

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía

Tesis Doctoral



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

**D. Javier Flores Fraile**

---

Directores:

**Pr. Dr. D. Antonio López-Valverde Centeno**

**Pr. Dra. Dña. Leticia Alejandra Blanco Antona**

**Salamanca, 2016**

Tesis Doctoral

**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos postextracción.**

**Ensayo clínico randomizado comparativo”.**



**VNiVERSIDAD  
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

**D. Javier Flores Fraile**

---

Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina.

2016

Tesis doctoral

**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos postextracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**



VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

**D. Javier Flores Fraile**

---

Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina.

2016

# Universidad de Salamanca

Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina.

Tesis doctoral

**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos postextracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

**D. Javier Flores Fraile**

---

**2016**

Directores:

Prof. Dr. D. Antonio López-Valverde Centeno, Contratado Doctor del Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca.

Prof. Dra. Dña. Leticia Alejandra Blanco Antona, Profesora Asociada del Departamento de Cirugía de la Universidad de Salamanca.

## DECLARACIÓN

PROF. DR. D. ANTONIO LÓPEZ-VALVERDE CENTENO, CONTRATADO DOCTOR DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

PROF. DRA. DÑA. LETICIA A. BLANCO ANTONA, PROFESORA ASOCIADA DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

## CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado: **“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss® en la regeneración de alveolos postextracción. Ensayo clínico randomizado comparativo”**, que presenta **D. Javier Flores Fraile**, ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Cirugía, y reúne, a su juicio, originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el tribunal correspondiente y optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que conste, y a los efectos oportunos, expiden el presente certificado en Salamanca a 28 de Abril de dos mil dieciséis.

D. Antonio López-Valverde Centeno

Dña. Leticia A. Blanco Antona

**PROF. DR. D. FRANCISCO SANTIAGO LOZANO SÁNCHEZ, CATEDRÁTICO DE CIRUGÍA VASCULAR. DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

CERTIFICA QUE:

La presente Tesis Doctoral, titulada **“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss® en la regeneración de alveolos postextracción. Ensayo clínico randomizado comparativo”**, realizada por **D. Javier Flores Fraile** para optar al Grado de Doctor en Cirugía y Odontoestomatología por la Universidad de Salamanca, cumple todos los requisitos necesarios para su presentación y defensa ante el tribunal calificador.

Y para que así conste a los efectos oportunos, expido el siguiente certificado en Salamanca, a 28 de Abril de dos mil dieciséis.

Fdo. Prof. Dr. Francisco S. Lozano Sánchez

El presente proyecto doctoral ha sido financiado y llevado a cabo en el ámbito de un proyecto colaborativo INNPACTO, enmarcado en el Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica, del Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España (BOE-A-2009-9891).

Ref. IPT-2012-0560-010000.

**2016**

## **Agradecimientos**

En primer lugar agradecer a mis directores, la aceptación en la supervisión y realización de esta tesis, sin ellos no hubiese sido posible el desarrollo de la misma.

Agradecer a Antonio su inestimable ayuda durante todo este período y, lo más importante, por ofrecerme su amistad. Gracias por confiar en mí y permitirme formar parte de tu equipo. Porque sin ti, nada hubiese sido posible.

A Leticia, agradecerle todo. Compañera, jefa, y hermana mayor universitaria. A ella le debo gran parte el camino recorrido. Gracias por la confianza ofrecida desde que nos conocimos. Agradecerte la lucha y entrega que me has demostrado.

Un proyecto de investigación, un nuevo producto... es fruto de ideas, inquietudes y esfuerzos previos de otras personas, sin las cuales nada de esto sería posible, por ello quiero agradecerle a Arcadio García de Castro Andrews, su aporte a la ciencia, su amabilidad y su gran contribución en esta tesis. Gracias amigo Arcadio por permitirme mostrar al mundo los progresos que tú, y tu equipo de Azurebio S.L. habéis desarrollado.

Quiero agradecer la colaboración de todo el equipo profesional que hizo posible el desarrollo de este proyecto, sin olvidarme del departamento de histología por su gran contribución en este trabajo.

También agradecer al personal de la Clínica odontológica de la USAL, su ayuda y disponibilidad. En especial a José Miguel Sánchez Llorente por su entrega en muchos momentos...gracias por tu eficacia.

A Javier Montero, por su afecto, respeto, amabilidad y confianza depositada.

A mis padres, por estar a mi lado siempre en los buenos y malos momentos... por su apoyo incondicional, su confianza extrema y cariño eterno.

A mis hermanas María y Lucía, por ser un gran apoyo, por todo lo que hemos vivido los tres juntos, y por todo lo que nos depara el futuro.

*A mi familia,  
Y a todas aquellas personas que confían en mí.*

*“Confía en el tiempo, que suele dar dulces salidas a muchas amargas dificultades”.*

Miguel de Cervantes Saavedra

# ÍNDICE

<b>I. PRESENTACIÓN .....</b>	<b>2</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>6</b>
1- TEJIDO ÓSEO .....	8
1.1 Biología ósea. Osteología .....	8
1.2 Composición del tejido óseo.....	10
1.2.1 Matriz orgánica .....	10
1.2.2 Matriz inorgánica mineralizada .....	14
1.2.3 Células óseas .....	16
1.2.3.2 Células mesenquimales .....	16
1.2.3.2 Osteoblastos .....	17
1.2.3.3 Osteocitos .....	21
1.2.3.4 Osteoclastos .....	22
1.3 Organización estructural del tejido óseo .....	24
1.3.1 Estructura global ósea .....	26
1.3.2 Estructura macroscópica ósea .....	26
1.3.3 Estructura microscópica ósea .....	26
1.3.3.1 Tejido óseo plexiforme .....	27
1.3.3.2 tejido óseo haversiano .....	27
1.3.3.3 Tejido óseo laminar .....	28
1.4 Tipos de tejido óseo .....	29
1.5 Funciones del tejido óseo .....	31
1.6 Origen embriológico del hueso .....	31
1.7 Remodelación ósea .....	33
1.8 Reparación ósea .....	36

2- REGENERACIÓN ALVEOLAR DE LOS MAXILARES .....	36
2.1 Defectos óseos maxilares .....	36
2.2 Remodelación del hueso alveolar .....	37
2.2.1 Influencia de los cambios dimensionales del reborde .....	41
2.3 Regeneración del tejido óseo .....	46
2.3.1 Sustitutos óseos .....	47
2.3.2 Injertos óseos .....	47
2.3.2.1 Autoinjerto .....	49
2.3.2.2 Aloinjerto .....	51
2.3.2.3 Isoinjerto .....	51
2.3.2.4 Xenoinjerto .....	52
3- BIOMATERIALES .....	52
3.1 Biomateriales y regeneración ósea .....	53
3.1.1 Biomateriales naturales .....	57
3.1.1.1 Derivados coralinos .....	57
3.1.1.2 Matriz ósea desproteinizada .....	58
3.1.1.2.1 Bio-Oss® .....	58
3.1.2 Biomateriales sintéticos .....	60
3.1.2.1 Biomateriales poliméricos .....	61
3.1.2.2 Biomateriales metálicos .....	62
3.1.2.3 Biomateriales cerámicos .....	63
3.1.2.3.1 Cerámicas inertes .....	65
3.1.2.3.2 Cerámicas bioactivas .....	65
3.1.2.3.2.1 Fosfatos de calcio .....	66
3.1.2.3.2.2 Vidrios bioactivos .....	70
3.1.2.3.2.3 Vitrocerámicas .....	73
3.1.2.3.2.4 Silicatos bioactivos .....	74

3.1.2.3.3 Cerámicas bioreabsorbibles .....	76
3.1.3 Biomateriales compuestos o composites .....	76
3.1.4 Biomateriales en forma de cemento .....	77
3.1.4.1 Cementos de fosfato de calcio .....	77
3.2 Sil-Oss nuevo material regenerativo .....	83
3.2.1 Fabricación .....	83
3.2.2 Indicaciones .....	86
3.2.3 Evaluación preclínica de Sil-Oss® .....	87
<b>III. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....</b>	<b>90</b>
1- JUSTIFICACIÓN .....	92
2- OBJETIVOS .....	93
2.1 Objetivo primario .....	94
2.2 Objetivo secundario .....	94
3- HIPÓTESIS .....	95
3.1 Hipótesis específicas .....	95
<b>IV. MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>96</b>
1- MATERIALES E INSTALACIONES DISPONIBLES .....	98
1.1 Materiales .....	98
1.1.1 Material regenerador Bio-Oss® .....	98
1.1.2 Material regenerador Sil-Oss® .....	99
1.1.3 Membrana de colágeno Bio-Gide® .....	100
1.1.4 Sutura .....	101
1.1.5 Instrumental quirúrgico .....	101
1.2 Instalaciones .....	105

1.2.1 Clínica odontológica .....	105
1.2.2 Instalación CBCT .....	111
2- MÉTODO .....	112
2.1 Sujetos de estudio .....	112
2.1.1 Criterios de inclusión en el estudio .....	112
2.1.2 Criterios de exclusión en el estudio .....	112
2.1.3 Criterios para la interrupción en la participación .....	113
2.1.4 Determinación del tamaño muestral .....	114
2.1.5 Asignación del tratamiento .....	115
2.2 Protocolo de actuación .....	115
2.2.1 Reclutamiento: recopilación de datos iniciales e identificación .....	116
2.2.2 Protocolo quirúrgico .....	119
2.2.2.1 Primera fase quirúrgica .....	119
2.2.2.2 Protocolo de seguimiento de primera fase quirúrgica .....	126
2.2.2.3 Segunda fase quirúrgica .....	126
2.2.2.4 Protocolo de seguimiento de segunda fase quirúrgica .....	131
2.3 Protocolo histológico .....	133
2.4 Protocolo de evaluación .....	140
2.4.1 Evaluación de efectos adversos .....	140
2.4.2 Evaluación del volumen óseo. Medidas intraoperatorias del reborde ...	141
2.4.3 Diagnóstico y evaluación mediante TAC cónico .....	142
2.4.4 Evaluación histológica .....	144
2.4.5 Evaluación radiográfica. Ortopantomografía .....	145
2.5 Análisis estadístico de los resultados .....	145

