



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA  
DIVISION DE INVESTIGACION Y POSGRADO  
ESPECIALIZACION EN ENDOPERIODONTOLOGIA**

**“Evaluación estructural e histológica de diferentes  
injertos óseos en la tibia de la rata”.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN ENDOPERIODONTOLOGIA  
PRESENTAN:**

**C.D. ISAURA ALANIZ BARRERA  
C.D. DAVID JIMÉNEZ SALAZAR**

**DIRECTOR:  
C.D.E.E. EDUARDO LLAMOSAS HERNÁNDEZ**

**ASESORES:**

c.d.e.p.b. Rogelio Reyes Sánchez  
c:d Gerardo Rosas González  
c.d. Salvador Ávila Villegas.





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS ISAURA:

Quiero agradecer a un excelente profesor por todo el apoyo que nos dio al realizar esta tesis, pero sobre todo por tantos conocimientos que compartió con nosotros, por estar siempre dispuesto a ayudarnos y por ser una persona esencial en mi formación como Endoperiodontóloga. Gracias por todo Dr. Eduardo Llamosas Hernández, las palabras se quedan cortas para expresar la admiración que le tengo.

A todos los profesores de la especialidad que son grandes personas de las que he aprendido tanto pero sobre todo al Dr. Salvador Arroniz, Rogelio Reyes, Gerardo Rosas y Salvador Ávila por ser una guía en la elaboración de esta tesis.

Una persona a la que tengo mucho que agradecer es a mi querido esposo; Julian Fajer por toda la ayuda que me dio mientras estudiaba y ahora que estoy logrando uno mas de mis sueños: titularme como especialista. Gracias mi amor por apoyarme en cada uno de mis planes, espero poder hacer lo mismo por ti siempre que me necesites, sabes bien que sin ti no lo habría logrado. Gracias por toda la paciencia que me tuviste y en todas las cosas en las que me ayudaste.

Mami, Papi: mil gracias por enseñarme que las cosas se logran poniendo mucho empuño y responsabilidad. No sería nada sin la confianza y fe que tienen en mi, espero nunca defraudarlos y seguir preparándome para ser cada día mejor, tomándolos a ustedes como ejemplo.

Javo, aunque eres mi hermanito pequeño, no dejo de aprender cosas a tu lado como son la responsabilidad, lealtad, tenacidad y paciencia para hacer las cosas. Este logro no es solamente mío sino de toda nuestra familia porque son sacrificios de todos. Se que ahora tu estas pasando por lo mismo y ahora soy yo la que te digo que por muy difícil que parezca ¡si se puede!

Gracias David Jiménez por ser el amigo que siempre esta cuando lo necesitas. Hacer esta tesis contigo fue una gran experiencia en la que aprendí mucho de ti, y aunque fue un tema algo tardado, tú siempre tuviste paciencia y le pusiste toda tu atención. Eres una excelente persona y se que vas a lograr todo lo que te propongas. Gracias por todo.

## AGAGRADECIMIENTOS DAVID:

Doy gracias a Dios por permitirme realizar diariamente un trabajo constante y mostrarme poco a poco el camino a seguir.

Con todo el amor y el respeto agradezco a mis padres por ser tan buenos guías en mi vida, por ser los mejores ejemplos, por su gran comprensión y valiosos consejos, por inculcarme valores y su apoyo incondicional.

A mis hermanos: Héctor, Alma, Arianna, Ricardo y Azul por ser los amigos más confiables y por estar conmigo en las buenas y en las malas.

A mi esposa Arely por caminar junto a mí en cada instante y por no permitir que me derrumbe en los momentos difíciles, por compartir su vida entera y traerme tantas satisfacciones.

A Pedro, Fernando y Jacobo por ser los mejores amigos.

Un sincero agradecimiento a:

Dr. Eduardo Llamosas Hernández  
Dr. Salvador Arroniz Padilla

Por transmitirnos conocimiento, brindarnos su apoyo, amistad y buenos consejos, así como por ser un modelo a seguir que nos da la determinación de cumplir nuevas metas en nuestra trayectoria académica y personal.

## ÍNDICE

<b>Planteamiento del problema</b>	<b>4</b>
• <b>Objetivo general</b>	<b>4</b>
• <b>Pregunta de investigación</b>	<b>4</b>
• <b>Justificación</b>	<b>4</b>
• <b>Tipo de estudio</b>	<b>4</b>
<b>Marco teórico</b>	<b>5</b>
• <b>Tejido óseo</b>	<b>5</b>
• <b>Osificación endocondral</b>	<b>10</b>
• <b>Osificación intramembranosa</b>	<b>12</b>
• <b>Crecimiento óseo suturario</b>	<b>14</b>
• <b>Recambio óseo</b>	<b>14</b>
• <b>El hueso crece por aposición</b>	<b>17</b>
• <b>Crecimiento por aposición del hueso esponjoso y su conversión en hueso compacto</b>	<b>18</b>
• <b>Modelado y remodelación ósea</b>	<b>19</b>
• <b>Regeneración del tejido óseo</b>	<b>19</b>
• <b>Proteínas morfogenéticas óseas</b>	<b>19</b>
• <b>Proteínas morfogenéticas y oseointegración</b>	<b>20</b>
• <b>Metabolismo óseo de las PMO</b>	<b>21</b>
• <b>Clasificación de injertos óseos</b>	<b>22</b>
▪ <b>Autoinjertos óseos</b>	<b>22</b>
▪ <b>Aloinjertos óseos</b>	<b>23</b>
▪ <b>Xenoinjertos</b>	<b>23</b>
▪ <b>Injertos aloplásticos</b>	<b>24</b>
<b>Materiales de estudio</b>	<b>24</b>
▪ <b>Hueso equino</b>	<b>24</b>
▪ <b>FDBA</b>	<b>24</b>
▪ <b>Hueso bovino</b>	<b>25</b>
<b>Metodología</b>	<b>26</b>
• <b>Fotografías macroscópicas y microscópicas</b>	<b>32</b>
• <b>Criterios macroscópicos de evaluación de resultados</b>	<b>32</b>
• <b>Criterios microscópicos de evaluación</b>	<b>36</b>
<b>Resultados</b>	<b>39</b>
• <b>Interpretación histológica</b>	<b>39</b>
• <b>Tabla de interpretación de datos</b>	<b>43</b>
<b>Discusión</b>	<b>45</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>47</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>47</b>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **OBJETIVO GENERAL:**

El objetivo de este trabajo fue la evaluación de la biointegración de tres tipos de injertos óseos en un modelo de tibia de rata, observándolos macro y microscópicamente.

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:**

¿Cuál es la respuesta del tejido óseo a los injertos Aloinjerto de Hueso Liofilizado (FDDB por sus siglas en inglés), Bovino y equino? ¿En cuál de estos existe una adecuada biointegración? ¿Alguno de estos materiales provoca efectos indeseables en la reparación?

### **JUSTIFICACION:**

La finalidad de realizar esta investigación es evaluar la respuesta del hueso de roedor ante la colocación de diversos materiales de relleno óseo, por medio de cortes histológicos observados en el microscopio óptico que nos permita conocer que material de los utilizados tiene mejor osteointegración.

Los injertos son utilizados como espaciadores en el coagulo sanguíneo teniendo una función osteoconductiva, a diferencia del hueso autólogo que es osteoinductivo y constituye el medio más prometedor para la promoción de la reparación ósea. Al utilizar estos injertos óseos lo que se busca es una mejoría aunque no se logre una regeneración como tal ya que no hay una formación de nuevo cemento y ligamento periodontal. No obstante, la neoformación ósea se puede considerar un éxito terapéutico (disminución del tamaño del defecto ausencia de infección).

La periodontitis conlleva un proceso inflamatorio de origen bacteriano que afecta a los tejidos del periodonto y provoca la destrucción de los tejidos de soporte del diente. El objetivo final del tratamiento periodontal busca mantener a los dientes en una situación de salud, función y confort relativo, al mismo tiempo que debe mantener las expectativas estéticas del paciente. Buscando la regeneración ósea se han utilizado diferentes injertos óseos y otros materiales, que de acuerdo a su origen se han clasificado en autoinjertos (obtenidos del mismo paciente), aloinjertos (misma especie pero diferente individuo), xenoinjertos (diferente especie) e injertos aloplásticos (materiales sintéticos o cuerpo extraño inerte).

La regeneración periodontal implica la recuperación de la arquitectura tisular perdida, por lo tanto, la única manera de verificarla y cuantificarla con exactitud es mediante la reentrada y la valoración histológica. Por razones éticas no se puede realizar en pacientes así que en este trabajo se intentan observar los resultados que hay al colocar diferentes injertos óseos en la tibia de ratas.

### **TIPO DE ESTUDIO**

Experimental, transversal, descriptivo con grupo control

## MARCO TEÓRICO

### TEJIDO ÓSEO

La siguiente revisión bibliográfica del tejido óseo se obtuvo esencialmente del libro de histología básica de Junqueira.<sup>1</sup>

El tejido óseo es uno de los más resistentes y rígidos del cuerpo humano. Es el constituyente principal del esqueleto, sirve de soporte a las partes blandas y protege órganos vitales. El tejido óseo es un tipo especializado de tejido conectivo formado por células y material intercelular calcificado, la matriz ósea. Las células son:

1. Los osteocitos, que se sitúan en las cavidades o lagunas en el interior de la matriz
2. Los osteoblastos, productores de la parte orgánica de la matriz
3. Los osteoclastos, que se describen como células gigantes, móviles y plurinucleadas, que resorben el tejido óseo participando en los procesos de remodelación de los huesos.

Los osteocitos son las células que se encuentran en el interior de la matriz ósea, ocupando las lagunas de las que parten conductillos. Cada laguna contiene un osteocito. En el interior de los conductillos, las prolongaciones de los osteocitos próximos establecen contactos mediante uniones comunicantes que permiten el flujo intercelular de iones y pequeñas moléculas, como hormonas que controlan el crecimiento y desarrollo de los huesos. El pequeño espacio existente entre las prolongaciones y las paredes de los conductillos establecen vías de transporte de nutrientes y metabolitos entre los vasos sanguíneos y los osteocitos situados en la parte más interna del tejido óseo.

Los osteocitos son células planas, con forma de almendra, que muestra una pequeña cantidad de retículo endoplasmático rugoso, complejo de Golgi pequeño y núcleo de cromatina condensada. Aunque estas características ultraestructurales indiquen una escasa actividad de síntesis, los osteocitos son esenciales para el mantenimiento de la matriz ósea. Su muerte está seguida de la absorción de la matriz.

Por otro lado, los osteoblastos son las células que sintetizan la parte orgánica (colágeno tipo I, proteoglicanos y glucoproteínas) de la matriz ósea. Pueden concentrar fosfato de calcio, participando en la mineralización de la matriz. Se disponen siempre en la superficie ósea, lado a lado, en una disposición que recuerda al epitelio simple. Cuando se encuentran en una fase de intensa actividad de síntesis son cuboides y su citoplasma es muy basófilo; sin embargo, en estado poco activo se vuelven aplanadas y la basofílica citoplasmática disminuye. Poseen prolongaciones citoplasmáticas que se unen a las de los osteoblastos vecinos. Estas prolongaciones se hacen más evidentes cuando un osteoblasto está rodeado por la matriz recién sintetizada, el osteoblasto pasa a denominarse osteocito. La matriz se deposita alrededor de del cuerpo celular y de sus prolongaciones, formando así las lagunas y los conductillos. Los osteoblastos en fase de síntesis muestran las características ultraestructurales de las células productoras de proteínas. La matriz ósea, recién formada, adyacente a los osteoblastos activos y que no está todavía calcificada, recibe el nombre de sustancia osteoide.

Por último, los osteoclastos son células móviles, gigantes ampliamente ramificadas, con partes dilatadas que contienen 6-50 núcleos o más. Las ramificaciones son muy irregulares, de forma y espesor variables. Los osteoclastos, de forma completa o por medio de sus partes, aparecen a menudo elevados y separados de la matriz, pudiendo colocarse sobre los osteoblastos y sobre estos osteoclastos. Como los cortes histológicos apenas descubren pequeñas porciones de los osteoclastos, la morfología de esta célula sólo se ha esclarecido recientemente, gracias al microscopio electrónico de barrido. En las áreas de resorción se encuentran frecuentemente partes dilatadas de los osteoclastos, situadas en depresiones de la matriz excavadas por acción enzimática denominadas lagunas de Howship. Muchas veces se observa que un mismo osteoclasto muestra porciones activas en la absorción de reposo.

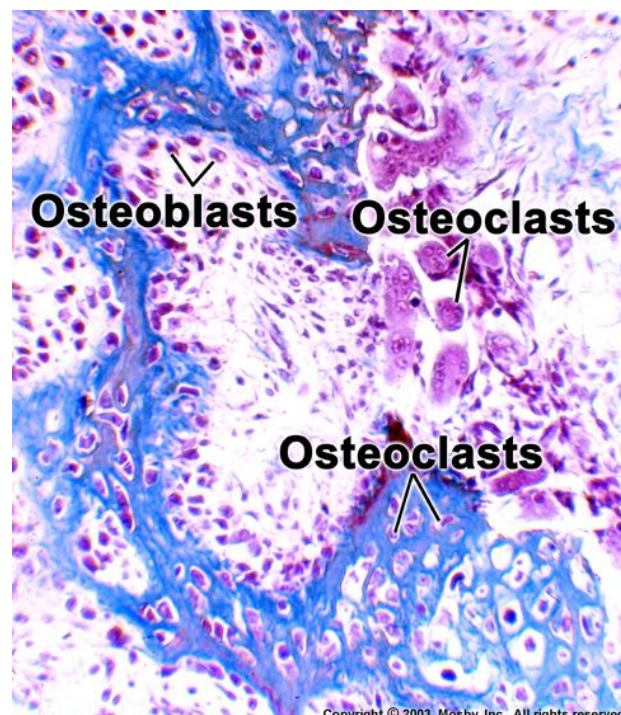


Figura 1. Corte histológico del hueso donde se aprecia los osteoblastos y los osteoclastos. (Tomado del libro de histología de Ten Cate)

Los osteoclastos derivan de los monocitos de la sangre circulante. Después de atravesar la pared de los capilares del hueso, se fusionan para formar osteoclastos. Los osteoclastos tienen un citoplasma granuloso, algunas veces con vacuolas, francamente basófilo en los osteoclastos jóvenes y acidófilo en los maduros.

Todavía no se conoce el papel exacto de los osteoclastos en la resorción ósea. Sin embargo, hay pruebas de que secretan colagenasa y otras enzimas que atacan la parte orgánica de la matriz ósea.

Bioquímicamente el hueso se caracteriza por una mezcla especial de matriz orgánica (35%) y de elementos inorgánicos (65%). Hay también bicarbonato, magnesio, potasio, sodio y citrato en pequeñas cantidades. EL calcio y el fósforo forman cristales que, según muestran los estudios de difracción de rayos X, tienen la estructura de la hidroxiapatita, con la siguiente composición:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . En las electromicrografías, los cristales de hidroxiapatita aparecen en forma de agujas o tabletas alargadas, con un tamaño de 40X25X3 nm. Estos cristales se disponen a lo largo de las fibrillas colágenas y son rodeados por sustancia fundamental amorfa. Los iones de la



superficie del cristal de hidroxapatita son hidratados, por lo que existe una capa de agua de iones alrededor del cristal. Esta capa se denomina capa de hidratación, que facilita el intercambio de iones entre el cristal y el líquido intersticial.

La parte orgánica de la matriz esta formada por fibras colágenas (95%) constituidas por colágeno de tipo I y una pequeña cantidad de sustancia fundamental amorfa que contiene agregados de proteoglicanos y glucoproteínas (osteocalcina, sialoproteína.)

La asociación de hidroxapatita con fibras colágenas es responsable de la dureza y resistencia característica del tejido óseo. Después de la eliminación del calcio, los huesos mantienen su forma intacta, pero se vuelven tan flexibles como los tendones. La destrucción de la parte orgánica, que es principalmente colágeno, puede lograrse con incineración; este método también conserva intacta la forma del hueso, lo hace tan quebradizo que difícilmente puede ser manipulado sin que se rompa.

Las superficies internas y externas de los huesos están recubiertas por células osteogénicas y de tejido conectivo que forman el periostio y el endostio. El recubrimiento de las superficies óseas es esencial para la manutención del tejido, ya que en los puntos que pierden este revestimiento aparecen zonas de resorción ósea. Por este motivo se presta especial atención al periostio y el endostio en la cirugía del hueso.

