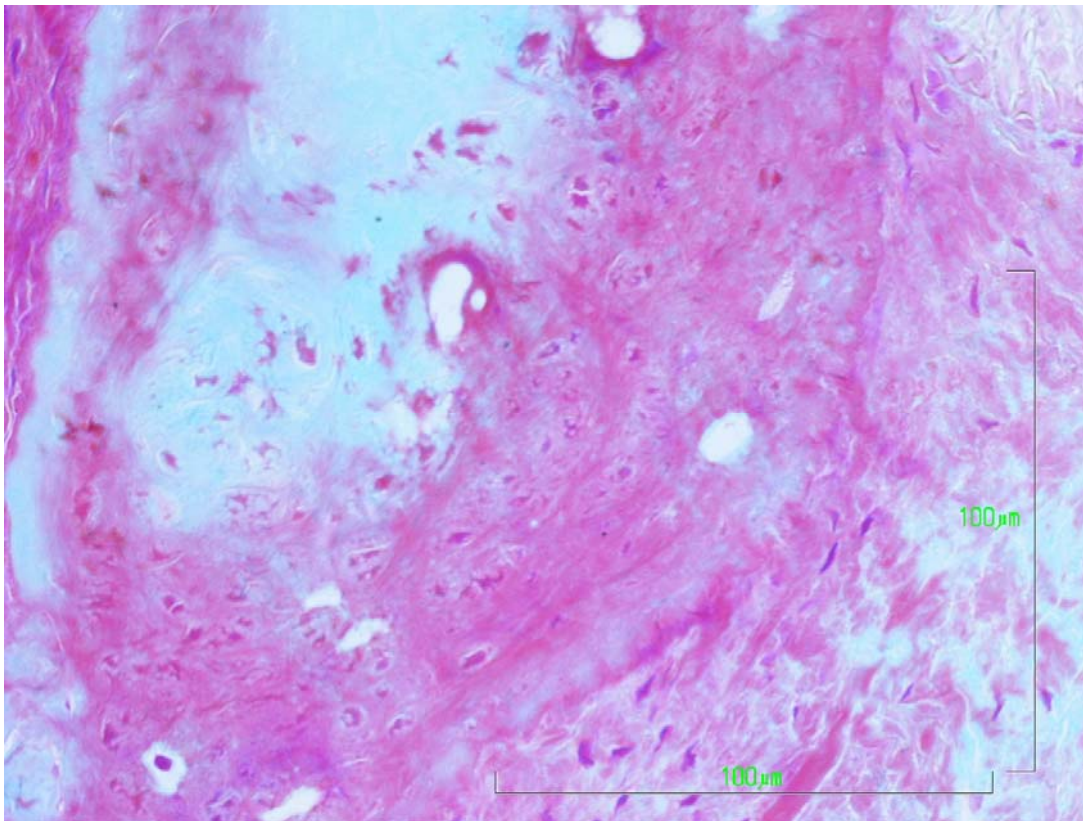


Fig. 88 Grupo IVa. 6 meses. Goldner. Detalle de metaplasia cartilaginosa. Tejido cartilaginoso fibroso. Corresponde a un hallazgo exclusivo de esta biopsia.

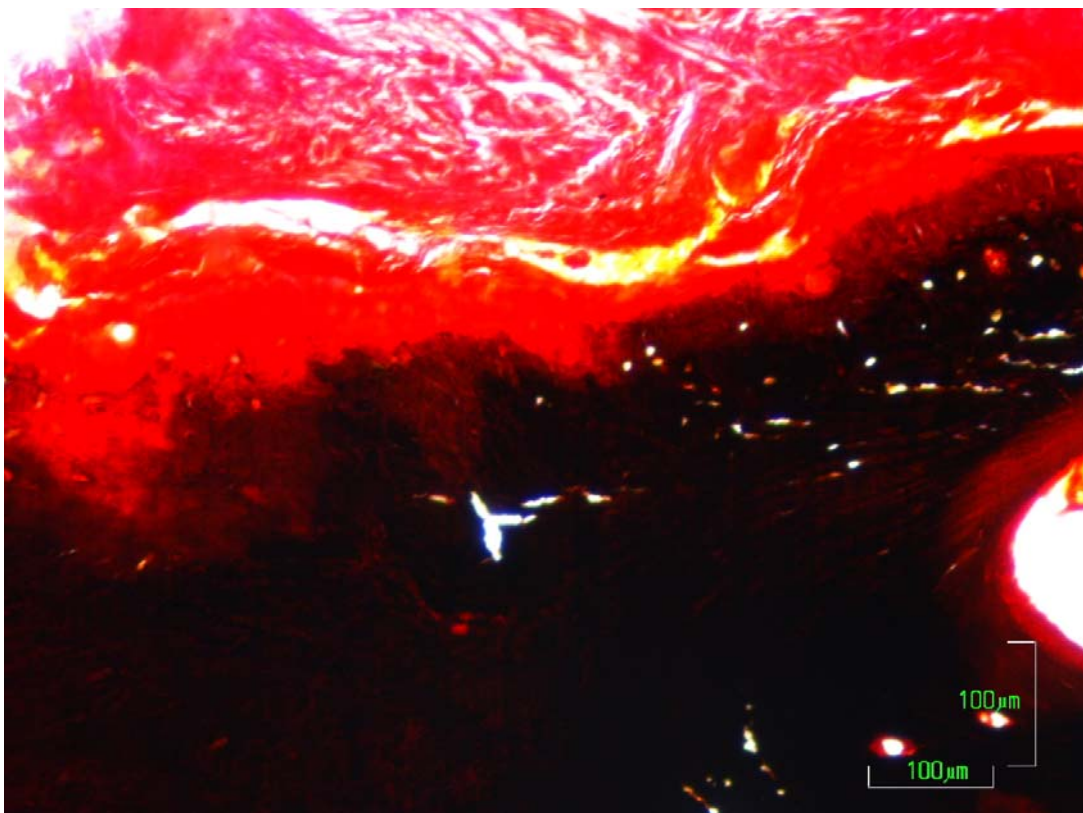


Fig. 89 Grupo IVa. 6 meses. Von Kossa. Semipanorámica que presenta tejido conectivo denso en la porción superior de la imagen, relacionado íntimamente con tejido óseo no correctamente mineralizado (metaplasia cartilaginosa).

A los **4 meses**, con injerto de PRP+ hueso liofilizado, el hueso se presenta muy desestructurado (Fig. 90, pág.140), parcialmente mineralizado, y con gran actividad osteoide, fenómenos que coexisten con imágenes de mineralización parcial de los injertos (Fig. 90, Fig. 91, pág.140, Fig. 92, pág.141, Fig. 94, pág.142). El tejido conectivo laxo, con pequeños focos de adiposo, alberga vasos dilatados que discurren paralelos a los bordes óseos, adyacentes a frentes osteoblásticos activos (Fig. 91). Aparecen múltiples y pequeñas espículas óseas acelulares, parcialmente calcificadas, delimitadas por tejido conectivo laxo (Fig. 93, pág.141, Fig. 94, pág.142).

Aunque la mineralización ósea es mayor, a los **7 meses**, todavía quedan grandes áreas sin calcificar. Las espículas se han ido amalgamando para formar un bloque óseo compacto, en el que comienzan a aparecer conductos vasculo- conectivos (Fig. 95, pág.142). Todavía se aprecian restos de injerto que se están integrando en el hueso de nueva formación (Fig. 95).

Inicialmente el hueso inmaduro (Fig. 91, pág.140) presenta síntesis ósea muy activa, apareciendo amplios ribetes de osteoide no mineralizada (Fig. 90, pág.140), y en su interior alberga restos de partículas óseas injertadas que dan imagen de esferas por sus características tintoriales (Fig. 90). El tejido conectivo no parece desarrollarse, y se mantiene en sus variedades laxa, y densa en menor proporción. La aparición de vasos dilatados se observa desde los 4 meses (Fig. 91, Fig. 93, pág.141).

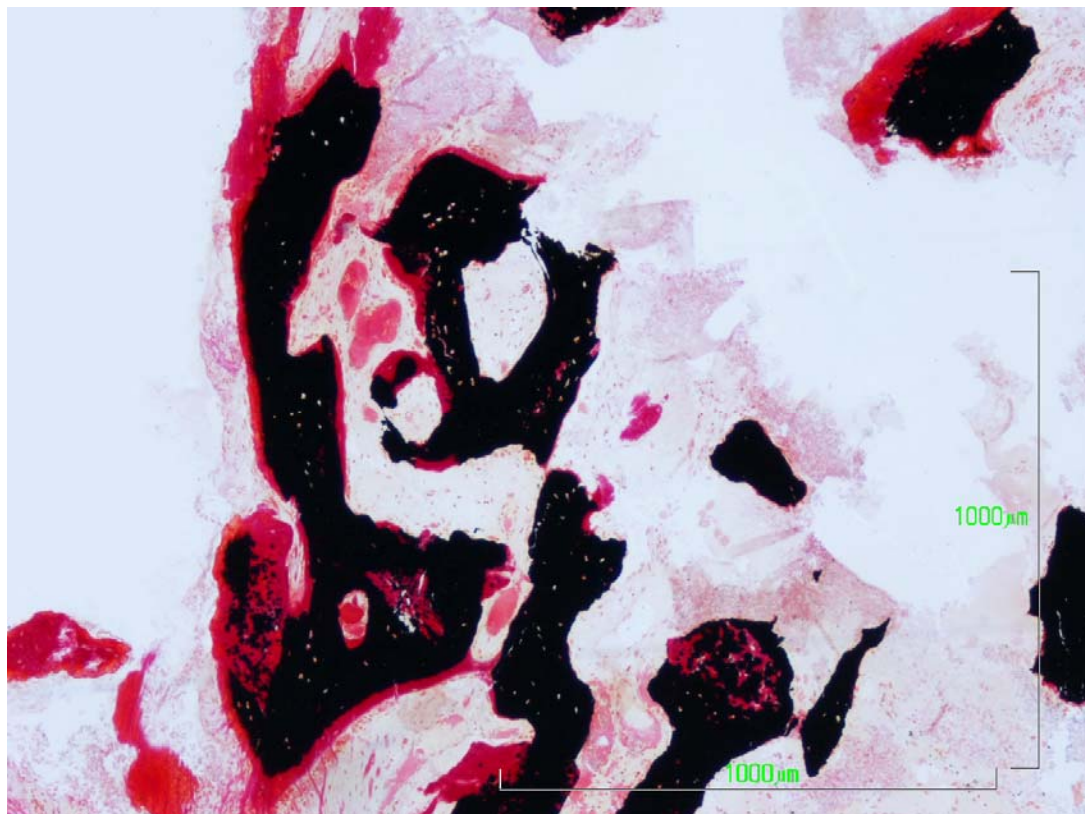


Fig. 90 Grupo IVb. 4 meses. Von Kossa. Panorámica de hueso muy desestructurado e inmaduro en el que, se entremezclan zonas mineralizadas con otras no mineralizadas.

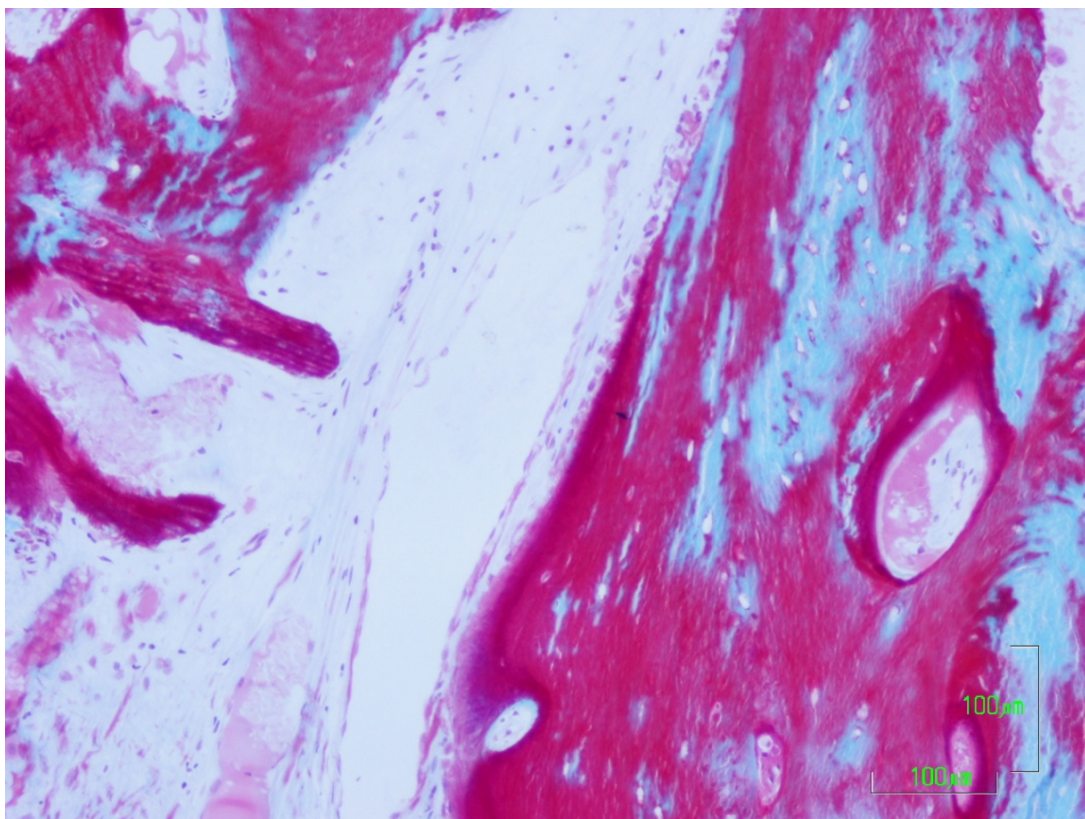


Fig. 91 Grupo IVb. 4 meses. Goldner. Semipanorámica de hueso inmaduro, en apariencia escasamente mineralizado, con un frente osteoblástico activo, en cuya vecindad discurre un vaso de luz muy dilatada.

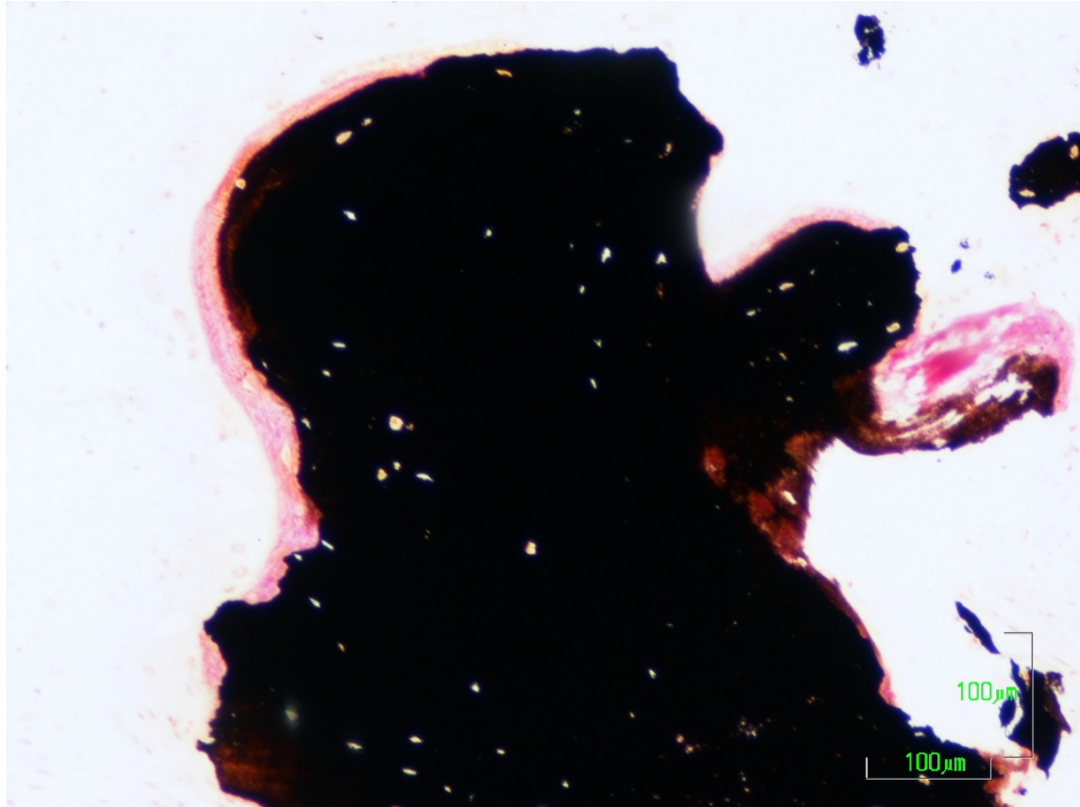


Fig. 92 Grupo IVb. 4 meses. Von Kossa. Trabécula ósea, de hueso inmaduro mineralizado, a la derecha en descalcificación y a la izquierda en síntesis.

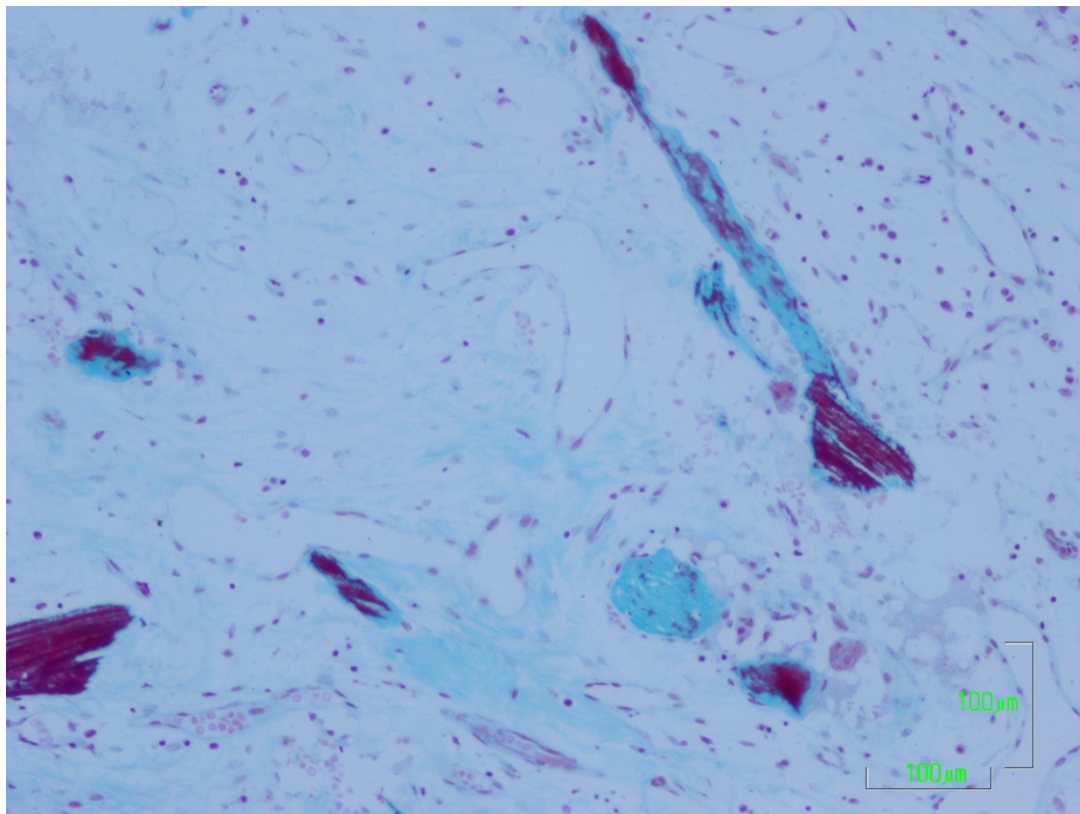


Fig. 93 Grupo IVb. 4 meses. Goldner. Semipanorámica de tejido conectivo laxo bien vascularizado, en el que se aprecian algunos vasos dilatados y espículas óseas acelulares.

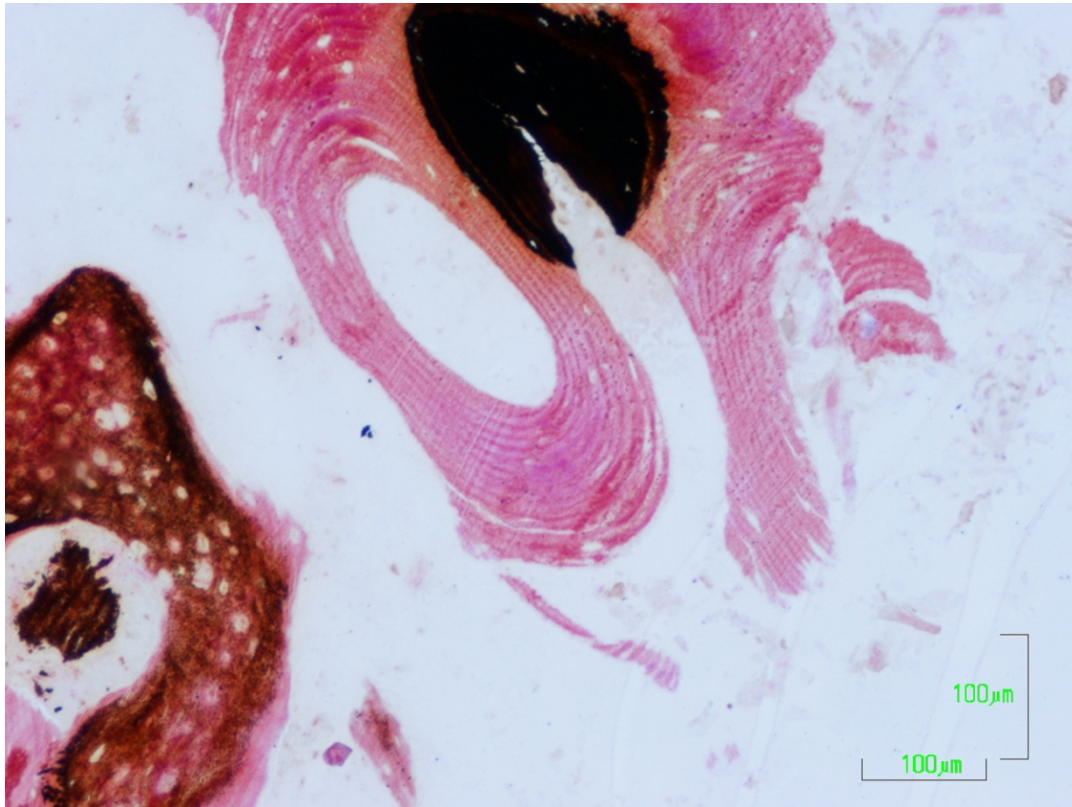


Fig. 94 Grupo IVb. 4 meses. Von Kossa. Semipanorámica de partículas óseas injertadas en diferentes fases de descalcificación, todas ellas acelulares.

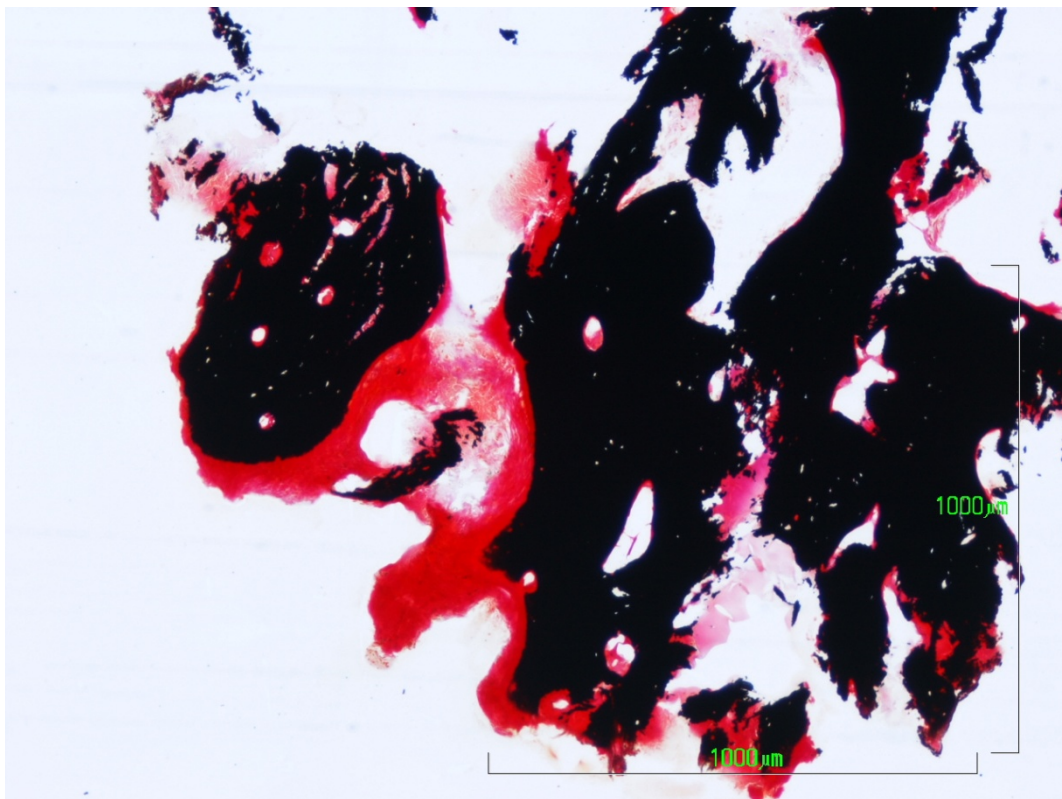


Fig. 95 Grupo IVb. 7 meses. Von Kossa. Panorámica de hueso no remodelado, con presencia de varios conductos vásculo-conectivos. El tejido óseo se encuentra, en su mayoría, bien calcificado aunque restan zonas de deficiente mineralización. Se observan algunas espículas aisladas en proceso de descalcificación.