## **V. RESULTADOS ..... 146**

1- PACIENTES EVALUABLES .....	148
2- EVALUACIÓN DE EFECTOS ADVERSOS .....	149
2.1 Datos registrados en la retirada de la sutura 8-10 días .....	150
2.2 Datos registrados en la visita de seguimiento a las 3 Semanas .....	151
2.3 Datos registrados en la visita de seguimiento a las 6 Semanas .....	152
2.4 Datos registrados en la visita de seguimiento a las 12 Semanas .....	153
2.5 Datos registrados en la visita de seguimiento a las 26 Semanas .....	154
2.6 Agrupación y análisis de datos para la evaluación de efectos adversos .....	155
3- EVALUACIÓN DE VOLUMEN DE CRESTA .....	157
3.1 Mediciones registradas en la visita 0. Acto quirúrgico .....	157
3.2 Mediciones registradas en la visita 26. Acto quirúrgico .....	158
3.3 Agrupación de las medidas intraoperatorias obtenidas .....	160
3.4 Análisis estadístico de variación de anchura y variación de altura ... ..	161
4- EVALUACIÓN TOMOGRÁFICA .....	162
4.1 Densidad de alveolos tratados con Bio-Oss® .....	162
4.2 Densidad de alveolos tratados con Sil-Oss® .....	163
4.3 Análisis estadístico de la diferencia de densidad, entre Bio-Oss® y Sil-Oss® .....	165
5- EVALUACIÓN HISTOLÓGICA .....	166
5.1 Análisis de los resultados histológicos .....	216
6- EVALUACIÓN CLÍNICA DEL HUESO REGENERADO .....	222
6.1 - Seguimiento clínico a las 52 semanas .....	224
6.2 - Seguimiento clínico a las 56 semanas .....	232
6.3 - Seguimiento clínico a los 24 meses .....	238

<b>VI. DISCUSIÓN</b> .....	<b>248</b>
<b>VII. CONCLUSIONES</b> .....	<b>268</b>
<b>VIII. REFERENCIAS</b> .....	<b>271</b>

## **ANEXOS**

- Ia. Autorización de investigaciones clínicas Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios (AEMPS).
- Ib. Comité de bioética (CBE) de la Universidad de Salamanca.
- Ic. Comité ético de investigación clínica del Hospital universitario de Salamanca.
- Id. Conformidad clínica. Vicerectorado de investigación y clínica odontológica.
- II. Consentimiento Informado y hoja de información del paciente.

## ÍNDICE DE FIGURAS

### 1. INTRODUCCIÓN

Fig.1. Estructura cristalina de la hidroxiapatita.	Página 9
Fig.2. Estructura de la hélice de colágeno. Corte frontal y sagital.	Página 11
Fig.3. Esquema Stem cell. Células óseas progenitoras.	Página 17
Fig.4. Imagen histológica de osteoblastos (círculo rojo).	Página 18
Fig. 5. Imagen histológica de un osteocito (círculo rojo).	Página 20
Fig.6. Imagen histológica de un osteoclasto (círculo rojo).	Página 22
Fig.7. Esquema de la organización estructural del hueso.	Página 24
Fig.8. Esquema estructura ósea.	Página 26
Fig.9. Corte histológico de hueso cortical.	Página 29
Fig.10. Corte histológico de hueso esponjoso.	Página 30
Fig.11. Estructura cristalina wollastonita.	Página 74
Fig.12. Micrografías de la superficie del granulado (a-d). Micrografía transversal del granulo (e).	
Curvas de volumen Hg y distribución de tamaño de poro (f).	Página 85

### 2. MATERIAL Y MÉTODO

Fig.13. Envase comercial de Bio-Oss®.	Página 98
Fig.14. Envase comercial de Sil-Oss®.	Página 100
Fig.15. Presentación membrana Bio-Gide®.	Página 100
Fig.16. Presentación sutura Supramid® 5/0.	Página 101
Fig.17. Campo quirúrgico básico.	Página 102
Fig.18. Material de anestesia.	Página 103
Fig.19. Trefinas.	Página 103
Fig.20. Caja quirúrgica BTI.	Página 104
Fig.21. Implantes dentales BTI conexión interna.	Página 104

Fig.22. Clínica Odontológica de la Universidad de Salamanca.	Página 105
Fig.23. Boxes odontológicos.	Página 106
Fig.24. Dispensario.	Página 107
Fig.25. Sala de esterilización.	Página 108
Fig. 26. Sala de RX intraoral.	Página 108
Fig.27. Sala de ortopantomografía.	Página 109
Fig.28. Ortopantomógrafo.	Página 110
Fig.29. Equipo TAC haz helicoidal.	Página 111
Fig.30. Pieza dental a extraer. Exodoncia.	Página 120
Fig.31. Legrado y limpieza del alveolo tras la extracción dental.	Página 120
Fig.32. Esquema medidas intraoperatorias del alveolo postextracción.	Página 121
Fig.33. Medidas intraoperatorias del alveolo.	Página 122
Fig.34. Hidratación del material regenerador.	Página 123
Fig.35. Colocación y compactación del biomaterial en el alveolo fresco y legrado.	Página 123
Fig.36. Membrana Bio-Gide®. Hidratación de la membrana.	Página 124
Fig.37. Membrana ubicada coronalmente al área regenerada.	Página 124
Fig.38. Cierre y sutura del alveolo a regenerar.	Página 125
Fig.39. Tramo regenerado previo a la segunda fase quirúrgica. Exposición de zona regenerada.	Página 127
Fig.40. Obtención de biopsia mediante trefina.	Página 128
Fig.41. Orificio trefina.	Página 128
Fig.42. Biopsia ósea en interior de trefina.	Página 129
Fig.43. Biopsia en formalina.	Página 129
Fig.44. Colocación de implante y sutura.	Página 130
Fig.45. Fotografía microscópica de muestra ósea mediante tinción Goldner.	Página 137
Fig.46. Fotografía microscópica de muestra ósea mediante tinción Von Kossa.	Página 139

Fig.47. Esquema de mediciones tomográficas empleadas. Página 142

Fig.48. TAC realizado. Página 143

### 3. RESULTADOS

Fig.51. Diagrama de Whisker para la diferencia de densidad (Hu). Página 164

Fig. 52. Diferencia de densidad observada en el TAC. Página 165

#### Biopsia 1-RMM-25:

Fig.53. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 166

Fig.54. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Página 166

Fig.55. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 167

Fig.56. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 167

#### Biopsia 2-DMM-15:

Fig.57. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 168

Fig.58. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Página 168

Fig.59. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 169

#### Biopsia 3-IGM-24:

Fig.60. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 169

Fig.61. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Página 170

Fig.62. Tricrómico de Goldner. 4X. Página 170

Fig.63. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 171

Fig.64. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 171

Fig.65. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 172

Biopsia 4-EMB-14:

Fig.66. Tricrómico de Goldner. 2x. Panorámica.	Página 172
Fig.67. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 173
Fig.68. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 173
Fig.69. Tricrómico de Goldner. 10X.	Página 174

Biopsia 5-JPD-24:

Fig.70. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.	Página 174
Fig.71. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x.	Página 175
Fig.72. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 175
Fig.73. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 176
Fig.74. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 176
Fig.75. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 177

Biopsia 6-LMR-15:

Fig.76. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.	Página 177
Fig.77. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x.	Página 178
Fig.78. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 178
Fig.79. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 179

Biopsia 7-GSM-14:

Fig.80. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.	Página 179
Fig.81. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x.	Página 180
Fig.82. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 180
Fig.83. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 181
Fig.84. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 181

Biopsia 8-JCS-24:

Fig.85. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.	Página 182
Fig.86. Von Kossa de la muestra ósea.	Página 182
Fig.87. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 183

Biopsia 9-JMH-25:

Fig.88. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 183

Biopsia 10-EGA-25:

Fig.89. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 184

Fig.90. Tricrómico de Goldner. Panorámica 10x. Página 184

Biopsia 11-JVS-15:

Fig.91. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 185

Fig.92. Tricrómico de Goldner. Panorámica 10x. Página 185

Fig.93. Tricrómico de Goldner. Panorámica 10x. Página 186

Biopsia 11-JVS-24:

Fig.94. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 186

Biopsia 12-MZS-25:

Fig.95. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 187

Fig.96. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Página 187

Fig.97. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 188

Biopsia 13-EHL-24:

Fig.98. Tricrómico de Goldner. 2x. Página 188

Biopsia 14-IFA-14:

Fig.99. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 189

Fig.100. Tricrómico de Goldner 10x. Página 189

Fig.101. Tricrómico de Goldner 10x. Página 190

Biopsia 15-NMP-15:

Fig.102. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 190

Fig. 103. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 191
Fig.104. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 191
Fig.105. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 192

Biopsia 16-DRG-25:

Fig.106. Tricrómico de Goldner. 2x Panorámica.	Página 192
--	------------

Biopsia 17-RRL-24:

Fig.107. Tricrómico de Goldner. 2x Panorámica.	Página 193
Fig.108. Von Kossa.2x Panorámica.	Página 193
Fig.109. Tricrómico de Goldner. 4x.	Página 194
Fig.110. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 194
Figura.111. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 195

Biopsia 18-CRG-25 superficial:

Fig.112. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.	Página 195
Fig.113. Tricrómico de Goldner .4x.	Página 196
Fig.114. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 196
Fig. 115. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 197
Fig.116. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 197
Fig.117. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 198

Biopsia 18-CRG-25 profundo :

Fig. 118. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.	Página 198
---	------------

Biopsia 19-MIP-25:

Fig.119. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.	Página 199
Fig.120. Tricrómico de Goldner. 10x.	Página 199
Fig.121. Tricrómico de Goldner. 20x.	Página 200

Biopsia 22-SMH-14:

Fig. 122. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 200

Biopsia 22-SMH-24:

Fig.123. Von Kossa. Panorámica 2x Página 201

Fig.124. Tricrómico de Goldner. Panorámica 4x. Página 201

Biopsia 23-JRV-14:

Fig.125. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 202

Fig.126. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 202

Fig.127. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 203

Biopsia 23-JRV-25:

Fig.128. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 203

Fig.129. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 204

Biopsia 24-CIP-25:

Fig.130. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 204

Fig.131. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 205

Fig.132. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 205

Fig.133. Tricrómico de Goldner. 20x. Página 206

Fig.134. Tricrómico de Goldner. 20x. Página 206

Fig.135. Tricrómico de Goldner. 20x. Página 207

Biopsia 25-FSH-25:

Fig.136. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 207

Fig.137. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 208

Biopsia 26-AGP-14:

- Fig.138. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 208  
Fig.139. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 209

Biopsia 27-MJL-14:

- Fig.140. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 209  
Fig.141. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 210

Biopsia 28-CMC-25:

- Fig.142. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 210  
Fig.143. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 211

Biopsia 31-JGR-15:

- Fig.144. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 211  
Fig.145. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 212

Biopsia 31-JGR-24:

- Fig.146. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 212  
Fig.147. Tricrómico de Goldner. 4x. Página 213  
Fig.148. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 213  
Fig.149. Tricrómico de Goldner. 20x. Página 214

Biopsia 32-MRB-24:

- Fig.150. Von Kossa. Página 214  
Fig.151. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 215

Biopsia 33-SBG-14:

- Fig.152. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Página 215  
Fig.153. Tricrómico de Goldner. 10x. Página 216

Fig.154. Imagen histológica de partícula de Sil-Oss® osteointegrada.	Página 217
Fig.155. Espícula ósea neoformada a partir de Sil-Oss®.	Página 218
Fig.156. Depósito de matriz ósea sobre gránulo de Sil-Oss®.	Página 218
Fig.157. Trabécula con deficiencia de mineralización y material osteointegrado.	Página 219
Fig.158. Matriz orgánica ósea alrededor el material. Zona de hueso neoformado primario.	Página 219
Figura.159. Colonización celular en interior de gránulo de Sil-Oss®.	Página 220
Figura.160. Osteoclastos sobre superficie de gránulo de Sil-Oss® osteointegrado.	Página 221
Fig. 161. Ortopantomografía RMM25.	Página 225
Fig. 162. Ortopantomografía DMM15.	Página 225
Fig. 163. Ortopantomografía IGM24.	Página 226
Fig. 164. Ortopantomografía NMP15.	Página 226
Fig. 165. Ortopantomografía AGP14.	Página 227
Fig. 166. Ortopantomografía SBG14.	Página 227
Fig. 167. Ortopantomografía EHL24.	Página 228
Fig. 168. Ortopantomografía CIP25.	Página 228
Fig. 169. Ortopantomografía EGA25.	Página 229
Fig. 170. Ortopantomografía CMC25.	Página 229
Fig. 171. Ortopantomografía SMH1425.	Página 230
Fig. 172. Ortopantomografía MIP25.	Página 230
Fig. 173. Ortopantomografía RRL24.	Página 231
Fig. 174. Ortopantomografía MJLH14.	Página 231
Fig. 175. Ortopantomografía DRG25.	Página 232
Fig. 176. RMM25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 233
Fig. 177. DMM15. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 233
Fig. 178. IGM24. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 233
Fig. 179. NMP14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 234
Fig. 180. AGP14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página234

Fig. 181. SBG14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 234
Fig. 182. EHL24. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 235
Fig. 183. CIP25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 235
Fig. 184. EGA25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 235
Fig. 185. CMC25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 236
Fig. 186. SMH15. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 236
Fig. 187. SMH25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 236
Fig. 188. MIP25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 237
Fig. 189. RRL25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 237
Fig. 190. MJLH14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 237
Fig. 191. DRG215. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.	Página 238
Fig. 192. Ortopantomografía 24 meses. EMB14.	Página 238
Fig. 193. Ortopantomografía 24 meses. FSH25.	Página 239
Fig. 194. Ortopantomografía 24 meses. JHM25.	Página 239
Fig. 195. Ortopantomografía 24 meses. CMC25.	Página 240
Fig. 196. Ortopantomografía 24 meses. JRV1425.	Página 240
Fig. 197. Ortopantomografía 24 meses. RRL24.	Página 241
Fig. 198. Ortopantomografía 24 meses. SMH1524.	Página 241
Fig. 199. Ortopantomografía 24 meses. MZ25.	Página 242
Fig. 200. EMB14. Sil-Oss®.	Página 243
Fig. 201. JHM25. Sil-Oss®.	Página 244
Fig. 202. MZH25. Sil-Oss®.	Página 244
Fig. 203. SMH14. Sil-Oss®.	Página 245
Fig. 204. JRV 14 Bio-Oss® vs 25 Sil-Oss®.	Página 245
Fig. 205. FSH25 Bio-Oss®.	Página 246
Fig. 206. CMC25. Bio-Oss®.	Página 246

## 4. DISCUSIÓN

Fig. 207. Porosidad en partículas de Bio-Oss®.	Página 255
Fig. 208. Porosidad de partícula de Sil-Oss®.	Página 256
Fig. 209. Histología 3 vs 6 meses tras la implantación de Bio-Oss®.	Página 260
Fig. 210. Derecha: material a base de monetita. Izquierda: material control: Bio-Oss®.	Página 261
Fig. 211. Gráfica de resultados cuantitativos en cuanto a la tasa de hueso nuevo formado, y reabsorción entre ambos materiales.	Página 262
Fig. 212. Comparativa de muestras a nivel de reabsorción.	Página 263

## ÍNDICE DE TABLAS

### **1. INTRODUCCIÓN**

Tabla 1. Propiedades de los distintos tipos de injertos óseos.	Página 49
Tabla 2. Evolución histórica de los materiales de regeneración ósea.	Página 54
Tabla 3. Materiales comercializados en Europa.	Página 56
Tabla 4. Estudios preclínicos realizados con Sil-Oss®.	Página 87

### **2. MATERIAL Y MÉTODO**

Tabla 5. Organización del protocolo de actuación cronológicamente.	Página 116
Tabla 6. Pacientes admitidos. Asignación de código y tratamiento.	Página 118

### **3. RESULTADOS**

Tabla 7. Pacientes admitidos y reclutados.	Página 148
Tabla 8. Efectos adversos a los 8-10 días.	Página 150
Tabla 9. Efectos adversos a las 3 semanas.	Página 151
Tabla 10. Efectos adversos a las 6 semanas.	Página 152
Tabla 11. Efectos adversos a las 12 semanas.	Página 153
Tabla 12. Efectos adversos a las 26 semanas.	Página 154
Tabla 13. Agrupación de datos por material y periodo de tiempo.	Página 155
Tabla 14. Diferencias observadas.	Página 156
Tabla 15. Análisis estadístico para “Dolor” en ambos grupos.	Página 156
Tabla 16. Análisis estadístico para “Inflamación” en ambos grupos.	Página 157
Tabla 17. Medidas intraoperatorias. Semana 0.	Página 158
Tabla 18. Medidas intraoperatorias. Semana 26.	Página 159
Tabla 19. Agrupación de medidas.	Página 161
Tabla 20. Análisis estadístico para la variación de anchura y variación de altura de las medidas intraoperatorias obtenidas la semana 0 y semana 26.	Página 161

Tabla 21. Diferencia de densidad (HU). Alveolos tratados con Bio-Oss®.	Página 162
Tabla 22. Diferencia de densidad (HU). Alveolos tratados con Sil-Oss®.	Página 163
Tabla 23. Análisis estadístico de la diferencia de densidad.	Página 165
Tabla 24. Registro de pacientes que acuden a la visita de seguimiento a las 52 semanas.	Página 224
Tabla 25. Pacientes que acuden al seguimiento tras 24 meses.	Página 242

## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

**Å:** Ångström.

**ARN:** Ácido ribonucleico.

**BMPs:** Proteínas morfogenéticas del hueso.

**B-P:** Ancho de Cresta Palatal-Lingual.

**P-Bw:** Ancho de tabla ósea Palatal.

**B-Bw:** Ancho de tabla ósea Bucal.

**b-TCP:** Beta fosfato tricálcico.

**Ca<sup>2+</sup>:** Calcio

**Ca:** Corte Apical.

**CaO:** Óxido de calcio.

**Cc:** Corte Crestal.

**Cl<sup>-</sup>:** Cloruro.

**cm:** Centímetro

**Cm:** Corte Medio.

**Co:** Corte Ortoradial.

**COFC:** Cemento óseo a base de fosfato cálcico.

**CRA:** Ápice del alveolo regenerado.

**Crc:** Área contralateral.

**CSF-1:** Macrophage-colony stimulating factor.

**DCPD:** Cemento de dihidrato dicálcico "Brushita".

**Dd:** Distancia entre dientes (si los dos están presentes).

**Ddh:** Altura cresta cemento del diente distal contiguo.

**DMP1:** Proteína de la matriz dentinaria.

**EMC:** Matriz extracelular.

**ePTFE:** Politetrafluoroetileno.

**F<sup>-</sup>:** Fluoruro.

**g:** Gramo.

**GPa:** Giga pascales.

**h:** Altura a Nacimiento de Dientes.

**HA:** Hidroxiapatita.

**HCl:** Ácido clorhídrico.

**Hu:** Housfield.

**HV:** Dureza Vickers.

**IGF1:** Factor de crecimiento insulínico tipo 1.

**IGF2:** Factor de crecimiento insulínico tipo 2.

**kGy:** KiloGray

**Mbh:** Altura cresta cemento del diente mesial contiguo.

**M-Da:** Anchura del alveolo.

**M-Dd:** Anchura de espacio entre dientes (si los dos están presentes).

**m:** Metro.

**mA:** Miliamperios.

**mg:** Miligramo.

**mm:** Milímetro.

**mmol:** Minimoles .

**MMPs:** Matriz metaloproteinasas.

**MGP:** Proteína Gla de la matriz.

**nm:** Nanómetro.

**OCN:** Osteocalcina.

**OPG:** Osteoprotegerina.

**OPN:** Osteopontina.

**Pf.B:** Profundidad hasta el borde bucal.

**Pf.P:** Profundidad hasta el borde palatal.

**Pf.M:** Profundidad hasta el borde mesial.

**Pf.D:** Profundidad hasta el borde distal.

**PMMA:** Polimetacrilato de metilo.

**PO<sub>4</sub>:** Fosfato

**PTH:** Paratohormona.

**PRP:** Plasma rico en plaquetas.

**RANKL:** Ligando de receptor activador para el factor nuclear κ-B.

**RGD:** Péptido Arg-Gly-Asp.

**ROG:** Regeneración ósea guiada.

**RRR:** Reducción del rebote residual.

**SCH:** Sulfato de calcio hemihidratado.

**Si:** Silicio.

**SIBLINGS:** Small integrin binding ligand, N-linked Glycoprotein.

**TAC:** Tomografía axial computarizada.

**TCP:** Fosfato tricálcico.

**TGF B:** Factor de crecimiento transformante *beta*.

**UBMs:** Unidades básicas multicelulares.

**μm:** Micra.

Tesis doctoral

**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos postextracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**