El periostio esta formado por tejido conectivo denso, muy fibroso en su parte externa y más rico en células y vasos en la parte interna, junto al tejido óseo. Algunas fibras de colágeno del tejido óseo se continúan con las fibras del periostio y reciben el nombre de fibras de Sharpey. Estas fibras unen firmemente el periostio al tejido óseo.

Las células del periostio tienen una morfología semejante a la de los fibroblastos, se transforman muy fácilmente en osteoblastos y desempeñan un importante papel en el crecimiento de los huesos y en la reparación de las fracturas. Los vasos del periostio se ramifican y penetran en los huesos a través de los conductos de la matriz. El endostio esta formado generalmente por una capa de células osteogénicas aplanadas, que recubren las cavidades del hueso esponjoso, el conducto medular los conductos de Havers y de Volkmann.

Observando directamente la superficie de hueso cortado, se comprueba que esta formado por partes sin cavidades visibles, el hueso compacto y por partes con muchas cavidades intercomunicantes, el hueso esponjoso. Esta clasificación es macroscópica y no histológica ya que el tejido compacto y los tabiques que separan las cavidades del esponjoso tienen la misma estructura histológica básica. En los huesos largos, las extremidades o epífisis están formadas por hueso esponjoso con una delgada capa superficial compacta. La diáfisis (parte cilíndrica) esta casi totalmente formada por tejido óseo compacto, con pequeñas cantidades de hueso esponjoso en su parte más interna, que delimita al conducto medular. Principalmente en los huesos largos, el hueso compacto se denomina también hueso cortical.

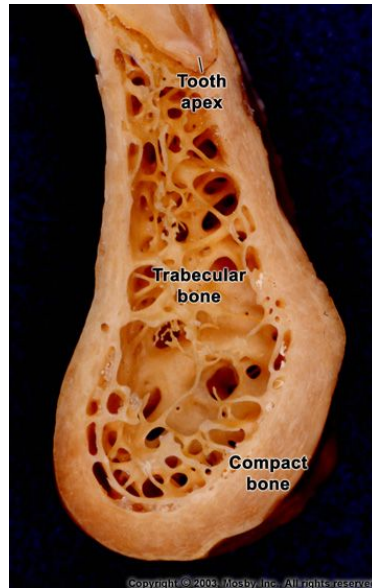


Figura 2. Corte macroscópico de una mandíbula donde se aprecia el hueso compacto y el trabeculado óseo. (Tomado de Ten Cate)

Los huesos cortos tienen el centro esponjoso y se encuentran recubiertos en toda su periferia por una capa compacta. En los huesos planos, que forman la bóveda craneana, hay dos capas de hueso compacto: las tablas interna y externa, separadas por hueso esponjoso que, en esta localización recibe el nombre de diploe.

Las cavidades del hueso esponjoso y el conducto medular de la diáfisis de los huesos largos están ocupadas por la médula ósea. En el recién nacido, toda la médula ósea tiene color rojo debido a su elevado contenido de hematíes y es activa en la producción de células sanguíneas. Poco a poco, con la edad, va siendo infiltrada por tejido adiposo, con la consiguiente disminución de su actividad hematogénica (médula ósea amarilla).

Desde el punto de vista histológico distinguimos dos tipos de tejido óseo: a) el inmaduro o primario y b) el maduro, secundario o laminar. Los dos tipos poseen las mismas células y los mismos componentes de la matriz, pero mientras que en el tejido óseo primario las fibras colágenas se disponen irregularmente, sin orientación definida, en el tejido óseo secundario o laminar se organizan en láminas que adoptan una disposición muy peculiar.

En cada pieza ósea, el inmaduro es el primer tejido óseo que se forma, siendo sustituido gradualmente por el secundario. En el adulto es muy poco frecuente, y persiste sólo en las extremidades de las suturas de los huesos del cráneo, en los alveolos dentarios y en algunos puntos de inserción de tendones. El tejido óseo primario presenta fibras colágenas dispuestas en varias direcciones, sin organización definida, tienen menor cantidad de minerales y mayor porcentaje de osteocitos que el tejido óseo secundario.

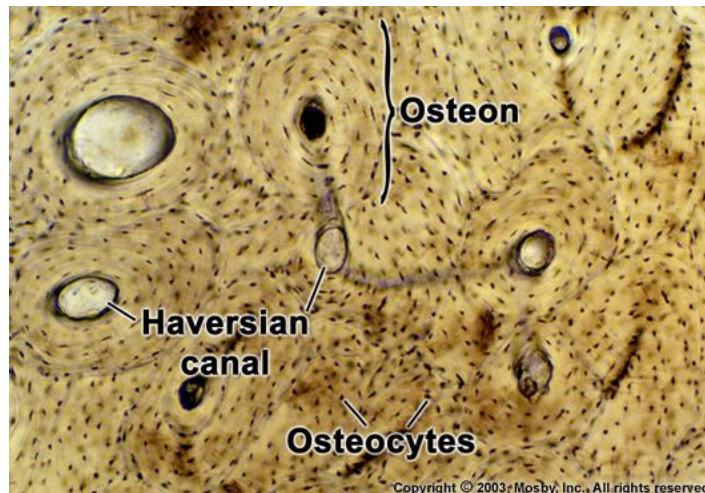


Figura 3.- Corte histológico del hueso (tomado de Ten Cate)

El tejido óseo secundario se encuentra generalmente en el adulto. Está formado por los mismos componentes que tejido primario. Su principal característica es poseer fibras de colágenas organizadas en láminas de 3 a 7  $\mu\text{m}$  de espesor que o permanecen paralelas unas a otras o se disponen en capas concéntricas en torno a los conductos con vasos, formando los sistemas de Havers. Las lagunas con osteocitos están situadas, en general, entre las laminillas óseas, aunque algunas veces están dentro de ellas. En cada lámina las fibras de colágeno son paralelas entre sí. Separando grupos de láminas hay con frecuencia un depósito de proteoglucanos, que recibe el nombre de sustancia cementoide. En la diáfisis de los huesos, las laminillas óseas se organizan en una disposición típica, formando los sistemas de Havers, los circunferenciales interno y externo y los intermedios. Estos cuatro sistemas son fácilmente identificables en los cortes transversales de la diáfisis. El tejido óseo secundario, que contiene sistemas de Havers, se llama con frecuencia tejido óseo haversiano y es característico de la diáfisis de los huesos largos, aunque se han encontrado esporádicamente pequeños sistemas de Havers en el hueso compacto de otras regiones.

Cada sistema de Havers u osteón esta formado por un cilindro largo, a veces bifurcado, paralelo a la diáfisis y formado por 4 a 20 laminillas óseas concéntricas en el centro del cilindro hay un conducto revestido de endostio o conducto de Havers, que contienen vasos y nervios. Los conductos de Havers se comunican entre sí, con la cavidad medular y con la superficie externa, del hueso por medio de conductos transversales u oblicuos, los conductos de Volkmann. Estos se distinguen de los Havers por no presentar laminillas óseas concéntricas. Los conductos de Volkmann atraviesan las laminillas óseas. Todos los conductos vasculares existentes en el tejido óseo aparecen cuando la matriz ósea se forma alrededor de los vasos preexistentes.

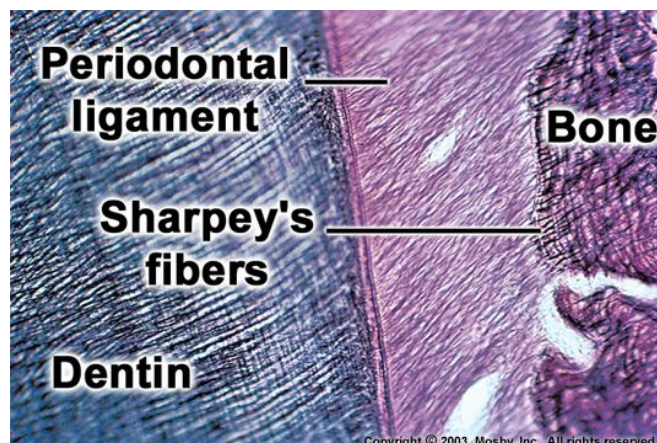


Figura 4.- Se observa la relación entre las fibras de Sharpey, ligamento periodontal, dentina y hueso.(Tomado del Ten cate)

La presencia de una matriz mineralizada hace que el tejido óseo resulte difícil de cortar con el micrótopo. Por ello, para los estudios se utilizan técnicas especializadas, que no conserva las células pero permite realizar un estudio minucioso de la matriz, con sus lagunas y conductillos, consiste en la obtención de láminas finas de tejido óseo, preparadas por desgaste. En virtud de la diferencia que existe entre el índice de refracción del medio de montaje, los rayos lumínicos que llegan a las lagunas y a los conductillos son desviados y no contribuyen a la formación de la imagen microscópica.

Otra técnica muy utilizada porque permite el estudio de las células, se basa en la descalcificación de tejido óseo después de su fijación en fijador histológico convencional. La eliminación de parte del material de la matriz se logra con una solución ácida diluida (p. ej., ácido cítrico al 5%) o una solución que contenga una sustancia quelante; ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

De acuerdo con lo mencionado por Ten Cate <sup>2</sup> Aunque desde el punto de vista histológico un hueso no es diferente de otro, el hueso se forma de tres maneras distintas:

- 1) Formación de hueso endocondral, que tiene lugar sobre un modelo de matriz cartilaginosa, el cartílago precede inmediatamente a la del hueso
- 2) Formación de hueso intramembranoso que ocurre de manera directa dentro del tejido conectivo y
- 3) Formación de tipo sutural, la que es un caso especial de osificación intramembranosa en la cual el hueso se ha formado a lo largo de los bordes de las suturas.

## OSIFICACIÓN ENDOCONDAL

La osificación endocondral ocurre en los extremos de todos los huesos largos, las vertebras, las costillas y el cóndilo del maxilar inferior y la base del cráneo. Temporalmente en el desarrollo embrionario, hay una condensación de células mesenquimatosas que toma la forma general del hueso que va a formar. Las células cartilaginosas se diferencian a partir de estas células mesenquimatosas y se forma un pericondrio en su periferia. El crecimiento rápido del esbozo cartilaginoso se verifica por crecimiento intersticial dentro del corazón del esbozo, a medida que más y más matriz cartilaginosa es segregada por cada condroblasto y también por crecimiento aposicional debido a la proliferación celular y a la secreción de matriz dentro del pericondrio en expansión. Este crecimiento de cartílago es la fuente primitiva de crecimiento en estos huesos.

A medida que prosigue la diferenciación de las células cartilagosas, estas se organizan en columnas longitudinales y segregan matriz, principalmente entre estas columnas. Dentro de la región media o diáfisis del hueso en desarrollo, parte de las células cartilagosas se hipertrofian, la matriz comienza a mineralizarse a partir de las vesículas matriciales y los condrocitos mueren. Dentro del pericondrio diafisiario, hay un aumento de vascularización. Como resultado de ello, el pericondrio se convierte en periostio y se empieza a formar hueso intramembranoso. Concurrentemente, aparece la vascularización en la parte media del cartílago y células multinucleadas llamadas condroclastos (análogos a los osteoclastos) resorben la mayor parte de la matriz cartilaginosa mineralizada, haciendo un lugar para el posterior incremento vascular. Los pasos sucesivos de la proliferación de las células cartilagosas, la producción de matriz cartilaginosa, la hipertrofia y maduración de los condroblastos, la mineralización de la matriz cartilaginosa y la muerte de los condrocitos, la invasión vascular y la remoción parcial del cartílago, avanzan desde la diáfisis hacia cualquiera de los extremos de un hueso largo hasta que cesa el crecimiento óseo.

Las células mesenquimatosas (perivasculares) acompañan a los vasos sanguíneos invasores o perforantes, proliferando y migrando sobre lo que resta de la matriz cartilaginosa mineralizada. Este cartílago mineralizado es generalmente lo que queda de los septos o tabiques longitudinales, siendo los tabiques horizontales completamente resorbidos. Las células mesenquimatosas se diferencian en osteoblastos que comienzan a depositar osteoide sobre las columnas mineralizadas de cartílago el que luego se mineraliza. A medida de que se produce matriz ósea, la matriz mineralizada de cartílago se convierte enseguida en la columna central de forma irregular para una cubierta circular de una nueva matriz ósea. Algunos de los osteoblastos son rodeados por la matriz ósea y se convierten en osteocitos. Esta columna central cartilaginosa mineralizada más la matriz ósea, es denominada colectivamente esponjosa primaria. Con el tiempo, el espacio cerrado por la invasión del sistema vascular, es ocupado por medula ósea roja. A medida que el hueso sigue creciendo en largo, la medula sigue expandiéndose, a expensas del hueso y del cartílago mineralizado. Los osteoclastos remueven progresivamente tanto el centro del cartílago mineralizado como el hueso que lo rodea. Este proceso se verifica aproximadamente a la misma velocidad que la formación del cartílago, de manera que el volumen de la esponjosa primaria permanece relativamente constante durante el crecimiento.



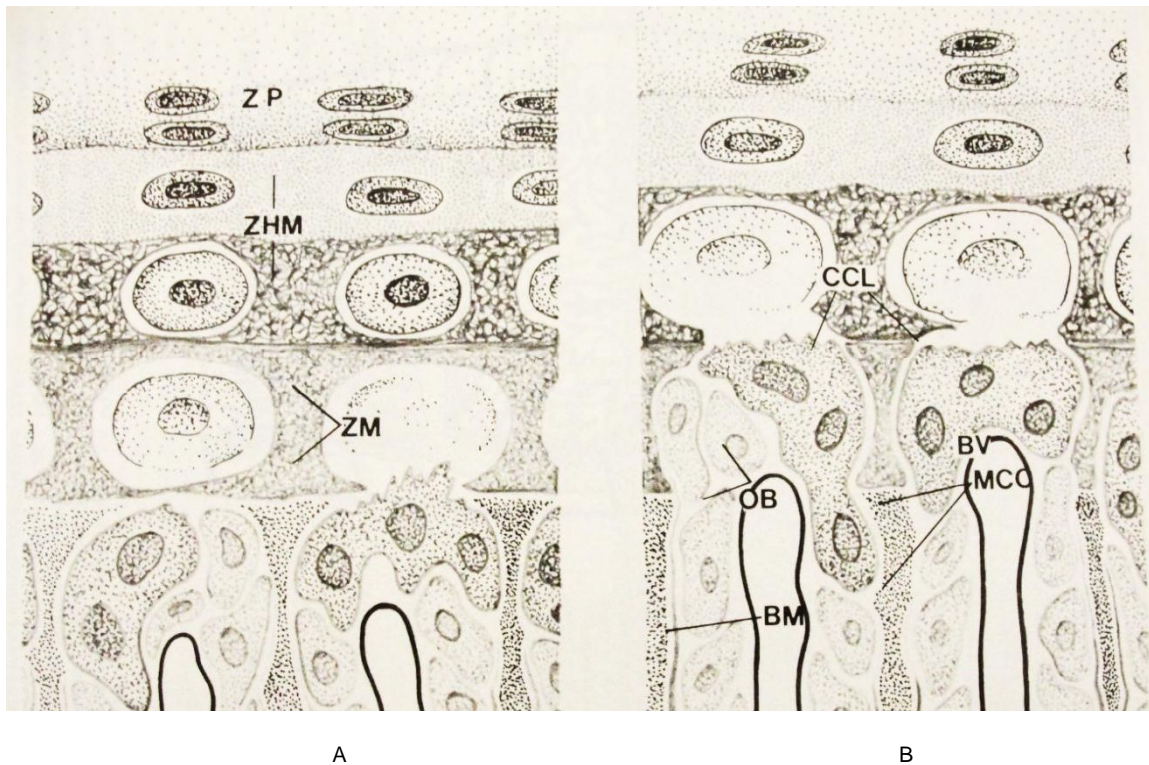


Figura 5. Modelo de osificación endocondral: mitosis progresiva de las células cartilaginosas en la zona de proliferación (ZP), crecimiento y síntesis de la matriz en las zonas de hipertrofia y de maduración (ZHM) y calcificación de los tabiques longitudinales en la zona de mineralización provisional (ZM) en A. todo esto da por resultado un crecimiento del hueso en largo(B). La muerte de los condrocitos en la zona de mineralización (ZM) es seguida de invasión condroclástica (CCL) y remoción parcial de matriz cartilaginosa. La invasión vascular (BV) se acompaña de osteoblastos (OB) que segregan matriz ósea (BM) sobre el núcleo del cartílago mineralizado (MCC). (Tomado del Ten Cate)

En algunos huesos (en tibia por ejemplo, pero no en el maxilar inferior) una invasión secundaria de vasos sanguíneos dentro de la cabeza del hueso (epífisis) crea un centro de osificación secundario. Este crecimiento óseo secundario procede de manera idéntica al crecimiento óseo primario y crea una placa de cartílago en crecimiento entre la diáfisis y la epífisis del hueso. Esta placa se llama placa epifisaria de crecimiento longitudinal del hueso. A medida que cesa el crecimiento óseo las células del cartílago dejan de proliferar, se hipertrofian y mueren, y la placa de crecimiento desaparece, siendo reemplazada completamente por hueso. Adicionalmente, a medida que el crecimiento óseo longitudinal se enlentece y cesa, también lo hace la expansión de la cavidad medular, el cartílago abierto por hueso que permanece en la esponjosa primaria y en los centros de osificación secundarios es reemplazada por una cantidad mayor de hueso laminar, creando, de esta manera, la esponjosa secundaria que se halla en el hueso adulto.