A los **4 meses**, con injerto de PRP+ hueso autólogo+ hueso liofilizado desmineralizado, se observa abundante matriz de osteoide con frentes osteoblásticos activos (Fig. 96, pág.144). Se presentan espículas óseas acelulares descalcificadas, rodeadas de tejido conectivo denso (Fig. 97). El hueso desmineralizado, dentro de los bloques óseos, se está mineralizando ofreciendo una imagen de múltiples esférulas debido a sus características tintoriales (Fig. 98, Fig. 99, pág.145), en algunas zonas, mientras en otras son los osteoclastos los encargados de eliminar el hueso calcificado, acelular, para desarrollar la remodelación del tejido (Fig. 100, pág.146). La mayoría del conectivo es laxo y alberga vasos dilatados paralelos al borde óseo (Fig. 98, pág.145).

A los **4.5 meses**, la mayoría del tejido óseo es maduro. Ya no se aprecian partículas óseas apartadas del conjunto de trabéculas, sino que parecen fusionarse al mismo (Fig. 102, pág.147). El conectivo laxo presenta vasos muy dilatados paralelos al borde óseo que, en gran parte de su superficie, aparece tapizado por células de revestimiento (Fig. 103, pág.147).

A los **5 meses**, el hueso inmaduro, bien mineralizado, comienza a organizarse alrededor de conductos vículo- conectivos (Fig. 104, pág.148); presenta abundancia de fibras colágenas evidentes en el interior del hueso (Fig. 104), y otras insertándose en él desde el conectivo (Fig. 105, pág.148). La síntesis ósea continúa activa, observándose ribetes de osteoide bien organizados (Fig. 105, Fig. 106, pág.149).

Pasados **6.5 meses**, el hueso tiene una arquitectura trabecular, está bien mineralizado, inmaduro y con síntesis ósea activa. El tejido conectivo es laxo, en su mayoría, pero comienza a aparecer tejido adiposo (Fig. 107, pág.149).

A los **8 meses**, todavía quedan señales que nos sugieren restos de injerto de hueso liofilizado, a modo de las esferas tintoriales, ya descritas, envueltas, totalmente, por tejido óseo en maduración (Fig. 108, Fig. 109, pág.150). Los bordes óseos aparecen cubiertos por células de revestimiento que los separan del conectivo laxo (Fig. 109).

A los **13 meses**, el hueso conserva, en zonas internas, áreas de hueso inmaduro (Fig. 110, pág.151). Se muestra bien mineralizado en su mayoría, aunque restan áreas que no están calcificadas y han quedado excluidas del hueso (Fig. 110, Fig. 111, pág.151). La actividad osteosintética persiste, aunque en menor grado (Fig. 110, Fig. 111).

En este subgrupo converge el uso de ambos injertos óseos, resultando simultaneas las imágenes características que nos ofrecen los mismos. Así, a los 4 meses observamos abundante hueso laminar con restos de hueso autólogo (Fig. 98, pág.145), a la vez que el hueso inmaduro está mineralizando y remodelando el hueso liofilizado injertado (Fig. 99), imagen de esferas tintoriales. La síntesis ósea (Fig. 96, pág.144) y la reabsorción de los injertos autólogos por los osteoclastos (Fig. 100, Fig. 101, pág.146) aparecen desde los 4 meses. A los 8, todavía se aprecian restos de los injertos de hueso liofilizado sin remodelar (Fig. 108, Fig. 109, pág.150). A los 13 meses la remodelación ósea no ha concluido aún (Fig. 110, Fig. 111, pág.151), y continúan observándose restos de injerto mal calcificados y no remodelados (Fig. 111). El tejido conectivo predomina en su variedad laxa a lo largo de todo el estudio (Fig. 110), presentando vasos dilatados en su interior a partir de los 4.5 meses (Fig. 103, pág.147).



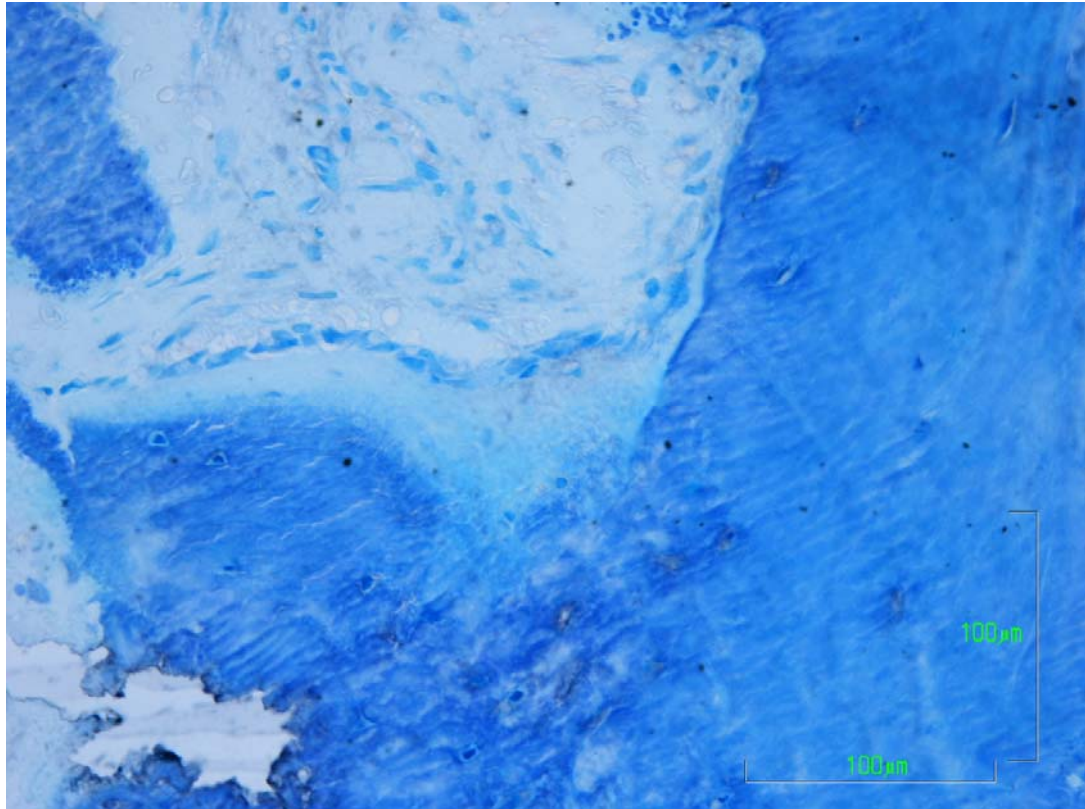


Fig. 96 Grupo IVc. 4 meses. Azul de Toluidina. Detalle de frente osteoblástico en matriz osteoide, sobre hueso en formación.

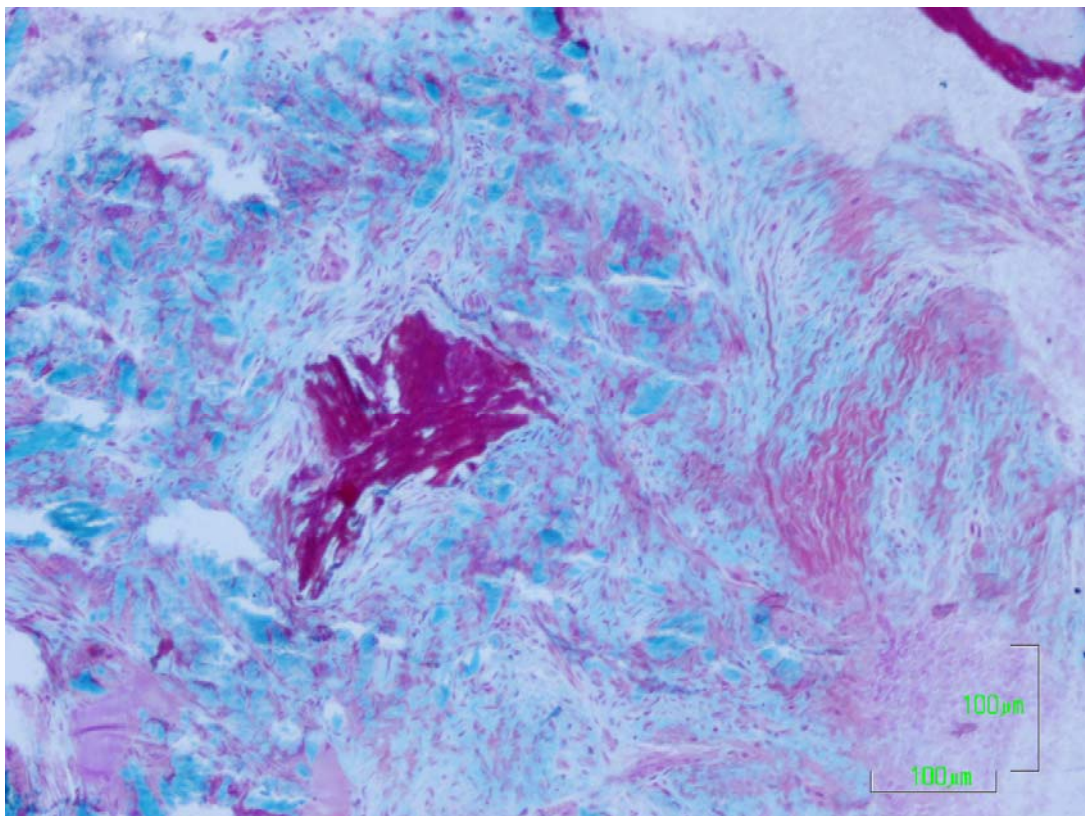


Fig. 97 Grupo IVc. 4 meses. Goldner. Semipanorámica de espícula ósea rodeada de conectivo denso.

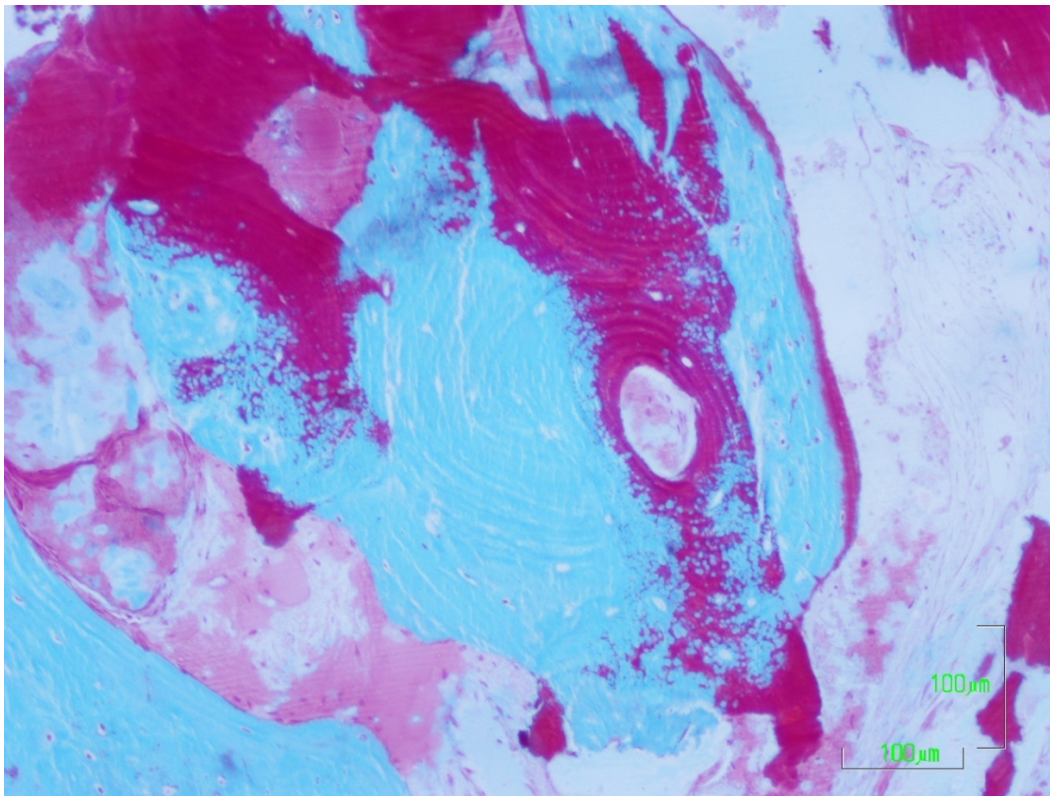


Fig. 98 Grupo IVc. 4 meses. Goldner. Semipanorámica de hueso en proceso de maduración. El hueso descalcificado, proveniente de los injertos, está englobado en el hueso de nueva formación, pasando a no distinguirse del mismo. Los restos de hueso liofilizado ofrecen una imagen compleja constituida por múltiples esferas tintoriales. A la derecha se observan otras espículas óseas aisladas. Se aprecian vasos dilatados en el conectivo laxo.

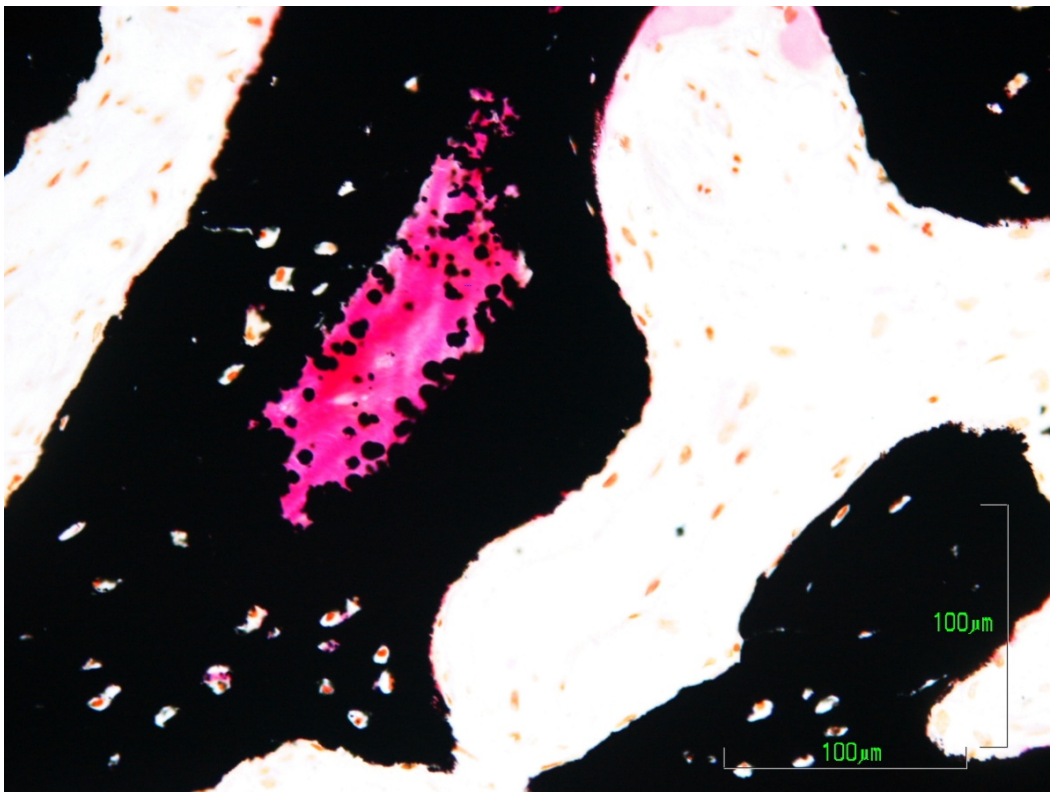


Fig. 99 Grupo IVc. 4 meses. Von Kossa. Detalle de tejido óseo primario, celular y mineralizado, que engloba, en apariencia, a un tejido óseo descalcificado, aparentemente acelular. El borde óseo parece remodelado y sin actividad osteosintética. En la cavidad medular, el conectivo es de tipo laxo.

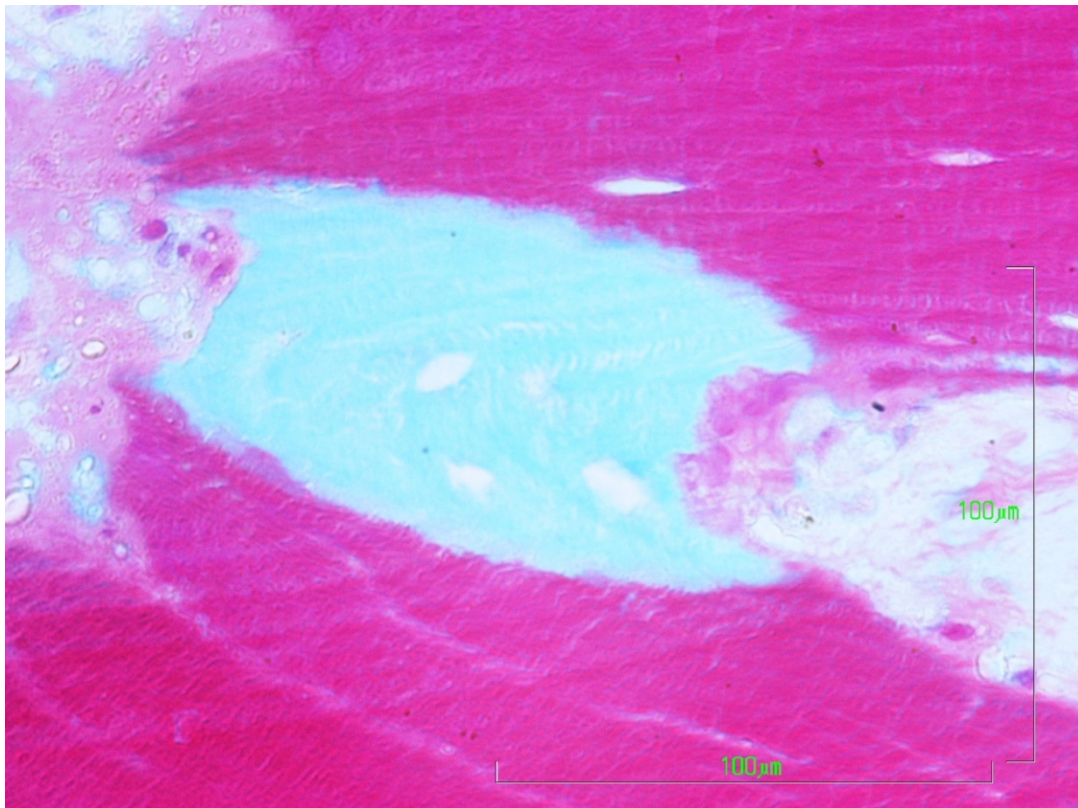


Fig. 100 Grupo IVc. 4 meses. Goldner. Detalle de osteoclastos reabsorbiendo hueso maduro acelular.

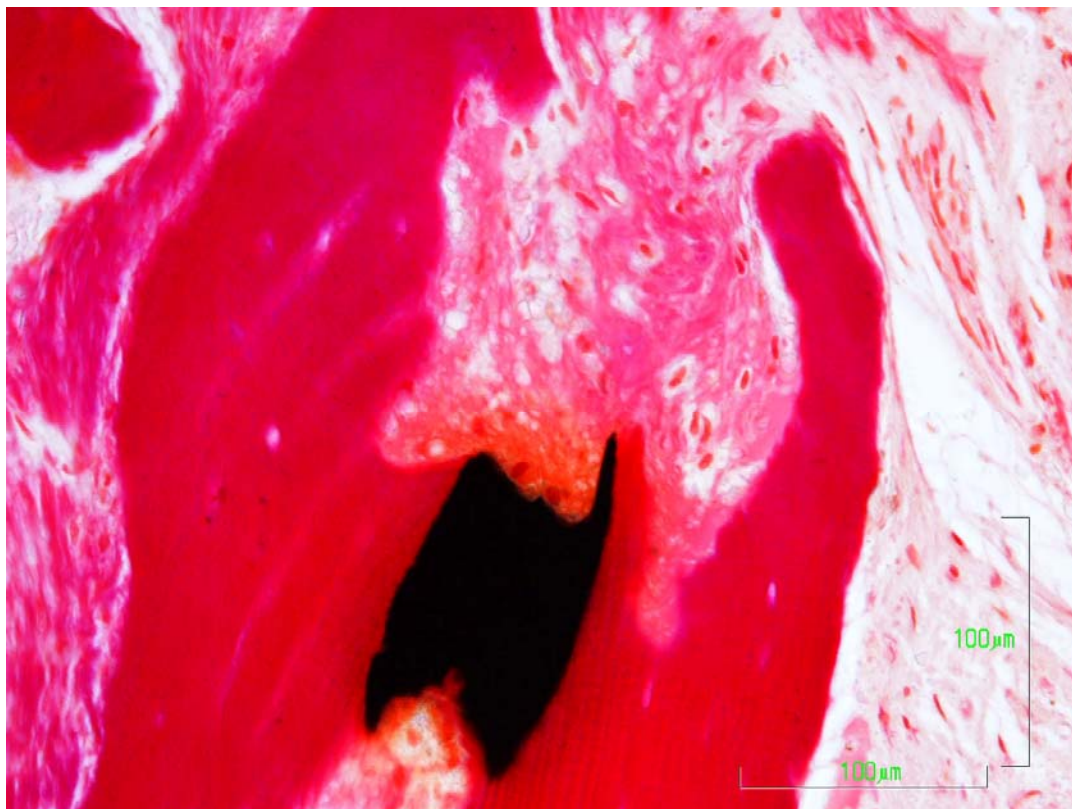


Fig. 101 Grupo IVc. 4 meses. Von Kossa. Semipanorámica de la misma zona en la que se aprecia el hueso calcificado acelular rodeado de sustancia de tinción similar a la osteoide, que conserva la estructura del hueso maduro acelular, pero sin mineral.

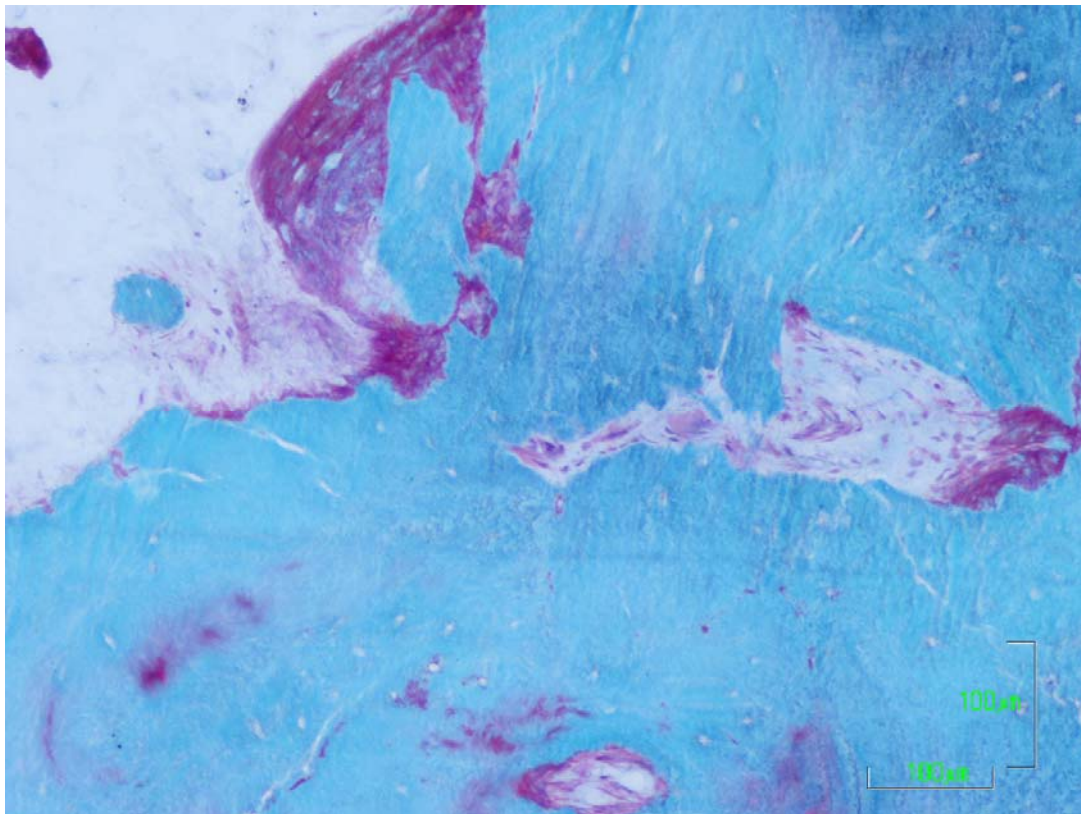


Fig. 102 Grupo IVc. 4.5 meses. Goldner. Semipanorámica de restos óseos, celulares, incorporándose al bloque de hueso en maduración.

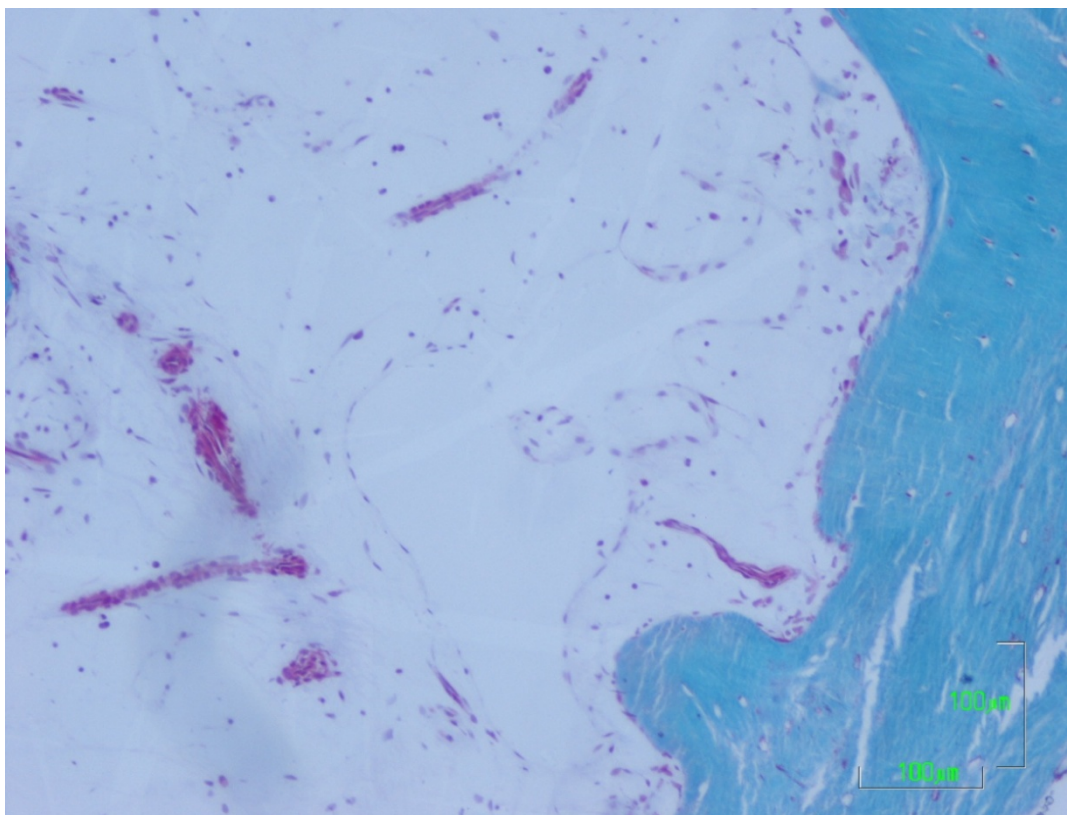


Fig. 103 Grupo IVc. 4.5 meses. Goldner. Semipanorámica de una zona de hueso cubierto por células de revestimiento. Paralelo a su límite, un vaso dilatado dentro del conectivo laxo.