**VNiVERSIDAD  
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

**D. Javier Flores Fraile**

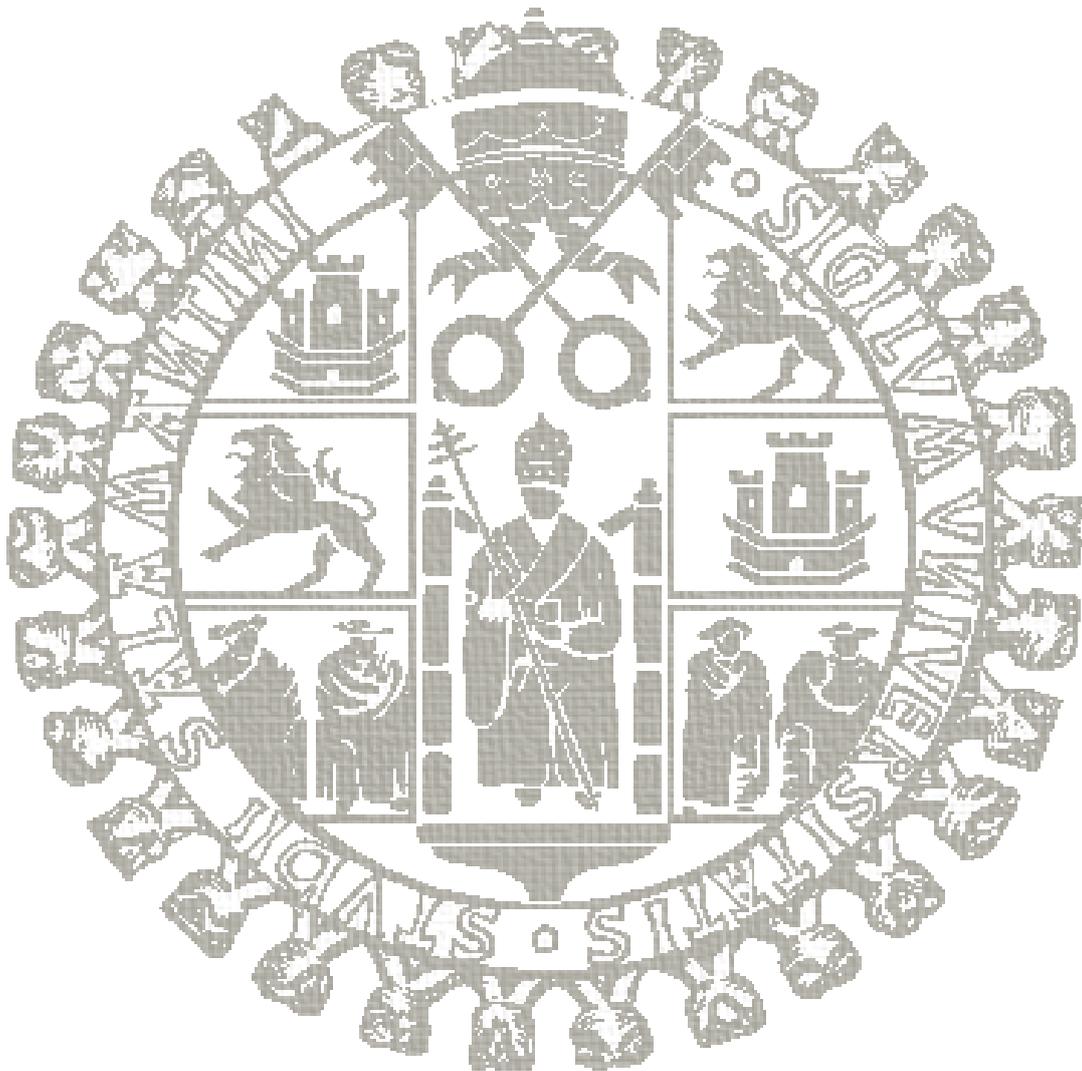
---

Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina.

2016

Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# I. PRESENTACIÓN



Con esta presentación se pretende introducir al lector en el tema objeto de esta tesis, facilitando su lectura y permitiendo que el prefacio cumpla la misión que le corresponde, anteponiéndose a la obra.

A día de hoy, el mundo científico busca desesperadamente resolver los problemas que hasta ahora nadie ha podido solucionar, los progresos de la ciencia y el afán de los investigadores a lo largo de los últimos siglos hacen patente este hecho.

La literatura científica disponible gracias a investigadores y compañeros de profesión, hacen posible el progreso y el desarrollo de nuevas líneas de investigación. No obstante la presencia de este legado científico no fue posible hasta finales del siglo XX, cuando los investigadores y científicos del momento dejaron de lado sus laboratorios para dar a conocer a la sociedad sus progresos, permitiendo así una aplicabilidad y difusión inexistente hasta la fecha.

En el mundo odontológico apenas existe un legado científico extenso, debido a la relativa nueva implantación de esta especialidad médica. Esta escasa tradición científica pretende ser impulsada por este trabajo el cual demuestra que a pesar de los adelantos biomédicos; existen territorios no explorados y con un gran potencial científico.

La regeneración de los defectos óseos, la tecnología de los biomateriales y su aplicabilidad clínica son los pilares centrales sobre los que versa el presente trabajo.

Temas que tradicionalmente han ido evolucionando a lo largo de los siglos y que a día de hoy es una de las metas a las que el cirujano bucal pretende alcanzar, consiguiendo de este modo, rehabilitar a sus pacientes con el mayor éxito posible, a pesar de que las condiciones biológicas no lo permitiesen en un primer momento.

La pérdida de tejido óseo a nivel oral ha sido uno de los mayores problemas a los que el odontólogo y cirujano bucal se ha tenido que hacer frente con relativa solvencia clínica.

Tradicionalmente la alternativa clínica para dar solución a los maxilares atróficos se fundamentaba en los autoinjertos de hueso esponjoso, bien sea de zonas extraorales (hueso ilíaco, tibia, calota craneal...) o intraorales (mentón, tuberosidad, rama mandibular...), dependiendo de cada caso clínico y de las preferencias del cirujano.

Actualmente el desarrollo de la cirugía dental e implantológica, ha permitido la rehabilitación completa de los pacientes edéntulos gracias al desarrollo de distintos materiales osteoconducivos que favorecen el fenómeno de la regeneración ósea, evitando así los autoinjertos.

Estos neoinjertos óseos a partir de un material sintético, además de facilitar la colocación de los sistemas de sustitución dentaria, favorecen la recuperación de tejidos estructurales adyacentes que rehabilitan completamente el aparato estomatognático del paciente.

Los biomateriales sintéticos óseos, son por tanto la alternativa actual de la cirugía bucal para dar solución a la reducción del volumen óseo de los maxilares, constatando su eficacia en el trabajo que presento y los resultados obtenidos del mismo.

Por lo tanto, los resultados obtenidos en este trabajo cumplen satisfactoriamente la hipótesis planteada en un inicio, mostrando que el nuevo biomaterial Sil-Oss® es seguro y eficaz en la regeneración ósea de los alveolos post-extracción.

Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# I. INTRODUCCIÓN



## 1. - TEJIDO ÓSEO

La regeneración del tejido óseo por medio de biomateriales, necesita apoyarse en un conocimiento profundo de la anatomía y biomecánica del hueso, así como de los procesos que dan lugar al crecimiento óseo y a la reparación de fracturas. Estas son las razones por las que describimos importantes conceptos del tejido óseo, que ayudan a comprender su composición, estructura, propiedades y mecanismos de reparación.

### 1.1 - BIOLOGÍA ÓSEA. OSTEOLOGÍA

El tejido óseo es una variedad de tejido conjuntivo que se caracteriza por su rigidez y por su gran resistencia tanto a la tracción, como a la compresión (Fawcett DW, 1995).

Este tejido, representa el componente principal del esqueleto, formado por 206 huesos en el organismo, el cual tiene un peso de aproximadamente 9 kg. El esqueleto proporciona el marco estructural para el apoyo y protección de los diferentes órganos del cuerpo. Además, los huesos proveen los puntos de sujeción a la musculatura responsable del movimiento corporal y la locomoción, conforman la reserva principal de minerales en el organismo y alojan la médula ósea que produce y suministra las células hematopoyéticas (Olszta MJ, 2007).

Se considera un tejido dinámico; ya que realiza un continuo cambio morfológico y fisiológico, experimentando fenómenos de crecimiento, modelado, remodelado y reparación (Bostrom M, 2000).

El hueso es un tejido conectivo mineralizado especializado que contiene principalmente: fosfato de calcio (45%), agua (20%) contenida principalmente en la sangre y la médula ósea, y una matriz orgánica (35%) fundamentalmente compuesta de colágeno tipo I, osteonectina, osteocalcina, proteína morfogénica del hueso, proteoglicano óseo y sialoproteína ósea. Su matriz mineral está formada por cristales de hidroxiapatita (HA) ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) de baja cristalinidad (Figura 1) y deficiente en calcio (Ten Cate AR, 1986). El ratio de componentes inorgánicos / orgánicos es de aproximadamente 75 / 25 en peso y 65 / 35 en volumen (LeGeros RZ, 2002).

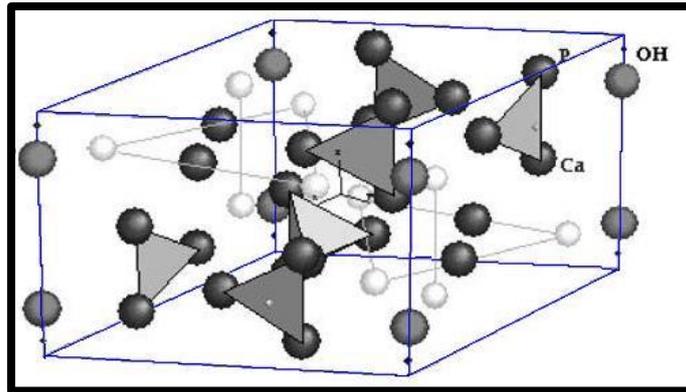


Fig.1. Estructura cristalina de la hidroxiapatita. Imagen (Vallet-Regí M, 2004).