## OSIFICACIÓN INTRAMEMBRANOSA

La osificación intramembranosa fue reconocida por vez primera por los primeros anatomistas, los que observaron que las fontanelas del cráneo fetal y del recién nacido eran ocupadas por una membrana de tejido conectivo que era gradualmente reemplazada por hueso durante el continuo crecimiento y desarrollo del cráneo. En la osificación intramembranosa, el hueso se desarrollo directamente dentro de una membrana de tejido conectivo blando, en vez de hacerlo sobre un modelo cartilaginoso. El embrión, en múltiples sitios dentro de cada hueso de la bóveda craneana, el

maxilar, el cuerpo de la mandíbula media de los huesos largos, las células mesenquimatosas proliferan y se condensan. A medida que aumenta la vascularización a nivel de estos sitios de mesenquima condensado, los osteoblastos se diferencian y empiezan a producir matriz ósea de nuevo.

Una vez comenzada, la osificación intramembranosa se hace a muy rápida velocidad. Consecuentemente, parte del tejido conectivo blando allí residente no es absorbido permanece mezclado con osteoide neoformado, creando de esta manera una matriz ósea altamente desorganizada y groseramente entrecruzada. Esta matriz mal organizada se mineraliza pobremente debido a la rapidez de su formación, muchos osteoblastos quedan rodeados por matriz ósea y transformándose en osteocitos, da por resultado un hueso muy celular. Este primer hueso embrionario de burdas fibras entrecruzadas se denomina hueso reticular. Al principio el hueso reticular toma la forma de espículas radiantes, pero progresivamente las espículas se fusionan formando delgadas placas óseas. En el cráneo, más de una de esas trabéculas puede fusionarse para formar un sólo hueso. Las primeras trabéculas de hueso intramembranoso son estructuralmente poco competentes, no solo debido a una mala orientación de las fibras y una deficiente mineralización, sino porque quedan muchas islas de tejido conectivo blando dentro de las placas, que no se convierten en hueso reticular.

El hueso reticular del embrión y del feto se recambia muy rápidamente, por dos importantes razones. Primero, la medula ósea en desarrollo se expande induciendo resorción ósea osteoclástica dentro de la cavidad medular en permanente expansión. Segundo, los tejidos blandos que crecen rápidamente y los dientes en desarrollo, inducen la resorción ósea o diferentes grados de formación ósea sobre las superficies periósticas inmediatamente adyacentes. A medida que los huesos fetales comienzan a tomar su forma ocasiona la formación de suturas y fontanelas. Desde el desarrollo fetal temprano hasta la formación completa del esqueleto adulto, hay una transición continua y lenta desde el hueso reticular temprano del feto hasta el hueso laminar verdadero del adulto. Esta transición es aparente y relativamente rápida durante el desarrollo fetal tardío y los primeros años de vida. El hueso formado durante este periodo de transición se llama hueso inmaduro.

El único factor importante en esta conversión es el tiempo. Las fibras colágenas del hueso laminar se hallan altamente organizadas a medida que una laminilla sucede a otra, las fibras colágenas son colocadas en un ángulo aproximado de  $90^0$  respecto de aquellas presentes en las laminillas que las proceden. Se necesita tiempo para que se lleve a cabo esta orientación; por lo tanto, la velocidad de formación ósea es necesariamente más lenta al empezar la maduración. Histológicamente, esto puede notarse de varias maneras:

1) La superficie perióstica, que es extremadamente irregular y ondulante durante el desarrollo del hueso embrionario, se hace menos patente respecto de estas características, originando un orden tisular y vascular.

2) El hueso es mucho menos celular porque menos osteoblastos se convierten en osteocitos, dando tiempo a los osteoblastos para que se retiren

3) Las fibrillas colágenas del tejido blando se reabsorben antes de que sintetice el osteoide.

4) El tamaño de las islas de tejido blando que se encuentra en el hueso embrionario se hacen menos extensas, desapareciendo eventualmente, excepto en aquellas zonas de tejido blando presentes en los conductos de Havers y de Volkmann.

La primera fase de esta transición es la formación de los osteones primarios, los vasos sanguíneos se orientan a si mismos a lo largo del eje mayor del hueso. Debido a que la velocidad de crecimiento del hueso esta disminuida la superficie perióstica toma la forma de una capa de hueso en

crecimiento más que de un hueso trabecular. A medida que la capa se aproxima los vasos sanguíneos, el tejido blando del periostio crece más que ellos y los engloba. Los osteoblastos segregan osteoide progresivamente en la periferia, y migran hacia el capilar central, siendo el tejido blando removido a medida que se llena el espacio. El osteón primario tiende a ser relativamente pequeño; sus laminillas no son ni numerosas ni bien delimitadas. Las fibras colágenas están algo mejor organizadas, las fibras derivadas del tejido blando están ausentes y el grado de mineralización es mayor. A medida que se forman más osteones en la superficie perióstica, se empaquetan más densamente, de modo que un mayor porcentaje del hueso compacto toma la forma de un osteón.

## CRECIMIENTO ÓSEO SUTURARIO

Las suturas juegan un papel importante en el crecimiento de la cara y del cráneo, presentes exclusivamente en él, las suturas son uniones fibrosas entre huesos; sin embargo, sólo permiten movimientos muy limitados. Su función es la de permitir que el cráneo y la cara puedan acomodar los órganos en crecimiento tales como los ojos o el cerebro.

Para comprender la estructura de una sutura, primero se debe recordar que el periostio de un hueso consta de dos capas, una capa fibrosa externa y otra celular interna, u osteógena. A nivel de la sutura, la capa externa se divide, la hoja más externa corre a lo largo del espacio dejado por la sutura para formar una capa única junto con la hoja ubicada en el lado opuesto del mencionado espacio. La hoja más interna, junto con la capa osteogénica del periostio, corre hacia abajo a lo largo de la sutura junto con la capa correspondiente del otro hueso implicado en la articulación. La capa osteógena de la sutura se llama capa de recambio; la hoja interna, capa capsular. Entre estas dos capas hay un tejido celular y vascular laxo. Se considera que las suturas tienen el mismo potencial osteogénico que el periostio. Cuando dos huesos se separan se forma hueso a nivel de los bordes de sutura, por ondas sucesivas de nuevas células óseas que se diferencian a partir de la capa de recambio.

## RECAMBIO ÓSEO

Durante el desarrollo óseo embrionario, y durante todo el periodo preadulto del crecimiento humano, el hueso se forma muy rápidamente; de manera principal pero no con exclusividad, sobre la superficie perióstica. Simultáneamente, el hueso se destruye a lo largo de la superficie endóstica, a nivel de puntos focales a lo largo de la superficie perióstica (modelado óseo) y dentro de los osteones del hueso compacto. Como los huesos aumentan mucho en largo y espesor durante el crecimiento óseo, la formación ósea se hace a una velocidad mucho mayor que la resorción, y aunque todas las superficies óseas poseen el potencial para la resorción, la formación es la principal actividad en el periodo del crecimiento del hueso. Este reemplazo de hueso viejo por nuevo se conoce como recambio óseo. Rangos de recambio óseo entre 30-100% por año son comunes en niños en rápido crecimiento: la mayor parte del hueso presente hoy en un niño ya no estará más el año próximo.

Los osteones primarios del hueso fetal se resorben por osteoclasto para dejar espacio a la cavidad medular en expansión o se recambian, es decir, que un osteón primario es reemplazado por generaciones sucesivas de osteones. Cada generación sucesiva es algo más grande y funcionalmente más madura, y por lo tanto más laminar.



Lo que induce exactamente el recambio en el osteón permanece desconocido. Como se dijo antes, probablemente los osteocitos y los osteoblastos del osteón mueren, originando un flujo de células transportadas por la sangre y la proliferación de células perivasculares como llave de activación de recambio óseo. Posteriormente, los osteoclastos formados por fusión de células mononucleadas destruyen la mayor parte del osteón viejo y parte de la matriz ósea circundante. A medida que los osteoclastos avanzan en el hueso, el borde inicial de resorción se llama cono de corte; en los cortes transversales se caracterizan por presentar una disposición circular y festoneada de lagunas de Howship, cada una alojando a un osteoclasto. Cuanto más maduro y mineralizado es el hueso más grande serán los osteoclastos.

Durante la absorción hay una tendencia del cono de corte a dirigirse hacia la superficie endóstica. Esto significa que los osteones secundarios y terciarios tienden a acercarse más a la superficie endóstica que sus predecesores. Además, una parte del osteón primitivo no se resorbe y se convierte en laminilla intersticial. Siguiendo el cono de corte hay una migración de células mononucleares sobre el cilindro irregular. A medida que estas células se diferencian en osteoblastos, producen una cubierta llamada línea cementante. Por encima de la línea cementante comienza a depositar una nueva matriz ósea. Mineralizándola desde su exterior. Toda la zona del osteón donde hay formación activa se llama cono de formación. A medida que la formación avanza, algunos osteoblastos quedan como osteocitos. Una formación se completa, el conducto de Havers contiene un vaso sanguíneo central una capa de osteoblastos inactivos, las células de revestimiento, que se comunican por medio de prolongaciones celulares con los osteocitos ya incluidos en el hueso.

El hueso esponjoso laminar (esponjosa secundaria) también se recambia. Los osteoclastos crean una cavidad en medialuna que luego se rellena con matriz ósea formada por los osteoblastos. El recambio óseo (activación, resorción y formación) continua a lo largo de la vida adulta, aunque mucho más lentamente, de modo que todo el esqueleto se renueva lenta pero constantemente. En el hueso compacto del adulto, la velocidad de recambio óseo es de aproximadamente del 5% anual, mientras que el hueso esponjoso es algo mayor, alcanzando el 20% en algunos huesos.

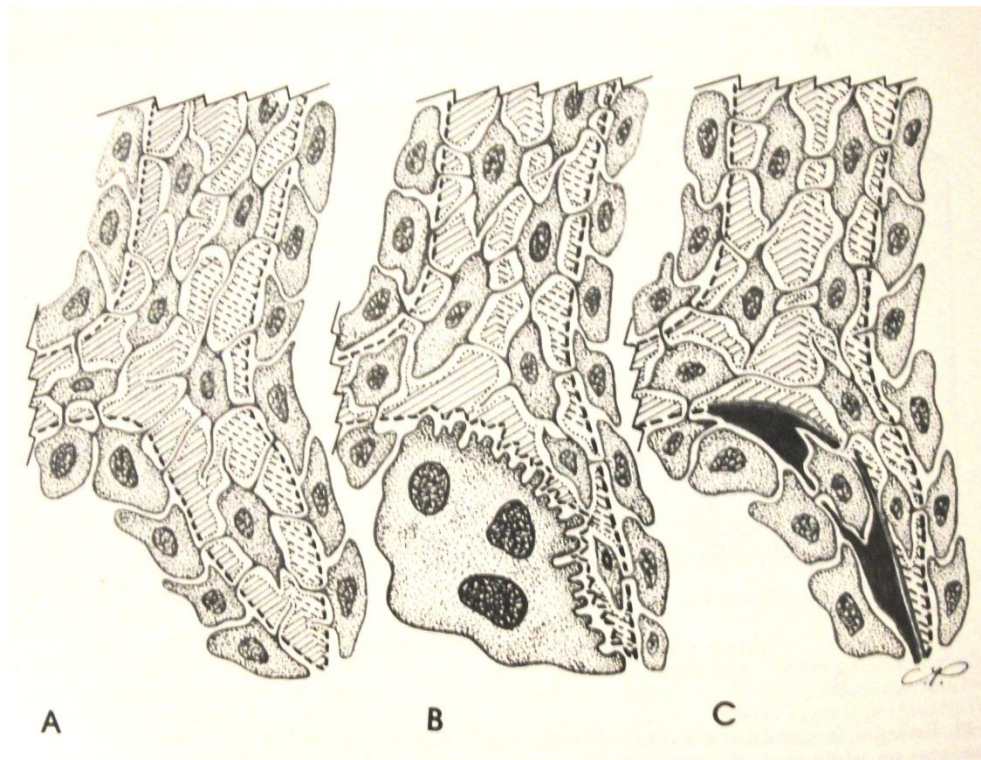


Figura 6. Recambio en hueso esponjoso, modelo: en el hueso esponjoso, los osteoclastos, B. remueven un segmento en media luna de la trabecula. Los osteoclastos, C. Desplazan los osteoclastos y neoforman el hueso. (Tomado de Ten cate)

De acuerdo con Comack<sup>3</sup> algunas de las diferencias principales que hay entre hueso y cartílago se relaciona con la forma especial en que se nutren los osteocitos. A diferencia de lo que ocurre en el cartílago, en que la composición de nutrientes de oxígeno a grandes distancias, de fuentes externas al tejido, el hueso tiene un contenido mineral tan alto que resultaría ineficaz tal difusión, y es preciso un tipo diferente de organización para que se mantengan vivas sus células. En contraste con el ordenamiento presente en el cartílago, todos los osteocitos están a una distancia no mayor de 0.2 mm de un capilar sanguíneo. Esto se debe a que los capilares quedan incluidos en el tejido óseo como consecuencia de la forma muy vascularizado, difiere notablemente del cartílago, que es avascular.

Además de lo anterior, puede advertirse en los cortes de hueso molido que numerosos canales finos atraviesan la matriz ósea llamados *canalículos*; son conductos angostos llenos de líquido que interconectan a las lagunas de los osteocitos y las vinculan directa o indirectamente con las superficies del hueso bañadas constantemente por líquido intersticial proveniente de los capilares. En cada uno de estos conductillos, hay una prolongación larga de un osteocito, rodeado por líquido intersticial. La importancia funcional de estos conductos es que constituyen líneas de alimentación en miniatura, que permiten la difusión de nutrientes y oxígeno a todos los osteocitos, de modo que estos continúen siendo viables en un ambiente sumamente mineralizado.