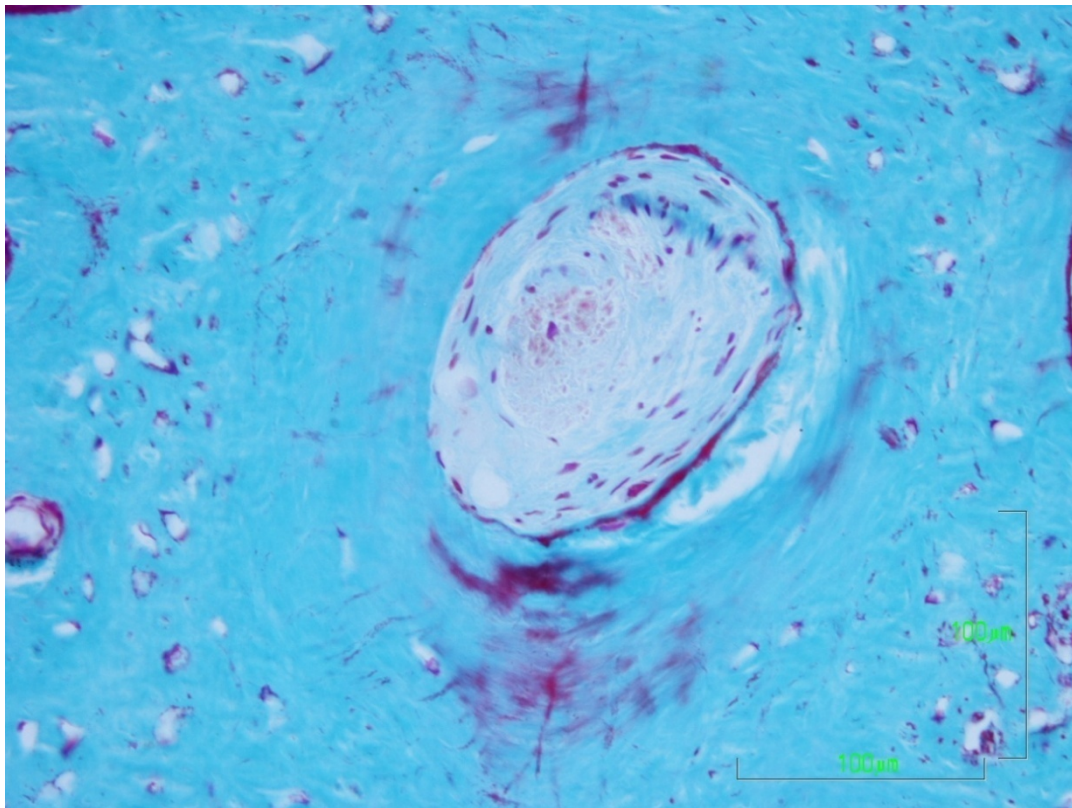


Fig. 104 Grupo IVc. 5 meses. Goldner. Detalle de hueso inmaduro, muy celular, organizándose alrededor de un conducto vásculo-conectivo. Se aprecian múltiples fibras colágenas en corte transversal y longitudinal, sin orden aparente.

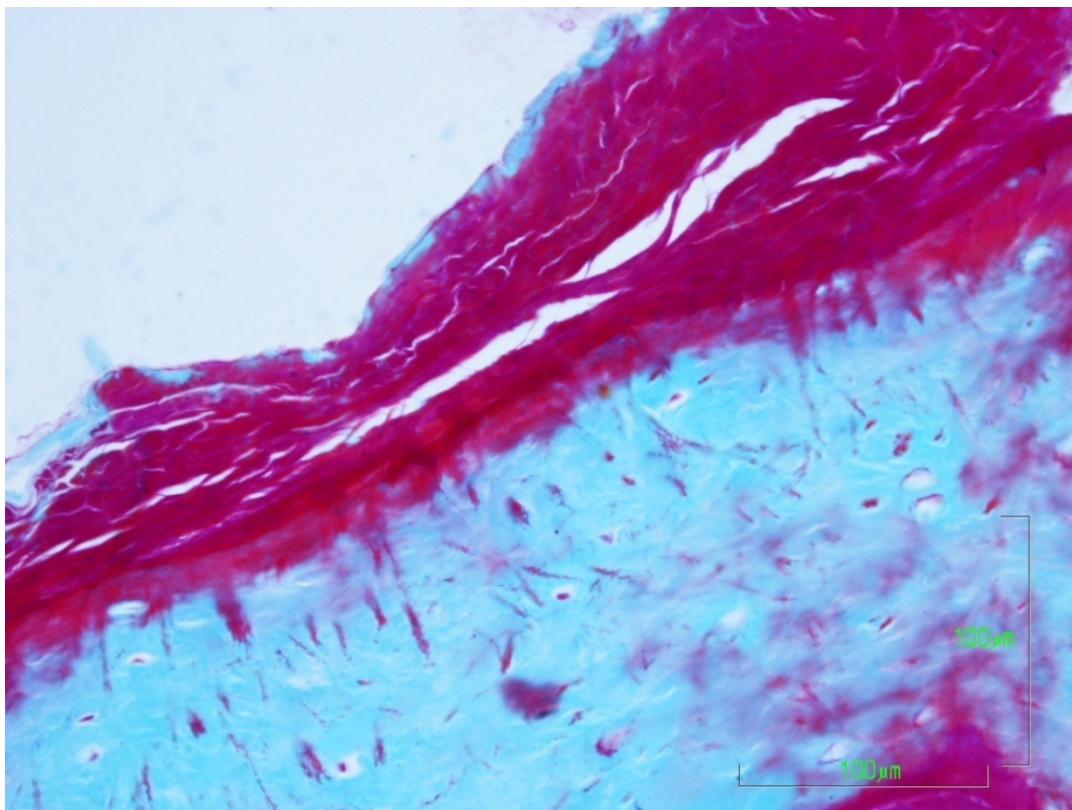


Fig. 105 Grupo IVc. 5 meses. Goldner. Detalle de fibras colágenas insertándose en el hueso inmaduro.

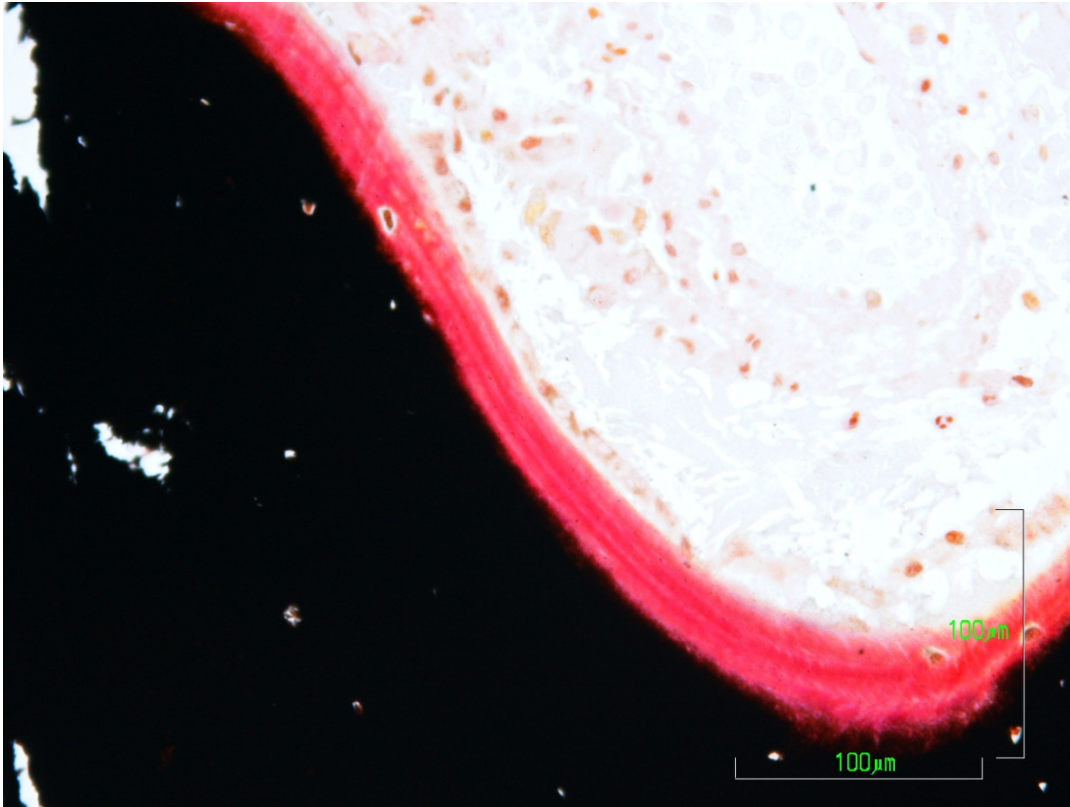


Fig. 106 Grupo IVc. 5 meses. Von Kossa. Detalle de hueso mineralizado con matriz osteoide y frente osteoblástico que denotan síntesis ósea activa.

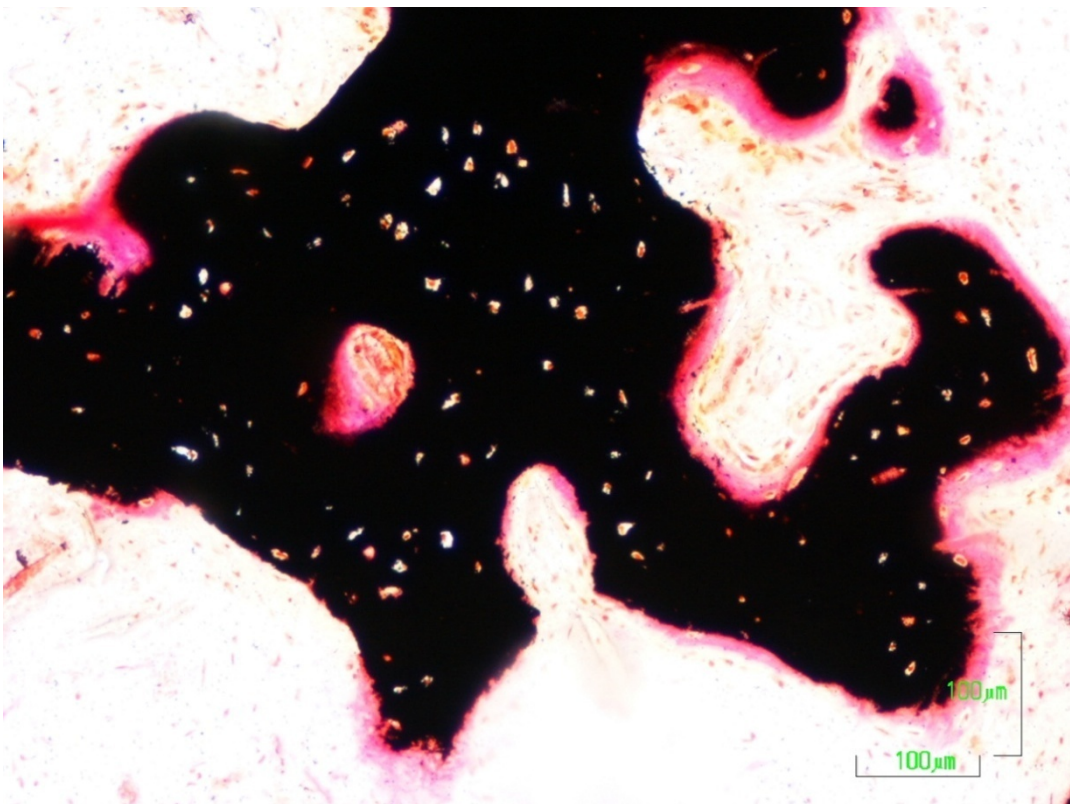


Fig. 107 Grupo IVc. 6.5 meses. Von Kossa. Semipanorámica de hueso inmaduro trabecular, rodeado de matriz osteoide, con frentes osteoblásticos. Se observa que el tejido conectivo es laxo, con algunas células adiposas, en la zona superior izquierda.

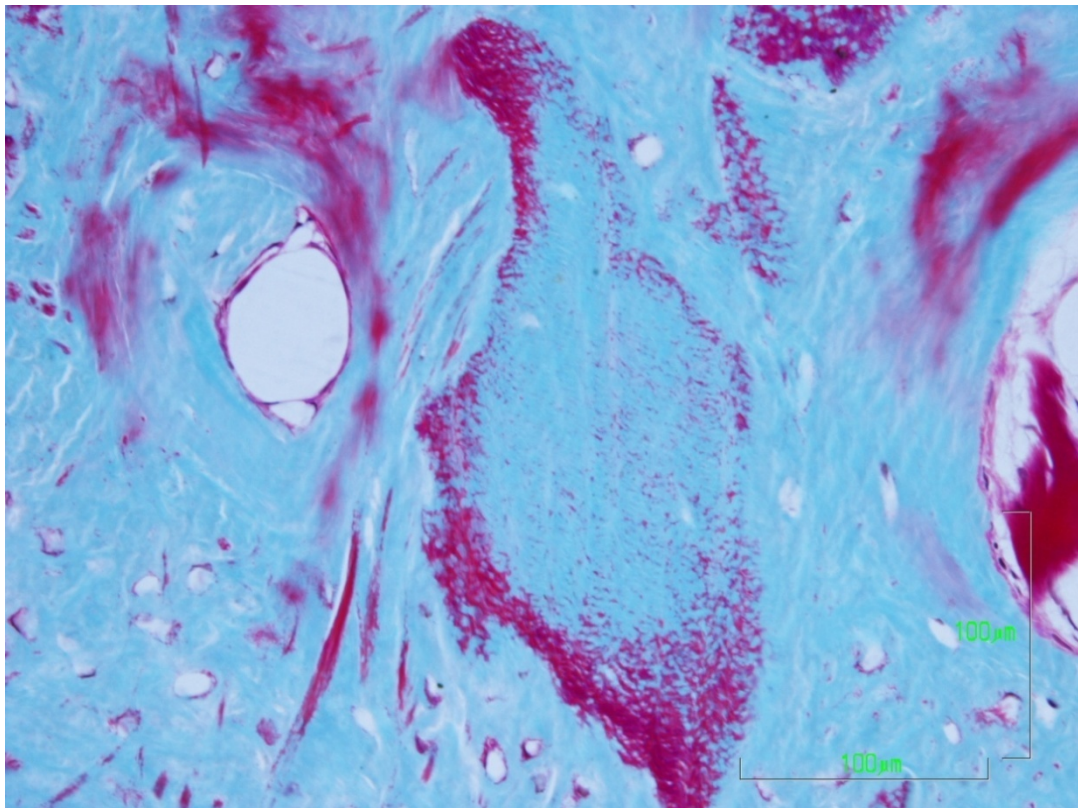


Fig. 108 Grupo IVc. 8 meses. Goldner. Detalle de hueso inmaduro que se está organizando alrededor de conductos vásculo- conectivos, y que envuelve completamente a restos de injerto de hueso liofilizado, acelulares, todavía no totalmente integrados en el hueso de nueva formación.

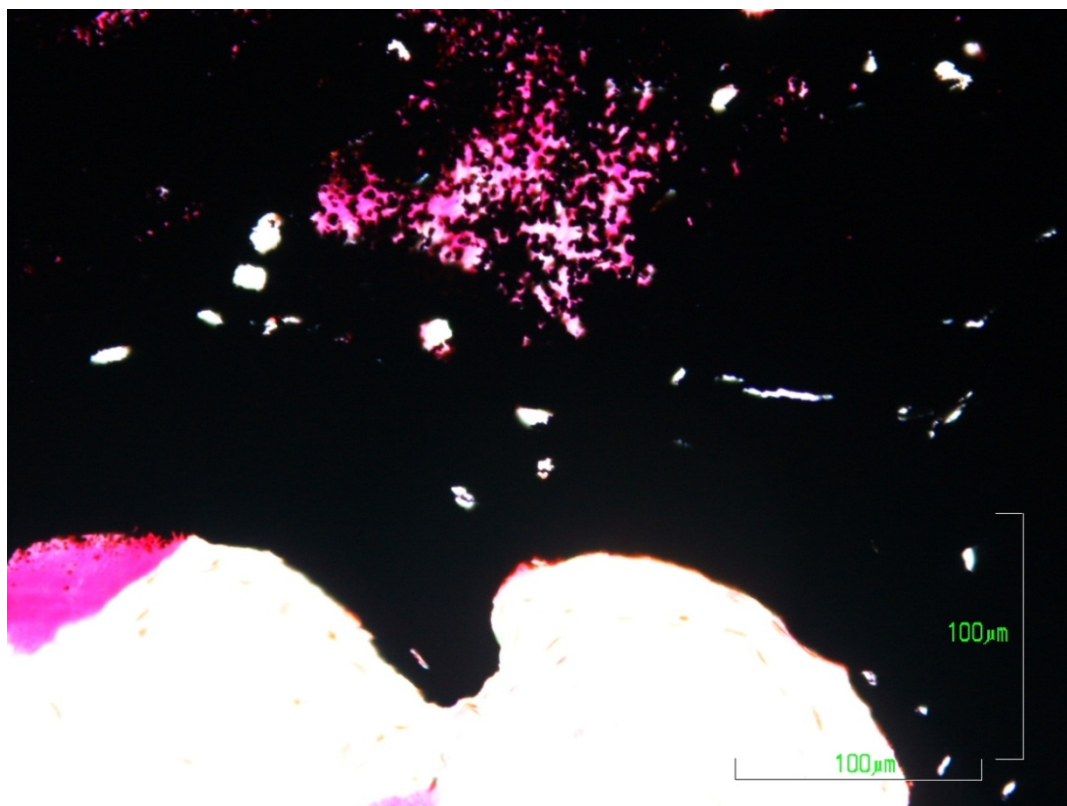


Fig. 109 Grupo IVc. 8 meses. Von Kossa. Detalle de hueso inmaduro que alberga en su interior restos de hueso liofilizado, todavía no integrados en el hueso neoformado. El borde óseo posee células planas de revestimiento que lo separan del tejido conectivo laxo.

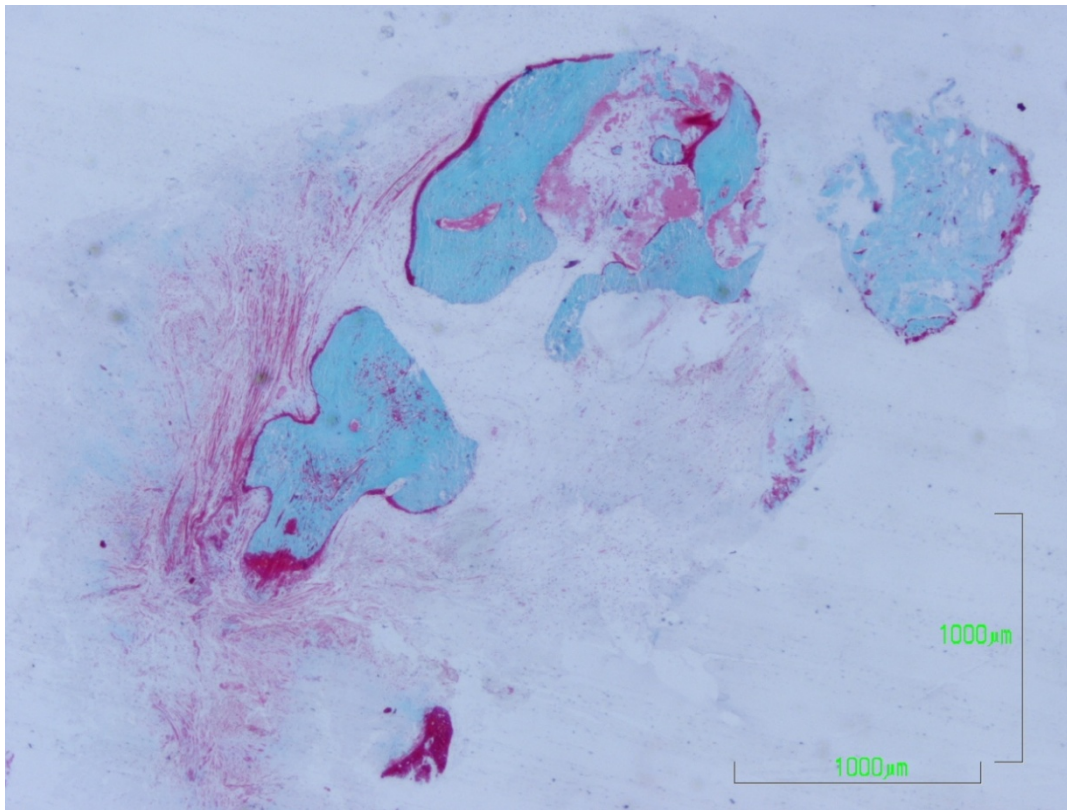


Fig. 110 Grupo IVc. 13 meses. Goldner. Panorámica con varios fragmentos de hueso maduro exteriormente e inmaduro en su interior, con leve aparición de osteoide. A la derecha se observa un fragmento óseo acelular aislado del resto. El tejido conectivo que se observa es de tipo denso, laxo y adiposo.

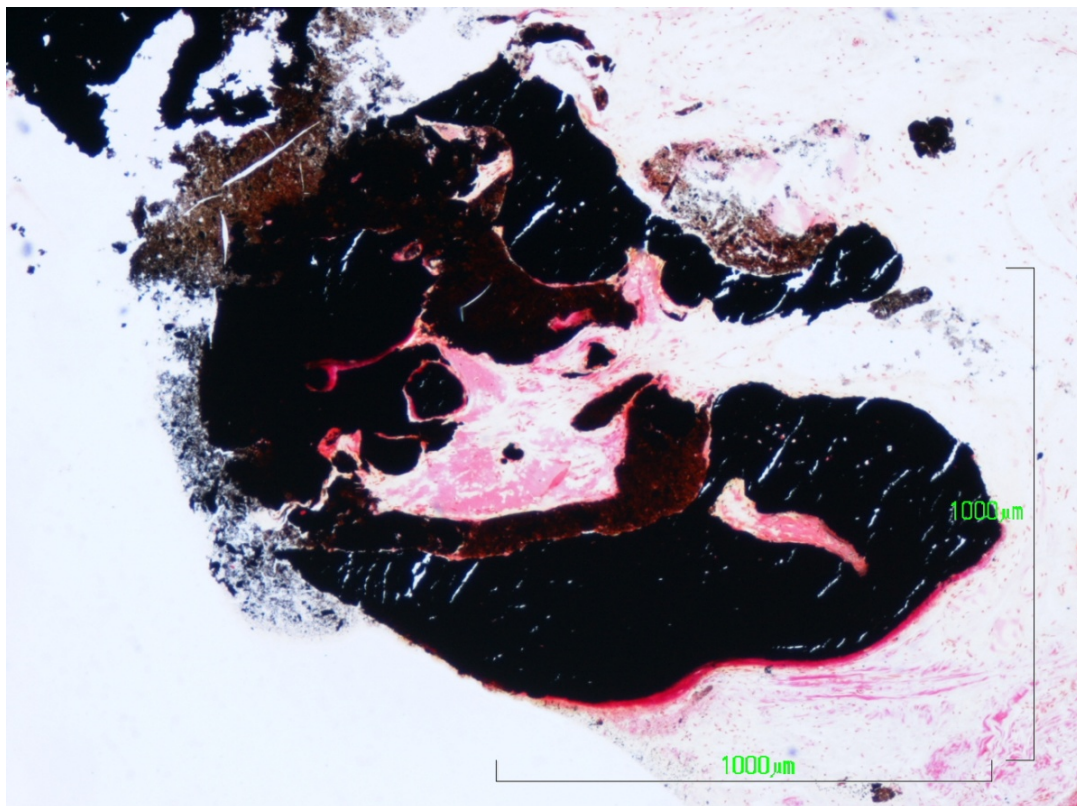


Fig. 111 Grupo IVc. 13 meses. Von Kossa. Panorámica de hueso no remodelado, mayoritariamente bien mineralizado, aunque se observan varias áreas adyacentes a los bordes óseos, que no están correctamente calcificadas.

2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- **Tipo de estudio.**

Se trata de un *estudio piloto de intervención*. La muestra se escoge de entre la población de pacientes atendidos en una clínica odontológica privada de la ciudad de Salamanca, que presentaban la necesidad de extraer al menos 2 piezas dentarias naturales con gran destrucción de soporte óseo periférico, las cuales deseaban sustituir por implantes dentales.

En las pruebas de significación estadística, se asumirá un error α (nivel de riesgo) del 5%. Cuando los supuestos de normalidad y homogeneidad de variancias lo permitan, se aplicarán pruebas paramétricas; en caso contrario, se utilizarán tests no paramétricos.