Este tejido presenta una serie de funciones principales tales como:

- La protección de numerosos órganos y soporte del cuerpo, ejercidas gracias a su resistencia, dureza y elasticidad, así como el control y mantenimiento de estas propiedades realizado por medio de la adaptación a las distintas situaciones biológicas (Bauer TW, 2002).
- La no formación de capa fibrosa cuando es dañado, algo que le diferencia del resto de tejidos. La respuesta del hueso ante cualquier agresión es la regeneración de nuevo tejido y su posterior remodelación en la dirección de las tensiones locales, siendo ocasionalmente suficiente la dinámica del organismo para reconstruir el defecto.
- Permite la homeostasis mineral (calcio, fósforo, magnesio). Es el reservorio principal del organismo de iones de calcio y fósforo; interviniendo como tejido regulador de la concentración de calcio y fósforo en los fluidos corporales; logrando el correcto funcionamiento de algunos procesos físico-químicos. El tejido óseo almacena casi el 99 % del calcio del organismo lo que corresponde aproximadamente a 1.200g de los cuales sólo 900 mg se encuentran en el líquido extracelular (Mariñoso ML, 1999).

- Alberga en su interior la médula ósea, elemento funcional necesario para la nutrición de las células del organismo mediante su función hematopoyética. Esta misma estructura, presenta una función inmunológica gracias al aporte de glóbulos blancos al organismo (Genser F, 2000).

## 1.2 - COMPOSICIÓN DEL TEJIDO ÓSEO

El hueso está formado en un 98% por la matriz ósea, que es un material intercelular calcificado, cuyos principales componentes son colágeno tipo I, hidroxapatita y agua. El otro 2% corresponde a diversas células específicas, estando un 20 % de su volumen constituido por agua (Rizzoli R, 2010).

La matriz ósea está compuesta por dos fases principales a escala nanométrica; estando formada aproximadamente por un 35% de material orgánico (sobre todo fibras colágenas, proteínas óseas y proteoglicanos), y un 65 % de sales inorgánicas.

La matriz ósea tiene una función de sostén, aunque también cumple tareas metabólicas.

### 1.2.1 - Matriz orgánica

Representa aproximadamente el 35% del peso seco del hueso. Formada fundamentalmente por proteínas, entre las que destaca el colágeno (90%), tipo I (>95%) y tipo V (<5%).

#### A) Colágeno

Más del 95% de su composición corresponde a fibrillas de colágeno tipo I organizadas en laminillas de unos 5  $\mu\text{m}$  de grosor, y colágeno tipo V (<5%). Las fibras de colágeno están compuestas por fibrillas de estructura periódica de 500-700 Å de grosor, que se encuentran íntimamente mezcladas con la fase mineral y se disponen en paralelo en las laminillas óseas, proporcionando al hueso su estructura laminar.

También se ha comprobado la presencia en pequeñas proporciones de colágeno tipo III, relacionado con las fibras de Sharpey, y tipo XII formado bajo estrés mecánico.

Desde el punto de vista bioquímico, las moléculas de colágeno están formadas por una triple hélice de tres cadenas polipeptídicas  $\alpha$ , dos cadenas  $\alpha 1$  y una cadena  $\alpha 2$ , dispuestas sobre un eje común constituyendo una unidad fundamental (Figura 2). Cada cadena  $\alpha$  está compuesta por una estructura característica repetitiva a lo largo de la cadena de tres aminoácidos, "glicina-X-Y", donde X e Y son mayormente prolina e hidroxiprolina, respectivamente (Rho JY, 1998).

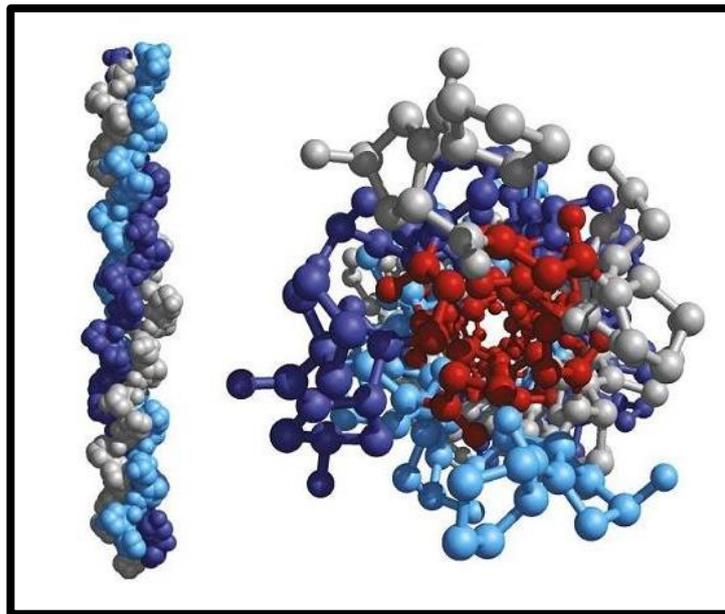


Fig.2. Estructura de la hélice de colágeno. Corte frontal y sagital.

(Imagen: López MC, 2010).

El colágeno es sintetizado por el retículo endoplasmático de los osteoblastos y presenta una serie de propiedades que lo hace ideal como componente estructural en la morfología ósea. Proporciona al hueso propiedades elásticas y de resistencia a la tracción, limita el movimiento de otros componentes del tejido y de la matriz, modula la deposición de cristales de hidroxiapatita en el hueso, y además tiene una función muy importante sobre la regulación y diferenciación de diversas células y tejidos (Stevens A, 1998).

## **B) Proteínas no colágenas**

El resto de los componentes orgánicos son moléculas ricas en grupos ácidos con gran tendencia a asociarse entre sí, capaces de unirse a calcio y que juegan un rol importante en el proceso de mineralización de la matriz ósea (Barrère F, 2006). Las funciones de estas proteínas aún no están bien definidas, pero se piensa que participan en la regulación del depósito del componente mineral del hueso, en el recambio y en la actividad celular ósea.

### **B.1.- Proteoglicanos:**

Constituyen el 10% de las proteínas no colágenas. Pueden modular la adherencia celular y median en la calcificación de la matriz orgánica. Son moléculas de gran tamaño. En la matriz osteoide hay cuatro tipos de proteoglicanos:

- Hialuronano y Condroitín-sulfato: de molécula grande, intervienen en las etapas iniciales de la morfogénesis ósea.
- Biglicano y decorina: de molécula más pequeña, aparecen en las fases siguientes de la formación ósea.

### **B.2.- Proteínas con ácido $\gamma$ -carboxi-glutámico:**

Son la osteocalcina (OCN) y la proteína de la matriz con ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico. Este ácido es un aminoácido que liga calcio y necesita vitamina K para su síntesis.

La osteocalcina o proteína GLA del hueso es una proteína no colagenosa encontrada en el hueso maduro. Esta es sintetizada por los osteoblastos y plaquetas, dependiente de las vitaminas D y K. Presenta la capacidad de unirse al calcio y normalmente está implicada en la inhibición de la formación ósea mediante el retraso de la nucleación de los cristales de hidroxiapatita. Sus niveles plasmáticos se han considerado como uno de los marcadores bioquímicos de la osteogénesis, relacionándose con el número y actividad de los osteoblastos (Clarke B, 2008).

### B.3.- Glicoproteínas:

Son la osteonectina, las proteínas con el tripéptido RGD, y la fosfatasa alcalina.

La osteonectina, es una glicoproteína no colagenosa sintetizada por los osteoblastos. Está unida a las células óseas mediante integrinas y además puede interactuar tanto con las fibras de colágeno como con las sales inorgánicas, ya que presenta la capacidad de unirse al calcio. Constituye el 2% del total del componente proteico del hueso en desarrollo, provocando el aumento del número de osteoblastos (Boskey AL, 1989).

Proteínas con el tripéptido RGD, también llamadas SIBLINGS (*Small Integrin-Binding Ligand, N-linked Glycoprotein*) son fundamentalmente cinco: osteopontina, sialoproteínas óseas, fibronectina, trombospondina y vitronectina. Son glicoproteínas fundamentales en los procesos de remodelado y regeneración óseos, con una secuencia Arg-Gly-Asp (RGD) que es reconocida por las integrinas de los osteoblastos y los osteoclastos. También actúan como receptores de superficie de las células óseas permitiendo la adhesión de las células a la matriz extracelular y activando señales.

La osteopontina (OPN) es una glicoproteína hidrofílica y fosforilada presente en varios tejidos. Al tratarse de una fosfoproteína, es capaz de unirse al calcio, teniendo una elevada afinidad hacia la hidroxiapatita, jugando un papel importante en la mineralización del hueso y en la calcificación distrófica. Inhibe la formación de hidroxiapatita mediante la inhibición del crecimiento cristalino (Hunter GK, 1996) y al igual que la sialoproteína, está involucrada en la regulación de la movilidad de osteoclastos en los procesos de reabsorción ósea.

La sialoproteína ósea, es una sialoglicoproteína ácida que constituye el 15% de las proteínas no colágenas del hueso y está involucrada en la mineralización y el remodelado óseo. Está presente en la mayoría de los tipos celulares del hueso, cartílago y dientes. Media en la unión de osteoblasto y osteoclastos en la matriz ósea durante el proceso de remodelación ya que presenta la secuencia proteica RGD (Arginina-Glicina-Aspartato), que es el mínimo requisito estructural para la adhesión celular en células de mamíferos (Wuttke M, 2001).

La fosfatasa alcalina, es la enzima ósea más importante; puede encontrarse en el hueso tanto unida a la superficie celular de los osteoblastos, como libre dentro de la matriz mineralizada. Libera fosfato inorgánico a partir de ésteres fosfóricos, necesario para la mineralización. Existen varias isoenzimas y, entre ellas la ósea, se ha considerado un buen marcador de la actividad osteoblástica.

#### **C) Proteínas procedentes del plasma:**

Se encuentran en la matriz orgánica ósea en mayor proporción que en el plasma. Son la albúmina y la  $\alpha_2$ -SH-glicoproteína, probablemente relacionadas con la incorporación del calcio a la matriz osteoide.

#### **D) Factores de Crecimiento:**

Son polipéptidos sintetizados en el propio hueso o procedentes de otros lugares (hígado, plaquetas, etc.), que intervienen en la diferenciación, crecimiento y proliferación de las células de forma autocrina o paracrina (Canalis E, 2003).

#### **1.2.2 - Matriz inorgánica mineralizada**

La matriz inorgánica representa 60 a 70% del peso en seco del hueso. Está formada por calcio, fosfato y carbonato (en proporciones de 10:6:1) en forma de pequeños cristales de hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  y en menor proporción hay magnesio, sodio, potasio, manganeso y flúor.