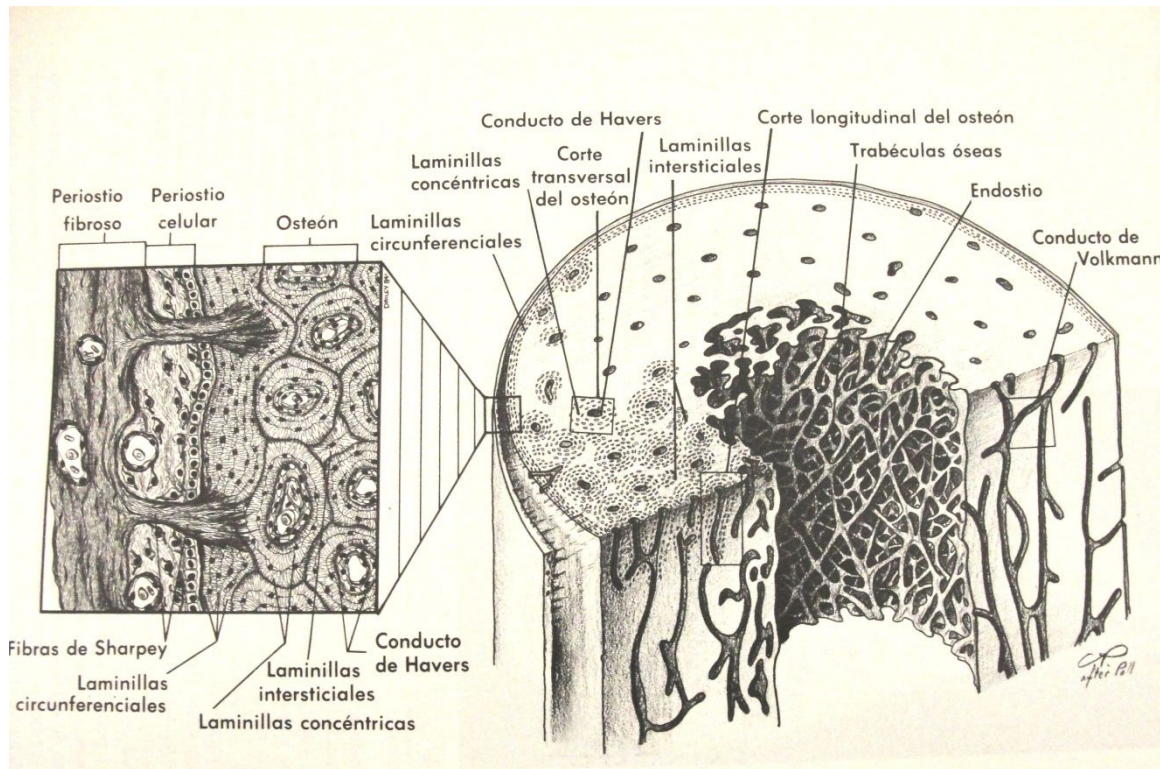


Figura 7. Modelo de hueso compacto y hueso trabecular. El recuadro muestra la superficie perióstica aumentada. (Tomada de Ten cate)

## EL HUESO CRECE POR APOSICIÓN.

A diferencia del cartílago, cuyo crecimiento es intersticial y por aposición, los huesos sólo crecen por aposición. Esto es debido a que los osteocitos no se dividen, a diferencia de los condrocitos. Además, la matriz ósea se calcifica poco después de su producción, con lo que no permite que el tejido continúe expandiéndose desde su interior. Así, todo el crecimiento del hueso es resultado de que se deposite nuevo tejido óseo en una superficie pre-existente.

El desarrollo del hueso se denomina *osteogénesis* u *osificación*. Ocurre en dos sitios generales:

- 1) Directamente en el mesénquima vascularizado y
- 2) En las regiones de osificación centrales de los precursores cartilaginosos de los huesos futuros. Los huesos craneales y planos de la cara, así como el maxilar y las clavículas, se desarrollan directamente en áreas de mesénquima vascularizado por el proceso de osificación intramembranosa, cuyo nombre se deriva de la capa del mesénquima en que tiene lugar tal desarrollo se considera como una membrana embrionaria de tejido conectivo.

Los demás huesos en los esqueletos axil y apendicular también se originan en el mesenquima, pero su desarrollo es en gran parte indirecto e implica un proceso mucho más complejo: la *osificación endocondral*, en la que el hueso tiene un predecesor cartilaginoso, cuya función en el esqueleto pasa subsecuentemente al tejido óseo cuando este sustituye a la mayor parte del cartílago de dicho modelo, durante la vida fetal. En consecuencia, tales huesos se desarrollan y crecen como resultado de la sustitución progresiva del cartílago preexistente. No obstante debe recalcarse que la única diferencia entre estos dos mecanismos es osteogénesis es el ambiente en que ocurre la osificación. No hay diferencias en esta última o en el tipo de hueso en que se origina, que siempre es el mismo.

## CRECIMIENTO POR APOSICIÓN DEL HUESO ESPONJOSO Y SU CONVERSIÓN EN HUESO COMPACTO.

La población de células óseas que cubre la superficie de las espículas y trabéculas del hueso en desarrollo, incluyen osteoblastos y células osteógenas. De estas últimas, las segundas proliferan en ambientes muy vascularizados, de modo que dan origen a osteoclastos y, por consiguiente, a que depositen nuevas capas de matriz en las superficies óseas preexistentes. Por añadidura, este proceso no modifica la posición relativa de las células osteógenas, que siempre es superficial, y tales células están listas para repetir el proceso una y otra vez. Este mecanismo de crecimiento por aposición produce la acumulación de una capa de tejido óseo a la vez. Cada nueva generación de osteoblastos genera sus propios conductillos adicionales, por los cuales, permanecen conectados los nuevos osteocitos a la superficie ósea suprayacente y los osteocitos subyacentes. Además, al aumentar la anchura de las trabéculas como resultado del crecimiento por aposición, quedan incluidos en ellas capilares cercanos que aportan nutrientes a los osteocitos de las capas más profundas. Estos vasos de poco calibre quedan incluidos en el tejido óseo porque este último los rodea durante la acumulación de cada una de las capas. Esta disposición garantiza que los osteocitos no estén situados a más de 0.2 mm de una fuente de líquido intersticial fresco.

Al mismo tiempo que se deposita nuevo tejido óseo en algunas superficies, en otras, se elimina el preexistente donde ya no es necesario. Esta eliminación progresiva del tejido óseo se inicia tan pronto se deposita el mismo, y evita acumulación innecesaria. Las células encargadas de tal proceso, llamado *resorción ósea*, son los *osteoclastos*, células multinucleadas especializadas que tienen la capacidad de erosionar las superficies óseas. El resultado neto de que se deposite tejido óseo en algunos sitios y de que se resorba en otros es la remodelación de las trabéculas. Estos dos procesos opuestos, es decir, el crecimiento por aposición y la resorción ósea, permiten que los huesos conserven su forma y tamaño o los modifiquen en la medida necesaria durante la vida prenatal y postnatal.

Cuando ha terminado la formación de hueso esponjoso, son pocas las células derivadas del mesénquima que no se ha diferenciado. Sin embargo, antes de que desaparezcan estas, dejan una descendencia de células osteógenas aplanadas y delgadas, en las partes de las superficies trabeculares no ocupadas por osteoblastos. En regiones muy vascularizadas, estas células osteógenas dan origen a los osteoblastos, mientras que en las áreas en las que no establece riego sanguíneo capilar se originan condroblastos y, en consecuencia cartílago. Las células osteógenas no sólo son bipotenciales, sino que también se reproducen, de modo que constituyen una población de células madre capaces de dar origen a hueso o cartílago. Dado que persisten en la edad adulta, constituyen una fuente en potencia de nuevo tejido para la reparación de huesos fracturados.

En el libro de patología estructural de Robbins<sup>4</sup> leemos que: las células formadoras de hueso son las células osteoprogenitoras, los osteoblastos y los osteocitos. La génesis y estimulación de estas células están reguladas por citocinas y factores de crecimiento, como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF); el factor de crecimiento alfa derivado de la insulina, y el factor transformador del crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ).

Las células osteoprogenitoras son células madre (precursoras) mesenquimatosas pluripotenciales situadas cerca de todas las superficies óseas; bajo la acción de estímulos adecuados son capaces de dividirse y formar una descendencia que al diferenciarse dan lugar a los osteoblastos.

## MODELADO Y REMODELACIÓN ÓSEA

Los osteoblastos y los osteoclastos actúan coordinadamente y se consideran como la unidad funcional del hueso llamada unidad multicelular básica. Los procesos de formación y resorción del hueso están íntimamente acoplados, y del equilibrio entre ambos depende el volumen que alcanza la masa esquelética en todo momento. Cuando el esqueleto se desarrolla y aumenta de tamaño (modelación), predomina la formación de hueso. Cuando el esqueleto alcanza su madurez, la degradación y renovación óseas que permiten el mantenimiento del esqueleto se llama remodelación.

Durante la formación y mantenimiento del sistema esquelético, los osteoblastos tienen a su cargo gran parte de la regulación local, ya que estos elementos no sólo producen matriz ósea, sino que desempeñan también un papel importante mediando la actividad de los osteoclastos. Gran parte de los factores estimulantes primarios de la resorción ósea, como la hormona paratiroidea, la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PHRP), y lall-1 y el TNF, ejercen efectos mínimos o nulos sobre los osteoclastos. El osteoblasto posee receptores para esas sustancias, y hay pruebas que sugieren que, tras recibir una señal adecuada, el osteoblasto libera un mediador soluble que induce la resorción ósea osteoclástica. Las citocinas y los factores de crecimiento, especialmente el TGF- $\beta$ , que la matriz libera cuando es digerida, actúan como un circuito de retroalimentación y hacen que los osteoblastos sintetizen y depositen una cantidad equivalente de hueso nuevo en las lagunas de resorción. De esta forma, la formación y resorción óseas están relacionadas en el tiempo y en el espacio, y pueden ser reguladas por factores locales y generales.

## REGENERACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO

### PROTEINAS MORFOGENÉTICAS ÓSEAS.

Desde que Marshall Urist publicó en 1965, en la Revista Science, el descubrimiento de una familia de proteínas con capacidad osteoinductiva, y Wozney y colaboradores la clonación de las primeras proteínas morfogenéticas con técnicas de ADN recombinante en 1988, la comunidad científica no ha dejado de investigarlas, en vista de sus promisorias posibilidades, como la de inducir a células mesenquimales a diferenciarse en células osteoproducidas, las cuales pueden regenerar tejidos perdidos. Es, por lo tanto, posible su utilización, como una opción terapéutica esperanzadora en muchas disciplinas biomédicas. Con los resultados de las investigaciones, se espera promover una mejor cicatrización y formación ósea, especialmente en sitios de difícil osificación, como en las uniones de tibia después de fracturas, en cirugía de corrección de espina bífida, en defectos óseos grandes en los que se ha perdido estructura ósea por trauma o por cáncer y también en oseointegración, para aumentar altura, ancho de rebordes, aumento de la calidad y cantidad del hueso, en sitios en los que se van a colocar implantes dentales<sup>5</sup>.

El propósito de un tratamiento dental es ofrecer, al paciente, el restablecimiento de la forma estructura y funcionamiento de los tejidos perdidos. La forma ideal o patrón de oro para ello, es proveerle el mismo tejido perdido, por ejemplo una estructura ósea nueva, saludable, con las mismas características del tejido original, esto se llama regeneración, y se hace gracias a la biología molecular y la bioquímica, que han revolucionado la ingeniería de tejidos. Las tres formas en que la ingeniería tisular puede actuar con este fin son: primero por medio de conducción, técnica en la cual,



se utilizan biomateriales en una forma pasiva, para facilitar el crecimiento de hueso sobre ellos, basándose en la capacidad regenerativa del tejido existente.

Desde que Urist descubrió en 1965, que extractos de proteínas provenientes de hueso podían inducir a la formación de cartílago y hueso cuando eran implantados en tejidos no óseos, mucho se ha avanzado en el entendimiento y caracterización de las proteínas morfogenéticas de hueso.

Urist llamó en 1971, osteoinducción al principio fundamental de la regeneración ósea liderada por la acción de las proteínas morfogenéticas. Con el desarrollo de las técnicas de biología molecular, tecnología del ADN recombinante y genética para investigación, se logró obtener la primera *rhBMP* (proteína morfogenética de hueso recombinante) por Wozney en 1988, y al día de hoy se ha logrado identificar alrededor de 18 distintas proteínas morfogenéticas, entre humanas y animales, y se sigue trabajando en la identificación de su actividad osteogénica, receptores y vías de señalización intracitosólicas, así como sus reguladores extra e intracelulares, tanto in vitro como in vivo. Las proteínas morfogenéticas de hueso son un grupo de péptidos, que pertenecen a la gran familia de los factores de crecimiento transformante- $\beta$  (*TGF- $\beta$* ), con excepción de la *BMP 1*. Sin embargo el *TGF- $\beta$* , es una citoquina cuya acción es únicamente mitogénica, puede inducir a las células mesenquimales a convertirse en fibroblastos, importante para la reparación de los tejidos blandos, pero no es capaz de formar hueso, pues su función primaria es la de inducir las células mesenquimales a mitosis no a cambios morfogenéticos<sup>6</sup>.

La familia de los *TGF- $\beta$* , dentro de la cual se encuentran las proteínas morfogenéticas de hueso, se caracteriza por tener una secuencia de aminoácidos terminal hidrofóbico y dominios de variable tamaño. La secuencia terminal es la que se cree que guía al precursor hacia un patrón secretorio, el predominio asiste en envolver, dimerización y regulación de la actividad. El dominio maduro, colocado en el extremo carboxi terminal, contiene de 110 a 140 aminoácidos con 6 residuos de cisteína, que forman 3 uniones disulfuro con cada unión monomérica, que es la característica invariable de la super familia del factor de crecimiento transformante  $\beta$ . La estructura cristalina de la *BMP-7* ha sido determinada por cristalografía de rayos X, y la *BMP-2* ha sido también estudiada, especialmente por las características cambiantes de sus epítopes<sup>7</sup>.

## PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS Y OSEOINTEGRACIÓN

La deficiencia de hueso es el mayor problema que representa la rehabilitación del paciente edéntulo, por lo que cualquier estrategia que ayude a aumentar rebordes, calidad ósea, oseointegración, eficacia de la elevación de seno maxilar, previa a la colocación de implantes dentales intraóseos, regeneración de segmentos óseos completos en pacientes post trauma o cirugía oncológica, va a ser de ayuda incuestionable. La importancia de estas técnicas en oseointegración, estriba en que el paciente cada vez quiere ser rehabilitado en menos tiempo. Branemark estableció en su protocolo original, normas de espera para el sanado del tejido óseo en los distintos sitios del maxilar y la mandíbula, que oscilaban entre seis y cuatro meses. Si se pueden manipular los tiempos de reparación ósea y la calidad del hueso resultante, para favorecer una oseointegración temprana, esto equivale a poder rehabilitar un implante en menos tiempo, lo cual beneficia al paciente. Otra ventaja es la de evitar cirugías de injertos de tejidos más agresivas como los de cresta iliaca, en que hay morbilidad del sitio donador además del riesgo de la anestesia general.

## METABOLISMO ÓSEO DE LAS PMO

En el hueso, la reparación está dada por una cascada de eventos que involucran, desde la formación del coágulo de fibrina posterior a la injuria o trauma, por medio de la cascada de coagulación en su vía extrínseca e intrínseca, factores endoteliales, tapón inicial de plaquetas, la degranulación del contenido de las plaquetas al sitio con distintos factores de crecimiento como factor de crecimiento derivado de plaquetas tanto ácido como básico (*PDGF $\alpha\alpha$*  y *PDGF $\beta\beta$* ), factor de crecimiento transformante  $\beta 1$  y  $\beta 2$  (*TGF- $\beta$* ), factor de crecimiento vascular endotelial (*VEGF*) y factor de crecimiento epitelial (*EGF*).

Todos ellos interactúan con los diferentes componentes de la matriz extracelular y células presentes en el lugar de la lesión, para reparar o regenerar la estructura y función del tejido original. Los factores de crecimiento tienen la característica de ser mitógenos, o sea son capaces de estimular a las células para entrar en ciclo celular. En la angiogénesis, proceso indispensable en la reparación ósea, los vasos sanguíneos alrededor de la lesión reciben la señal de producir enzimas proteasas, que degradan la membrana basal endotelial, y bajo el estímulo *VEGF* y angiopoyetinas 1 y 2, comienzan a formar brotes de nuevas células endoteliales, que también son estimuladas por una baja tensión de oxígeno en los tejidos dañados. Estos brotes migran hacia el interior de la lesión acompañados de fibroblastos, que forman matriz extracelular para el soporte y maduración posterior de los capilares.

Para la regeneración del tejido óseo debe haber aposición de sustancia inorgánica en el sitio de la lesión, lo cual es efectuado por las células encargadas de la reparación, remodelación y fisiología del hueso: osteoblastos, osteoclastos y osteocitos. El mecanismo por medio del cual se produce la reparación ósea, ha sido descrito por Parfitt y se denomina coupling (acoplamiento o aposición) Es el que nos interesa entender en relación con la diferenciación del osteoblasto, que es la célula que será responsable de la oseointegración. No hay regeneración ósea sin capilares, Parfitt observó que, en el esqueleto adulto, es llevada a cabo por estructuras anatómicas temporales, consistentes en grupos de diferentes tipos de células, los cuales llamó unidades básicas multicelulares (*BMU*), dentro de las cuales, los osteoblastos y osteoclastos mantienen relaciones espaciales, cuya organización lleva a la reposición del hueso que ha sido resorbido por los osteoclastos. La estructura anatómica característica de un *BMU*, es un vaso capilar, el cual desempeña el papel más importante, ya que es la fuente de las células mesenquimales que se van a diferenciar en osteoblastos y que son los pericitos, que inicialmente se llamaban células adventicias, las cuales son planas estrelladas, originadas en la cresta neural, revisten y soportan los capilares y vénulas, compartiendo membranas basales con las células endoteliales. Al diferenciarse en osteoblastos, es notable su ausencia en las sinusoides. Aunque el origen de las señales para la diferenciación del osteoblasto son aditivas, la señal esencial primaria proviene de la alta concentración de factores de crecimiento liberados en el sitio de la lesión; como resultado de la resorción osteoclástica así como de células endoteliales en la matriz ósea. Estas señales son producidas en gran parte por las proteínas morfogenéticas (BMP)<sup>8</sup>.