- Estadística descriptiva.

Se procede a describir los datos de los cuatro grupos definidos anteriormente (pág. 92), mediante las siguientes tablas (Tabla 36, Tabla 37):

Grupo	N válidos	Edad: media (rango)	% Mineral: mediana (amplitud intercuartil)	Rango	Asimetría (Γ)
I (control)	18	47 (35 – 57)	38,96 (18,18)	14,25-62,56	-0,164
II	8	46 (20 – 66)	35,22 (25,74)	13,31-51,47	-0,167
III	17	46 (35 – 74)	26,43 (13,72)	15,90-47,05	0,751
IV	17	48 (31 – 74)	29,52 (36,64)	10,30-82,16	0,802

Tabla 36: Descripción de los 4 grupos de estudio.

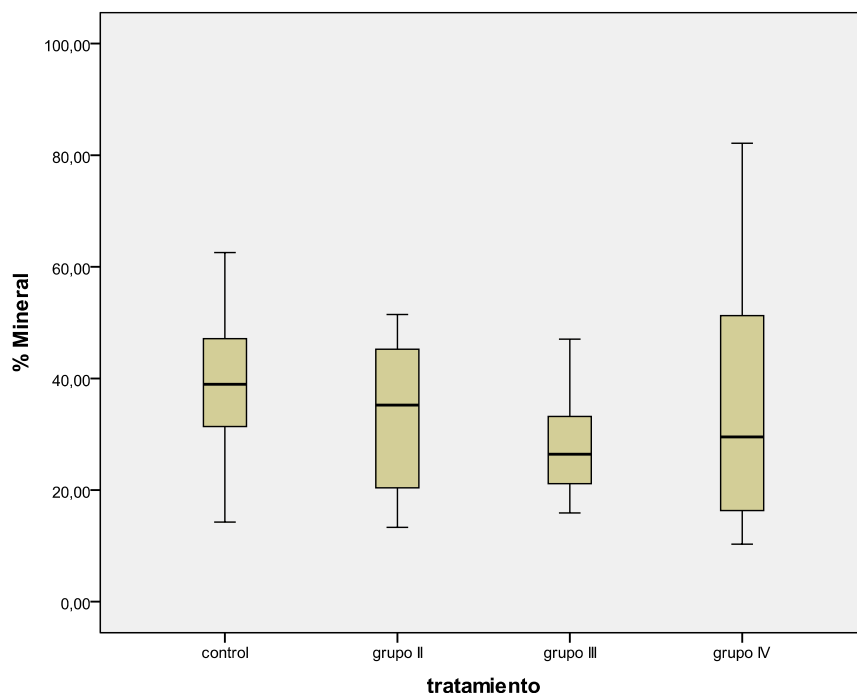
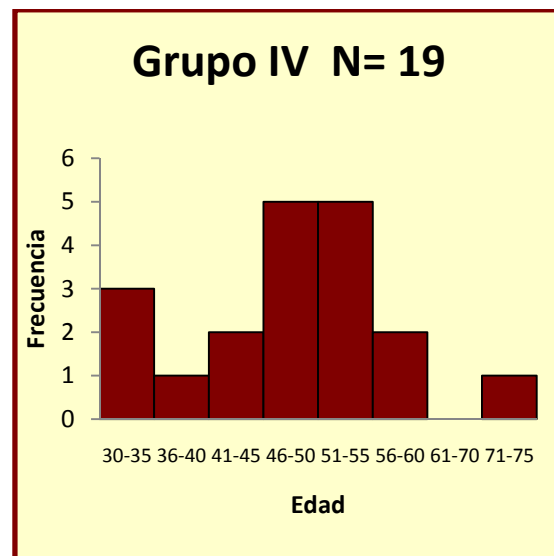
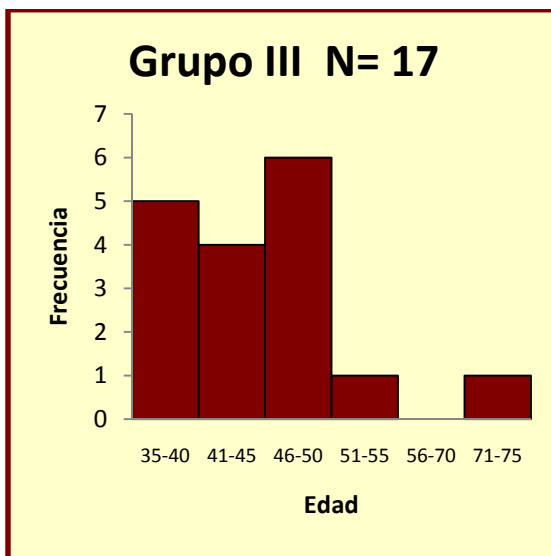
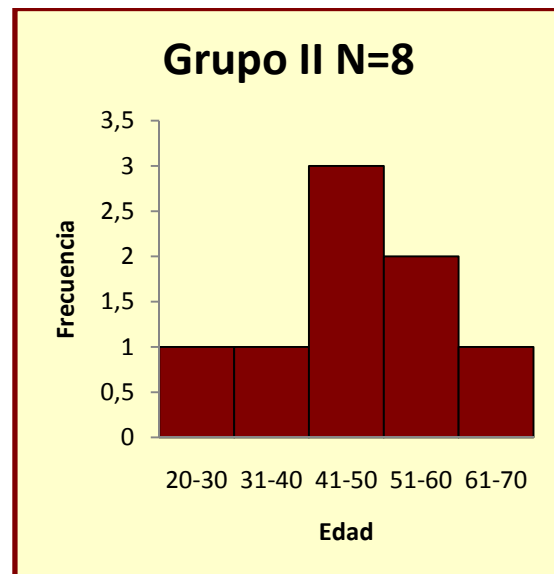
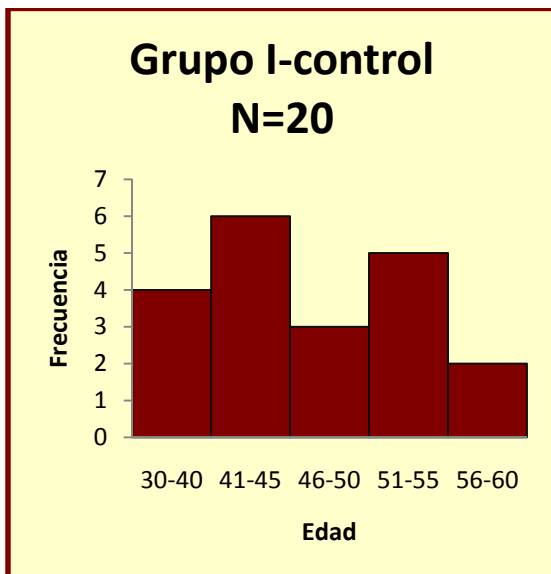


Tabla 37: Box-plot en el que se recogen los resultados anteriormente expuestos, de modo gráfico. La “caja” representa la amplitud intercuartil, y la línea transversal es la mediana.

Histogramas que representan la distribución de la edad de los pacientes en los distintos grupos.



Diagramas de áreas que representan la distribución por sexos en los diferentes grupos:

■ Varones
□ Mujeres

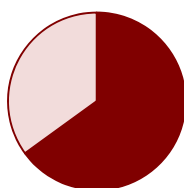


Fig. 112 Grupo I. Distribución por sexos.

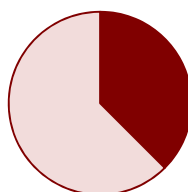


Fig. 113 Grupo II. Distribución por sexos.

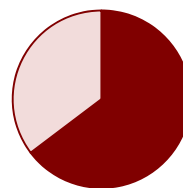


Fig. 114 Grupo III. Distribución por sexos.

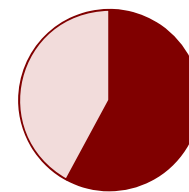


Fig. 115 Grupo IV. Distribución por sexos.



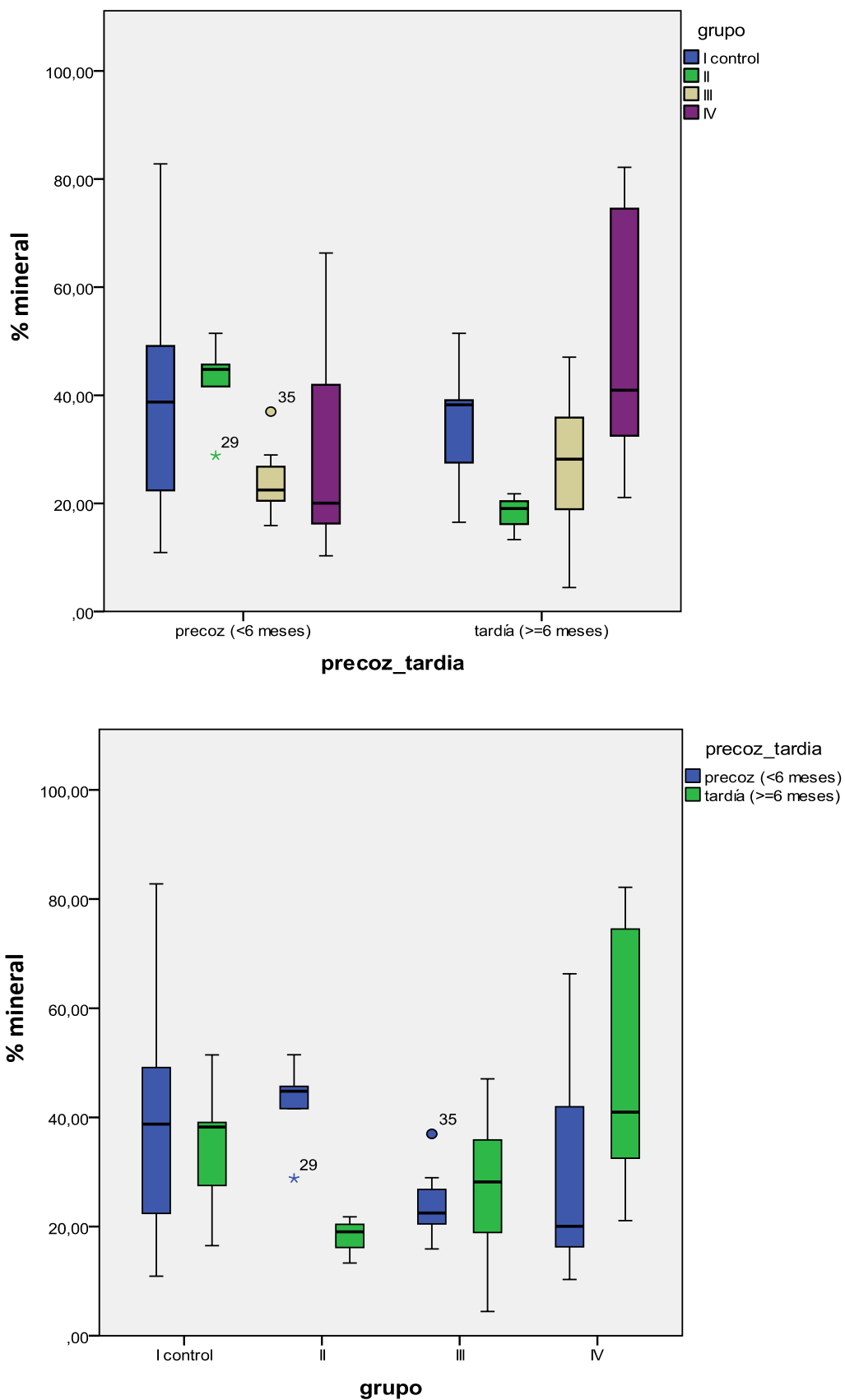


Tabla 38: Box-plot en los que se compara gráficamente el efecto de los tratamientos agrupados según el momento de la biopsia (antes o después de 6 meses).



- **Estadística analítica.**

Análisis de la variancia para los cuatro grupos: considerando la homogeneidad de los grupos en las variables de control (sexo y edad), se realiza un análisis de la variancia para comparar las medias de los grupos considerados (Tabla 39). La prueba de Levene demuestra que se vulnera el supuesto de homogeneidad de variancias ($p=0,016$) para la aplicación de la prueba con los cuatro grupos. Dado que este supuesto puede considerarse no necesario si el número de cada grupo es homogéneo, aplicamos el test sin considerar el grupo II (con menor número de casos que el resto).

Prueba	Estadístico F	Grados de libertad	P (sig.)
ANOVA 3 factores	1,830	2	0,169

Tabla 39: Análisis de la variancia para grupos I-control, III y IV.

No obstante, se realizan contrastes a posteriori para evaluar posibles diferencias entre grupos comparados dos a dos. Aplicando la corrección de Bonferroni, los resultados son los siguientes (Tabla 40):

Contrastes	P (sig.) asumiendo variancias desiguales
I-Control vs III	0,061
I-Control vs IV	0,444
I-control vs III-IV	0,113

Tabla 40: Contrastes de los grupos I-control, III y IV, corrección de Bonferroni.

A la vista de lo cual, pese a no encontrar significación estadística, el valor p del primer contraste se aproxima mucho al nivel de significación ($p=0,05$); este hecho es coherente con nuestros datos, ya que el grupo III arroja, en media, un porcentaje de osificación menor que el resto de grupos (Tabla 36).



Test de Kruskal-Wallis: dado que los grupos que comparamos no son homocedásticos, aplicamos pruebas no paramétricas para la comparación. Los resultados son los siguientes (Tabla 41):

χ^2	Grados de libertad	P (sig. asintótica)
3,182	2	0,364

Tabla 41: Test de Kruskal-Wallis para los cuatro grupos.

Si aplicamos la misma prueba excluyendo el grupo 2, menos numeroso, se obtiene (Tabla 42):

χ^2	Grados de libertad	P (sig. asintótica)
3,222	2	0,200

Tabla 42: Test de Kruskal-Wallis para los grupos I-control, III y IV. Se ha excluido el grupo II menos numeroso.

Por lo que podemos concluir que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos considerados.

Análisis del incremento de hueso (control de la variabilidad inter-sujeto y tiempo de osificación en la formación de mineral): asumiendo que no todos los sujetos poseen el mismo nivel de osificación, se consideran los incrementos de osificación (positivos o negativos en caso de desmineralización) en aquellos pacientes en los que disponemos de modo simultáneo de biopsias para grupo control y para tratamiento. De este modo seleccionamos 22 pacientes con las siguientes características (Tabla 43):

Grupo	N	Incremento de osificación	Incremento medio (IC95%)
IV	14	-63.02	-7,78 (-21,57 – 6,02)
		-30.82	
		-27.31	
		-22.93	
		-14.0	
		-13.82	
		-6.96	
		-6.88	
		2.43	
		3.76	
		3.92	
		16.0	
		23.06	
		27.69	
III	7	-8.57	-0,59 (-9,40 – 8,20)
		-6.93	
		-6.07	
		-5.53	
		0.09	
		4.49	
II	1	-4.64	-4,64 (término único)

Tabla 43: Análisis del incremento de mineralización en los 24 casos en que tenemos muestra control y muestra test.

Dado que en los grupos representativos (III y IV) se produce un decremento del porcentaje mineral en la biopsia (es decir, que el tratamiento conduciría a una desmineralización ósea), analizamos los índices de dispersión, en este caso representados por el intervalo de confianza de la media. Al haber tanta dispersión en el grupo IV, decidimos, en este caso, no aplicar pruebas de significación.

Estudios posteriores, con un mayor número de casos, eliminarán el sesgo por la elevada dispersión de los datos y permitirán la aplicación de pruebas paramétricas para el análisis estadístico.



VI. DISCUSIÓN



La extracción dentaria se realiza como tratamiento ante el diagnóstico de pérdida de una pieza dentaria. Pero no es un tratamiento final, ya que ocasiona alteraciones funcionales (masticatoria y fonética) y estéticas en el individuo. Debido a este hecho se realiza, de manera habitual, la inserción de implantes dentales, para poder rehabilitar la función y estética perdidas lo mejor posible. Fisiológicamente, después de la extracción dentaria se va a producir pérdida de altura y anchura del reborde alveolar (311) (343) (344), lo que provocará mayores dificultades en la inserción de los implantes, así como en la consecución de una estética correctamente adaptada, ya que la reabsorción en anchura se da mayoritariamente en la tabla vestibular (343) (344). Para prevenir estos inconvenientes, se han desarrollado las **técnicas de preservación de la cresta alveolar post extracción**, con las que se pretende el desarrollo de nuevo hueso en el interior del alvéolo posterior a la extracción dentaria, en altura y anchura, y manteniendo el contorno exterior de la cresta, para así proveer de hueso suficiente para la colocación de implantes dentales, en posición ideal (344) (345).

La falta de predictibilidad en los procedimientos regenerativos, necesarios en las técnicas de preservación de la cresta alveolar post extracción, hace imprescindible la mejora de las propiedades osteoinductivas y osteoconductoras de los materiales de injerto, así como la búsqueda de nuevas soluciones. Este estudio piloto de intervención pretende aportar más datos que permitan valorar la idoneidad o no del uso del PRP y/o hueso DFDBA en procedimientos regenerativos de forma rutinaria.

Como se comentó anteriormente, en la introducción, para conseguir el éxito en la regeneración ósea se necesita que previamente exista un *aporte celular*, de células osteoformadoras o con capacidad de diferenciarse en ellas, así como una *señal* que sirva como estímulo osteoinductor para iniciar la diferenciación de las células mesenquimáticas en osteoblastos, y una *matriz* sobre la que pueda proliferar el nuevo tejido y en la que prosperen las células osteoprogenitoras (39). Cada uno de estos tres factores se puede incrementar para mejorar la regeneración ósea (345); Las **células**, obteniendo hueso medular esponjoso que se compacta para conseguir una mayor concentración de células, aunque su vitalidad no dure más que 24 horas (311). La **señal**, añadiendo factores de crecimiento directamente al injerto, siendo el más extendido el PRP, aunque últimamente se están probando rhPDGF –BB y rhBMP₂ principalmente. Y finalmente, la **matriz**, añadiendo injertos no vitales cuya señal, además, se aumentaría añadiendo PRP.



En este trabajo de Tesis, se han utilizado diferentes materiales de injerto:

El **hueso autólogo**, aporta su matriz como componente mineral, las células de su médula ósea conforman el componente celular, y la señal son las diferentes proteínas BMPs, PDGF, IGF-I-II, de la porción no colágena de la matriz mineral ósea (345).

Al injerto de **hueso liofilizado desmineralizado** (DFDBA), únicamente le faltaría el componente celular. Si el alvéolo se rellena de injerto no vital, (HA, xenoinjerto o aloinjerto) todo el hueso que se desarrollará en este espacio, lo hará por osteoconducción, ya que estas sustancias no son osteoinductivas (345). Estos materiales representan la matriz para las moléculas de adhesión celular, provenientes del plasma sanguíneo (fibrina, fibrinonectina) así como de las plaquetas (vitronectina) que se adherirán para conectar las partículas de injerto entre ellas y a las paredes del alvéolo (345). Las señales, provendrán de los factores de crecimiento cuando las plaquetas se degranulen en el coágulo sanguíneo. Las células llegarán, provenientes de los espacios medulares abiertos en el alvéolo. Las células osteoprogenitoras se dividirán y las células hijas se colocarán a lo largo de las fibras de moléculas de adhesión celular, que conectan partículas de injerto con las paredes del alvéolo, y posteriormente, unas partículas de injerto con otras. Como el triángulo células- señal-matriz está completado, este tipo de ingeniería tisular finaliza la regeneración del alvéolo en 9 meses- 1 año, en humanos, dependiendo de la edad del paciente (345).

El **plasma rico en plaquetas** (PRP) posee factores de crecimiento que, al aplicarse en el lugar del tratamiento, proveen, a las células mesenquimales locales y a las células epiteliales, de la señal para migrar y dividirse, y así producen incremento del colágeno y síntesis de la matriz (345). De manera que al añadir rhPDGF-BB o PRP, no se necesitaría ningún otro componente para completar el triángulo, y se produciría una regulación positiva (estimulación) del componente señal. Aunque no es osteoinductivo, se sabe que el PRP aumenta la concentración local de factores de crecimiento, lo que acortaría el tiempo necesario para la regeneración ósea completa, y conseguiría un hueso más denso (345).

El fundamento del uso de *PRP asociado a injerto de hueso* (345), es que el tiempo de regeneración del alvéolo postextracción sea mucho menor, ya que, desde el punto de vista teórico, se aumentarían los tres puntos ya expuestos, células, señal y matriz.

En este ensayo experimental, en todos los casos se utilizó el periostio como membrana natural para evitar el colapso de tejido fibroso, ya que los colgajos se realizaron a espesor total. El periostio es rico en células osteoprogenitoras (198) que pudieron favorecer la neoformación ósea.



En el apartado de introducción se describió el patrón histológico de regeneración ósea, estudiado en perros, en alvéolos postextracción (39). Según este esquema, a los 2 meses el tejido óseo comenzaba a remodelarse apareciendo algunas zonas de hueso laminar, el tejido conectivo se había desarrollado parcialmente a adiposo, y se podían observar algunos vasos dilatados paralelos al borde óseo, a expensas de los cuales (pericitos) se suponía que se estaba desarrollando el tejido óseo (39). En nuestro estudio, sobre humanos, será a los 4 meses cuando se encuentren similares hallazgos a los descritos en perros a los 2 meses. El patrón de remodelación obtenido a los 6 meses en perros, es similar al que observamos en nuestro estudio, sobre humanos, a los 12 meses, con la presentación histológica de un hueso laminar remodelado, bien mineralizado, y con algún resto de hueso inmaduro en el interior trabecular. De este modo, hemos obtenido un patrón del doble de tiempo en humanos respecto a perros para obtener los mismos niveles de regeneración ósea en condiciones similares.

Comparar los tiempos comentados en los trabajos de investigación sobre animales, con los tiempos en humanos, resulta complejo, ya que por ejemplo 1 mes en la vida de la rata de laboratorio adulta, corresponde con 26.7 meses en la vida de un humano adulto, esto es, más de 2 años (346). Respecto a los perros Beagle, la Asociación de Medicina Veterinaria de Norte América considera que 1 mes de la vida de un perro Beagle corresponde con algo más de 6 meses de la de un humano.

Seguidamente, procederemos a discutir los hechos experimentales encontrados en los distintos grupos de pacientes en que hemos dividido este trabajo de Tesis.

El **grupo I** sirve como modelo de regeneración fisiopatológica, y nos refleja la secuencia temporal habitual que seguiría el proceso de cicatrización del alvéolo post extracción; en la introducción se comentó que, hasta pasados varios meses, no se concluiría el proceso totalmente (39) (pág.31).

El desarrollo del tejido conectivo hacia adiposo ya aparece en el cuarto mes (Fig. 29, Fig. 30, Fig. 32 pág.97-98), y va aumentando paulatinamente. Los vasos (Fig. 30 pág.97) que observamos dilatados y adyacentes al borde óseo, nos dan la imagen de inmadurez del tejido óseo, ya que parecen ser los vasos alrededor de los cuales se desarrolla el tejido óseo, a partir de los pericitos como células osteoprogenitoras principales. En este grupo los hemos visto hasta los 4 meses; otro signo de inmadurez es la existencia de hueso primario desorganizado, que abunda hasta los 6.5 meses (Fig. 39 pág.102), y persiste, en pequeña cantidad, en el interior trabecular, incluso a los 11 meses (Fig. 43 pág.104), momento en el que convive con una mayoría de tejido óseo organizado en osteonas secundarias.



La remodelación de hueso reticular primario comienza a observarse a los 5 meses, con frentes reabsortivos, aunque no hayamos podido distinguir osteoclastos claramente, sí se aprecian, con la técnica de Von Kossa (Fig. 37 pág.101), zonas de desmineralización.

Llama la atención la existencia de vasos rellenos de sustancia positiva a las tinciones, a los 8 meses (Fig. 40, Fig. 41 pág.103), que no hemos encontrado descrita, pero sí en alguna foto histológica (a los 6 meses de cicatrización (347) de elevaciones de senos con injerto de hueso fresco congelado que realizó el grupo de Stacchi en 2008 sobre 10 pacientes). Esta precipitación de mineral en el interior de los vasos puede ser debida a distintos factores químicos y/o térmicos ocurridos durante el procesamiento histológico, en un momento en el que los vasos realizan el transporte de gran cantidad de sustancia mineral.

La elevada densidad vascular observada en las muestras a los 4 meses (Fig. 29, pág.97), concuerda con Piattelli 2002 (88) que encuentra, a los 3 meses en elevaciones de seno realizadas a 18 pacientes, mayor densidad vascular en hueso regenerado, sin injerto, que en el hueso nativo circundante.

La calidad ósea obtenida en este grupo resultó apta para la colocación de implantes dentales(311), pero la disminución clínica del volumen óseo exterior fue evidente, aunque en estos casos no mermó la reparación de la función estética requerida.

El hueso autólogo se ha considerado como el mejor material de injerto en la cavidad oral, pero presenta diferentes problemas en cuanto a su obtención y elevada reabsorción inicial (79).

En el **grupo II**, con *hueso autólogo*, a los 4 meses ya comienza la remodelación, habiéndose observado osteoclastos en actividad (Fig. 48 pág.110). El tejido óseo se muestra inmaduro, en su mayoría, con algunas zonas laminares (Fig. 46, Fig. 47 pág.110). El tejido conectivo está desarrollado a adiposo, pero aún se observan vasos dilatados adyacentes al borde óseo (Fig. 47 pág.110). Distinguimos algunas partículas óseas desmineralizadas y acelulares rodeadas de tejido conectivo fibroso (Fig. 49 pág.111), que parecen ser restos de injerto óseo autólogo, aislados. En otras ocasiones, estos restos de injerto en descalcificación y con los bordes desdibujados, se ven adyacentes al borde óseo (Fig. 50 pág.111), y separados del mismo únicamente por matriz de osteoide. Un mes después, en la trabécula coexisten hueso inmaduro en el interior con hueso remodelado en la periferia (Fig. 55 pág.114). Continúan existiendo vasos adyacentes al borde óseo (Fig. 52 pág.112), alguno de los cuales se presenta relleno de sustancia positiva a las tinciones (como ocurría a los 8 meses en el grupo I, y a los 6 meses en el estudio de Stacchi (347)).