Está conformada principalmente por fosfato cálcico de tipo amorfo, relativamente parecido a la hidroxiapatita mineral, la cual se presenta como pequeños cristales con forma de aguja, y estructura hexagonal de 2-7 nm de diámetro y de 5-10 nm de longitud. Los cristales óseos de HA, en comparación con los cristales geológicos, son más pequeños, presentan un menor grado de cristalización y sustitución de grupos carbonato, características que las hacen más solubles, manteniendo así el metabolismo mineral (Pasteris JD, 2008).

Por lo que la rigidez mecánica y la gran resistencia a la compresión y a la tracción del hueso se debe a esta parte mineral; que dependen de su porosidad.

En el hueso cortical dicha porosidad, es proporcionada por los canales de Havers y Volkmann y las cavidades de reabsorción, y para el caso del hueso esponjoso, por los espacios intertrabeculares.

Las propiedades mecánicas del tejido óseo varían significativamente de acuerdo a su contenido de agua, existiendo un grado de hidratación crítica, ya que entre 37 y 48 mg H<sub>2</sub>O/g de hueso, el agua puede liberarse de su ligadura a la estructura ósea.

El colágeno tipo I del osteoide, con una estructura fibrosa típica cuyo diámetro varía entre 100 y 200 nm es el sustrato en el que, por mineralización, se deposita el fosfato cálcico, formándose los cristales de hidroxiapatita en intervalos regulares. La maduración de la matriz está asociada a la expresión de la fosfatasa alcalina y algunas de las proteínas no colágenas, como la osteocalcina y sialoproteína ósea. Estas proteínas fosforiladas se unen al calcio y al fosfato, provocando centros de nucleación y formando cristales de fosfato de calcio. De esta forma, estas proteínas ayudan a regular el depósito mineral mediante la regulación de la cantidad y tamaño de los cristales de hidroxiapatita formados (Barrère F, 2006). Se trata por lo tanto de un proceso ordenado, tiempo-dependiente, modulado por las células, que se realiza a razón de 1-2  $\mu\text{m}$  al día (Simões R, 2006).

Algunos autores han descrito que, además de la mineralización mediada por las proteínas, los condrocitos y osteoblastos sintetizan unas vesículas pequeñas de matriz extracelular que actúan como microambientes protegidos, donde las concentraciones de calcio y fosfato pueden aumentar hasta el punto de provocar la formación de cristales. La HA no es capaz de precipitar espontáneamente, pero estas vesículas contienen un centro de nucleación compuesto por proteínas y complejos de fosfolípidos, calcio y fosfato inorgánico, que es suficiente para provocar la precipitación de cristales de HA.

Dentro de los promotores de la nucleación mineral están la proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP1) y la sialoproteína ósea (Hunter GK, 1996; Clarke B, 2008).

La vitamina D tiene un papel indirecto sobre la estimulación de la mineralización de la matriz ósea desmineralizada. Después de la absorción o producción de la vitamina D por la piel, el hígado sintetiza 25-Hidroxivitamina D y los riñones seguidamente producen 1,25-dihidroxivitamina D (1,25-(OH)<sub>2</sub>D) que es activa biológicamente, siendo responsable del mantenimiento de concentraciones adecuadas de calcio y fosfato en el suero, permitiendo una mineralización pasiva de la matriz no mineralizada del hueso.

Esta acción la realiza mediante la estimulación de la absorción intestinal de calcio y fosfato. Además el 1,25-(OH)<sub>2</sub>D en suero promueve la diferenciación de osteoblastos y estimula la expresión de fosfatasa alcalina, osteocalcina, osteonectina, osteoprotegerina (OPG) y una variedad de citocinas por los osteoblastos (Clarke B, 2008).

### 1.2.3 - Células óseas

El tejido óseo está compuesto por diversas líneas celulares que tienen un papel específico para cada una de las etapas del metabolismo óseo. Son células de linaje mesenquimal que se encuentran en el interior del periostio, endostio y médula ósea.

El hueso posee una capa celular continua que se distribuye por todas las superficies de la matriz ósea, la que proviene de dos líneas diferentes, el linaje osteoblástico, del que forman parte los osteoblastos, los osteocitos y las células de revestimiento, y el linaje osteoclástico de origen monocitario, conformado por los osteoclastos (Chavassieux P, 2003).

#### 1.2.3.1 - Células mesenquimales

Todas estas células implicadas en el metabolismo óseo, proceden de células osteoprogenitoras, las cuales, son células alargadas con citoplasma poco prominente, que proceden de las células mesenquimáticas primitivas y forman una población de células troncales capaces de dividirse y dar origen a células que se diferencian a osteoblastos (Figura 3).

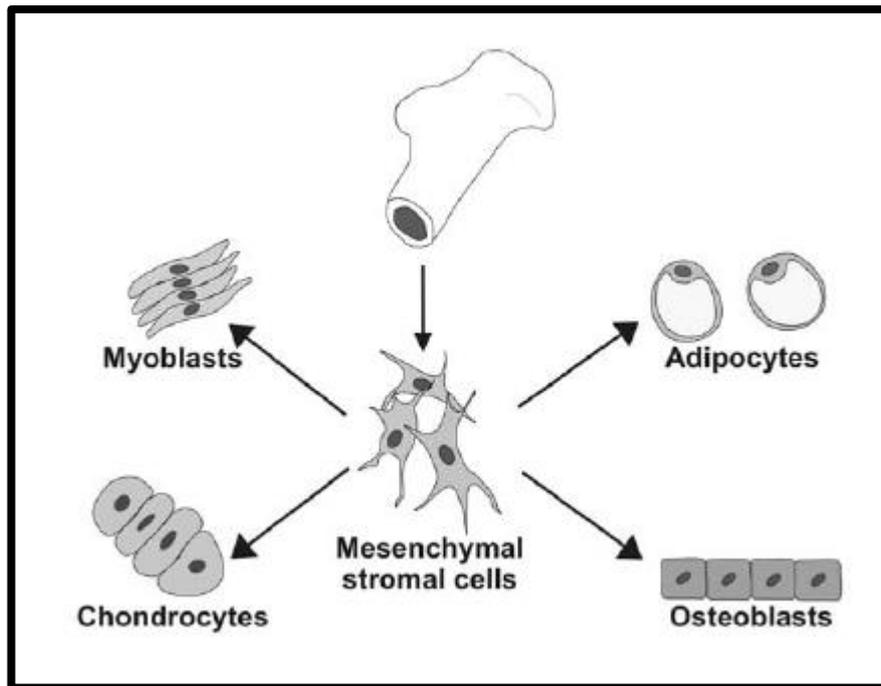


Fig.3. Esquema Stem cell. Células óseas progenitoras. Imagen (Portier E, 2010).

Toda célula troncal se define por sus características funcionales, que son: indiferenciación, automantenimiento, producción de progenies indiferenciadas y regeneración de tejido (Morrison S, 2006).

### 1.2.3.2 - Osteoblastos

Los osteoblastos son células diferenciadas que sintetizan el colágeno y la sustancia fundamental ósea. Son células especializadas de origen mesenquimal responsables de la coordinación del proceso de reabsorción y formación ósea.

Participan en el proceso de mineralización de la matriz orgánica ya que producen vesículas de matriz, de unos 100 nm de diámetro, rodeadas de membrana celular, que acumulan  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{PO}_4$ . Secretan fosfatasa alcalina y pirofosfatasa, enzimas capaces de generar iones  $\text{PO}_4$ , elevando su concentración en el medio extracelular y creando centros de nucleación para el depósito de las sales minerales importantes en el metabolismo óseo (Fawcett DW, 1995).

Los osteoblastos son células polihédricas con largas y delgadas prolongaciones citoplasmáticas que son rodeadas por el osteoide producido y que se asocian mediante uniones de comunicación (nexos o gap junction) con prolongaciones similares de los osteoblastos vecinos. Su forma habitual es cúbica y cuando se encuentran en actividad sintetizadora su citoplasma se vuelve basófilo, que refleja su ergastoplasma muy desarrollado (Figura 4). Poseen un citoplasma altamente basófilo debido a la alta producción de ARN, un retículo endoplasmático extenso y un aparato de Golgi muy desarrollado (Duplomb L, 2007 ; Bielby R, 2007).

Son células polarizadas que vacían sus productos de secreción por la zona del citoplasma en contacto con la matriz ósea ya formada (matriz intercelular preósea o osteoide), debido a la presencia de ácido ribonucleico (ARN), pero cuando están en reposo son planas, y su basofilia disminuye.

Derivan de los preosteoblastos, los que a su vez provienen de células precursoras pluripotenciales que también son capaces de diferenciarse en condrocitos, fibroblastos, miocitos y adipocitos. Su citoplasma presenta un retículo endoplásmico rugoso abundante, un aparato de Golgi muy desarrollado y numerosas mitocondrias, que le permiten sintetizar la fracción orgánica de la matriz ósea, es decir, las fibras de colágeno tipo I, las proteínas no colágenas y los factores de crecimiento (Mackie EJ, 2003).

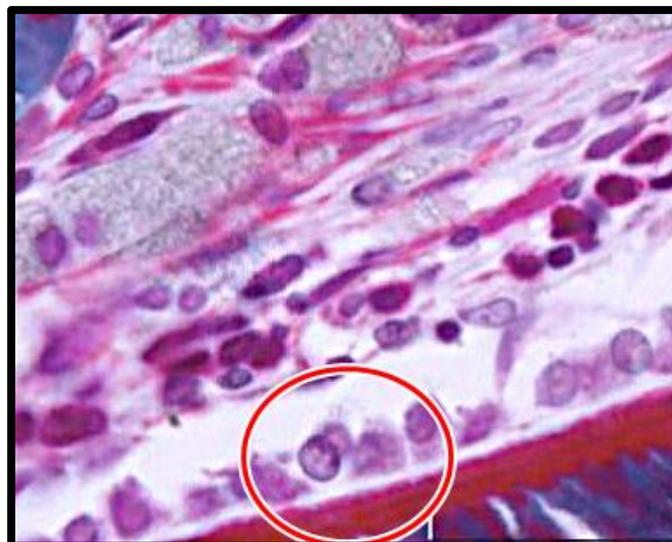


Fig.4. Imagen histológica de osteoblastos (círculo rojo).

Estas células contienen grandes cantidades de fosfatasa alcalina, enzima que se encuentra en su membrana plasmática y que parece ser la encargada de regular la composición de la matriz ósea extracelular, ya sea inhibiendo o favoreciendo el depósito de sales minerales, por lo que desempeñan un importante papel en el control de la mineralización ósea (Clarke H, 2005; Orimo H, 2010).