Lo importante de este concepto en oseointegración, es que cuando se efectúa una osteotomía para la preparación de un lecho a fin de colocar un implante de titanio, y se requiere de la aposición ósea en la cual deben participar los osteoblastos, estos no van a llegar del periostio, que es donde usualmente se localizan células mesenquimales osteoprogenitoras. En un pequeño porcentaje van a llegar de el endostio y médula. Pero el aporte principal va a llegar de la diferenciación de los pericitos de la angiogénesis, por medio de la señalización dada por las proteínas morfogenéticas en el sitio de la lesión; de ahí la importancia de favorecer la formación y estabilidad de un buen coágulo sanguíneo, además del respeto a los tejidos circundantes al minimizar el trauma<sup>9</sup>.

## CLASIFICACIÓN DE INJERTOS ÓSEOS.

La clasificación más reconocida de injertos óseos se presenta en el siguiente cuadro:

TIPO DE INJERTO	SINONIMOS	PROCEDENCIA	EJEMPLOS
<b>AUTOINJERTO</b>	Autógeno (anteriormente autólogo)	Autotrasplante	Tejido cortical. Tejido esponjoso. Combinación. Células de médula ósea.
<b>ISOINJERTO</b>	Singénico	Gemelos univitelinos. Parientes consanguíneos	Tejido cortical. Tejido esponjoso. Combinación.
<b>ALOINJERTO</b>	Alógeno, homologo	Misma especie	IAHDL, IAHL, Médula ósea, Cresta iliaca, liofilizada.
<b>XENOINJERTO</b>	Xenógeno,Heterógeno	Otra especie	Colágeno. Hueso. hidroxiapatita
<b>INJERTO ALOPLÁSTICO</b>	Aloplástico, Sintético	Ajeno al cuerpo. Químico.	Yeso de parís. Carbonato cálcico. Fosfato cálcico. Hidroxiapatita
<b>TÉCNICAS MIXTAS</b>		Ejemplo: autógeno + aloplástico	Tejido cortical + colágeno Bio Oss

Tabla 1: Se observan los diferentes tipos de injertos óseos así como también algunos de sus sinónimos más comunes y su lugar de procedencia<sup>10</sup>

## AUTOINJERTOS ÓSEOS

En los autoinjertos, el donante y receptor son el mismo individuo. El lugar de extracción puede situarse fuera o dentro de la cavidad bucal. El lugar extrabucal mas adecuado es la cresta iliaca. El trasplante de la esponjosa con la medula ósea de la cresta iliaca permite una aposición ósea media de 3.62 mm., con regeneración parcial del periodonto en los defectos óseos verticales. En raras ocasiones se producen resorciones radiculares y anquilosis.

Los lugares de extracción intrabucales comprenden la cortical en zonas de dientes operados, la región de la tuberosidad, las crestas maxilares desdentadas y los alvéolos de dientes ya extraídos. El hueso se extrae con cinceles, fresas metálicas, fresas de trepanación o pinzas huecas de cinceles. La cortical en zonas de dientes operados representa el lugar de extracción más sencillo puesto que



no requiere una segunda intervención quirúrgica en otra área. La cortical se extrae superficialmente con fresas metálicas o cinceles y se mezcla con la sangre del área quirúrgica.

## ALOINJERTOS ÓSEOS

En los aloinjertos óseos, el donante y el receptor son dos individuos diferentes de la misma especie. Los *aloinjertos óseos liofilizados* y los *lioofilizados y desmineralizados* son los más importantes en la cirugía de reconstrucción periodontal. El hueso extraído del donante es triturado hasta obtener gránulos de 250 a 800  $\mu\text{m}$  de tamaño y liofilizado. El aloinjerto óseo liofilizado y desmineralizado es sometido a mayor elaboración, con objeto de liberar las proteínas de la matriz osteoinductora como la proteína morfogenética ósea, que estimulan la diferenciación de las células mesenquimatosas hacia osteoblastos. El aloinjerto óseo liofilizado se asocia en un 64 % de las ocasiones a un relleno de más del 50 % del defecto óseo. Con el aloinjerto óseo liofilizado y desmineralizado se obtienen mejores resultados. Se han descrito aposiciones óseas medias de 1,8-2,9 mm y rellenos del defecto óseo del 61 al 73%. Con el aloinjerto óseo liofilizado y desmineralizado es posible la regeneración parcial del periodonto, que ocurre más a menudo que tras la cirugía aislada de colgajo. En general, el tratamiento de las lesiones de las furcas con aloinjertos óseos liofilizados no da resultado. El aloinjerto óseo liofilizado que se implanta en los defectos óseos, no ejerce un efecto antigénico significativo en clínica. Sin embargo, cuando se injerta tejido alogénico se pueden transmitir algunos agentes infecciosos.

Aunque el riesgo de contagio derivado del aloinjerto óseo liofilizado y desmineralizado se considera menor que, por ejemplo, el de la transfusión de sangre, conviene explicar el riesgo al paciente (aproximadamente 1:8 millones). Más concretamente, debe señalarse la posibilidad de infección por los virus de la hepatitis o del SIDA (VIH). En los defectos óseos de tres paredes, la probabilidad de aposición ósea no depende del método y suele ser mayor que en los defectos de una o dos paredes<sup>11</sup>.

## XENOINJERTOS

Se conocen como biomateriales xenogénicos aquellos que proceden de seres de diferente especie a la humana, purificados y manipulados mediante diferentes procesos que los hacen aptos para ser inoculados en un organismo humano.

Los biomateriales xenogénicos existen actualmente en el mercado y que son empleados para la regeneración de hueso en defectos del proceso alveolar o en injertos subantrales en procedimientos quirúrgicos de elevación de seno, derivan de tres especies diferentes: coral (Interpore® 200), algas (Algipore®) o bovinos (Bio-Oss®, Osteograft-N®). En los últimos, derivados de animales bovinos, el procedimiento es el de sinterización (mediante presión y temperatura) para el Osteograft-N®, mientras que, en el Bio-Oss®, el procedimiento de manufactura incluye su manipulación a una alta temperatura durante más de 15 hrs y un tratamiento químico alcalino.

Todos ellos quedan englobados bajo la denominación de hidroxiapatitas microporosas de origen orgánico, si bien son más conocidos por la denominación de sustitutos óseos, término derivado de su similitud con la estructura porosa fina que posee el hueso humano. Las hidroxiapatitas de origen orgánico sustituyeron ventajosamente a las de síntesis debido fundamentalmente a su capacidad de resorción y a sus superiores propiedades osteoconductoras, factor esencial para la osteoformación en defectos superiores a 5 mm de diámetro. En hidroxiapatitas porosas, la osteoconductividad depende fundamentalmente del tamaño de los poros y de la forma en que estos poros están

interconectados. Osborne (1982) definió el término de osteotropismo para estos materiales, los cuales incrementarían la formación de hueso por sus características químicas o estructurales, en presencia de células precursoras osteogénicas.

## INJERTOS ALOPLÁSTICOS

Entre la multitud de materiales aloplásticos que se han investigado para rellenar los defectos óseos, solo la hidroxiapatita y el fosfato 3- tricálcico ofrecen resultados clínicos satisfactorios. De todos modos, las investigaciones histológicas demuestran que el injerto de este tipo de material no fomenta la regeneración del periodonto. En general, los materiales aloplásticos se hallan encapsulados dentro del tejido conjuntivo. Habitualmente, entre el injerto y la superficie radicular se interpone un largo epitelio de unión<sup>11</sup>.

## MATERIALES DE ESTUDIO

A continuación se describen los materiales estudiados.

### HUESO EQUINO

#### Bio-Gen® (Injerto óseo Equino)

Es un sustituto sin colágeno óseo, desantigenizado, con remodelación osteoclástica fisiológica total: con el tiempo es completamente sustituido por tejido óseo endógeno neoformado del paciente, permitiendo el restablecimiento anatómico y funcional de la lesión o del defecto óseo.

Las propiedades de remodelación total se deben al particular proceso de desantigenización, por vía enzimática a 37°C, que no altera en lo más mínimo el componente mineral del tejido óseo original.

**DESCRIPCIÓN:** Gránulos pequeños de tejido óseo cortical–esponjoso o mixto de cortical y esponjoso de tamaño de 0,5 a 1mm.

**COMPOSICIÓN:** Mineral óseo puro sin lípidos ni proteínas.

**ORIGEN:** equino

**COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO:** Cuando se inserta en cavidades óseas, sufre una degeneración total debida a la actividad osteoclástica en el tiempo de espera sugerido (ver Tiempo de Metabolización).

**ACTIVIDAD:** Osteoconductor

**CRONOLOGÍA:** El material se debe insertar en cavidades en varias capas, sin realizar el relleno. Los espacios entre los gránulos serán rápidamente rellenos con matriz ósea nueva que crea a través de un proceso de mineralización un tejido osteoide precoz de excelentes características mecánicas. Durante el tiempo de espera sugerido, según el tipo de producto usado (ver tiempo de metabolización), será totalmente remplazado por hueso endógeno.

**ACCIONES QUE PUEDEN MODIFICAR EL COMPORTAMIENTO DEL PRODUCTO:** La mezcla de este producto con partes de tejido óseo autólogo altera (disminuyéndolo) el tiempo de reabsorción.

En el estudio preliminar realizado en animales de Massimo Simon se evaluó la eficacia de combinar el factor de crecimiento derivado de las plaquetas humano recombinante purificado (rh PDGF-BB) con un toque óseo equino original de hidroxiapatita y colágeno (eHAC) en la regeneración vertical de hueso en defectos de tamaño crítico que simulaban atrofia localizada del hueso alveolar mandibular. Además se estudió el impacto que produce el emplazamiento de la membrana de barrera en la

regeneración de hueso mediada por factores de crecimiento. Se extrajeron los cuatro premolares de mandíbulas de 12 perros de raza foxhound y a continuación se practicaron defectos mandibulares posteriores bilaterales simulando atrofia ósea localizada y severa. Tres meses más tarde se injertaron los defectos como se describe a continuación: grupo A: bloque eHAC sólo; grupo B: bloque eHAC + membrana de colágeno; grupo C: bloque eHAC + rh PDGF-BB; grupo D: bloque eHAC + rh VGF-BB + membrana. Se sacrificaron los animales a los 5 meses y se examinaron las áreas de injerto desde un punto de vista histológico, radiográfico y clínico. Se observó poca o nula regeneración vertical de hueso en los grupos A y 3 (controles). En el grupo C se apreciaron una significativa regeneración vertical de hueso, con hueso denso y bien vascularizado, importante interfase hueso-implante y una sustitución acelerada de las partículas del injerto por hueso recién formado. En el grupo D, con la superposición de una membrana de barrera era menos evidente la formación de hueso duro en comparación con el grupo C. Como en el primer estudio de esta serie, se revisó la importancia del periostio como fuente de células osteoprogenitoras en los tratamientos de regeneración mediados por factores de crecimiento<sup>12</sup>.

#### FDBA:

Es un aloinjerto de hueso liofilizado proveniente de cadáver, tiene la ventaja de que disponemos de cantidad ilimitada de material, y que los riesgos de transmisión de enfermedades son mínimas; 1 en 2.8 billones. El mecanismo de acción de este tipo de injerto es la osteoconducción ya que proporciona un entramado para la deposición de hueso nuevo y la osteoinducción puesto que posee BMPs. Su gran inconveniente es que carecen de células osteoprogenitoras por lo que su capacidad osteogénica es nula.

Existen múltiples artículos que comparan la eficacia de los injertos frente a distintos biomateriales. Tal es el caso del artículo publicado por Dalkyz y cols. En el que realizaron un estudio histológico en treinta conejos para evaluar el efecto producido por el hueso liofilizado frente a la hidroxiapatita coralina, la hidroxiapatita sintética y el fosfato tricálcico mostrándose el hueso liofilizado como material más efectivo para el relleno óseo a los dos meses de la intervención<sup>13</sup>

#### BOVINO:

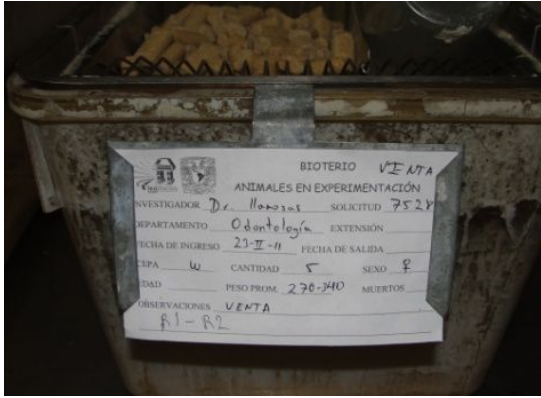
Tratado químicamente para eliminar su componente orgánico pero manteniendo una arquitectura trabecular que es similar al hueso humano. Es hueso de origen animal (Generalmente bovino) desproteinizado por un proceso de calcinación. Este hueso anorgánico no presenta reacción inflamatoria siendo un material altamente biocompatible. Se clasifica como hidroxiapatita natural. Su acción principal es la osteoconducción ósea. Por lo general se realiza una mezcla con hueso autólogo u homólogo ya que no presenta propiedades osteoinductivas. Actúa como un andamiaje siendo su principal acción la osteoconducción. Últimamente se ha especulado sobre la posibilidad de que podría transmitir la encefalopatía espongiiforme bovina ó enfermedad de Creutzfeld-Jacob, se necesitan más estudios.

En el estudio realizado por Artzi y cols. Se efectuaron cuatro defectos óseos en ocho perros mongrel rellenando el primer defecto con Bio-Oss®, el segundo con dicho biomaterial más una membrana de colágeno, el tercer defecto quedó cubierto por una membrana y el cuarto se usó cavidad control. A los tres meses los defectos rellenados con Bio-Oss® tenían una cantidad de hueso superior a las otras cavidades y similar tanto con como sin membrana, aunque el empleo de membrana favorecía que el hueso estuviese más maduro<sup>14</sup>

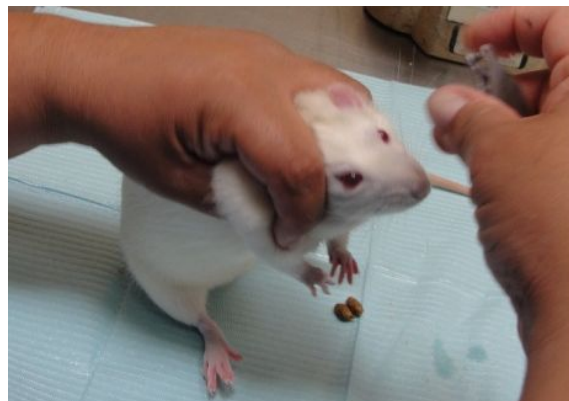
## METODOLOGÍA

Para la presente investigación se realizó lo siguiente:

- ✓ Se emplearon 9 ratas Wistar machos sanos de 300-370 g. a los cuales, antes y después de realizados los implantes, se aislaron y colocaron en grupos de 2 individuos por caja. Se le proporcionó alimento y agua.
- ✓ Se realizaron perforaciones en la oreja izquierda de cada rata para identificar a cada una asignando un número del 1 al 9.
- ✓ Se pesaron cada una de las ratas para saber que cantidad de xilacina con ketamina debía de administrarse a cada una, como dosis de anestesia.
- ✓ Se rasuró la zona donde se realizará la incisión y se aplica yodopovidona (isodine®) en el área.
- ✓ Se realizó una incisión de espesor total para descubrir las tibias de cada rata.
- ✓ Para realizar las perforaciones se empleo pieza de baja velocidad con fresa de bola del número 2 para hacer una perforación de profundidad aproximada de 1mm irrigando constantemente con solución fisiológica.
- ✓ Las perforaciones se realizaron en la porción antero medial de la tibia tanto derecha como izquierda. A una distancia de 5mm aproximadamente entre ellas.
- ✓ En la perforación superior de la tibia derecha se colocó una porción de hueso equino; en la perforación inferior se colocó hueso bovino.
- ✓ En la tibia izquierda se colocó FDBA en la perforación superior y en la inferior no se colocó nada.
- ✓ Se suturo la incisión.
- ✓ Las ratas se colocaron en cajas para ser monitoreadas cada 5 minutos e hidratar los ojos con gotas de solución fisiológica hasta el momento en el que despertaron para evitar que la conjuntiva se deseeque.
- ✓ Se suministraron 500mg de ácido acetilsalicílico por cada 500ml de agua en cada uno de los contenedores de agua de las cajas. Así como alimento.
- ✓ Se retiraron puntos de sutura a los 7 días.
- ✓ A los 30 días se sacrificaron las primeras 3 ratas y se cortaron las tibias para ser colocadas cada una en un frasco con formalina (formol al 10%) etiquetadas para ser identificadas.
- ✓ A los 60 días se sacrificaron las ratas 4, 5 y 6 y también se colocaron en frascos.
- ✓ A los 100 días se sacrificó a las ratas 7, 8 y 9.
- ✓ Se tomaron fotografías macroscópicas de cada una de las tibias.
- ✓ Todas las muestras fueron procesadas histológicamente mediante la fijación con formaldehído e inmersión en parafina. Se obtuvieron cortes seriados de 3 micrómetros de espesor, para tener una muestra amplia de las condiciones del hueso.
- ✓ Los cortes fueron teñidos con hematoxilina y eosina y observados sistemáticamente en un microscopio de luz, a 10 X, 20X y 40X.
- ✓ Se observaron las laminillas y fotografió el corte histológico mas representativo de cada muestra.
- ✓ Los datos se registraron en una tabla donde se compararon todos los materiales por su resultado a los 30 días, luego a los 60 y 100 días.