Continúa la remodelación, observándose áreas de descalcificación. Las partículas desmineralizadas permanecen aisladas del resto, y, en ocasiones, son invadidas por fibroblastos.

El **grupo II**, variante con *hueso liofilizado desmineralizado*, a los 6 meses presenta un hueso trabecular fino, con endostio cubriendo los espacios medulares rellenos de tejido conectivo desarrollado (Fig. 56, Fig. 57 pág.115). Las partículas de injerto han sufrido diferentes procesos(101) similares a los descritos por Piattelli en 1996, en su trabajo sobre gaps postextracción de 4 pacientes, con tomas de biopsia a los 6 meses; en ocasiones han quedado integradas (Fig. 58, Fig. 59 pág.115) en el nuevo hueso inmaduro (92), distinguiéndose del mismo por una particular tinción, en pequeñas esferas, positiva a la fucsina y al nitrato de plata, que no hemos encontrado descrita en la bibliografía, suponemos que a causa de la desmineralización a que se ven sometidas las muestras en la mayoría de los ensayos revisados, pero sin interfase de separación; en otras ocasiones, se encuentran rotas, desmineralizadas(101), con las lagunas vacías, y aisladas del resto por tejido conectivo, o amalgamadas (Fig. 56 pág.114) por hueso de nueva formación (92). Todavía se observan grandes vasos adyacentes al borde óseo (Fig. 57 pág.115). A los 11 meses, persisten zonas distinguibles de hueso injertado en el interior de hueso nuevo que ya está remodelado y posee osteonas secundarias (Fig. 61 pág.117). Se observan algunas áreas (Fig. 60 pág.116), desmineralizadas y con lagunas osteocitarias vacías (92)(101), que conservan una estructura de hueso laminar organizado en grandes osteonas que no corresponde a las características histológicas del hueso maxilar; se podría pensar que se ha conservado la estructura ósea del lugar de donde provenga el injerto de liofilizado, que sabemos corresponde a huesos largos (132).

Al poderse apreciar partículas de injerto en el interior del hueso neoformado, se ratifica el hecho de que este material es osteoconductor (113); en nuestro estudio se pueden distinguir restos de las mismas hasta los 11 meses, final del seguimiento, lo que coincide con los hallazgos descritos en 1996 por Simion (126) sobre un paciente en reposición de implante fracturado, y en 2004 por Andreana (125) en elevación de seno a 6 pacientes, que en reapertura después de 4 y 2 años respectivamente, siguen hallando restos del material, aunque correctamente integrado en el nuevo hueso. En otros dos estudios de diseño similar, en alvéolos post extracción en humanos, las observaciones son totalmente dispares, y mientras, en 1999, Brugnami (113) observa a los 6 meses restos de injerto bien integrado en el nuevo hueso, con osteoblastos en su interior, y algunos osteoclastos en proceso de reabsorción, en su estudio sobre 8 pacientes, Becker (98), en 1994, asegura no encontrar evidencias de actividad de osteoclastos en las partículas de injerto después de 13 meses en ninguno de sus 7 pacientes incluidos en el estudio, (igual que en nuestro trabajo) y tampoco actividad formadora de hueso en la superficie de las mismas, que además aparecen acelulares, de manera que cuestiona el uso de este biomaterial para la colocación posterior de implantes en la zona, ya que el hueso obtenido estima que no posee una calidad óptima; esta afirmación la comparte Paul que realiza un estudio piloto de regeneración periodontal en 5 pacientes y ósea en 2, en ninguno de los cuales, después de 9 meses



(seguimiento más largo) encuentra actividad osteoclástica ni osteoblástica en los injertos (114); tampoco Simon 2009 (311) en estudio sobre 4 perros donde encuentra osteoclastos reabsorbiendo al DFDBA, y se mantienen algunas partículas del mismo aunque sólo en el tercio coronal, inmersas en conectivo, al final de la observación (12 semanas).

Estos hallazgos parecen corresponderse con lo descrito por Mattout (65) a propósito de que los osteoclastos no se pueden fijar a tejidos no mineralizados, y que la reabsorción de los mismos corre a cargo de los macrófagos, por lo que es mucho más lenta.

Más recientemente, en 2008, Stacchi (347) propuso sustituir el uso de hueso liofilizado por el de *hueso fresco congelado humano*, cuyo proceso de obtención es menos laborioso, (a partir de cabezas de fémur de donantes, congelación a -80°C durante más de 6 meses, análisis para prevención de transmisión de enfermedades y, si son negativos, ya se pueden usar, sin más procesamientos) para realizar elevaciones de seno, en un estudio sobre 10 pacientes en el que a los 5 meses obtiene, observado mediante pruebas clínicas, histológicas e histomorfométricas, hueso maduro sin interfase con el hueso nativo, y muy poca cantidad de hueso primario, sin apreciarse restos de injerto(347). Este hecho, mostraría un biomaterial más adecuado que el hueso liofilizado que se venía utilizando, y que nosotros hemos injertado para el presente estudio.

En general, en los resultados histológicos de los estudios revisados que se realizaron con injertos de hueso liofilizado desmineralizado, se muestran grandes cantidades de hueso regenerado, pero las preparaciones histológicas rara vez no se desmineralizan, por lo que los hallazgos no son del todo fiables, y existe la duda de si lo que se observa como hueso está o no calcificado (92). Otro posible error a tener en cuenta, es que en la histomorfometría, al hablar de cantidad de hueso en la muestra, incluyen como tal a los restos de injerto presentes (344), aunque los mismos no sean vitales.

A las 3 semanas en alvéolos post extracción de 4 perros, (311) Simon, en 2009, no observa signos de formación ósea, que aparecen en el tercio apical a las 6 semanas; este hecho coincide con dos estudios sobre 6 perros beagle de Caplanis, realizados en 1998 (123)(124), en los que a las 4 semanas, en defectos con fenestración vestibular, no encuentra signos de ningún efecto del DFDBA en la regeneración ósea; lo que parece indicar que se requiere más tiempo para comenzar el remodelado de este injerto en dichos animales. Comparando estos resultados con el patrón fisiológico, sin injerto, en perros (39) en el que se observaba hueso primario a los 30 días (4 semanas) en el tercio apical, parece que el DFDBA ralentiza el proceso de formación de nuevo hueso. A las 12 semanas (3 meses), Simon 2009 (311) ya observa el alvéolo prácticamente relleno, aunque permanecen partículas del injerto, en coronal, envueltas por tejido conectivo. En este mismo tiempo, la histología del patrón fisiológico de reparación ósea post extracción dentaria en el perro (39), ya obtenía relleno casi completo del alvéolo y con una calidad ósea homogénea, ya que no presentaba restos de ningún injerto, puesto que no se utilizó en el estudio.



Se compara el hueso no desmineralizado con el desmineralizado, pero ambos tienen similares resultados. El hueso liofilizado no descalcificado (FDBA) no parece, por sí mismo, inducir la formación de hueso en los alvéolos post extracción ni en perros (98) ni en humanos(71). Se pueden observar restos de partículas injertadas, pasados 13 meses en humanos (98), sin señales de formación o actividad osteoclástica en las mismas. Lo que puede atribuirse a la posible insuficiente cantidad de factores de crecimiento y/o BMPs óseas que contienen. Pero, quizás debido al diferente origen embrionario, en el estudio de Mellonig, en 1985, sobre cráneo de 35 cerdos (103) muestra al DFDBA como mejor material que al FDBA, y en cambio, en 2005, Yukna (100) ensaya sobre defectos mandibulares de 6 monos y encuentra un mayor aumento en la regeneración ósea con FDBA que con DFDBA.

Los **grupos III y IV**, con PRP obtenido mediante el sistema GAC medicale España (513.000 plaquetas/ μ l) (Tabla 19, pág.68), presentan, en general, defectos en la mineralización, pudiéndose observar abundante matriz de osteoide sin calcificar, del mismo modo que describe Schlegel, en 2004, en los resultados que obtiene al injertar concentrados plaquetarios subóptimos ($< 1.000.000$ plaquetas/ μ l) en defectos creados en frontales de 18 cerdas (294). También en 2004, Weibrich(268) había estimado como concentración plaquetaria óptima $1.000.000$ p/ μ l, por lo que los efectos encontrados por nosotros pueden ser menores/diferentes a los observados en otros estudios.

La combinación de factores de crecimiento existente dentro del PRP, parece causar a altas concentraciones *in vitro* la inhibición de la diferenciación osteoblástica, aumentando en cambio la proliferación osteoblástica (269).

El protocolo que hemos utilizado posee varias ventajas como una única centrifugación que, además de simplificar el proceso y minimizar el tiempo, consigue un recuento leucocitario muy bajo (264) en comparación con las técnicas de doble centrifugado (Tabla 19, pág.68). La práctica ausencia de leucocitos es importante ya que los neutrófilos son fuente de metaloproteinasas de la matriz, y segregan otras proteasas, como elastasas, que son destructoras de Factores de Crecimiento (338)(348). También es favorecedor, a priori, el uso de cloruro cálcico para la obtención del gel, en vez de trombina bovina que utilizan otros sistemas, la cual causa la liberación inmediata de los factores de crecimiento en el momento de su colocación (311), por lo que su tiempo de actuación es muy limitado (338)(348), y además produce el desarrollo de anticuerpos para los factores V y XI de la coagulación (348). Pero precisamente la activación plaquetaria con trombina bovina es la que en el artículo de 2008 de Hatakeyama (309) se cita como más conveniente *in vitro*, lo que deberá demostrarse o desmentirse en estudios *in vivo*.

La secreción activa de los factores de crecimiento se produce al activarse las plaquetas. Las plaquetas los sintetizan previamente, quedando contenidos, parcialmente, en sus gránulos α . No se completan hasta romperse estos gránulos y así producirse el contacto con la membrana plaquetaria que les confiere una cadena de



carbohidratos y una histona, adquiriendo así un estado bioactivo. Este proceso tarda unos 10 minutos a partir de la formación del coágulo, segregándose el 95% de los factores de crecimiento en la 1ª hora (349). Posteriormente las plaquetas producen y segregan más factores de crecimiento durante los 10 días que les quedan de vida (350). Según Choi(287), el efecto del PRP en el lugar de su administración, debido a su concentración en factores de crecimiento, se reduce a 5 días; Consecuentemente, se supone que el uso del PRP afectará en la regeneración ósea muy temprana, más que en las fases posteriores, pero ocurre que su efecto sobre la aceleración de la regeneración ósea, se puede observar entre las semanas 2-4-6 en diferentes animales (268) (292)(294) (295) (299)(307), y luego se ralentiza siendo a la 8ª semana igual (307), o incluso menor (292) (295).

Los ensayos con PRP son diversos, y aunque una mayoría de clínicos piensa que el uso de PRP es positivo en la regeneración ósea, los resultados de los diferentes estudios contribuyen a generar una opinión confusa acerca de los beneficios del PRP en la misma, como se deduce de las tablas resumen en la introducción (Tabla 20 pág.71, Tabla 21 pág.73), que se referían a la experimentación sobre animales y sobre humanos con este preparado, en ocasiones solo y otras veces acompañado por otros materiales de injerto. Ello puede deberse, a parte de las diferentes concentraciones plaquetarias obtenidas según las distintas técnicas empleadas (Tabla 19, Pág.68) (164)(294)(350), a que no todas las plaquetas contienen la misma concentración de factores de crecimiento (la plaqueta humana contiene más TGF β 1, PDGF $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ y $\alpha\beta$ (351) que la de ratas o cabras), que los estudios se han realizado en defectos óseos de tamaños y características heterogéneas, sobre huesos de distintos orígenes embrionarios, utilizando técnicas no completamente comparables y con variados tiempos de evolución, unido a las diferencias en las respuestas individuales de cicatrización de cada paciente/ animal(164). Todo ello hace que los resultados obtenidos por los diversos autores y estudios, sean difícilmente comparables y/o extrapolables, por lo que se hacen necesarios ensayos comparables en los que se obtengan diferencias significativas que clarifiquen el papel del PRP en los procedimientos regenerativos.

Comparar los resultados de estudios de PRP en animales con los de humanos resulta complejo, ya que a los diferentes métodos de obtención del PRP y distintos tiempos fisiológicos así como de vida media, se suma la diferente concentración plaquetaria que posee cada animal y, por tanto, cada PRP obtenido, además de la diferente eficacia de un mismo PRP en cada animal (310). Sería más fácilmente comparable si el PRP fuera siempre de origen humano aunque se utilizara en animales de experimentación (310). En este supuesto, en 2009, Plachokova (310) ha observado que el PRP humano unido a injerto de hueso, también humano, mejora a las 2 semanas la regeneración ósea en defectos creados en parietales de 12 ratas, haciendo que se unan las partículas de hueso injertado mediante matriz ósea, y sin embargo a las 4 semanas el efecto adicional del PRP ya no se observa (310).

Así, aunque varios estudios corroboran que los factores de crecimiento liberados por las plaquetas producen una aceleración de la formación ósea al inicio de



la reparación (282) (290) (293) (294)(296)(306)(307)(310), otros sostienen que se aprecia mejora de la regeneración más tarde, a partir de 6 semanas en cabras (289).

La aceleración inicial, descrita por varios autores, no genera un hueso suficientemente maduro para soportar la colocación de implantes dentales, sino que produce un aumento considerable de la matriz osteoide; pero la mineralización de la misma es deficitaria. Así lo describe Thorwath en 2006 (305) donde encuentra, en defectos realizados en frontal de cerdos, la mineralización inicial del tejido óseo neoformado más deficiente que usando hueso autólogo solo, aunque a largo plazo no aprecia diferencias entre ambos grupos, resultado similar al que hemos encontrado en nuestro estudio. Hecho que concuerda con Giannobile (277) y Arpornmaeklong (269) que sostienen que la acción de los factores de crecimiento del PRP provoca un descenso de la actividad ALP y de la mineralización. Por lo tanto, si esta aceleración inicial desaparece, igualándose al uso de injerto solo, antes de obtener un hueso suficientemente maduro (mineralizado) para colocar implantes, parece que no resulta útil el uso del PRP, ni sólo, ni añadido al material de injerto.

La revisión bibliográfica de Plachokova (352) en 2008 advierte que, a la vista de los ensayos publicados, la eficacia del uso del PRP solo en la regeneración ósea dentro de nuestro campo, se reduce a la regeneración de defectos periodontales y a los casos de elevaciones de seno. Una revisión más reciente de Arora (353) en 2010, argumenta que tampoco en elevaciones de seno se aprecian mejores resultados al añadir PRP a otros materiales de injerto respecto al uso de los mismos únicamente.

El **grupo III**, con PRP, a los 4 meses, presenta muy abundantemente una sustancia de iguales características tintoriales a la matriz de osteoide, pero sólo es celular focalmente (Fig. 63 pág. 121). Si bien es cierto que se presenta bastante osteoide activa, con osteoblastos en su interior y frente osteoblástico (Fig. 63 pág. 121), la mineralización de la misma resulta muy escasa (294) (305). La remodelación ya ha comenzado, y en los bordes de tejido óseo, no ocupados por osteoide, se pueden observar osteoclastos en actividad (Fig. 64 pág. 122). El tejido conectivo no está desarrollado, pero se encuentra extremadamente vascularizado (Fig. 64 pág. 122). 15 días después, la osteoide se mineraliza rápidamente, presentando una mayoría de tejido óseo inmaduro con grandes cavidades vasculo- conectivas que comienzan a formar osteonas (Fig. 67 pág. 123). Progresivamente, el tejido óseo primario se va reemplazando por secundario y, a los 8 meses, se observa tejido óseo laminar con osteonas secundarias y tejido adiposo en las cavidades medulares (Fig. 73 pág. 126).

Así, aunque inicialmente no se aprecian cambios beneficiosos con el uso de PRP, ya que no hay suficiente mineralización, a partir del 5º mes sí es más acelerado el proceso de remodelación ósea.

Hemos podido apreciar la diferencia entre el tejido óseo calcificado y no calcificado gracias a que las muestras histológicas no están descalcificadas; si las hubiéramos desmineralizado inicialmente, como suele ser habitual, hubiéramos



incurrido en error pues, pensaríamos que a los 4 meses habría aumentado considerablemente la masa ósea(9)(283)(290)(295). Esta ventaja no la defiende Plachokova (306), que en 2007, en un estudio similar (PRP +material osteoconductor, en defectos realizados en parietales de 45 ratas) argumenta que la técnica sin decalcificar no le aporta ninguna información adicional respecto a la técnica, más sencilla, decalcificada, en la valoración de la calidad y velocidad de la regeneración ósea. Sin embargo, se considera muy importante no decalcificar las muestras en la valoración de la madurez ósea por análisis de grises en microradiografías, como se muestra en el estudio del grupo de López-López J (354) de 2009, en el que rellenan defectos óseos en mandíbulas de cerdos, con diferentes injertos, PRP (>500.000 plaq/ μ l), TCP, médula ósea y PPP (< 500.000 plaq/ μ l), resultando que los de mayor eficacia son PRP y médula ósea, seguidos de TCP y finalmente similares resultados se obtuvieron en los grupos con PRP y control (sin injerto).

En el trabajo presentado por Anitua(9) de similar propuesta a la nuestra, alvéolos post extracción en pacientes para colocar implantes dentales a posteriori, al igual que en el de Pessoa en 2009 (314) en alvéolos post extracción de 4 monos a los que observa (1 en cada período) a los 30, 90, 120 y 180 días, encuentran muy acelerado el proceso de regeneración ósea cuando usan PRP. Pero, aunque en el estudio de Pessoa resuelvan así en sus conclusiones, al observar sus resultados podemos ver que en todos los intervalos temporales ofrece mayor cantidad de hueso cortical en el grupo control que en el test; y aún en las medias entre ambos tipos de hueso, cortical y medular, la diferencia es del 4% a favor del grupo test, lo que no parece muy relevante, sobre todo considerando que tan sólo hay un ejemplar por cada tramo. Las imágenes histológicas no nos revelan información sobre la mineralización, y tampoco se pueden observar grandes diferencias entre ambos grupos.

Grupo IV hueso + PRP: Existen muchos autores que han utilizado el PRP combinado con hueso autógeno con excelentes resultados. Tanto los resultados de Whitman (7) como de Marx (355) demuestran que el uso de PRP+ hueso autólogo incrementa la capacidad osteogénica y la calidad de hueso neoformado. Anitua (9) también los defiende con resultados significativamente positivos, desde el punto de vista de la regeneración y maduración ósea, en alvéolos post extracción de cinco pacientes. La mineralización de la matriz de osteoide, respecto a la obtenida con injerto de autólogo solo, es mayor hasta las 2 semanas, en cerdos, según Schlegel(294), siendo menor a las 4 semanas, e igualándose a las 12 semanas (3 meses) de observación(294).

En nuestro estudio, en humanos, a los 4 meses, no se aprecian cambios beneficiosos con el uso de PRP, ya que no hay suficiente mineralización de la matriz (Fig. 79 pág. 133), igual que ocurría en los trabajos de Thorwarth (305) y de Schlegel(294), sobre frontal de cerdos, usando PRP+ hueso autólogo, donde en sus resultados se observa un patrón de mineralización alterado y, a largo plazo, son iguales que sin usar el injerto (305).



Las partículas de hueso injertado, no vitales, se han integrado en el tejido óseo, apareciendo bien en el interior del hueso de nueva formación, o bien en proceso de desmineralización, rodeadas de tejido conectivo fibroso (Fig. 81 pág. 134). A los 6 meses, ya están todas las partículas integradas dentro del tejido óseo, aunque aún son evidentes, ya que no se han remodelado en su totalidad (Fig. 87 pág. 137). Se distinguen más fácilmente las de hueso liofilizado, ya que presentan una característica tintorial especial, no encontrada en ninguna descripción histológica previa, en forma de pequeñas esferas tintoriales positivas al nitrato de plata (Fig. 58 y Fig. 59 pág. 116), al igual que nos ocurría cuando realizábamos el injerto de DFDBA sólo, lo que se puede deber a defectos en la mineralización del hueso injertado.

El objetivo de asociar PRP al hueso liofilizado/autólogo es que el PRP potencie las propiedades osteoconductoras del mismo.

Así, Mazor y cols(329), en 2004, evaluaron la utilización de PRP+ hueso autógeno (30%)+ Bio-Oss® (70%) en elevaciones de seno sobre 105 pacientes que presentaban un reborde óseo residual de menos de 5mm en la región posterior del maxilar. Los autores observaron con el uso del PRP una aceleración de la regeneración ósea, un mejor manejo del injerto y una mejor cicatrización de los tejidos blandos. El tiempo de espera manejado por los investigadores para realizar la segunda fase en implantes colocados en senos aumentados era de 9 meses previo al uso del PRP, y con la aplicación del PRP reducen este período a 6 meses.

También el grupo de Kassolis(317) presentó en el 2000, casos de utilización de PRP+ FDBA en procedimientos de elevación de seno, sugiriendo que su uso permite una disminución en los tiempos de inserción y carga del implante, aunque su estudio carece de controles.

Más actual es la revisión del grupo Cochrane en la que concluyen que en casos de elevación de seno, el añadir PRP a otros materiales, sea hueso autólogo o sustitutos óseos, no mejora los resultados en la regeneración ósea (356) (357).

Según ensayos revisados, parece que los mejores resultados con PRP corresponden a su mezcla con hueso autólogo, y no con aloinjertos, Wiltfang 2004 (293), pero en nuestro estudio los resultados observados son similares en ambos. En el trabajo de Aghaloo(301) en defectos creados en cráneo de conejos, en 2005, la densidad radiológica obtenida con DFDBA es menor que cuando le añade PRP.

El uso del PRP no parece influir en la reabsorción del aloinjerto (DFDBA), ya que apreciamos restos del mismo hasta el final del seguimiento en todos los casos:

11 meses, cuando lo usamos solo (Fig. 61 pág.117);

7 meses al mezclarlo con PRP (Fig. 95 pág. 142);

13 meses (Fig. 111 pág. 151) al utilizarlo combinado con autólogo y PRP.

Basándose en evaluación clínica y radiográfica, Ilgenli (358), en 2007, encontró muy beneficiosa la combinación de DFDBA+ PRP frente a PRP solo, en la regeneración de 28 defectos infraóseos en el ángulo mandibular de sus pacientes una vez

trasncurridos 18 meses desde la colocación del injerto, pero no pudo valorar las partículas residuales del injerto puesto que no se realizó estudio histológico del hueso neoformado.

Sin embargo, en regeneración periodontal, el grupo de Markou(359) , en 2009, en un ensayo de 6 meses de duración en defectos endoóseos periodontales de 24 pacientes, no estima positiva esta mezcla, ya que obtiene similar relleno óseo con PRP solo. Así, en revisión bibliográfica de Kotsovilis (360), en 2010, no se dilucida la efectividad del uso de diferentes materiales de injerto mezclados con PRP para estos casos.

Simon (311), en 2009, defiende que la calidad ósea obtenida con el DFDBA unido a un PRP más procesado que el habitual, es peor que la conseguida con ese PRP sólo, ya que se aprecian partículas residuales de injerto hasta 13 semanas después, final del seguimiento, en alvéolos post extracción de perros.

En ningún estudio consultado se ha dado relevancia al hecho de que los grupos observados fueran mixtos en cuanto a la edad y el sexo; nosotros hemos corroborado en este trabajo de Tesis que no se presentan diferencias significativas en la regeneración ósea entre estas variables, ni tampoco en cuanto a la diferente localización dentro de la arcada, ni entre ambas arcadas. Sí se observan diferencias puntuales, pero éstas ocurren incluso intraindividuo, intra-arcada, y en similar posición dentro de la misma, como ya se pudo observar en las tablas de resultados (Tabla 26 pág.93, Tabla 28 pág.106, Tabla 30 pág.118, Tabla 32 pág.130).

La metodología empleada para el estudio histológico de la regeneración ósea, se ha basado en la *técnica sin decalcificar de inclusión en metil-metacrilato* descrita en material y método (pág.85). La mayoría de los estudios consultados, describen la técnica histológica desmineralizada, por lo que algunas estructuras que aseguran ser hueso maduro, pueden llevar a equivocación y ser matriz organizada no mineralizada, ya que no se discrimina entre el tejido mineralizado y no mineralizado. Aunque otros autores, Plachokova (306), aseguran no encontrar diferencias para apreciar la formación de hueso utilizando muestras decalcificadas o no decalcificadas (en PRP +material osteoconductor).

Respecto a las tinciones utilizadas, la de Von Kossa, específica para tejidos mineralizados, nos permitió discriminar el tejido calcificado del resto (306), gracias a lo cual pudimos realizar las mediciones histomorfométricas que valoraron la proporción entre sustancia mineralizada y no mineralizada; y con la técnica de Goldner pudimos distinguir las porciones celulares, de las fibras colágenas, tejido conectivo y conductos vasculares.



La morfología ósea se establece inicialmente por factores genéticos, pero luego modifica su forma y densidad para que sus propiedades mecánicas y estructurales se adapten a las fuerzas de estrés locales(361); de manera que el haber mayor porcentaje de mineralización no quiere decir, necesariamente, mayor madurez del tejido óseo, sino que se puede deber a las diferentes necesidades en las distintas partes de los maxilares, ya que, como se comentó en la introducción, la densidad ósea no es homogénea, y por tanto la relación conectivo-mineral debe variar de la misma manera.

Según describe Marx en 2008 (349), para que se produzca la osteointegración del implante dental, sólo se requiere entre 35-50% de área de nuevo hueso viable en el momento de su colocación. En el mismo año, Stacchi (347), explica que la histomorfometría debe ofrecer un resultado de alrededor del 45-50% hueso mineralizado y el volumen restante debe estar ocupado por espacios medulares para conseguir un resultado positivo; pero en nuestro estudio hemos conseguido éxito en la supervivencia de los implantes con relaciones de tejido mineralizado frente a no calcificado muy dispares, desde 10%-90%, a 83%-13% (Tabla 26 pág.93, Tabla 28 pág.106, Tabla 30 pág.118, Tabla 32 pág.130).