Los osteoblastos se disponen en las superficies donde se produce la formación activa de hueso, constituyendo grupos compactos de una capa de espesor con su núcleo ubicado en el extremo más alejado del área donde se asientan. En la superficie externa de los huesos se sitúan en la capa más interna del periostio y en la cara interna se encuentran entre el tejido y la medula ósea.

Funcionalmente, no existe diferencia entre los osteoblastos periósticos y los endósticos, pero la actividad de los primeros origina cambios en la morfología del hueso, mientras que la de los segundos genera modificaciones en la densidad de la masa ósea.

Estas células también participan en la primera fase de la reabsorción ósea, dado que poseen receptores de superficie para factores endocrinos y paracrinos que los inducen a producir una colagenasa que deja expuesta la matriz ósea mineralizada, también liberan factores que atraen a los osteoclastos.

El mecanismo de acoplamiento que liga la proliferación osteoblástica, y la formación de hueso con las lagunas de reabsorción osteoclástica es comandado por diversos factores locales de crecimiento.

Los osteoblastos establecen contacto con los osteocitos y las células osteoprogenitoras mediante uniones comunicantes. Se consideran células con diferenciación terminal, es decir, incapaces de dividirse, aunque sí conservan en parte la capacidad de proliferar. Al final de la fase de formación del tejido óseo, los osteoblastos se pueden convertir en osteocitos o células de revestimiento (Mackie EJ, 2003).

### 1.2.3.3 - Osteocitos

Constituyen el componente celular más abundante del tejido óseo, ya que el 90 a 95% de las células del hueso adulto son de este tipo, mientras que los osteoblastos forman menos del 5% y los osteoclastos menos del 1% (Bozal C, 2006; Bonewald LF, 2008).

Los osteocitos son viables durante años, incluso décadas, mientras que los osteoblastos viven unas semanas y los osteoclastos días.

Son células de aspecto estrellado que se encuentran integradas dentro de la matriz ósea mineralizada, por lo que corresponden a osteoblastos que han experimentado una transformación terminal perdiendo gran parte de sus organelas (Figura 5).

Los osteocitos se sitúan en espacios o cavidades elipsoidales denominados lagunas osteocitarias rodeada por matriz extracelular calcificada, y mantienen contacto entre sí, mediante prolongaciones que se extienden por los canalículos de la matriz vecina, de forma que son sensibles a estímulos externos y a los esfuerzos a los que se somete al hueso (Fawcett DW, 1995).



Fig.5. Imagen histológica de un osteocito (círculo rojo).

Cada osteocito emite unos 50 procesos o anastomosis celulares que se encuentran envueltos por un fluido rico en proteoglicanos, lo que les permite una participación activa en la transmisión de señales mecanosensitivas y en el intercambio con su microambiente.

Cuando los osteocitos quedan incorporados de forma definitiva en la matriz ósea, reducen su tamaño alrededor de un 30% y posteriormente continúan disminuyendo con la edad.

Además de la unión de los osteocitos mediante los canalículos o conductos calcóforos, también se produce una interconexión celular a través de uniones comunicantes de tipo gap, igualmente presentes en las comunicaciones entre osteocitos y osteoblastos (Nakahama K, 2010).

Doty, en 1981 fue el primero en demostrar uniones gap entre células óseas *in vivo* (Doty SB, 1981).

Estas uniones están presentes entre todos los tipos celulares del hueso, pero son particularmente abundantes entre osteoblastos y osteocitos, en los extremos de las prolongaciones de los osteocitos. Las uniones tipo gap son un tipo de interacción directa entre célula y célula, que forman canales transmembrana y permiten la comunicación de los citoplasmas entre las células, permitiendo una difusión de iones, metabolitos y pequeñas moléculas de señalización de una célula a otra célula (Civitelli R, 2008).

Los osteocitos presentan diferentes funciones: participan de modo activo en el recambio óseo, realizan un intercambio de iones mediante su amplia red de canalículos que facilita el contacto entre la superficie celular y la matriz, actúan como células mecano-sensitivas y juegan un papel importante en la adaptación funcional del hueso (Aarden EM, 1994).

De tal forma que son capaces de captar cambios mecánicos y traducirlos en señales bioquímicas que actúan sobre el hueso. De esta forma la red de osteocitos puede direccionar la remodelación ósea y reparar microfracturas (Burr DB, 2002; Bonewald LF, 2006).

Tienen la capacidad de sintetizar y de reabsorber, en forma limitada, a componentes de la matriz ósea realizando la denominada "osteolisis osteocítica", procesos que tienen importancia en la regulación de la calcemia.

#### 1.2.3.4 - Osteoclastos

Son los principales causantes de la reabsorción ósea. Se caracterizan por ser células móviles, de gran tamaño (20 a 100  $\mu\text{m}$  de diámetro), y multinucleadas (pueden presentar desde 6 a 50 núcleos), que derivan de células pluripotenciales de la médula ósea, las cuales son precursoras hematopoyéticas que también dan origen a los monocitos y macrófagos (Figura 6).

Alojadas en las lagunas de Howship, las cuales se deben a la acción erosiva de la célula sobre el hueso subyacente, su actividad consiste en reabsorber matriz ósea regulada por los osteoblastos (Fawcett DW, 1995).



Fig.6. Imagen histológica de un osteoclasto (círculo rojo).

Los osteoclastos al adherirse a la superficie de la pared ósea empiezan a generar prolongaciones irregulares las cuales, a su vez, se subdividen formando terminaciones en borde estriado o en cepillo. Además de permitir el aumento de la superficie celular, pueden formar escotaduras cuya función sería la de retener calcio. En estas prolongaciones, también, se han podido observar microfibrillas de colágeno en desintegración (Mundy GR, 1993)

Los osteoclastos reabsorben hueso durante los procesos normales de remodelado y provocan una pérdida de masa ósea en condiciones patológicas donde su actividad de reabsorción está aumentada. La reabsorción ósea es necesaria en muchos procesos esqueléticos. Es un proceso obligatorio durante el crecimiento óseo, erupción de los dientes y curación de las fracturas, además de ser necesaria para el mantenimiento de un nivel adecuado de calcio en la sangre.

Los osteoclastos han desarrollado una maquinaria eficiente para disolver los cristales de HA y degradar la materia orgánica rica en fibras de colágeno. El proceso de reabsorción requiere actividades celulares como son la migración de los osteoclastos al lugar de reabsorción, su unión al hueso, la polarización y formación de los dominios de membrana, la disolución de la HA, la degradación de la matriz orgánica y la eliminación de los productos de degradación de la laguna de reabsorción. Previamente a la reabsorción, los precursores de osteoclastos han tenido que sufrir procesos de diferenciación y mecanismos celulares de tal forma que se fusionan los precursores mononucleares para formar el osteoclasto multinuclear maduro.

Cuando se inicia la reabsorción, los osteoclastos se polarizan, apareciendo tres dominios de membrana diferentes: un borde festoneado, una zona de sellado y un dominio funcional secretor. Simultáneamente, el citoesqueleto sufre una pronunciada reorganización. Durante este proceso, el citoesqueleto de actina forma un anillo de unión en la zona sellante, que permite una unión fuerte a la matriz ósea, de forma que deja un espacio cerrado entre el borde festoneado de los osteoclastos y la superficie ósea, denominado laguna de reabsorción.

En esta laguna el osteoclasto va a secretar protones y proteasas encargadas de la degradación (Väänänen HK, 2000).

### 1.3 - ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL DEL HUESO

Los huesos adultos, ya sean compactos o esponjosos, son histológicamente idénticos puesto que están compuestos por capas microscópicas o laminillas, que en el hueso compacto se encuentran estrechamente empaquetadas. Se reconocen tres tipos de laminillas: circunferenciales, concéntricas e intersticiales.

Las laminillas circunferenciales rodean todo el hueso adulto, formando su perímetro, y las concéntricas conforman gran parte del hueso compacto y forman la unidad metabólica básica del hueso compacto, llamada osteona (Figura 7).

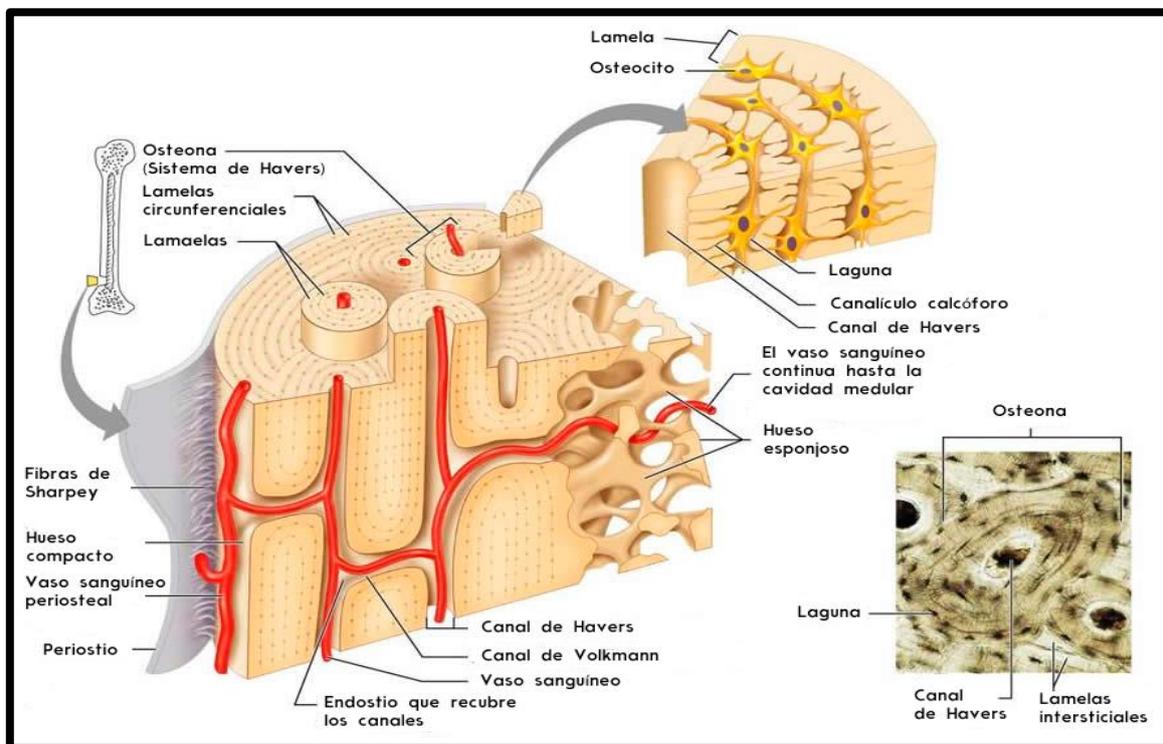


Fig.7. Esquema de la organización estructural del hueso.