Figuras 5 y 6. Los ejemplares fueron colocados en contenedores en grupos de 2 en donde se les fue administrado alimento y agua



Figuras 7 y 8. Fueron pesadas y marcadas en la oreja izquierda con una perforación para llevar un registro de su peso y cronología en la que serían sacrificadas.

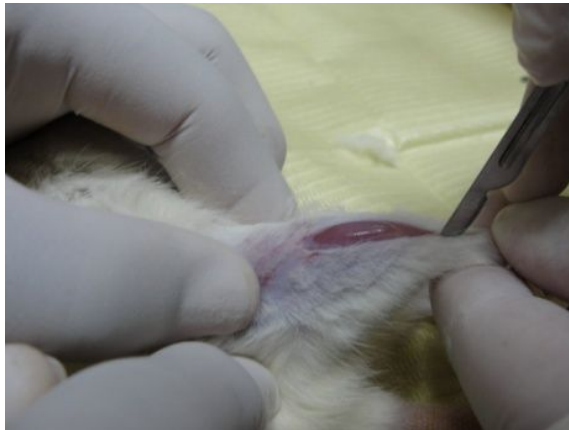


Figuras 9 y 10. El anestésico empleado fue xilacina y quetamina de acuerdo al peso de cada sujeto.





Figuras 11 y 12. Después de aplicar el anestésico se inicia el procedimiento quirúrgico.



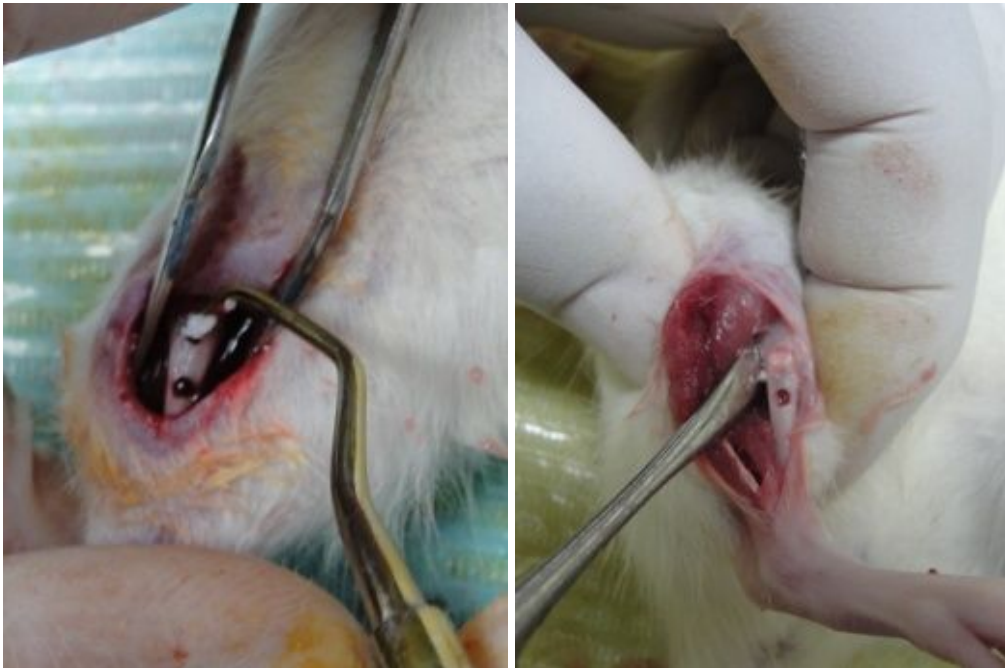
Figuras 13 y 14. Se rasó la zona donde se realizó la incisión y después se les aplicó yodopovidona en el área a incidir.



Figuras 15 y 16. Las perforaciones se realizaron con una fresa de bola del número 2 con un espacio aproximado de 5mm entre ellas.



Figura 17. Se observa que la profundidad de las perforaciones es aproximadamente de 1mm.



Figuras 18 y 19. Cada uno de los materiales es llevado a las perforaciones mediante instrumentos pequeños tratando de dejar las superficies mas tersas posibles.



Figuras 20 y 21. Las incisiones son suturadas.



Figuras 22 y 23. Los especímenes son colocados en una caja para ser monitoreados cada 5 minutos y en sus contenedores de agua se colocó analgésico.



Figura 24. Se puede observar que las heridas están prácticamente cicatrizadas a los 7 días que se retiraron los puntos de sutura.





Figuras 25 y 26. A los 30 días fueron sacrificados los primeros 3 ejemplares para realizar la reentrada a la zona y se cortaron las porciones de tibia en donde fue colocado cada material.



Figuras 27 y 28. El hueso fue cortado cerca de la zona donde se realizó la perforación y cada muestra fue colocada en un frasco con la etiqueta para su identificación.



Figuras 29 y 30. Cuando ya se tienen todas las muestras se envían al laboratorio para ser procesadas en parafina y realizar los cortes de 3 micrómetros de espesor.

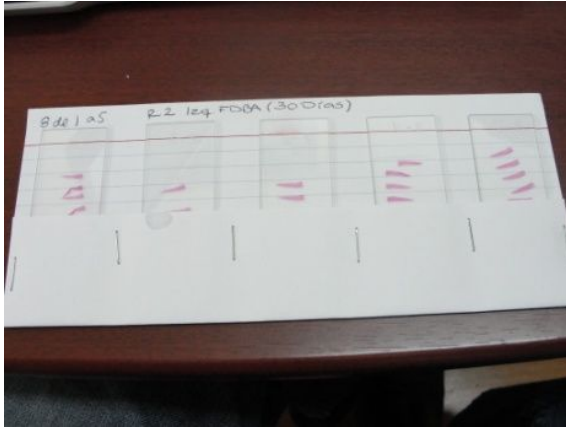


Figura 31. Las laminillas fueron observadas por medio del microscopio óptico y fue fotografiada la muestra más representativa.

## FOTOGRAFÍAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS

### CRITERIOS MACROSCÓPICOS DE EVALUACIÓN DE RESULTADOS

- 0) Superficie irregular, falta de cicatrización o aparente necrosis.
- 1) Reparación irregular, zonas evidentes de tejido no osificado o de consistencia gelatinosa.
- 2) Formación ósea irregular, de apariencia firme o textura de callo óseo.
- 3) Cicatrización completa, no se aprecia diferencia con el hueso pre-existente.

### CONTROL

A los 30 días.



Muestra 1

Muestra 2

Muestra 3

A los 60 días.

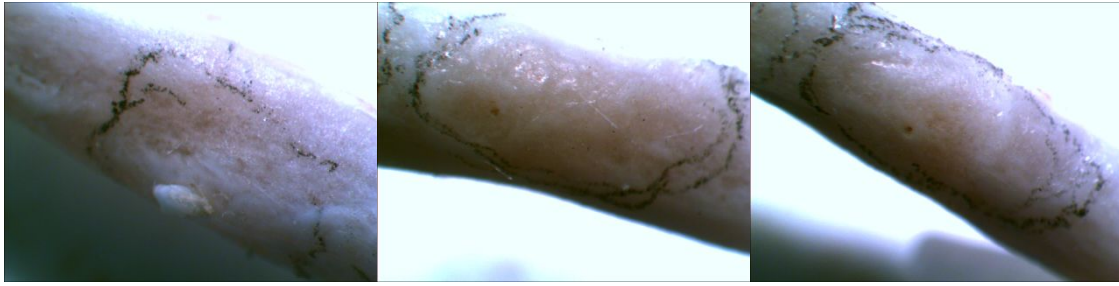


Muestra 4

Muestra 5

Muestra 6

A los 100 días



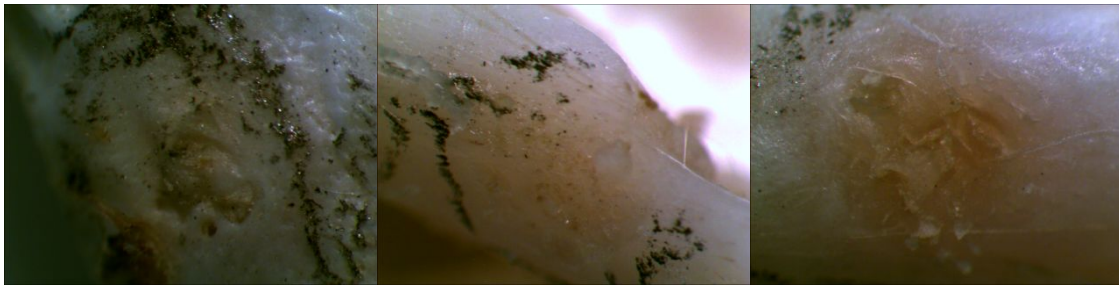
Muestra 7

Muestra 8

Muestra 9

## INJERTO EQUINO

A 30 días



Muestra 1

Muestra 2

Muestra 3

A 60 días



Muestra 4

Muestra 5

Muestra 6

A los 100 días



Muestra 7

Muestra 8

Muestra 9



FDBA

A 30 días.



Muestra 1

Muestra 2

Muestra 3

A 60 días.



Muestra 4

Muestra 5

Muestra 6

A 100 días



Muestra 7

Muestra 8

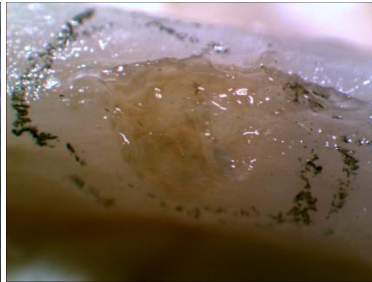
Muestra 9

# HUESO BOVINO

A los 30 días



Muestra 1



Muestra 2



Muestra

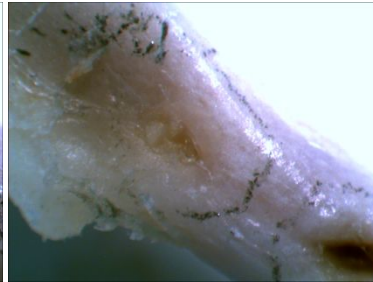
A los 60 días



Muestra 4

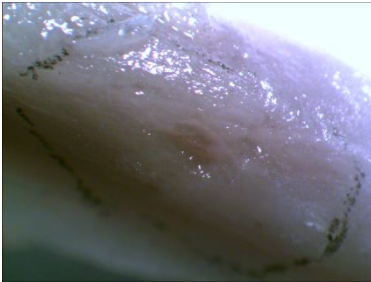


Muestra 5



Muestra 6

A los 100 días



Muestra 7



Muestra 8



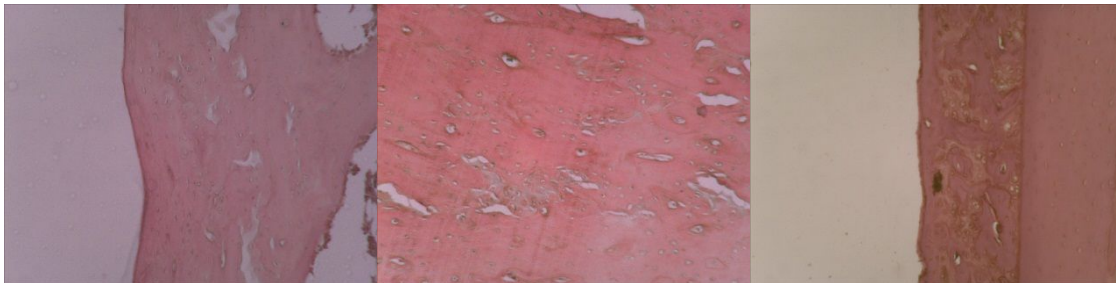
Muestra 9

## CRITERIOS MICROSCOPICOS DE EVALUACIÓN

- 0) Ausencia de reparación.
- 1) Reparación con tejido osteoide, zonas de necrosis o tejido muy desorganizado.
- 2) Comienzan a diferenciarse osteocitos. Se aprecia la interfase entre el hueso nuevo y el pre-existente. Hay pequeñas zonas de vascularización. Gran cantidad de espacios.
- 3) Unión bien definida entre el hueso nuevo y el pre-existente. El hueso nuevo es de densidad parecida al hueso pre-existente. Existen líneas de aposición de los osteocitos (se encuentran bien alineados)
- 4) Reparación ideal. No hay gran diferencia entre un material y otro. No se alcanza a distinguir entre un tejido y otro o es casi imperceptible.

## CONTROL

A los 30 días.

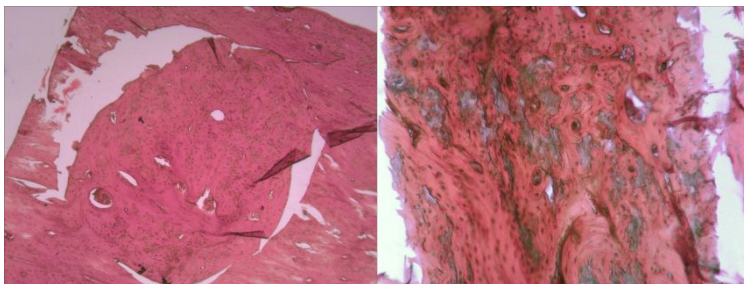


Corte histológico 1

Corte 2

Corte 3

A los 60 días.



Corte 5

Corte 6

A los 100 días



Corte 7

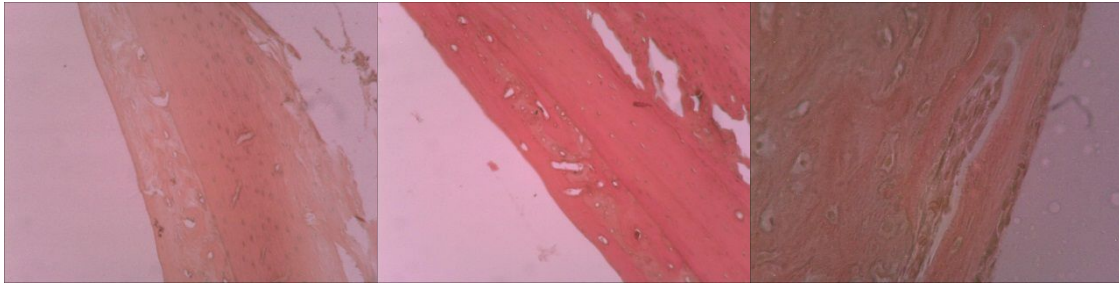
Corte 8

Corte 9



## INJERTO EQUINO

A los 30 días.

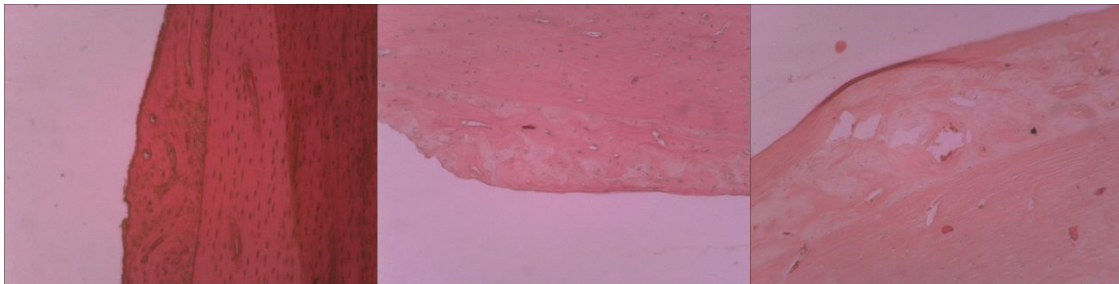


Corte 10

Corte 11

Corte 12

A 60 días.