Ciertamente, aunque en cada caso sea diferente la estructura y calidad ósea obtenida, conviene señalar que uno de los objetivos de este estudio era el de comprobar la conveniencia de realizar los implantes dentales más pronto o no, según el tipo de injerto realizado. A la vista de los resultados obtenidos, con el fracaso de tan sólo 1 implante de los 70 realizados (98.57% supervivencia a los 4-6 años), causado aparentemente por la infección de una pieza vital adyacente, parece no depender del tiempo de reparación ósea esperado, ni tampoco del tipo de material de injerto empleado, así como de la ausencia del mismo. En todos ellos, en la reapertura se valoró clínicamente, como suficiente, el volumen óseo obtenido para la colocación del implante. En ningún caso hubo problemas de cicatrización. La tasa de éxito de los implantes, una vez restituido el que falló inicialmente, es del 100% con un periodo de carga funcional comprendido entre 4 y 6 años. Consideramos éxito de los implantes cuando no se observa movilidad ni signos de inflamación peri implantaria, no hay evidencias de infección ni el paciente refiere déficits neurosensoriales (334).

De manera que no hemos podido concluir la conveniencia mayor de una u otra técnica, así como el período óptimo de colocación de los implantes dentales. Similar conclusión obtuvo, en 2008, Lee (334) que mezcló PRP con hueso autólogo y diferentes sustitutos óseos en elevaciones de seno de 41 pacientes, esperando entre 4 y 6 meses para colocar los implantes dentales y cargarlos de manera inmediata; debido a la total supervivencia de los implantes pasados 6 meses, concluyó que son aceptables todas las combinaciones para obtener hueso neoformado suficiente para soportar unos implantes dentales con carga inmediata.



Tampoco Nakajima (362) ni Fiorellini (363), ambos en 2007, pudieron concluir la elección del mejor biomaterial en RTG y ROG respectivamente, en estudios sobre perros con 8 meses de reparación. Utilizaron diferentes materiales de injerto, incluyendo hueso autólogo, DFDBA, BioOss, TCP, y esponja de colágeno, con membrana e-PTFE, y valoraron que no había diferencias significativas entre los diferentes materiales, y que en el caso de ROG el contacto hueso-implante (BIC), en todas las opciones, era entre 50-60% de la superficie del implante por lo que se puede conservar el implante perfectamente.

Aunque varios trabajos (99) y por ende, revisiones bibliográficas(77), sostienen que los implantes colocados en hueso regenerado tienen una vida media similar a los implantados en hueso nativo, en 2008, el European Workshop in Periodontology (364), que versó íntegramente sobre la regeneración ósea previa a la colocación de implantes dentales, aconseja a los clínicos que eviten colocar implantes en hueso regenerado ya que no se conoce si la supervivencia de los mismos es similar a la conseguida en el hueso nativo. Este hecho lo corrobora la revisión bibliográfica de Aghaloo 2007 (74), que evalúa la tasa de supervivencia de los implantes dentales, a 5 años en elevaciones de seno humanas, colocados en hueso regenerado la cuál es menor que en hueso nativo, y varía según el injerto colocado: con hueso autólogo alrededor del 92%, con hueso liofilizado 93.3%, con aloplásticos 81% y con xenoinjertos 95.6%.

Mc Allister (365) realiza una revisión bibliográfica, en 2007, tratando de comparar los resultados obtenidos en regeneración ósea con diferentes metodologías, y concluye que no son comparables y que, por tanto, lo más apropiado sería usar un procedimiento basado en la propia experiencia y evidencia cuando el plan de tratamiento requiera técnicas de aumento de hueso.

La European Workshop in Periodontology de 2008 (364), pretendía extraer conclusiones acerca del mejor biomaterial y la técnica más adecuada en cada circunstancia, sin incluir precisamente la que nosotros hemos tratado en este trabajo de Tesis (alvéolo post extracción) y, aunque no llegan a un acuerdo, sí plantean a los clínicos huir al máximo de estas técnicas por la inseguridad futura de los casos.

En cuanto a la supervivencia de los implantes dentales en estos huesos regenerados, conviene conocer cómo se produce la llamada *osteointegración del implante*.

La integración de un implante en el tejido óseo, comienza justo tras el fresado del lecho implantario (345), cuando éste se rellena de sangre (con plaquetas). Al colocar el implante, su superficie queda rodeada por el coágulo sanguíneo. Lo primero que ocurre es la degranulación plaquetaria, quedando libres los factores de crecimiento PDGF, TGF β_1 - β_2 , VEGF, EGF y vitronectina. Adicionalmente, se depositan

fibronectina y fibrina (a expensas de la fracción de plasma del coágulo) que van a formar una conexión fibrosa entre la superficie del implante y la pared ósea del lecho. Los factores de crecimiento actúan en las células medulares expuestas, células endoteliales y osteoblastos del endostio, para generar un efecto angiogénico y mitogénico así como la migración y diferenciación celular. Los osteoblastos del endostio migran por las fibras de fibrina, fibronectina y vitronectina hasta la proximidad de la superficie del implante, y por acción de los FC se dividen, depositándose en la matriz fibrosa que rodea al implante. Los osteoblastos maduran para secretar osteoide e ir ocupando el espacio entre las superficies del hueso y el implante. El hueso no contacta directamente con el implante, sino que se crea entre ambos un “cemento” natural formado por sialoproteína ósea y osteopontina (345). Finalmente, los osteoblastos insertan fibras colágenas en la línea de “cemento” y así quedan ambas superficies íntimamente conectadas.

De manera que, cuando hablamos de BIC, y traducimos literalmente como “área de contacto hueso-implante”, realmente se refiere al área de contacto del hueso con ese “cemento” al que está unido el implante. La evaluación del BIC es importante para valorar la integración de los implantes dentales en el hueso. En 2008, el estudio de Aimetti (366), concluye que, histológicamente, el BIC es mayor en hueso regenerado mediante injerto de hueso autólogo + PRP que en injerto de autólogo sólo, en elevaciones de seno de humanos, transcurridos 12 meses desde que se realizó el injerto, y 6 meses desde que se colocó el implante.

La superficie de los implantes utilizados en el presente trabajo, SLA® de Straumann, posee una rugosidad uniforme tanto a nivel macro como micromolecular. Para conseguirla, el titanio superficial está tratado con enarenado de alúmina y grabado dual con HCl y H₂SO₄, lo que le confiere un gran potencial osteoconductor, produciéndose la adhesión de fibrina y células osteogénicas que producen formación de hueso en la superficie del implante, y así una rápida osteointegración (367), manteniendo al mismo tiempo una elevada tasa de supervivencia (368) y un elevado BIC (369).



VII. CONCLUSIONES



1. La inclusión en plástico, que permite el estudio de material óseo sin someterlo a procesos de decalcificación, es la técnica más adecuada en la actualidad para estudiar, histológicamente, el proceso de neogénesis ósea alveolar post extracción ya que permite conocer con exactitud el grado de mineralización del nuevo tejido y, por tanto, de maduración ósea.
2. A la vista de los resultados de supervivencia de los implantes dentales, desde el punto de vista histológico, no parece necesario el uso añadido de PRP al hueso, autólogo y/o liofilizado, ya que no muestra aceleración en la maduración ósea de nueva generación, si bien es cierto que aumenta considerablemente la estructura de matriz ósea no mineralizada (osteóide), y clínicamente, ayuda en la colocación de los injertos.
3. No hemos obtenido evidencia histológica ni clínica que indique el uso preferente de uno u otro material para regenerar el alvéolo postextracción previo a la colocación de implantes dentales, aunque clínicamente las calidades óseas sí hayan resultado diferentes.
4. El uso de PRP sólo o añadido al material de injerto, no ha resultado, en este trabajo, de utilidad para mejorar la calidad ósea del hueso de nueva formación que ha rellenado los alvéolos postextracción.
5. Se necesitan más trabajos con un incremento en el número de pacientes, y con menor variabilidad en cuanto a la topografía, dentro de las arcadas, del material estudiado.



VIII. BIBLIOGRAFÍA



1. Bascones A. Historia de la Periodoncia. In Bascones A. Periodoncia Clínica e Implantología Oral. 2nd ed. Madrid: Avances; 2001. p. 11-41.
2. Ring M. Historia Ilustrada de la Odontología Barcelona: Mosby- Doyma; 1989.
3. Tayapongsak P, O'Brien D, Monteiro C, Arceo -Dias L. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994; 52(2): p. 161-6.
4. Antoniades H. Human platelet -derived growth factor (PDGF): Purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1981; 78(12): p. 7314-7.
5. Antoniades H, Owen A. Growth factors and regulation of cell growth. *Ann Rev Am.* 1982; 33: p. 445-63.
6. Slater M, Patava J, Kinghan K, Mason S. Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. *J Ortop Res.* 1995; 13: p. 655-63.
7. Whitman D, Berry R, Green D. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55: p. 1294-9.
8. Marx R, Carlson E, Eichstaedt R, Schimmele S, Strauss J, Georgeff K. Platelet-rich plasma. Growth factors enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85: p. 638-46.
9. Anitua E. Plasma rich in growth factors: Preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999; 14(4): p. 429-535.
10. Frost H. From Wolf's law to the Utah Paradigm: insights about bone physiology and its clinical applications. *Anat Rec.* 2001; 262: p. 398-419.
11. Lynch M, Camparelli C, Stein J, Stein G, Lian J. Apoptosis during bone -like tissue development in vitro. *J Cell Biochem.* 1998; 68: p. 31-49.
12. Bab I, Einhorn T. Polipeptide factors regulating osteogenesis and bone marrow repair. *J Cell Biochem.* 1994; 55: p. 358-365.
13. Horowitz M, Jilka R. Colony stimulating factors in bone remodeling. In Press C, editor. *Cytokines and Bone Metabolism.* Boca Ratón, FL: M. Growen; 1992. p. 185-227.
14. Fawcett D, Bloom. *Tratado de Histología.* 12th ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 1995.
15. Bahamonde M, Lyons K. BMP3: to be or not to be a BMP. *J Bone J Surg.* 2001; 83-A: p. 56-62.
16. Wolff J. *Das Gesetz der Transformation der Knochen* Berlin: A. Hirschwald; 1892.
17. Salvado M. Estudio Osteorregenerativo tras Resección Crítica de Cúbito de Conejo. Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca. 2002.
18. Marcus R, Feldman D, Kelsey J. *Osteoporosis.* 2nd ed.: Academic Press; 2001.
19. Einhorn T. Bone metabolism and metabolic bone disease. In Frymoyer J. *Orthopaedic knowledge update for home study syllabus.* Rosemont: Am Acad Othop Surg; 1994. p. 69-88.
20. Termine T. Bone matrix proteins and mineralization process. In Favus M. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.* 2nd ed. Nueva York: Raven Press; 1993. p. 21-24.



21. Sodek J, McKee M. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology* 2000. 2000; 24: p. 99-126.
22. McNeil R. Bone sialoprotein is localized to the root surface during cementogenesis. *J Bone Miner Res.* 1994; 9: p. 1597-1606.
23. Sodek J. Elucidating the functions of bone sialoprotein and osteopontin in bone formation. In Slavkin H, Price P. *Chemistry and biology of mineral tissues.* Amsterdam: Elsevier Science; 1992. p. 297-306.
24. Murphy-Ullrich J, Lane T, Pallero M, Sage E. SPARC mediates focal adhesion disassembly in endothelial cells through a follistatin-like region and the Ca²⁺ - binding EF-hand. *J Cell Biochem.* 1995; 57: p. 341-350.
25. Kierszenbaum A. *Histología y biología celular.* 2nd ed. Madrid: Elsevier Mosby; 2008.
26. Karimbux N, Roseblum N, Nishimura I. Site-specific expression of collagen I and XII mRNAs in the rat periodontal ligament at two developmental stages. *J Dent Res.* 1992; 71: p. 1355-1362.
27. Lukinmaa P, Waltimo J. Immunohistochemical localization of types I, V and VI collagen in human permanent teeth and periodontal ligament. *J Dent Res.* 1992; 71: p. 391-397.
28. Eyre D, Dickson I, Van Ness K. Collagen cross-linking in human bone and articular cartilage. Aged related changes in the content of mature hydroxypyridinium residues. *Biochem J.* 1988; 252: p. 495-500.
29. Mariñoso Barba ML SFS. *Biología del hueso.* *Clin Invest Gin Obst.* 1999;(26 (supl.1)): p. 13-20.
30. Kaplan F, Hayes W, Keaveny T, Boskey A, Einhorn T, Lannotti J. Form and function of bone. In Simon S. *Orthopaedic Basic Science.* Rosemont: Am Acad Orthop Surg; 1994. p. 127-184.
31. Holtrop M. Light and electron microscopic structure of bone-forming cells. In Hall B. *Bone: the osteoblast and osteocyte.* Caldwell: Telford Press; 1990. p. 1-39.
32. Kurihara S, Enlow D. An electron microscopic study of attachments between periodontal fibers and bone during alveolar remodeling. *Am J Orthod.* 1980; 77: p. 516-531.
33. Gori F, Thomas T, Hicok K, Riggs B. Differentiation of human marrow stromal precursor cells: bone morphogenetic protein 2 increases OSF2/CBA1, enhances osteoblast commitment, and inhibits late adipocyte maturation. *J Bone Miner Res.* 1999; 14: p. 1522-35.
34. Kelly K, Gimble J. 1,25 dihydroxy vitamin D3 inhibits adipocyte differentiation and expression in murine bone marrow stromal cells clones and primary cultures. *Endocrinology.* 1998; 139: p. 2622-28.
35. Chole R, Tinling S. Incomplete coverage of mammalian bone matrix by lining cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1993; 102: p. 543-550.
36. Elias J, Tang W, Howitz M. Cytokine and hormonal stimulation of human osteosarcoma cytokine-11 production. *Endocrinology.* 1995; 136: p. 489-498.
37. Aubin J, Turksen K, Hersche J. Osteoblastic cell lineage. In Noda M. *Cellular and Molecular Biology of Bone.* San Diego: Academic Press Inc; 1993. p. 1-45.
38. Mundy G. Bone resorbing cells. In Favus M. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.* 2nd ed.: Raven Press; 1993. p. 25-



- 32.
39. Lang N, Araújo M, Karring T. Formación de hueso alveolar. In Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 4th ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005. p. 907-939.
40. Hugues D, Wright K. Biphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res*. 1995; 10: p. 1478-1487.
41. Serrano V, Casas A. Factores de crecimiento: ¿Un nuevo enfoque terapéutico? *Periodoncia*. 1997; 7(2): p. 99-115.
42. Bestholz C, Johnsson A, Helding C. DNA sequence and chromosomal localization of human platelet-derived growth factor A-chain and its expression in tumor cell lines. *Nature*. 1986; 320: p. 695-6.
43. Sitaras N, Sariban E, Pantazis P, Zetter B, Antoniades H. Human iliac afferent endothelial cell express both genes encoding the chains of platelet derived-derived growth factor (PDGF) and synthesize PDGF-like mitogen. *J Cell Physiol*. 1987; 132: p. 376-80.
44. Deuel T, Huang J, Profitt R. Human platelet-derived growth factor. *J Biol Chem*. 1981; 256(17): p. 8896-9.
45. Lindhe J, Karring T, Araújo M. Anatomía del periodonto. In Lindhe J. *Periodoncia clínica e implantología odontológica*. 4th ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005. p. 3-50.
46. Lindhe J, Karring T. Anatomía del periodonto. In Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 3rd ed. Madrid: Panamericana; 2000. p. 19-67.
47. Saffar J, Lasfargues J, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. *Periodontology 2000*. 1997; 13: p. 76-90.
48. Ferraris M, Campos A. *Histología y embriología bucodental*. 2nd ed. Madrid: Panamericana; 2002.
49. Parfitt A. Bone forming cells in clinical conditions. In Hall B. *Bone: the osteoblast and osteocyte*. Caldwell: The Telford Press; 1990. p. 351-429.
50. Jeffrey O. Biology of bone healing: its impact on clinical therapy. In Lynch S. *Tissue Engineering: Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence; 1999. p. 17-44.
51. Clemmonds D. Structural and functional analysis of insulin-like growth factors. *Br Med Bull*. 1989; 45: p. 465-80.
52. Canalis E. Growth hormone, skeletal growth factors and osteoporosis. *Endocr Prat*. 1995; 1: p. 39-43.
53. Ross F, Teitelbaum S. Osteoclast biology. In Marcus R, Feldman D, Kelsey J. *Osteoporosis*. Academic press; 2001. p. 73-105.
54. Wong G. Basal activities and hormone responsiveness of osteoclast - like and osteoblast- like bone cells are regulated by glucocorticoids. *J Biol Chem*. 1979; 254: p. 6337-40.
55. Lang P, Becker W, Karring T. Formación de hueso alveolar. In Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. Panamericana; 2000. p. 916-948.
56. Anitua E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. Plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F.) Vitoria: Puesta al día Publicaciones S.L; 2000.

57. Bessade J, Antoun H, Missika P. Growth factors and bone morphogenic proteins. In Khoury F, Antoun H, Missika P. Bone augmentation in oral implantology. New Malden: Quintessence; 2007. p. 373-389.
58. Burdi R, Faist K. Morphogenesis of the palate normal human embryos with emphasis on the mechanisms involved. *Arch J Anat.* 1967; 120: p. 149-153.
59. Orliaguet T, Darcha C, Déchelotte P, Vanneuville G. Meckel's cartilage in the human embryo and fetus. *Anat Rec.* 1994; 238: p. 491-497.
60. Mérida J, Sánchez I, Espín J, García J, Roldán V. Developmental differences in the ossification process of the human corpus and ramus mandibulae. *Anat Rec.* 1993; 235: p. 319-324.
61. Kjaer I, Bagheri A. Prenatal development of the alveolar bone of human deciduous incisors and canines. *J Dent Res.* 1999; 78: p. 667-672.
62. Listgarten MA HJ. Chronic inflammation in the gingival tissue of germen- free dogs. *Arch Oral Biol.* 1971;(16): p. 1207.
63. Payne W. Histopathologic features of the inicial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodont Res.* 1975; 10.
64. Brex M, Patters M. Morphology of polymorphonuclear neutrophils during periodontal disease in the cynomolgus monkey. *J Clin Periodontol.* 1985; 12: p. 591.
65. Mattout P. Pre and peri- implant guided bone regeneration. In Khoury F, Antoun H, Missika P. Bone augmentation in oral implantology. New Malden: Quintessence; 2007. p. 299-320.
66. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potencial of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol.* 1982; 9: p. 257-65.
67. Merli M, Migani M, Esposito M. Vertical ridge augmentation with autogenous bone grafts: resorbable barriers supported by osteosynthesis plates versus titanium-reinforced barriers. A preliminary report of a blinded, randomized controlled clinical trial. *Int Oral Maxillofac Implants.* 2007; 22: p. 373-82.
68. Coulthard P, Esposito M, Jokstad A, Worthington H. Interventions for replacing missing teeth: bone augmentation techniques for dental implant treatment. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; 3: p. CD003607.
69. Hämmerle C, Jung R, Yaman D, Lang N. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19(1): p. 19-25.
70. Esposito M, Grusovin M, Kwan S, Worthington H, Coulthard P. Interventions for replacing missing teeth: bone augmentation techniques for dental implant treatment. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 Jul; 16(3): p. CD003607.
71. Becker W, Lynch SLU, Becker B, Cafesse R, Donath K, Sanchez R. A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with Platelet-Derived Growth Factors and Insulin- Like Growth Factor-I or Demineralized Freeze- Dried Bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J Periodontol.* 1992; 63: p. 929-940.
72. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt H, Berthold H. Localiced ridge augmentation using guided bone regeneration I. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1993; 13: p. 29-45.

73. Chiapasco M, Zaniboni M, Boisco M. Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17 Supp(2): p. 136-59.
74. Aghaloo T, Moy P. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007; 22 Suppl: p. 49-70.
75. Iliazarov G. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft tissue preservation. *Clin Orthop.* 1989; 238: p. 249-281.
76. García A, Martín M, Vila P, Maceiras J. Minor complications arising in alveolar distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 60: p. 496-501.
77. Donos N, Mardas N, Chadha V. Clinical outcomes of implants following lateral bone augmentation: systematic assessment of available options (barrier membranes, bone grafts, split osteotomy). *J Clin Periodontol.* 2008 Sep; 35(8 Suppl): p. 173-202.
78. Esposito M, Grusovin M, Coulthard P, Worthington H. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006 Sep; 21(5): p. 696-710.
79. Chiapasco M, Zaniboni M, Rimondini L. Autogenous onlay bone grafts vs. alveolar distraction osteogenesis for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a 2-4-year prospective study on humans. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Aug; 18: p. 432-40.
80. Karring T, Lindhe J, Cortellini P. Tratamiento periodontal regenerativo. In Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica.* Madrid: Panamericana; 2000. p. 605-654.
81. Finkelman R, Hardesty R, Rakijan. Increased IGF-II and TGF- β in calvarial bone: Graft survival implications. *J Dent Res.* 1992; 71: p. 116-20.
82. Browaeys H, Bouvry P, De Bruyn H. A literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2007 Sep; 9(3): p. 166-77.
83. Simunek A, Kopecka D, Somanathan R, Pilathadka S, Brazda T. Deproteinized bovine bone versus beta-tricalcium phosphate in sinus augmentation surgery: a comparative histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008 Sep-Oct; 23(5).
84. Cobb C, Eick J, Barker B, Mosby E. Restoration of mandibular continuity defects using combinations of hidroxiapatite and autogenous bone. Microscopic observations. *J Oral Maxillofac Surg.* 1990; 48: p. 268-75.
85. Smiler D, Jonson P, Lozada J. Injertos para elevación sinusal e implantes endoóseos. *Clin Odontol North Am.* 1992; 1: p. 155-92.
86. Simion M, Fontana F, Rasperini G, Maiorana C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clin Oral Implants Res.* 2007; 18: p. 620-29.
87. Lee B, Burstein J, Sedghizadeh P. Cortical tenting grafting technique in the severely atrophic alveolar ridge for implant site preparation. *Implant Dent.* 2008 Mar; 17: p. 50-60.