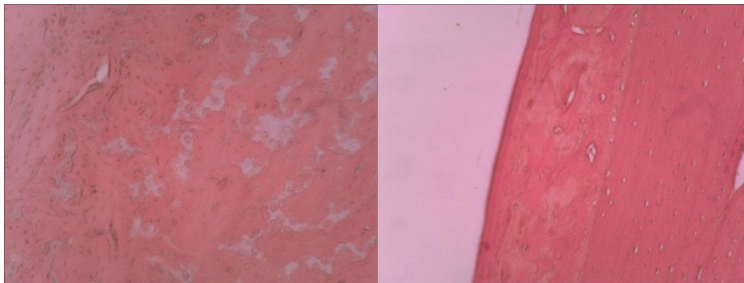


Corte 13

Corte 14

Corte 15

A 100 días.

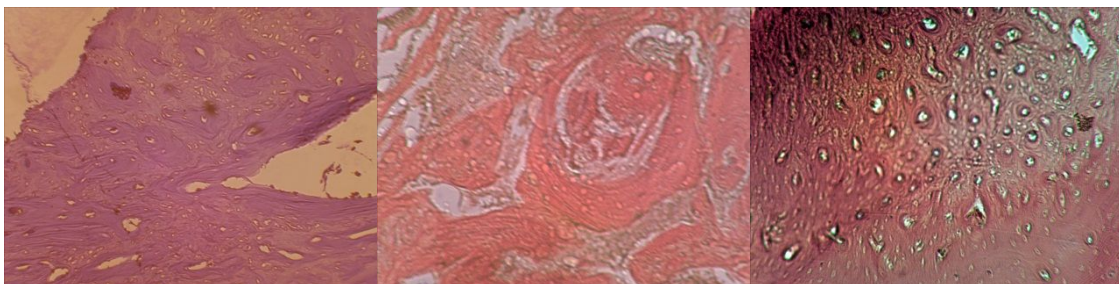


Corte 17

Corte 18

## FDBA

A 30 días.

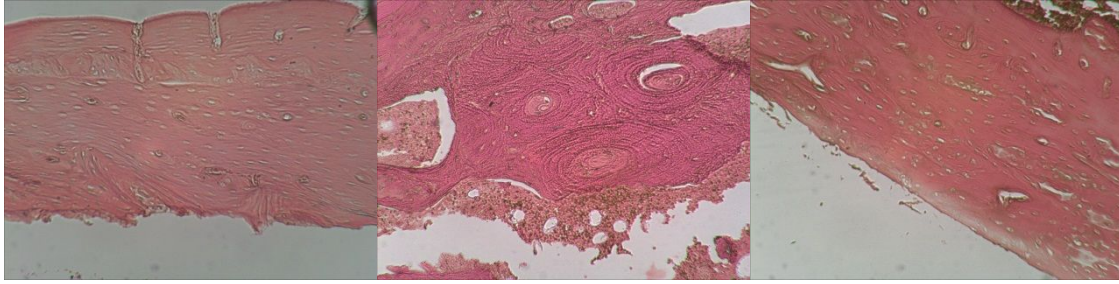


Corte 19

Corte 20

Corte 21

A 60 días.

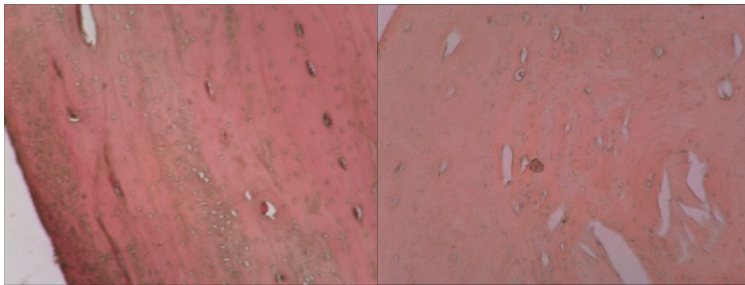


Corte 22

Corte 23

Corte 24

A 100 días.

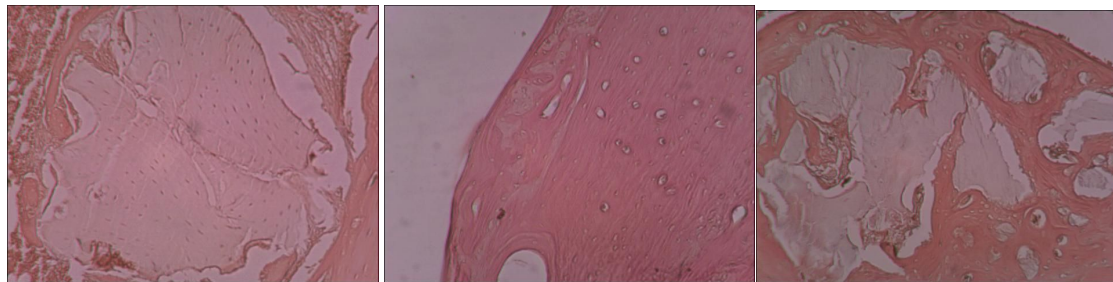


Corte 25

Corte 26

### INJERTO BOVINO

A 30 días

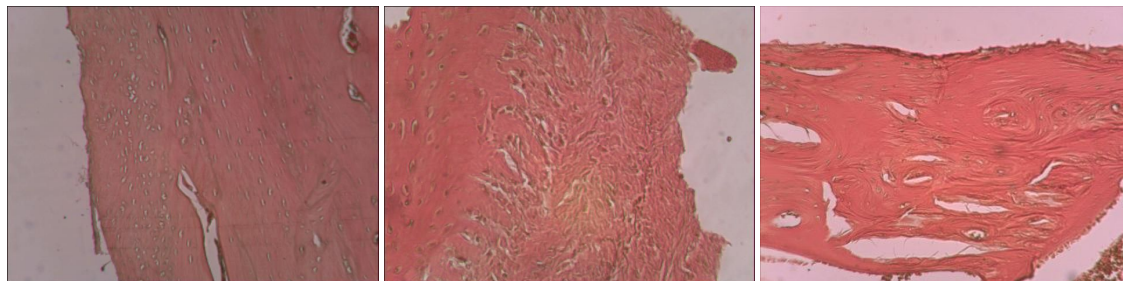


Corte 28

Corte 29

Corte 30

A 60 días



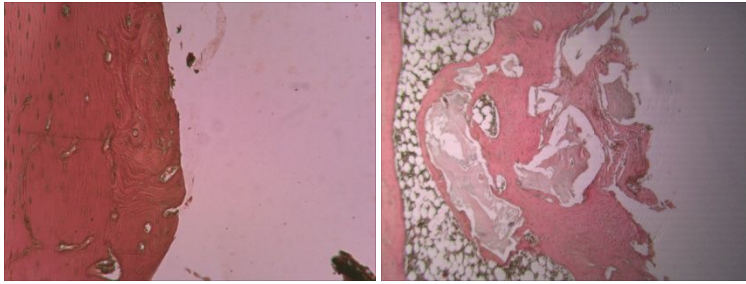
Corte 31

Corte 32

Corte 33



A 100 días



Corte 34

Corte 35

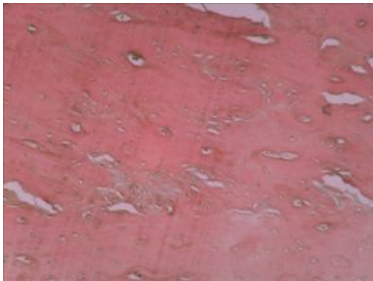
## RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados de la investigación y el análisis de los cortes histológicos de las muestras representadas en gráficas.

## INTERPRETACIÓN HISTOLÓGICA

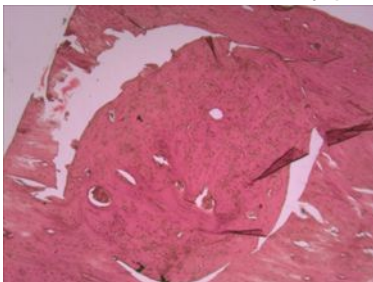
Control a 30 días. (2)

- Formación de hueso con diferentes densidades.
- Actividad osteoblástica.
- Espacios vacíos de tamaño variable en el centro del defecto.
- Escasa vascularización.



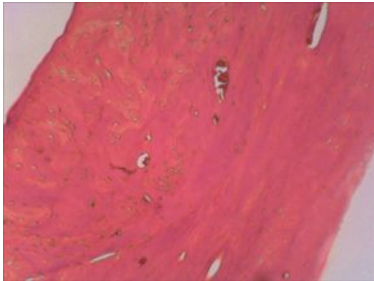
Control a 60 días. (2-3)

- Formación de hueso nuevo con osteocitos bien definidos.
- Formación concéntrica del hueso.
- Zonas de vascularización de diferentes calibres.
- Pequeños espacios vacíos en el centro.
- Unión del hueso nuevo y pre-existente bien definida.



Control a 100 días. (3)

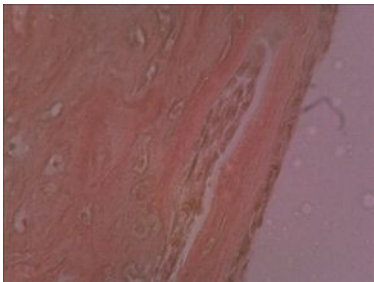
- Formación de hueso nuevo con unión bien definida al hueso pre-existente.
- Abundante vascularización.
- Presencia de líneas de incremento en diferente disposición.
- No se observan espacios.



Se observó una reparación ideal del hueso después del trauma producido al no haber tejido fibroso, necrótico, inflamatorio, etc.

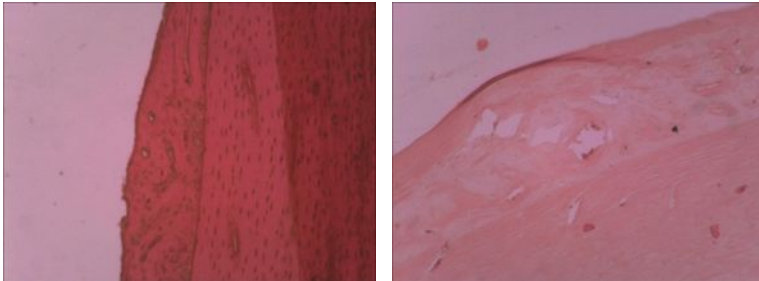
Equino a 30 días. (3)

- Neoformación ósea con unión bien definida al hueso pre-existente.
- Espacios vacíos de diferentes tamaños.
- Escasa presencia de tejido fibroso.



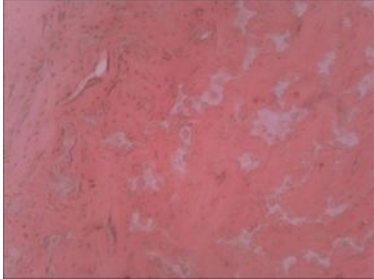
Equino a 60 días. (1,2,3)

- Resultados muy variables o impredecibles.
- Espacios vacíos.
- Formación casi completa de hueso nuevo con unión al hueso pre-existente.
- En otros casos presencia de espacios vacíos sin formación ósea.



Equino a 100 días. (2,3)

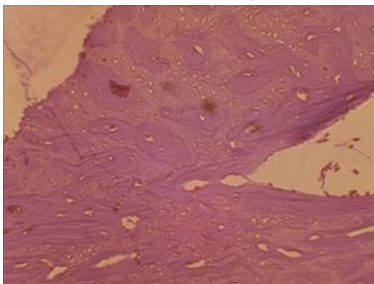
- Neoformación ósea pero no en su totalidad.
- Pequeños espacios de menor densidad.
- Moderada vascularización.



Los resultados son más lentos desde el inicio y más inciertos. El utilizar el material, en un inicio no favorece la cicatrización.

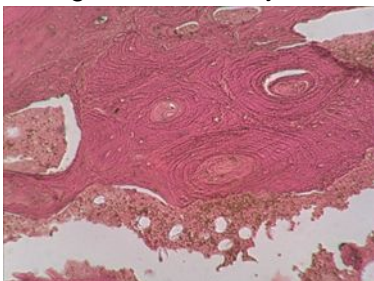
FDBA a 30 días. (2)

- Se observa neoformación ósea organizada en osteones y trabéculas sobre una matriz de tejido osteoide.
- Con numerosos espacios vacíos.



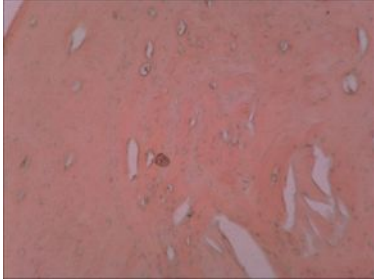
FDBA a 60 días. (3)

- Formación de hueso con unión bien definida.
- Formación organizada en osteones y trabéculas con unión bien definida al hueso pre-existente.
- Vascularización variable.
- En algunos casos tejido fibroso.



FDBA a 100 días. (3)

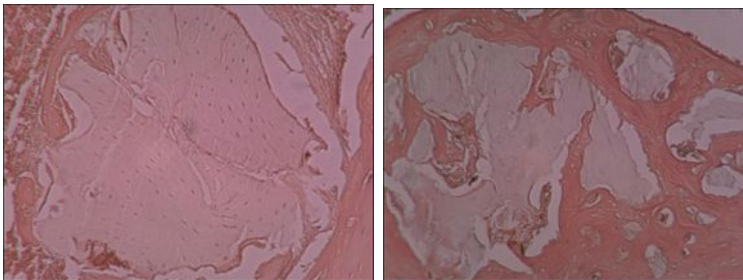
- Neoformación ósea.
- Vasos de diferente calibre.
- Pequeños y escasos espacios vacíos.



De los 3 materiales colocados, es el único al que se le asignaron valores de 4 por encima del control.

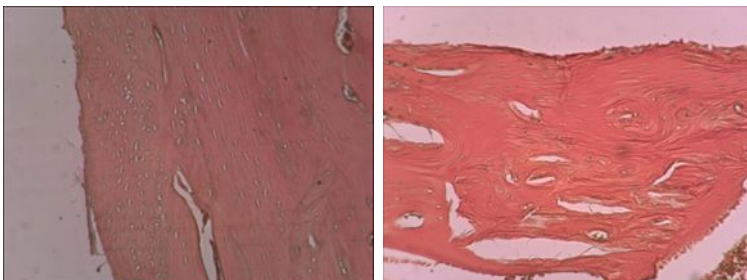
Bovino a 30 días. (1,2,3)

- Resultados muy variables que van desde sustancia de materia osteoide y escasa formación ósea a zonas de formación de hueso de mayor densidad.
- Presencia de tejido fibroso.
- Vascularización variable.



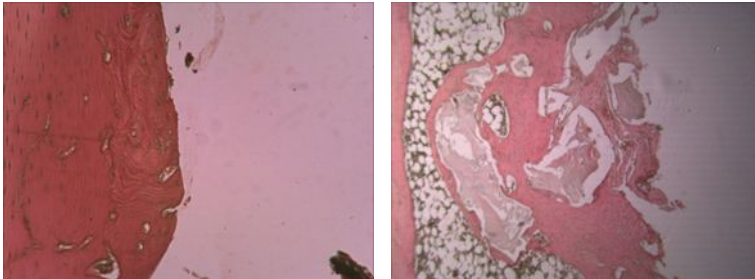
Bovino a 60 días. (1,2,3)

- Se observa formación de hueso en diferentes etapas, algunas con presencia de tejido fibroso.
- Formación de hueso organizado hasta llegar a zonas con mayor densidad y vascularización abundante.



Bovino a 100 días. (1,3)

- Se observan lagunas de tejido osteoide.
- Escasa formación ósea y en otro caso formación ósea con densidad parecida al hueso pre-existente.
- Unión bien definida al hueso pre-existente.



Observaciones:

Resultados más impredecibles o inestables. Incluso se aprecia que a los 100 días hay un criterio de 1 lo cual quiere decir que el tejido es muy desorganizado.