88. Piattelli A, Degidi M, Di Stefano D, Rubini C, Fioroni M, Strocchi R. Microvessel density in alveolar ridge regeneration with autologous and alloplastic bone. *Implant Dent.* 2002; 11(4): p. 370-5.
89. Gielkens P, Schortinghuis J, de Jong J, Paans A, Ruben J, Raghoobar G, et al. The influence of barrier membranes on autologous bone grafts. *J Dent Res.* 2008 Nov; 87(11): p. 1048-52.
90. Urist M. Bone: formation by autoinduction. *Science.* 1965 Nov; 150(698): p. 893-9.
91. Sepe W, Bowers G, Lawrence J, Friedlaender G, Koch R. Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects--part II. *J Periodontol.* 1978 Jan; 49(1): p. 9-14.
92. Kim C, Cho K, Choi S, Prewett A, Wikesjö U. Periodontal repair in dogs: effect of allogenic freeze-dried demineralized bone matrix implants on alveolar bone and cementum regeneration. *J Periodontol.* 1998 Jan; 69(1): p. 26-33.
93. Cohen E. Guided tissue regeneration en combination with demineralized freeze-dried bone allograft using noresorbable membrane. *Compend Contin Educ Dent.* 1995; 16: p. 846, 848, 851-2.
94. Artzi Z, Zohar R, Tal H. Periodontal and peri-implant bone regeneration: clinical and histologic observations. *Int J Per Rest Dent.* 1997 Feb; 17(1): p. 63-73.
95. Laurell L, Gottlow J, Zybutz M, Persson R. Treatment of intrabony defects by different surgical procedures. A literature review. *J Periodontol.* 1998 Mar; 69(3): p. 303-13.
96. Trejo P, Weltman R, Caffesse R. Treatment of intraosseous defects with bioabsorbable barriers alone or in combination with decalcified freeze-dried bone allograft: a randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2000 Dec; 71(12): p. 1852-61.
97. Klepp M, Hinrichs J, Eastlund T, Schaffer E. Histologic evaluation of demineralized freeze-dried bone allografts in barrier membrane covered periodontal fenestration wounds and ectopic sites in dogs. *J Clin Periodontol.* 2004 Jul; 31(7): p. 534-44.
98. Becker W, Becker B, Caffesse R. A comparison of demineralized freeze-dried bone and autologous bone to induce bone formation in human extraction sockets. *J Periodontol.* 1994 Dec; 65(12): p. 1128-33.
99. Cammack G2, Nevins M, Clem D3, Hatch J, Mellonig J. Histologic evaluation of mineralized and demineralized freeze-dried bone allograft for ridge and sinus augmentations. *Int J Per Rest Dent.* 2005 Jun; 25(3): p. 231-7.
100. Yukna R, Vastardis S. Comparative evaluation of decalcified and non-decalcified freeze-dried bone allografts in rhesus monkeys. I. Histologic findings. *J Periodontol.* 2005 Jan; 76(1): p. 57-65.
101. Piattelli A, Scarano A, Corigliano M, Piattelli M. Comparison of bone regeneration with the use of mineralized and demineralized freeze-dried bone allografts: a histological and histochemical study in man. *Biomaterials.* 1996 Jun; 17(11): p. 1127-31.
102. Mellonig J, Bowers G, Bailey R. Comparison of bone graft materials. Part I. New bone formation with autografts and allografts determined by Strontium-85. *J Periodontol.* 1981; 52: p. 291-296.
103. Mellonig J, Bowers G, Cotton W. Comparison of bone graft materials. Part II. New

- bone formation with autografts and allografts: a histological evaluation. *J Periodontol.* 1981 Jun; 52(6): p. 297-302.
104. Donath K, Piattelli A. Bone tissue reactions to demineralized freeze-dried bone in conjunction with e-PTFE barrier membranes in man. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104: p. 96-101.
105. Rosen P, Reynolds M. A retrospective case series comparing the use of demineralized freeze-dried bone allograft and freeze-dried bone allograft combined with enamel matrix derivative for the treatment of advanced osseous lesions. *J Periodontol.* 2002 Aug; 73(8): p. 942-9.
106. Sanders J, Sepe W, Bowers G, Koch R, Williams J, Lekas J, et al. Clinical evaluation of freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. Part III. Composite freeze-dried bone allografts with and without autogenous bone grafts. *J Periodontol.* 1983 Jan; 54(1): p. 1-8.
107. Tuli S, Singh A. The osteoinductive property of decalcified bone matrix. An experimental study. *J Bone Joint Surg Br.* 1978 Feb; 60(1): p. 116-23.
108. Gupta D, Tuli S. Osteoinductivity of partially decalcified alloimplants in healing of large osteoperiosteal defects. *Acta Orthop Scand.* 1982 Dec; 53(6): p. 857-65.
109. Marinak K, Mellonig J, Towle H. The osteogenic potential of two human demineralized bone preparations using a xenogeneic model. *J Periodontol.* 1989 Jan; 60(1): p. 12-8.
110. Boyan B, Ranly D, McMillan J, Sunwoo M, Roche K, Schwartz Z. Osteoinductive ability of human allograft formulations. *J Periodontol.* 2006 Sep; 77(9): p. 1555-63.
111. Intini G, Andreana S, Buhite R, Bobek L. A Comparative Analysis of Bone Formation Induced by Human Demineralized Freeze-Dried Bone and Enamel Matrix Derivative in Rat Calvaria Critical-Size Bone Defects. *J Periodontol.* 2008 Jul; 79(7): p. 1217-1224.
112. Becker W, Schenk R, Higuchi K, Lekholm U, Becker B. Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1995 Mar-Apr; 10(2): p. 143-54.
113. Brugnami F, Then P, Moroi H, Kabani S, Leone C. GBR in human extraction sockets and ridge defects prior to implant placement: clinical results and histologic evidence of osteoblastic and osteoclastic activities in DFDBA. *Int J Per Rest Dent.* 1999 Jun; 19(3): p. 259-67.
114. Paul B, Horning G, Hellstein J, Schafer D. The osteoinductive potential of demineralized freeze-dried bone allograft in human non-orthotopic sites: a pilot study. *J Periodontol.* 2001 Aug; 72(8): p. 1064-8.
115. Schwartz Z, Mellonig J, Carnes DJ, de la Fontaine J, Cochran D, Dean D, et al. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. *J Periodontol.* 1996 Sep; 67(9): p. 918-26.
116. Schwartz Z, Somers A, Mellonig J, Carnes DJ, Dean D, Cochran D, et al. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation is dependent on donor age but not gender. *J Periodontol.* 1998 Apr; 69(4): p. 470-8.
117. Lynch S. Introduction. In Lynch S, Marx R, Nevins M, Wisner- Lynch L. Tissue

- engineering: applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics. 2nd ed. Chicago: Quintessence; 2008. p. XI-XVI.
118. Carnes DJ, De La Fontaine J, Cochran D, Mellonig J, Keogh B, Harris SGCN, et al. Evaluation of 2 novel approaches for assessing the ability of demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. *J Periodontol.* 1999 Apr; 70(4): p. 353-63.
 119. Li H, Pujic Z, Xiao Y, Bartold P. Identification of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in commercial demineralized freeze-dried bone allograft preparations: pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2000; 2(2): p. 110-7.
 120. Becker W, Urist M, Tucker LBB, Ochsenein C. Human demineralized freeze-dried bone: inadequate induced bone formation in athymic mice. A preliminary report. *J Periodontol.* 1995 Sep; 66(9): p. 822-8.
 121. Shapoff C, Bowers G, Levy B, Mellonig J, Yukna R. The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow. *J Periodontol.* 1980; 51: p. 625-30.
 122. Quintero G, Mellonig J, Gambill V, Pelleu G. A six-month clinical evaluation of decalcified freeze-dried bone allografts in periodontal osseous defects. *J Periodontol.* 1982 Dec; 53(12): p. 726-30.
 123. Caplanis N, Lee M, Zimmerman G, Selvig K, Wikesjö U. Effect of allogenic freeze-dried demineralized bone matrix on guided tissue regeneration in dogs. *J Periodontol.* 1998 Aug; 69(8): p. 851-6.
 124. Caplanis N, Lee M, Zimmerman G, Selvig K, Wikesjö U. Effect of allogenic freeze-dried demineralized bone matrix on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment in dogs. *J Clin Periodontol.* 1998 Oct; 25(10): p. 801-6.
 125. Andreato S, Cornelini R, Edsberg L, Natiella J. Maxillary sinus elevation for implant placement using calcium sulfate with and without DFDBA: six cases. *Implant Dent.* 2004 Sep; 13(3): p. 270-7.
 126. Simion M, Trisi P, Piattelli A. GBR with an e-PTFE membrane associated with DFDBA : histologic and histochemical analysis in a human implant retired after 4 years of loading. *Int J Per Rest Dent.* 1996 Aug; 16(4): p. 338-47.
 127. Schwartz Z, Goldstein MRE, Hirsch ARD, Boyan B. Clinical evaluation of demineralized bone allograft in a hyaluronic acid carrier for sinus lift augmentation in humans: a computed tomography and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Apr; 18(2): p. 204-11.
 128. Camelo M, Nevins M, Schenk R, Lynch S, Nevins M. Periodontal regeneration in human Class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. *Int J Per Rest Dent.* 2003; 23: p. 213-25.
 129. Nevins M, Hanratty J, Lynch S. Clinical results using recombinant human platelet-derived growth factor and mineralized freeze-dried bone allograft in periodontal defects. *Int J Per Rest Dent.* 2007 Oct; 27(5): p. 421-7.
 130. Blumenthal N, Alves M. The use of demineralized freeze-dried bone-glycoprotein matrix grafts in treating baboon periodontal infrabony defects. *Int J Per Rest Dent.* 2000 Feb; 20(1): p. 61-9.
 131. Salagaray V, Lozada J. Técnicas de elevación sinusal. Injerto subantral de inducción ósea: Unidad de implantología oral y prótesis biointegrada.

132. Mellonig T. Regeneración periodontal: injertos óseos. In Nevins M, Mellonig T. Terapia periodontal: enfoques clínicos y evidencia de éxito. Barcelona: Quintessence; 2003. p. 233-248.
133. Swenson C, Arnoczky S. Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone: in vitro and in vivo experimental studies. *J Bone Joint Surg Am.* 2003 Feb; 85-A(2): p. 323-32.
134. Mellonig J, Prewett A, Moyer M. HIV inactivation in a bone allograft. *J Periodontol.* 1992 Dec; 63(12): p. 979-83.
135. Mellonig J. Donor selection, testing, and inactivation of the HIV virus in freeze-dried bone allografts. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1995 Aug; 7(6): p. 13-22.
136. Williams D. Fundamental aspects of biocompatibility Boca Ratón, FL: CRC Press; 1981.
137. McKinney R. Implantes dentales endoóseos Barcelona: Mosby; 1993.
138. Jarcho M. Calcium-phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop.* 1981; 157: p. 259-78.
139. Eppley B, Sadove M, German R. Evaluation of HTR polymer as a cranio maxillofacial graft material. *Plastic and Reconstructive Surg.* 1990; 34: p. 1085-90.
140. Sanchez M, Berini L, Gay Escoda C. Los diferentes tipos de hidroxiapatita y sus aplicaciones en la cirugía bucal. *Avances en Odontoestomatología.* 1993; 9: p. 633-8.
141. Antoun H, Chemaly C, Missika P. Bone substitutes. In Khoury F, Antoun H, Missika P. Bone augmentation in oral implantology. Surrey: Quintessence; 2007. p. 341-372.
142. Berglundh T, Lindhe J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio Oss: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1997; 8: p. 117-24.
143. Piattelli M, Favero G, Scarano A, Orsini G, Piattelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: A histologic long- term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999; 14: p. 835-40.
144. Schlegel K, Fichtner G, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J. Histologic findings in sinus augmentation with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003 Jan-Feb; 18(1): p. 53-8.
145. Maiorana C, Sigurtà D, Mirandola A, Garlini G, Santoro F. Bone resorption around dental implants placed in grafted sinuses: clinical and radiologic follow-up after up to 4 years. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005; 20: p. 261-6.
146. Froum S, Stahl S. Human intraosseous healing responses to the placement of tricalcium phosphate ceramic implants II. 13 to 18 months. *J Periodontol.* 1987; 58: p. 103-9.
147. Shapoff C, Alexander D, Clark A. Clinical use of a bioactive glass particulate in the treatment of human osseous defects. *Compendium.* 1997; 18(4): p. 352-63.
148. Kent J, Block M. Simultaneous maxillary sinus floor bone grafting and placement of hidroxiapatite-coated implants. *J Oral Maxillofac Surg.* 1989; 47: p. 238-42.
149. Plotze A, Barbosa S, Nasjleti C. Histologic and histometric response to polymeric composite grafts. *J Periodontol.* 1993; 64: p. 343-48.



150. Pearsall A, Spears P, Chokshi M. The ultrastructural architecture of the tissue/hard-tissue replacement interface. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992; 50: p. 375-84.
151. Yukna R. HTR polymer grafts in human periodontal osseous defects I. 6-month clinical results. *J Periodontol.* 1990; 61: p. 633-42.
152. Donohue W, Mascres C. A comparison of the effects of two hidroxiapatites and metacrilate resin on bone formation in the rat ilium. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993; 8: p. 75-82.
153. Isaksson S. Influence of three alloplastic materials on calvarian bone healing. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1993; 22: p. 375-81.
154. Marx R. Platelet- rich plasma factors for bone graft. In Lynch S, Genco R, Marx R. *Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics.* Chicago: Quintessence; 1999. p. 71-82.
155. Zaman K, Sugaya T, Kato H. Effect of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and bone morphogenetic protein -2 application to desmineralized dentin on early periodontal ligament cell response. *J Periodontol Res.* 1999; 34: p. 244-50.
156. Yong-Moo , Lee C. The bone regenerative effect of platelet- derived growth factor-BB delivered with a chitosan/ tricalcium phosphate sponge carrier. *J Periodontol.* 2000; 71: p. 418-24.
157. Giannobile W, Lee C, Tomala M. Platelet- derived growth factor (PDGF) gene delivery for application in periodontal tissue engineering. *J Periodontol.* 2001; 72: p. 815-23.
158. Antoniades H, Calanopoulos T, Neville-Golden J, Kirsty C, Lynch S. Injury induces in vivo expression of platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF receptor mRNAs in skin epithelial cells and PDGF mRNA in connective tissue fibroblast. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1991; 88: p. 565-9.
159. Lynch S, Niwon J, Colvin R, Antoniades H. Role of platelet-derived growth factor in wound healing: Sinergistic effects with other growth factors. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1987; 84: p. 7696-700.
160. Antoniades H, Hunkapiller M. Human platelet-derived growth factor (PDGF): Aminoterminal aminoacid sequence. *Science.* 1983; 220: p. 963-5.
161. Holding C, Westemark B. Platelet-derived growth factors: A family of isoforms that bind to two distinct receptors. *Br Med Bull.* 1989; 45(2): p. 453- 464.
162. Graves D, Cochran D. Mesenchymal cell growth factors. *Critical Rev Oral & Biological Med.* 1990; 88: p. 1-11.
163. Cho M, Matsuda N, Ramakrishnan P, Lin W, Genco R. Differential regulation of periodontal ligament cells activities by platelet derived growth factor, insuline like growth factor-I and epidermal growth factor. In Genco R, Hamda S, Lehner T, McGhee J, Mengenhangen S. *Molecular pathogenesis of periodontal disease.* Whashington DC: America Society for Microbiology; 1994. p. 403-14.
164. Lynch S, Wisner-Lynch L, Nevins M. Use of rhPDGF to improve bone and periodontal regeneration. In Lynch S, Marx R, Nevins M, Wisner-Lynch L. *Tissue engineering: applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics.* 2nd ed. Chicago: Quintessence; 2008. p. 87-102.
165. Piche J, Carnes D, Graves D. Initial characterization of cells derived from human



- periodontitis. *J Dent Res.* 1989; 68: p. 761-7.
166. Matsuda N, Lin W, Kumar N, Cho M, Genco R. Mitogenic, chemostatic, synthetic responses in rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol.* 1992; 63: p. 515-25.
167. Oates T, Rouse C, Cochran D. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J Periodontol.* 1993; 64: p. 142-8.
168. Dennison D, Vallone D, Pinero G, Rittman B, Caffese R. Differential effect of TGF- β -1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblast. *J Periodontol.* 1994; 65: p. 641-8.
169. Boyan L, Bhargava G, Nishimura F, Orman R, Price R, Terranova V. Mitogenic and chemotactic responses of human periodontal ligament cells to different isoforms of platelet derived growth factor. *J Dent Res.* 1994; 73: p. 1593-1600.
170. Nishimura J, Terranova V. Comparative study of the chemostatic responses of periodontal ligament cells and gingival fibroblast to polipeptide growth factors. *J Dent Res.* 1996; 75(4): p. 986-92.
171. Bartold P, Raben A. Growth factors modulation of fibroblasts in simulated wound healing. *J Periodontal Res.* 1996; 31: p. 205-16.
172. Anderson T, Lapp C, Billman M, Schuster G. Effects of transforming growth factor- β and platelet-derived growth factor on human gingival fibroblasts grown in serum-containing and serum-free medium. *J Clin Periodontol.* 1998; 25: p. 48-55.
173. Munford J, Carnes D, Cochran D, Oates T. The effects of platelet-derived growth factor-BB on periodontal cells an in vitro wound model. *J Periodontol.* 2001; 72: p. 331-40.
174. Gamal A, Mailhot J. The effect of local delivery of PDGF-BB on attachment of human periodontal ligament fibroblasts to periodontitis-affected root surfaces-in vitro. *J Clin Periodontol.* 2000; 27: p. 347-53.
175. Gamal A, Mailhot J, Garnick J, Newhouse RSM. Human periodontal ligament fibroblast response to PDGF-BB and IGF-I application on tetracycline HCl conditioned root surfaces. *J Clin Periodontol.* .
176. Zhang F, Leeman E, Carnes D, Graves D. Human osteoblast synthesize and respond to platelet derived growth factor. *Am J Physiology.* 1991; 261: p. 348-54.
177. Green R, Usui M, Hart C, Ammons W, Narayanan A. Immunolocalization of platelet-derived growth factor A and B chains and PDGF- α and β receptors in human gingival wounds. *J Periodont Res.* 1997; 32: p. 209-14.
178. Hock J, Cannalis E. Platelet- derived growth factor enhances bone cell replication but not differentiated function of osteoblasts. *Endocrinology.* 1994; 134: p. 1423-28.
179. Saygin N, Triyasu Y, Giannobile W. Growth factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblasts. *J Periodontol.* 2000; 71: p. 1591-1600.
180. Sprugel K, McPherson J, Clowes A, Ross R. Effects of growth factors in vivo. *Am J Pathol.* 1987; 129(3): p. 601-13.
181. Lynch S, Williams R, Polson A, Howell T, Reddy M, Antoniades N. A combination of platelet derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Periodontol.* 1989; 16: p. 545-8.
182. Lynch S, Ruiz de Castilla G, Williams R, Kinitsy CP, Howell H, Reddy M, et al. The effects of short- term application of a combination of platelet derived and

- insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol.* 1991; 62: p. 458.
183. Rutherford R, Niekrash C, Kennedy J, Tucker N, Charette M. Platelet derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *J Periodont Res.* 1992; 27: p. 285-90.
184. Rutherford R, Ryan M, Kennedy J, Tucker N, Charette M. Platelet derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of the periodontium in monkeys. *J Clin Periodontol.* 1993; 20: p. 537-544.
185. Giannobile W, Finkelman R, Lynch S. Comparison of canine and nonhuman primate animal models for periodontal regenerative therapy. Results following a single administration of PDGF/IGF-I. *J Periodontol.* 1994; 65: p. 1158-68.
186. Howell T, Fiorellini J, Paquette D, Offenbacher S, Antoniadis H, Lynch S. Evaluation of platelet derived growth factor-BB purified insuline like growth factor I in patients with periodontal diseases. A phase I/II study. *J Dent Res.* 1995; 74.
187. Giannobile W, Hernández R, Finkelman R, Ryan S, Kiristy C, D'Andrea M, et al. Comparative effects of platelet derived growth factor-BB and insuline like growth factor-I, individually and in combination, on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *J Periodontal Res.* 1996; 31: p. 301-12.
188. Roussy Y, Bertrand Duchesne M, Gagnon G. Activation of human platelet-rich plasmas: effect on growth factors release, cell division and in vivo bone formation. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Oct; 18(5): p. 639-48.
189. Wang H, Pappen T, Castelli W, Chiego DJ, Shyr Y, Smith B. The effect of platelet derived growth factor on the cellular response of periodontium: an autographic study on dogs. *J Periodontol.* 1994; 65: p. 429-36.
190. Cho L, Lin W, Genco R. Platelet derived growth factor modulated guided tissue regenerative therapy. *J Periodontol.* 1995; 66(6): p. 522-30.
191. Park J. Periodontal regeneration in class III furcation defects of beagle dogs using guided tissue regenerative therapy with platelet derived growth factor. *J Periodontol.* 1995; 66: p. 522-30.
192. Sloan P. Current concepts of the role of fibroblast and extracellular matrix in wound healing and their relevance to oral implantology. *J Dent.* 1991; 19: p. 107-9.
193. Lynch S, Buser D, Hernández R, Weber H, Stich H, Fox C, et al. Effects of the platelet-derived growth factor insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration. Around titanium dental implants. Results of a pilot study in Beagle dogs. *J Periodontol.* 1991; 62: p. 710-6.
194. Jung R, Thoma D, Hämmerle C. Assessment of the potential of growth factors for localized alveolar ridge augmentation: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(8 Suppl): p. 255-81.
195. Schwartz Z, Somers A, Mellonig J, Carnes DJ, Wozney J, Dean D, et al. Addition of human recombinant bone morphogenetic protein-2 to inactive commercial human demineralized freeze-dried bone allograft makes an effective composite bone inductive implant material. *J Periodontol.* 1998 Dec; 69(12): p. 1337-45.
196. Lioubavina-Hack N, Carmagnola D, Lynch S, Karring T. Effect of Bio-Oss with or without platelet-derived growth factor on bone formation by “Guided Tissue Regeneration”: a pilot study in rats. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: p. 1254–1260.

197. Lynch S, Wisner- Lynch L, Nevins M, Nevins M. A new era in periodontal and periimplant regeneration: use of growth-factor enhanced matrices incorporating rhPDGF. *Compend Contin Educ Dent*. 2006; 27(12): p. 672-678.
198. Simion M, Rocchietta I, Kim D, Nevins M, Fiorellini J. Vertical ridge augmentation by means of deproteinized bovine bone block and recombinant human platelet- derived growth factor –BB: a histologic study in a dog model. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006 Oct; 26(5): p. 415-23.
199. Nevins M, Giannobile W, McGuire M, Kao R, Mellonig J, Hinrichs J, et al. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol*. 2005 Dec; 76: p. 2205-15.
200. McGuire M, Kao R, Nevins M, Lynch S. rhPDGF- BB promotes healing of periodontal defects: 24-month clinical and radiographic observations. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006; 26(3): p. 223-31.
201. Sarment D, Cooke J, Miller S, Jin Q, McGuire M, Kao R, et al. Effect of rhPDGF-BB on bone turnover during periodontal repair. *J Clin Periodontol*. 2006; 33(2): p. 135-40.
202. Thrailkill K, Siddhanti S, Folwkes J. Differentiation of MC3T3-E1 osteoblasts is associated with temporal changes in the expression of IGF-1 and IGFbps. *Bone*. 1995; 17: p. 307-13.
203. Koch G. Progenitor cell kinetics during guided tissue regeneration in experimental periodontal wounds. *J Periodont Res*. 1988; 23: p. 107-17.
204. Blom S, Holmstrup P, Dabelsteen E. The effect of insulin-like growth factor-I and human growth hormone on periodontal ligament fibroblast morphology, growth pattern, DNA synthesis, and receptor binding. *J Periodontol*. 1992 Dec; 63(12): p. 960-8.
205. Rutherford R, TrailSmith M, Ryan M, Charette M. Synergistic effects of dexamethasone on platelet derived growth factor mitogenesis in vitro. *Arch Oral Biol*. 1992; 37(2): p. 139-45.
206. Bickle D, Harris J, Halloran B. Expression of the genes for insulin-like growth factors and their receptors on bone during skeletal growth. *Am J Physiol*. 1994; 267: p. 278-86.
207. Howell T, Fiorellini J, Paquette D. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol Res*. 1997; 68(12): p. 1186-93.
208. Burguess A. Epidermal growth factor and transforming growth factor. *Br Med Bull*. 1989; 45: p. 401-24.
209. Jin G, Symons A, Bartold M. Expression of transforming growth factor- β receptors types II and III within various cells in the rat periodontium. *J Periodont Res*. 1999; 34: p. 113-22.
210. Derynck R, Jarret J. The murine transforming growth factor- β precursor. *J Biol Chem*. 1986; 261: p. 4337-79.
211. Hong L, Tabata Y, Niyamoto S. Promoted bone healing at a rabbit skull gap between autologous bone fragment and the surrounding intact bone with biodegradable microspheres containing transforming growth factor beta 1. *Tissue*



- Eng. 2000; 6: p. 331-40.
212. Yamamoto M, Tabata Y, Hing L. Bone regeneration by transforming growth factor- beta 1 released from a biodegradable hydrogel. *J Controlled Release*. 2000; 64: p. 133-42.
213. Chien H, Lin W, Cho M. Expression of TGF- β isoforms and their receptors during mineralised nodule formation by rat periodontal ligament cells in vitro. *J Periodont Res*. 1999; 34: p. 301-9.
214. Joo L, Carnes L. Effect of transforming growth factor- β on osteoblast cells cultured on 3 different hidroxyapatite surfaces. *J Oral Maxillofac Implants*. 1999; 14: p. 217-25.
215. Bosh C, Melsen B, Gibbons R. Human recombinant transforming growth factorbeta1 in healing of calvarial bone defects. *J Craniofac Surg*. 1996; 7: p. 300-10.
216. Pack M, Kardos T. The effect of transfroming growth factor- β 1 (TGF- β 1) on wound healing, with or without barrier membranes, in a class II furcation defect in sheep. *J Periodont Res*. 1998; 33: p. 335-44.
217. Wikesjö U, Razi S, Sigurdsson T, Tatakis D, Lee M, Ongpipattanakul B, et al. Periodontal repair in dogs: effect of recombinant human transforming growth factor beta 1 on guided tissue engineering. *J Clin Periodontol*. 1998; 25: p. 475-481.
218. Steinvoll S, Halstensen T, Schenck K. Extensive expression of TGF- β 1 in chronically-inflamed periodontal tissue. *J Clin Periodontol*. 1999; 26: p. 366-73.
219. Ruskin J, Hardwick R. Alveolar ridge repair in a canine model using rhTGF- β 1 with barrier membrane. *Clin Oral Impl Res*. 2000; 11: p. 107-15.
220. Wikesjö U, Guglielmoni P, Promsudthi A, Cho K, Trombelli L, Selvig K, et al. Periodontal repair in dogs: effect of rhBMP-2 concentration on regeneration of alveolar bone and periodontal attachment. *J Clin Periodontol*. 1999; 26: p. 392-400.
221. Wikesjö U, Qahash M, Polimeni G, Susin C, Shanaman R, Rohrer M, et al. Alveolar ridge augmentation using implants coated with recombinant human bone morphogenetic protein-2: histologic observations. *J Clin Periodontol*. 2008 Nov; 35(11): p. 1001-10.
222. Boyne P, Lilly L, Marx R, Moy P, Nevins M, Spagnoli D, et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005; 63(12): p. 1693-707.
223. Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M, Wozney J, Palmer R, Graham D. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1996 Feb; 16(1): p. 8-19.
224. Hanisch O, Tatakis D, Rohrer M, Wöhrle P, Wozney J, Wikesjö U. Bone formation and osseointegration stimulated by rhBMP-2 following subantral augmentation procedures in nonhuman primates. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997 Nov-Dec; 12(6): p. 785-92.
225. Cochran DL SRBDWJJA. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. *J Periodontol*.

- 1999 Feb; 70(2): p. 139-50.
226. Cochran D, Nummikoski P, Jones A, Makins S, Turek T, Buser D. Radiographic analysis of regenerated bone around endosseous implants in the canine using recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997 Nov-Dec; 12(6): p. 739-48.
227. Fiorellini JHTCD, Malmquist J, Lilly LSD, Toljanic J, Jones A, Nevins M. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *J Periodontol*. 2005; 76(4): p. 605-13.
228. Wikesjö U, Huang Y, Xiropaidis A, Sorensen R, Rohrer M, Prasad H, et al. Bone formation at recombinant human bone morphogenetic protein-2-coated titanium implants in the posterior maxilla (Type IV bone) in non-human primates. *J Clin Periodontol*. 2008 Nov; 35(11): p. 992-1000.
229. Wikesjö U, Xiropaidis A, Qahash M, Lim W, Sorensen R, Rohrer M, et al. Bone formation at recombinant human bone morphogenetic protein-2-coated titanium implants in the posterior mandible (Type II bone) in dogs. *J Clin Periodontol*. 2008 Nov; 35(11): p. 985-91.
230. Jung R, Glauser R, Schärer P, Hämmerle C, Sailer H, Weber F. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2003 Oct; 14(5): p. 556-68.
231. Park E, Kim E, Weber H, Wright R, Mooney D. Improved bone healing by angiogenic factor-enriched platelet-rich plasma and its synergistic enhancement by bone morphogenetic protein-2. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008 Sep-Oct; 23(5): p. 818-26.
232. Gospodarwicz D, Neufeld G. Fibroblast growth factor: structural and biological properties. *J Cell Physiol Suppl*. 1987; 5: p. 15-26.
233. Hauschka P, Mavrakos A. Growth factors in bone matrix isolation of multiple types by affinity chromatography on heparin-septanose. *J Biol Chemistry*. 1986; 261: p. 12665-74.
234. Caffesse R, Quiñones C. Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration. *Periodontology*. 1993; 1: p. 69-79.
235. Terranova V, Odziemiec C. Repopulation of dentin surfaces by periodontal ligament cells and endothelial cells. Effect of basic fibroblast growth factor. *J Periodontol*. 1989; 60: p. 293-301.
236. Tweden K, Spadone D. Neovascularization of surface demineralized dentin. *J Periodontol*. 1989; 60: p. 460-6.
237. Palmon A, Roos H, Edel J, Zax B, Savion N, Grosskop A, et al. Inverse dose- and time-dependent effect of basic fibroblast growth factor on the gene expression of collagen type I and matrix metalloproteinase-1 by periodontal ligament cells in culture. *J Periodontol*. 2000 Jun; 71(6): p. 974-80.
238. Eppley B, Connolly D, Winkelmann T, Sadove A, Heuvelman D, Feder J. Free bone graft reconstruction of irradiated facial tissue: Experimental effects of basic fibroblast growth factor stimulation. *Plastic Reconst Surg*. 1991; 88: p. 1-11.
239. Schliephake H, Newkam F. The use of basic fibroblast growth factor for enhancement of bone in growth into pyrolyzed bovine bone. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995; 10: p. 181-6.
240. Takayama S, Murakami S. Effect of basic fibroblast growth factor on human

- periodontal ligament cells. *J Periodont Res.* 1997; 32: p. 667-75.
241. Sasaki T, Maita E. Increased bFGF level in the serum of patients with phenytoin-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol.* 1998; 25: p. 42-7.
242. Hosokawa R, Kikuzaki K. Controlled local application of basic fibroblast growth factors (FGF-2) accelerates the healing GBR. *Clin Oral Impl Res.* 2000; 11: p. 345-53.
243. Rossa C, Marcantonio E. Regeneration of class III furcation defects with basic fibroblast growth factors (b-FGF) associated with GTR. A descriptive and histometric study in dogs. *J Periodontol.* 2000; 71: p. 775-84.
244. McCracken M, Lemons J. Analysis of Ti-6Al-4V implants placed with fibroblast growth factor 1 in rat tibiae. *J Oral Maxillofac Implants.* 2001; 16: p. 495-502.
245. Bennet N, Schulz G. Growth factors and wound healing: part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg.* 1993; 166: p. 74-81.
246. Booth V, Young S. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodont Res.* 1998; 33: p. 491-9.
247. Cornellini R, Artese L. Vascular endothelial growth factor and microvessel density around healthy and failing dental implants. *J Oral Maxillofac Implants.* 2001; 16: p. 389-93.
248. Johnson R, Serio F, Dai X. Vascular endothelial growth factors and progression of periodontal diseases. *J Periodontol.* 1999 Aug; 70(8): p. 848-52.
249. Cohen S, Carpenter G. Human epidermal growth factor: isolation and chemical and biological properties. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1975; 72: p. 1317-21.
250. Bestholz C, Jonson A. CDNA sequence and chromosomal localization of human platelet derived growth factor. *Nature.* 1986; 320: p. 670-95.
251. Thesleff I. Epithelial cell rest of Malassez bind epidermal growth factor intensely. *J Periodont Res.* 1987; 22: p. 419-21.
252. Modéer T, Andersson G. Regulation of epidermal growth factor receptor metabolism in gingival fibroblasts by phenytoin in vitro. *J Oral Pathol Med.* 1990; 19: p. 1188-91.
253. Cho M, Garant P, Lee Y. Periodontal ligament fibroblasts, preosteoblasts, and prechondrocytes express for epidermal growth factor in vivo: a comparative radioautographic study. *J Periodont Res.* 1988; 23(5): p. 287-94.
254. Hormia M, Thesleff I. Increased rate of salivary epidermal growth factor secretion in patients with juvenile periodontitis. *Scand J Dent Res.* 1993; 101: p. 138-44.
255. Druguillon A. Autologous concentrated platelet rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 31: p. 615-9.
256. Matras H. The use of fibrin glue in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1982; 40: p. 617-21.
257. Matras H. Fibrin Seal: The state of the art. *J Oral Maxillofac Surg.* 1985; 43: p. 605-11.
258. Hartman A, Galankis D, Honing M. Autologous whole plasma fibrin gel: Intraoperative procurement. *Arch Surg.* 1992; 127: p. 357-64.
259. Arbes H, Bösch P, Salzer M. First clinical experience with heterologous cancellous bone grafting, combined with the fibrine adhesive system (F.A.S). *Arch Orthop Trauma Surg.* 1981; 98: p. 183-8.

260. Dohan Ehrenfest D, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009 Mar; 27(3): p. 158-67.
261. Weibrich G, Kleis W, Hafner G. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14(3): p. 357-62.
262. Weibrich G, Kleis W, Hafner G. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg.* 2002; 30(2): p. 97-102.
263. Weibrich G, Kleis W, Buch R. The harvest smart PReP system versus the Friudent-Schütze platelet-rich plasma kit. *Clin Oral Impl Res.* 2003; 14: p. 233-9.
264. Weibrich G, Hansen T, Kleis W. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005; 20(1): p. 118-23.
265. Thorwarth M, Rupprecht S, Falk E. Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (prp)- an immunohistochemical analysis. *Biomaterials.* 2005; 15: p. 2575-84.
266. Weibrich G, Kleis W, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: Curasan-type PRP versus PCCS System. *Int J Maxillofac Implants.* 2002; 17: p. 184-90.
267. Zimmermann R, Jakubietz M, Jakubietz E. Different preparation methods to obtain platelet components as a source of growth factors to local application. *Transfusion.* 2001; 41: p. 1217-24.
268. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler W. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone.* 2004 Apr; 34(4): p. 665-71.
269. Arpornmaeklong P, Kochel M, Depprich R. Influence of platelet-rich plasma (PRP) on osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. An in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 33(1): p. 60-70.
270. Lu L Y. TGF-beta1 release from biodegradable polymer microparticles: its effects on marrow stromal osteoblast function. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;(83-A Suppl 1(Pt 2)): p. S82-91.
271. Park Y, Lee Y, Lee J. Controlled release of platelet-derived growth factor-BB from chondroitin sulfate-chitosan sponge for guided bone regeneration. *J Control Release.* 2000; 67(2-3): p. 385-94.
272. Ferreira C, Carriel Gomes M, Filho J, Granjeiro J, Oliveira Simões C, Magini Rde S. Platelet-rich plasma influence on human osteoblasts growth. *Clin Oral Implants Res.* 2005 Aug; 16(4): p. 456-60.
273. Canalis E. Effect of hormones and growth factors on alkaline phosphatase activity and collagen synthesis in cultured rat calvariae. *Metabolism.* 1983; 32(1): p. 14-20.
274. Soffer E, Ouhayoun JP, Dosquet C. Effects of platelet lysates on select bone cell functions. *Clin Oral Impl Res.* 2004; 15: p. 581-8.
275. Gruber R, Varga F, Fisher M. Platelets stimulate proliferation on bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin Oral Impl Res.* 2002; 13: p. 529-35.



276. Oprea W, Karp J, Hosseini M. Effect of platelet releasate on bone cell migration and recruitment in vitro. *J Craniofac Surg.* 2003; 14(3): p. 292-300.
277. Giannobile W, Whitson S, Lynch S. Non-coordinate control of bone formation displayed by growth factor combinations with IGF-I. *J Dent Res.* 1997; 76(9): p. 1569-78.
278. Fennis J, Stoelinga P, Jansen J. Mandibular reconstruction: a clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002 Jun; 31(3): p. 281-6.
279. Kim S, Kim W, Park J, Kim H. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002 Sep; 60(9): p. 1018-25.
280. Kim S, Chung C, Kim Y, Park J, Lim S. Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002 Jan-Feb; 17(1): p. 86-94.
281. Aghaloo T, Moy P, Freymiller E. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002 Oct; 60(10): p. 1176-81.
282. Fürst G, Gruber R, Tangl S, Zechner W, Haas R, Mailath G, et al. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Aug; 14(4): p. 500-8.
283. Zechner W, Tangl S, Tepper G, Fürst G, Bernhart T, Haas R, et al. Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003 Jan-Feb; 18(1): p. 15-22.
284. Schlegel K, Kloss F, Schultze-Mosgau S, Neukam F, Wiltfang J. Osseous defect regeneration using autogenous bone alone or combined with Biogran or Aligpore with and without added thrombocytes. A microradiologic evaluation. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 2003 Mar; 7(2): p. 112-8.
285. Jakse N, Tangl S, Gilli R, Berghold A, Lorenzoni M, Eskici A, et al. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Oct; 14(5): p. 578-83.
286. Kovács K, Velich N, Huszár T, Szabó G, Semjén G, Reiczigel J, et al. Comparative study of beta-tricalcium phosphate mixed with platelet-rich plasma versus beta-tricalcium phosphate, a bone substitute material in dentistry. *Acta Vet Hung.* 2003; 51(4): p. 475-84.
287. Choi B, Im C, Huh J, Suh J, Lee S. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Jan; 33(1): p. 56-9.
288. Aghaloo T, Moy P, Freymiller E. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with anorganic bovine bone in the rabbit cranium: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004 Jan-Feb; 19(1): p. 59-65.
289. Fennis J, Stoelinga P, Jansen J. Mandibular reconstruction: a histological and histomorphometric study on the use of autogenous scaffolds, particulate cortico-cancellous bone grafts and platelet rich plasma in goats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Jan; 33(1): p. 48-55.

290. Yazawa M, Ogata H, Kimura A, Nakajima T, Mori T, Watanabe N. Basic studies on the bone formation ability by platelet rich plasma in rabbits. *J Craniofac Surg*. 2004 May; 15(3): p. 439-46.
291. Roldán J, Jepsen S, Schmidt C, Knüppel H, Rueger D, Açıl Y, et al. Sinus floor augmentation with simultaneous placement of dental implants in the presence of platelet-rich plasma or recombinant human bone morphogenetic protein-7. *Clin Oral Implants*. 2004 Dec; 15(6): p. 716-23.
292. Roldán J, Jepsen S, Miller J, Freitag S, Rueger D, Açıl Y, et al. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. *Bone*. 2004 Jan; 34(1): p. 80-90.
293. Wiltfang J, Kloss F, Kessler P, Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Zimmermann R, et al. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. *Clin Oral Impl Res*. 2004 Apr; 15(2): p. 187-93.
294. Schlegel K, Donath K, Rupprecht S, Falk S, Zimmermann R, Felszeghy E, et al. De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials*. 2004 Oct; 25(23): p. 5387-93.
295. Fontana S, Olmedo D, Linares J, Guglielmotti M, Crosa M. Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study. *Implant Dent*. 2004 Mar; 13(1): p. 73-8.
296. Suba Z, Takács D, Gyulai-Gaál S, Kovács K. Facilitation of beta-tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: a histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004 Nov-Dec; 19(6): p. 832-8.
297. Velich N, Kovács K, Huszár T, Semjén G, Reiczigel J, Szabó G, et al. The effect of platelet-rich plasma on new bone formation by augmentation with osseointegrative bone substitute material in beagle dogs. *Fogorv Sz*. 2004 Feb; 97(1): p. 23-7.
298. Jensen T, Rahbek O, Overgaard S, Søballe K. No effect of platelet-rich plasma with frozen or processed bone allograft around noncemented implants. *Int Orthop*. 2005 Apr; 29(2): p. 67-72.
299. Butterfield K, Bennett J, Gronowicz G, Adams D. Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Mar; 63(3): p. 370-6.
300. Sánchez A, Sheridan P, Eckert S, Weaver A. Regenerative potential of platelet-rich plasma added to xenogenic bone grafts in peri-implant defects: a histomorphometric analysis in dogs. *J Periodontol*. 2005 Oct; 76(10): p. 1637-44.
301. Aghaloo T, Moy P, Freymiller E. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium. A pilot study. *Clin Oral Implants Res*. 2005 Apr; 16(2): p. 250-7.
302. Masahiko N, Soh S, Hisahiro K, Kyuichi K. Efectos de la aplicación de concentrado de plaquetas en la terapia regenerativa periodontal. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2005; 25: p. 571-583.
303. Pryor M, Polimeni G, Koo K, Hartman M, Gross H, April M, et al. Analysis of rat calvaria defects implanted with a platelet-rich plasma preparation: histologic and histometric observations. *J Clin Periodontol*. 2005 Sep; 32(9): p. 966-72.



304. Pryor M, Yang J, Polimeni G, Koo K, Hartman M, Gross H, et al. Analysis of rat calvaria defects implanted with a platelet-rich plasma preparation: radiographic observations. *J PeriodontoL*. 2005 Aug; 76(8): p. 1287-92.
305. Thorwarth M, Wehrhan F, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J, Schlegel K. PRP modulates expression of bone matrix proteins in vivo without long-term effects on bone formation. *Bone*. 2006 Jan; 38(1): p. 30-40.
306. Plachokova A, van den Dolder J, Stoelinga P, Jansen J. The early effect of platelet-rich plasma on bone healing in combination with an osteoconductive material in rat cranial defects. *Clin Oral Impl Res*. 2007 April; 18(2): p. 244-251.
307. Akça K, Çehreli M, Demilrap B, Güzel E, Dagdeviren A. Platelets-rich plasma: A histologic study in titanium bone cameras. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2007; 27: p. 387-392.
308. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Iezzi G, Piattelli A, Giardino R, et al. Mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma enhance bone formation in sinus grafting: a histomorphometric study in minipigs. *J Clin Periodontol*. 2008; 35: p. 539-546.
309. Hatakeyama M, Marcelo EB, Zanetta-Barbosa D, Dechichi P. Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet-rich plasma obtained by 2 different methods. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008; 105: p. e13-e18.
310. Plachokova A, van den Dolder J, van den Beucken J, Jansen J. Bone regenerative properties of rat, goat and human platelet- rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 38: p. 861-869.
311. Simon B, Zatzoff A, Kong J, O'Connell S. Clinical and histological comparison of extraction socket healing following the use of autologous platelet-rich fibrin matrix (PRFM) to ridge preservation procedures employing demineralized freeze dried bone allograft material and membrane. *The Open DentistryJournal*. 2009; 3: p. 92-99.
312. Nagata M, Melo L, Messori M, Bomfim S, Fucini S, Garcia V, et al. Effect of platelet- rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical- size defects. *J Clin Periodontol*. 2009; 36: p. 775-83.
313. Anitua E, Orive G, Pla R, Roman P, Serrano V, Andía I. The effects of PRGF on bone regeneration and on titanium implant osseointegration in goats: a histologic and histomorphometric study. *J Biomed Mater Res A*. 2009 Oct; 91(1): p. 158-65.
314. Pessoa R, Oliveira S, Menezes H, de Magalhaes D. Effects of platelet-rich plasma on healing of alveolar socket: split-mouth histological and histometric evaluation in *Cebus apella* monkeys. *Indian J Dent Res*. 2009 Oct-Dec; 20(4): p. 442-7.
315. Torres J, Tamimi F, Tresguerres I, Alkhraisat M, Khraisat A, Blanco L, et al. Effect of combining platelet-rich plasma with anorganic bovine bone on vertical bone regeneration: early healing assessment in rabbit calvariae. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010 Jan-Feb; 25(1): p. 123-9.
316. Miloro M, Haralson D, Desa V. Bone healing in a rabbit mandibular defect using platelet- rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010 Jun; 68(6): p. 1225-30.
317. Kassolis J, Rosen P, Reynolds M. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol*. 2000 Oct; 71(10): p. 1654-61.



318. Rosenberg E, Torosian J. Sinus grafting using PRP: initial case presentation. *Pract Periodontics Aesthet Dent*. 2000; 12: p. 843-50.
319. Shanaman R, Filstein M, Danesh-Meyer M. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2001 Aug; 21(4): p. 345-55.
320. Danesh-Meyer M, Filstein M, Shanaman R. Histological evaluation of sinus augmentation using platelet rich plasma (PRP): a case series. *J Int Acad Periodontol*. 2001 Apr; 3(2): p. 48-56.
321. Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002 Jun; 60(6): p. 630-5.
322. Froum S, Wallace S, Tarnow D, Cho S. Effect of platelet rich plasma on bone and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2002; 22: p. 45-53.
323. Wiltfang J, Schlegel K, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P. Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clin Oral Implants Res*. 2003 Apr; 14(2): p. 213-8.
324. Rodriguez A, Anastassov G, Lee H, Buchbinder D, Wettan H. Maxillary sinus augmentation with deproteinated bovine bone and platelet rich plasma with simultaneous insertion of endosseous implants. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Feb; 61(2): p. 157-63.
325. Philippart P, Basseur M, Hoyaux D, Pochet R. Human recombinant tissue factor, platelet-rich plasma, and tetracycline induce a high-quality human bone graft: a 5-year survey. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003 May-Jun; 183: p. 411-6.
326. Wojtowicz A, Chaberek S, Kryst L, Urbanowska E, Ciechowicz K, Ostrowski K. Fourier and fractal analysis of maxillary alveolar ridge repair using platelet rich plasma (PRP) and inorganic bovine bone. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Feb; 32(1): p. 84-6.
327. Oyama T, Nishimoto S, Tsugawa T, Shimizu F. Efficacy of platelet-rich plasma in alveolar bone grafting. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 May; 62(5): p. 555-8.
328. Hanna R, Trejo P, Weltman R. Treatment of intrabony defects with bovine-derived xenograft alone and in combination with platelet-rich plasma: a randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2004 Dec; 75(12): p. 1668-77.
329. Mazor Z, Peleg M, Garg A, Luboshitz J. Platelet-rich plasma for bone graft enhancement in sinus floor augmentation with simultaneous implant placement: patient series study. *Implant Dent*. 2004 Mar; 13(1): p. 65-72.
330. Simon D, Manuel S, Geetha V, Naik B. Potential for osseous regeneration of platelet-rich plasma--a comparative study in mandibular third molar sockets. *Indian J Dent Res*. 2004 Oct-Dec; 15(4): p. 133-6.
331. Okuda K, Tai H, Tanabe K, Suzuki H, Sato T, Kawase T, et al. Platelet-rich plasma combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of intrabony periodontal defects in humans: a comparative controlled clinical study. *J Periodontol*. 2005 Jun; 76(6): p. 890-8.
332. Steigmann M, Garg A. A comparative study of bilateral sinus lifts performed with platelet-rich plasma alone versus alloplastic graft material reconstituted with blood.

- Implant Dent. 2005 Sep; 14(3): p. 261-6.
333. Döri F, Huszár T, Nikolidakis D, Arweiler N, Gera I, Sculean A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with an anorganic bovine bone mineral and expanded polytetrafluoroethylene membranes. *J Periodontol.* 2007 Jun; 78(6).
334. Lee C, Rohrer M, Prasad H. Immediate loading of the grafted maxillary sinus using platelet rich plasma and autogenous bone: a preliminary study with histologic and histomorphometric analysis. *Implant Dent.* 2008 Mar; 17(1): p. 59-73.
335. Döri F, Nikolidakis D, Húszár T, Arweiler N, Gera I, Sculean A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative and a natural bone mineral. *J Clin Periodontol.* 2008 Jan; 35(1): p. 44-50.
336. Döri F, Huszár T, Nikolidakis D, Tihanyi D, Horváth A, Arweiler N. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with Beta tricalcium phosphate and expanded polytetrafluoroethylene membranes. *J Periodontol.* 2008 Apr; 79(4): p. 660-9.
337. Gürbüz B, Pıkdöken L, Urhan M, Süer B, Narin Y. Scintigraphic evaluation of early osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Dec; 66(12): p. 2454-60.
338. Torres J, Tamimi F, Martinez P, Alkhraisat M, Linares R, Hernández G, et al. Effect of platelet-rich plasma on sinus lifting: a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2009; 36: p. 677–687.
339. Döri F, Kovács V, Arweiler N, Huszár T, Gera I, Nikolidakis D, et al. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with an anorganic bovine bone mineral: a pilot study. *J Periodontol.* 2009 Oct; 80(10): p. 1599-605.
340. Rutkowski J, Johnson D, Radio N, Fennell J. Platelet rich plasma to facilitate wound healing following tooth extraction. *J Oral Implantol.* 2010; 36(1): p. 11-23.
341. Obarrio J, Araúz- Dutari J, Chamberlain T, Croston A. Uso de factores de crecimiento autólogos en cirugía periodontal: biotecnología de gel de plaquetas. *Rev Int Od Rest y Per.* 2000; 4(3).
342. Obarrio J, Arauz-Dutari T, Chamberlain J. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology-- case reports. *Int J Period Rest Dent.* 2000 Oct; 20(5): p. 486-97.
343. Fickl S, Zuhr O, Wachtel H, Stappert C, Stein J, Hürzeler M. Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. *J Clin Periodontol.* 2008 Aug; 35: p. 906–913.
344. Iasella J, Greenwell H, Miller R, Hill M, Drisko C, Bohra A, et al. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *J Periodontol.* 2003 Jul; 74(7): p. 990-9.
345. Marx R. Application of tissue engineering principles to clinical practice. In Lynch S, Marx R, Nevins M, Wisner-Lynch L. *Tissue engineering: applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics.* 2nd ed. Chicago: Quintessence; 2008. p. 47-66.
346. Quinn R. Editorial opinion. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in

- people years? *Nutrition*. 2005; 21: p. 775-777.
347. Stacchi C, Orsini G, Di Iorio D, Breschi L. Clinical, histologic, and histomorphometric analyses of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using fresh frozen human bone allografts. *J Periodontol*. 2008 Sep; 79(9): p. 1789-1796.
348. Anitua E, Aguirre J, Algorta J, Ayerdi E, Cabezas A, Orive G, et al. Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J Biomed Mat Res B Applied Biomaterials*. 2008; 84: p. 415-421.
349. Marx R. Use of PRP in oral and maxillofacial surgery and periodontology. In Lynch S, Marx R, Nevins M, Wisner-Lybach L. *Tissue engineering: applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics*. 2nd ed. Chicago: Quintessence; 2008. p. 132-144.
350. Marx R. Platelet- Rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004; 62: p. 489-496.
351. van den Dolder J, Mooren R, Vloon A, Stoelinga P, Jansen J. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. *Tissue Eng*. 2006 Nov; 12(11): p. 3067-73.
352. Plachokova A, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen J, Creugers N. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2008 Jun; 19(6): p. 539-45.
353. Arora N, Ramanayake T, Ren Y, Romanos G. Platelet-rich plasma in sinus augmentation procedures: a systematic literature review: Part II. *Implant Dent*. 2010 Apr; 19(2): p. 145-57.
354. López-López J, Chimenos-Küstner E, Manzanares-Céspedes C, Muñoz-Sánchez J, Castañeda-Vega P, Jané-Salas E, et al. Histomorphological study of the bone regeneration capacity of platelet-rich plasma, bone marrow and tricalcium phosphate Experimental study on pigs. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009 Dec 1;14. 2009 Dec1; 14(12): p. e620-7.
355. Marx R, Carlson E. Platelet-rich plasma. Growth factors enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1998; 85: p. 638-46.
356. Esposito M, Grusovin M, Rees J, Karasoulos D, Felice P, Alissa R, et al. Interventions for replacing missing teeth: augmentation procedures of the maxillary sinus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Mar; 17 ;3: p. CD008397.
357. Esposito M, Grusovin M, Rees J, Karasoulos D, Felice P, Alissa R, et al. Effectiveness of sinus lift procedures for dental implant rehabilitation: a Cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol*. 2010 Spring; 3(1): p. 7-26.
358. Ilgenli T, DüNDAR N, Kal B. Demineralized freeze-dried bone allograft and platelet-rich plasma vs platelet-rich plasma alone in infrabony defects: a clinical and radiographic evaluation. *Clin Oral Investig*. 2007 Mar; 11(1): p. 51-9.
359. Markou N, Pepelassi E, Vavouraki H, Stamatakis H, Nikolopoulos G, Vrotsos ITK. Treatment of periodontal endosseous defects with platelet-rich plasma alone or in combination with demineralized freeze-dried bone allograft: a comparative clinical trial. *J Periodontol*. 2009 Dec; 80(12): p. 1911-9.
360. Kotsovilis S, Markou N, Pepelassi E, Nikolidakis D. The adjunctive use of platelet-rich plasma in the therapy of periodontal intraosseous defects: a systematic

- review. *J Periodontol Res.* 2010 Jun; 45(3): p. 428-43.
361. Lanyon L, Goodship A, Pye C, McFie J. Mechanically adaptive bone remodelling. *J Biomech.* 1982; 15: p. 141-54.
362. Nakajima Y, Fiorellini J, Kim D, Weber H. Regeneration of standardized mandibular bone defects using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. *Int J Per Rest Dent.* 2007 Apr; 27(2): p. 151-9.
363. Fiorellini J, Kim D, Nakajima Y, Weber H. Osseointegration of titanium implants following guided bone regeneration using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. *Int J Per Rest Dent.* 2007 Jun; 27(3): p. 287-94.
364. Tonetti M, Hämmerle C. Advances in bone augmentation to enable dental implant placement: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(Suppl. 8): p. 168-172.
365. McAllister B, Haghghat K. Bone augmentation techniques. *J Periodontol.* 2007 Mar; 78(3): p. 377-96.
366. Aimetti M, Romano F, Dellavia C, De Paoli S. Sinus grafting using autogenous bone and platelet- rich plasma: histologic outcomes in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008; 28(6): p. 585-91.
367. Guo-li Y, Fu-ming H, Xiao-feng Y, Xiao-xiang W, Shi-fang Z. Bone responses to titanium implants surface-roughened by sandblasted and double etched treatments in a rabbit model. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2008 Oct; 106(4): p. 516-524.
368. Cho S, Park K. The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. *Biomaterials.* 2003; 24: p. 3611-7.
369. Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental materials.* 2007; 23: p. 844-854.