TABLA DE INTERPRETACION DE DATOS

Materiales a 30 días

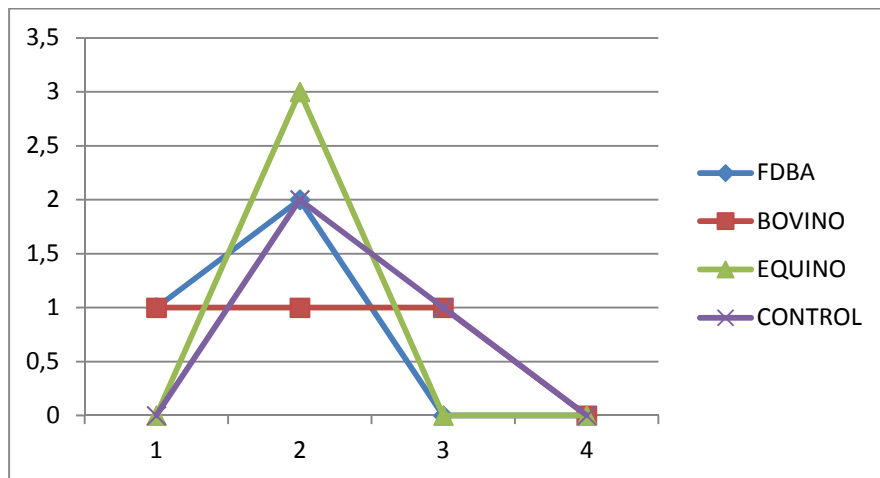


Tabla 1. Resultados a los 30 días

CRITERIO	FDBA	BOVINO	EQUINO	CONTROL
1	1	1	0	0
2	2	1	3	2
3	0	1	0	1
4	0	0	0	0

### Materiales a 60 días

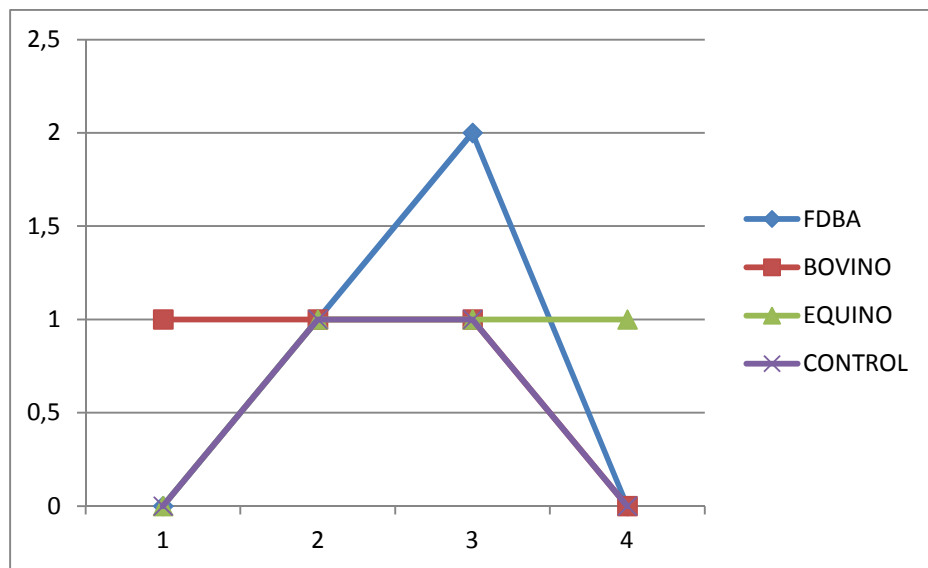


Tabla 2. Resultados a os 60 días

CRITERIOS	FDBA	BOVINO	EQUINO	CONTROL
1	0	1	0	0
2	1	1	1	1
3	2	1	1	1
4	0	0	1	0

### Materiales a 100 días

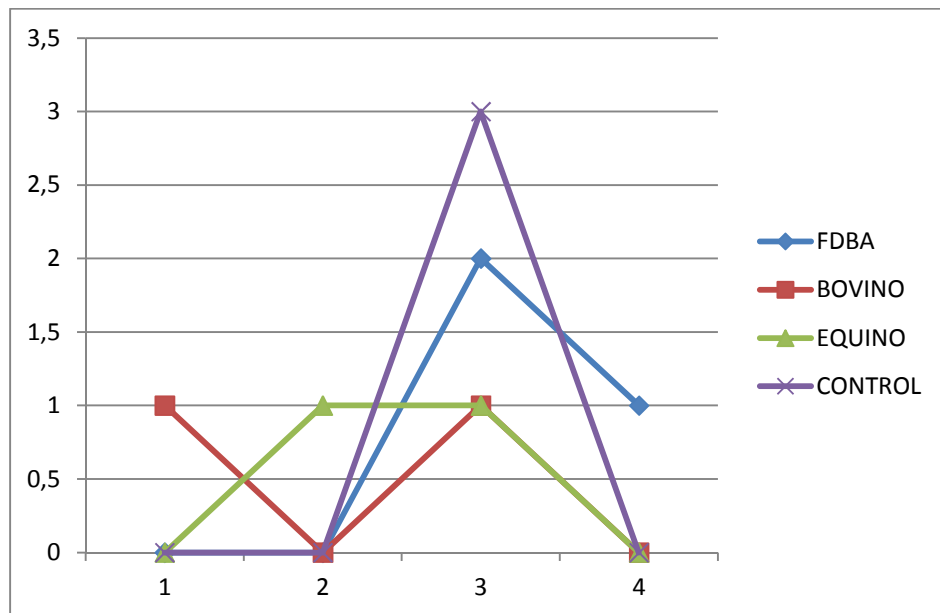


Tabla 3. Resultados a los 100 días

CRITERIOS	FDBA	BOVINO	EQUINO	CONTROL
1	0	1	0	0
2	0	0	1	0
3	2	1	1	3
4	1	0	0	0



Haciendo una síntesis de los resultados obtenidos, se puede apreciar que con relación al grupo control a los 30 días ningún injerto se comportó mejor que éste. A los 60 días el injerto de equino presentó resultados ligeramente superiores al control, mientras que los demás materiales se comportaron de manera similar al control. A los 100 días la totalidad de las muestras del grupo control tuvieron una buena cicatrización y todos los injertos mostraron menor cicatrización que el grupo control, a excepción de una muestra de injerto de FDBA que cicatrizó completamente.

## DISCUSIÓN

Existen diversos modelos experimentales para el estudio de la reparación ósea, en éstos se han utilizado diferentes especies de animales como ratones, ratas, cabras, perros y conejos<sup>15</sup>; sin embargo, el mantenimiento, el material de osteosíntesis y la cirugía de estos prototipos es costoso. Nuestro modelo en tibia de rata Wistar es económico, de fácil manipulación, bajo costo de mantenimiento. De esta manera, al crear un defecto no crítico en la tibia de la rata tenemos un mejor control del sitio de lesión, ya que al no crear una fractura completa no se sufre de desestabilización o consolidación viciosa que equivaldría a una curación de una fractura con alineamiento anatómico incorrecto, que puede derivar en deformidades o mal funcionamiento.

El aumento de peso de todos los animales fue semejante al final del experimento, esto demuestra un control de la alimentación y la respuesta del animal a los procedimientos experimentales; durante cirugías invasivas el peso del animal puede disminuir y las condiciones generales de salud pueden verse afectadas, derivando en un retraso en la recuperación de los animales. Ya que la cirugía efectuada es de mínima invasión, el defecto es de mínima invasión, el defecto es de tamaño no crítico y el miembro operado no necesita ser estabilizado, el animal después de recuperarse de la cirugía consigue apoyar la extremidad, camina, se alimenta y toma agua, todos estos factores favorece su recuperación

Por otro lado, las células óseas encargadas del proceso de reparación-demolición de hueso son la dupla osteoblasto-osteoclasto. Los osteoblastos son las células formadoras de hueso, mientras que los osteoclastos son las células responsables de la resorción de la parte mineral de la matriz extracelular. La función de un injerto es insertar una matriz en la lesión o fractura que permita que las células indiferenciadas migren y proliferen. Se espera que los injertos sintéticos sean biocompatibles y osteoinductivos para que en el proceso normal de reparación sean resorbidos por el cuerpo, pero, entonces, la selección del material debe ser con base en la función del injerto.

Un injerto (alogénico, autogénico o sustituto óseo) debe ser capaz de soportar esfuerzos, cuando es necesario. Esto requiere que su estructura se mantenga mientras el hueso es reparado. Los materiales osteoconductivos pueden actuar de dos maneras, la primera es que vasos y células osteoprogenitoras crezcan dentro de él. En este caso, el injerto actúa como una malla. Alternativamente, un material puede exhibir substitución, esto es, no habría una introducción celular a su interior sino una resorción conforme el hueso se vaya formando. Se sabe que se realiza una penetración vascular y formación ósea menor y más lentamente cuando se trata de la incorporación de aloinjertos o sustitutos óseos que cuando se trata de autoimplantes. La microestructura de los biomateriales empleados como sustitutos óseos (esto es, su volumen, densidad de poros e interconexiones, así como su superficie) actúan sobre la degradación y crecimiento de hueso nuevo dentro o por desplazamiento del material. Aparte de su composición química, su biodegradación es

directamente influenciada por el tamaño de poro. Un incremento en la porosidad puede favorecer el crecimiento dentro del material pero puede aminorar sus propiedades bioquímicas.

En estudios *in vitro* el tamaño mínimo de la partícula necesario para inducir la reparación es de 20 micras, pero el más favorable para la penetración celular es de 49 micras, mientras que *in vivo* un tamaño de poro de interconexión de 20 micras permite una penetración celular y una formación de tejido endocondral dentro de los macroporos. Sin embargo un tamaño de interconexión arriba de 50 micras asegura la formación de hueso mineralizado<sup>16</sup>.

Entonces, cuando un injerto, implantado en hueso, presenta un tamaño de poro de interconexión mayor a 50 micras se asegura la formación de hueso mineralizado y la acción de células progenitoras dentro de él; mientras que para interconexiones menores la formación de hueso es por sustitución del material.<sup>17</sup>

En estudios recientes sobre aloinjertos de hueso liofilizado (FDBA) y derivados de la matriz del esmalte (DME), se compararon cualitativa y cuantitativamente la formación ósea inducida por FDBA y DME a la de un control positivo, un recombinante de proteína morfogenética ósea recombinante humana 2 (rhBMP-2) sobre un defecto óseo de 8mm en la calvaria de rata. En los resultados del grupo de FDBA, los gránulos estuvieron presentes 8 semanas después de la implantación, y un grado limitado de osteoinducción se observó en el centro del defecto. La microtomografía computarizada mostró una capacidad limitada de FDBA y DME para inducir la formación ósea, y no hubo diferencia estadísticamente significativa entre FDBA, DME, y el control negativo. Por el contrario, el control positivo (rhBMP-2) mostró consistentemente la regeneración del hueso a través de los defectos de tamaño crítico.<sup>18</sup>

Por otro lado en otro estudio, se determinó el efecto del fosfato tricálcico (hidroxiapatita HA-TCP) contra hueso liofilizado desmineralizado en la reparación ósea en la bóveda craneal de rata. Cuarenta y cuatro ratas fueron asignadas a uno de los cuatro grupos de tratamiento: HA-TCP disco macroporoso, HA-TCP disco microporoso, gránulos HA-TCP, y el hueso desmineralizado liofilizado (FDBA). Los materiales se colocaron en la calota de rata. A las 10 semanas posteriores de la cirugía se evaluaron histomorfométricamente. El grupo FDBA tuvo significativamente más formación de nuevo hueso que cualquier otro grupo. Los HA-TCP grupo de discos macroporosa tenían significativamente más nueva formación de hueso que el disco de HA-TCP microporoso (8,5%) o que el grupo de gránulos HA-TCP (6,9%). Y se concluyó que el disco de HA-TCP macroporoso puede provocar la formación de nuevo hueso debido a su rígido mantenimiento de un espacio que sirve como andamio y al tamaño de los poros de crecimiento vascular que es bien tolerado por los tejidos del huésped y puede ser un vehículo adecuado para factores de crecimiento.<sup>19</sup>

Aunque no son semejantes los resultados obtenidos de los xenoinjertos en ratas que en humanos y más aun comparados con los aloinjertos de humanos, sin embargo la bibliografía muestra que es un método aceptable de evaluación. En nuestro estudio se evaluaron los patrones de restitución de tres materiales osteoconductivos en tibias de ratas, en tres secuencias de tiempo, haciendo una comparación con un grupo control, lo que nos permitió tener idea clara del proceso de reparación, para determinar si alguno de estos materiales favorece o perjudica la reparación.

## CONCLUSIONES

- Todos los materiales empleados fueron inocuos y tolerados por el tejido óseo de la rata
- A nuestro parecer el injerto más recomendable es el FDBA ya que resultó mejor en los criterios de evaluación que el grupo control
- Con respecto al injerto de equino no se encontraron suficientes evidencias bibliográficas de sus posibles beneficios, así como los resultados que se obtuvieron de la investigación no sería un material de primera elección.
- Recomendaríamos continuar con esta línea de investigación para tener una idea más clara de que material utilizar

## Bibliografía

- 
- 1 . Junqueira L. C. Histología Básica, 4ª Ed. E. Masson, México 1996, pp 121-141
  2. Ten Cate A. R. Histología Oral, 5ª Edición, Ed. Panamericana, Baltimore 1996, pp 146-169
  - 3 . Cormack D. H. Ham A. W. Histologia de Ham, novena edición, Ed. Interamericana, México, 1988, pp 337-87.
  4. Robbins, Patología Estructural y Funcional, sexta edición, Ed. McGraw-Hill, Interamericana, Madrid 2002, pp 1260-64.
  5. Okubo Y; Bessho K; Fujimura K; Kusumoto K; Ogawa Y; Iizuka T. Expression of bone morphogenetic protein in the course of osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein-2. Clin Oral Impl Res, 2002 ; 13: 80-85.
  6. Boyne P. Application of Bone Morphogenetic Proteins in the treatment of clinical oral and maxillofacial osseous defects. J Bone Joint Surgery, 2001; 83A (suppl. 1 part 2): 146-50.
  7. Marukawa E; Asahian I; Oda M; Seto I; Alam M; Enomoto S. Functional reconstruction of the non human primate mandible using recombinant human bone morphogenetic protein-2. Int. J. Oral & Maxillofacial Surgery, 2002; 31: 294-302.
  8. Parfitt AM. The mechanism of coupling: A role for the vasculature. Bone, 2000; April 6(4): 319- 323.
  9. Mayr-Wohlfart U; Waltenberger J; Haussre H; Kessler S; Günther KP. Vascular Endothelial Growth Factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. Bone, 2002; March 30(3): 472-77.
  10. Wolf H. F., Periodoncia, Atlas en color de odontología, 3a Edición, ed. Masson España, 2005, pp 333-54
  - 11 Alpiste Illueca F.M. Regeneración peridontal en la práctica clínica. Med. Oral, Patol. Oral Cir. Bucal 2006; 2006. Pag. 382-392

- 
12. Massimo Simon, Aumento vertical de cresta utilizando un bloque equino impregnado con factor de crecimiento-BB recombinante Humano derivado de plaquetas, Revista Internacional de Odontología Restauradora & Periodoncia, ISSN 1137-6635, Vol. 13, N° 3, 2009 , págs. 233-243.
  13. Dalkyz M, Ozcan A. Evaluation of the effects of different biomaterial on bone defects. *Implant Dent.* 2000,9(3):226-35
  14. Artzi Z. Qualitative and Quantitative expression of bovine mineral in experimental bone defects. Part I: Description of a dog model and histological observations. *J Periodontol* 2003;74(8):1143-52
  15. Keibl C, Fügl A, Zanoni G, Tangl S, Wolbank S, Redl H, Griensven M. Human adipose derived stem cells reduce callus volume upon BMP-2 administration in bone regeneration. *Injury Int J Care Injured* 2011.
  16. Melendez-Lira Caracterización estructural y biointegración del sustituto óseo BioOsteo, *Revista Mexicana de Física*, 50 (1) 19-23, Febrero 2004
  17. Nandi SK, Kundu B, Datta S, De DK, Basu D. The repair of segmental bone defects with porous bioglass: An experimental study in goat. *Research in Veterinary Science* 2009; (86): 162–173
  18. Giuseppe Intini, 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;79:1217-1224
  19. Kurt B. Fleckenstein, Effect of a Hydroxyapatite Tricalcium Phosphate Alloplast on Osseous Repair in the Rat Calvarium, *J Periodontol* 2006;77:39-45.