La osteona es un cilindro de hueso, generalmente orientado a lo largo del eje mayor que tiene un diámetro de 200  $\mu\text{m}$  y una longitud de 1 a 2 cm.

Posee un eje neurovascular central, denominado canal haversiano, que está recubierto por osteoblastos y células osteoprogenitoras.

Los conductos de Havers adyacentes se encuentran interconectados por los conductos de Volkman, que contienen vasos sanguíneos, creando una rica red vascular a través del hueso compacto.

Entremezcladas entre las laminillas concéntricas adyacentes, y llenando los espacios que hay entre ellas, se encuentran las laminillas intersticiales, que son fragmentos de laminillas concéntricas preexistentes, que adoptan multitud de formas (Ten Cate AR, 1986).

Rodeando el perímetro del hueso compacto hay una membrana de tejido conectivo denso osteogénico que sirve de revestimiento muy sensible, dura, fibrosa y bien vascularizada, llamada periostio. Este periostio posee 2 capas: una externa muy vascularizada y una interna que está revestida por osteoblastos siendo la responsable del crecimiento transversal del hueso (Baron R, 1993).

La capa del periostio más cercana a la superficie ósea es más celular, mientras que el periostio externo es más fibroso, originándose en esta capa externa, las fibras de Sharpey que penetran en la capa celular del periostio extendiéndose dentro de las laminillas circunferenciales (Figura 8).

La superficie interna del hueso compacto y la superficie del hueso esponjoso se recubren por el endostio, que es una delgada capa de tejido conectivo rico en células que separa físicamente la superficie del hueso de la médula ósea ubicada en su interior (Ten Cate AR, 1986). Ambas estructuras, periostio y endostio, presentan capacidad osteogénica (Hert J, 1972; Marie PJ, 1982; Jee Ws, 1993).

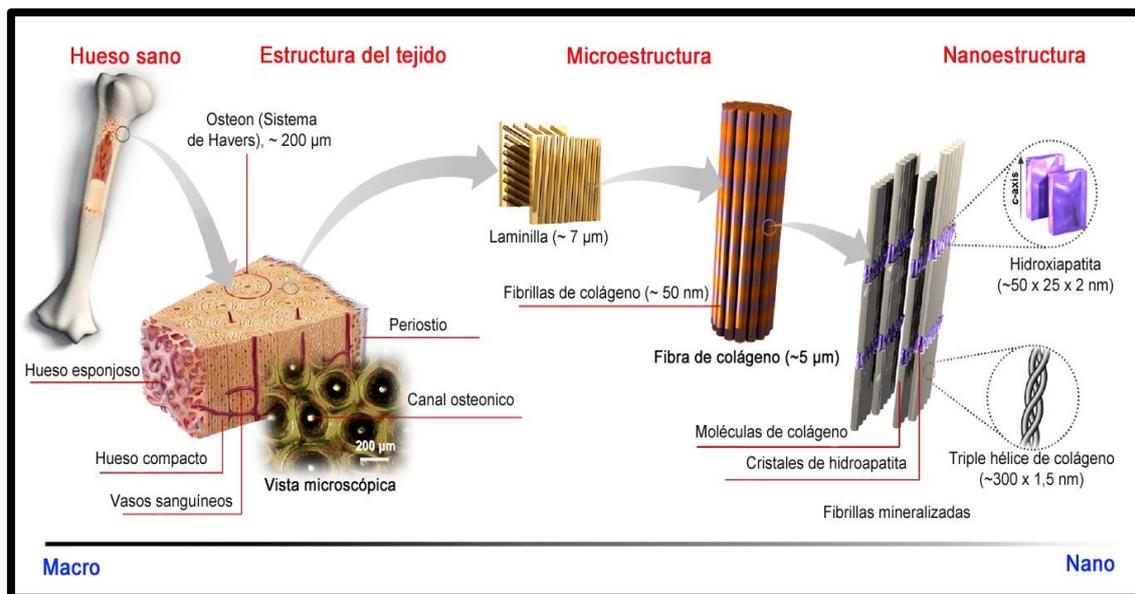


Fig.8. Esquema estructura ósea. Imagen: (Sadat-Shojai M, 2013).

### 1.3.1 - Estructura global ósea

Los huesos del esqueleto presentan diferentes formas y tamaños que se relacionan con su función específica. Respecto a su estructura global, el tejido óseo está constituido por diferentes fases sólidas y líquidas, que le otorgan la característica de ser junto a la dentina y el esmalte de los dientes, los únicos tejidos duros del organismo (Buckwalter JA, 1996).

### 1.3.2 - Estructura macroscópica ósea

Los huesos poseen una estructura macroscópica común y están constituidos por dos tipos de tejido óseo: esponjoso o trabecular, que representa alrededor del 20% del volumen total del hueso, el que se encuentra en continuidad con el tejido óseo cortical o compacto, que corresponde a aproximadamente al 80 %.

### 1.3.3 - Estructura microscópica ósea

Considerando su estructura microscópica se puede distinguir tres tipos diferentes de tejido óseo.

### 1.3.3.1 - Tejido óseo o hueso plexiforme

Aparece durante el desarrollo embrionario y en los primeros 3 o 4 años de edad.

A veces puede quedar tejido óseo inmaduro en algunas localizaciones como zonas de inserción de los tendones, suturas craneales, en los pequeños huesecillos del oído, y en los alveolos dentarios, a partir de los 5 años. El hueso inmaduro puede aparecer en situaciones fisiológicas, durante el proceso de consolidación de las fracturas, formándose en el callo de fractura.

Generalmente corresponde a un hueso inmaduro que se encuentra en el tejido óseo esponjoso y cortical de los individuos en crecimiento y que durante la maduración es sustituido gradualmente por hueso laminar desde los 14 o 16 años. Está ausente en el esqueleto adulto, aunque se puede formar cuando se acelera la producción de matriz ósea, como ocurre en los callos de fractura y tumores óseos.

El hueso plexiforme carece de una relación estable entre el contenido mineral y el colágeno, de tal manera que su densidad mineral es muy variable, a diferencia del hueso haversiano y el laminar, que se describen a continuación y que mantienen una relación fija entre estos elementos (Proubasta I, 1999).

### 1.3.3.2 - Tejido óseo o hueso haversiano

Se encuentra constituido por un conjunto de láminas concéntricas, denominadas osteonas o sistemas de Havers, con un diámetro de alrededor de 200  $\mu\text{m}$  y una longitud de 1-2 cm, poseen un eje neurovascular central, denominado canal haversiano, que está recubierto por osteoblastos y células osteoprogenitoras.

Las osteonas están conformadas por alrededor de 4 a 20 láminas óseas, entre las cuales se localizan los osteocitos.

A nivel de la unión entre las osteonas vecinas se encuentra una delgada línea de cementación, compuesta principalmente por sustancia fundamental calcificada.

La microestructura de tipo osteonal o haversiana está presente en el hueso cortical maduro y se forma como resultado de la invasión vascular del tejido óseo ya existente, por lo que posee una menor resistencia mecánica y un sistema circulatorio menos eficiente que el del hueso laminar (Proubasta I, 1999).

### 1.3.3.3 - Tejido óseo o hueso laminar

Las trabéculas del hueso esponjoso y los sistemas circunferenciales del hueso compacto están compuestos por una serie de láminas óseas paralelas entre sí, que tienen un espesor que oscila entre 3 y 7  $\mu\text{m}$  y están formadas por fibras colágenas dispuestas paralelamente unas con otras, aunque presentan una orientación distinta respecto de las fibras de láminas vecinas.

En el hueso laminar, las fibras de colágeno están altamente organizadas y orientadas, lo cual le confiere propiedades anisotrópicas, es decir, el comportamiento mecánico de esta clase de hueso varía dependiendo de la orientación de las fuerzas aplicadas, teniendo la mayor resistencia en dirección paralela al eje longitudinal de las fibras de colágeno (Bostrom M, 2000).

En la interfaz entre las láminas óseas se encuentran las cavidades osteocitarias con sus correspondientes células, cuya nutrición depende de los canaliculos existentes en la matriz ósea, que permiten el intercambio de moléculas e iones entre los capilares sanguíneos y los osteocitos.

Las láminas del hueso laminar y las osteonas del hueso haversiano son diferentes configuraciones geométricas del mismo material, pues en ambas cada punto del tejido se sitúa, aproximadamente, a unos 100  $\mu\text{m}$  de un vaso sanguíneo.

Las diáfisis de los huesos largos están conformadas por los sistemas circunferenciales externos e internos que corresponden a hueso laminar, entre los cuales se encuentran el sistema de Havers constituido por hueso osteonal y el sistema intermedio que procede de restos de osteonas que fueron parcialmente destruidas durante el crecimiento óseo (Proubasta I, 1999).

#### 1.4 - TIPOS DE TEJIDO ÓSEO

Existen dos tipos de tejido óseo bien diferenciados presentes en todos los huesos del organismo; el hueso compacto y el hueso esponjoso o trabecular (Ten Cate AR, 1986; Fawcett DW, 1995; LeGeros RZ, 2002,).

Estos tipos óseos se encuentran en una proporción 1:4 trabecular vs cortical, aunque distintos huesos o distintas porciones de un mismo hueso, pueden poseer distintas relaciones (Clarke B, 2008).

- El tejido óseo compacto o hueso cortical, forma una masa sólida compacta sin espacios visibles, y presenta una mayor complejidad morfofuncional. Está constituida por una red de finos conductos longitudinales y transversales, conocidos como canales de Havers y conductos de Volkmann respectivamente, los cuales alojan vasos sanguíneos y fibras nerviosas. Se sitúa en la zona externa de los huesos largos, en su parte diafisaria, y se adelgaza hacia los extremos. Se trata de un tejido muy organizado que supone el 80% del peso de los huesos y que les otorga su resistencia a las fuerzas de flexión, torsión y cizallamiento, por poseer un menor porcentaje de materia orgánica. El tamaño de los poros en este tipo de hueso varía entre 1 y 100  $\mu\text{m}$  (Figura 9).

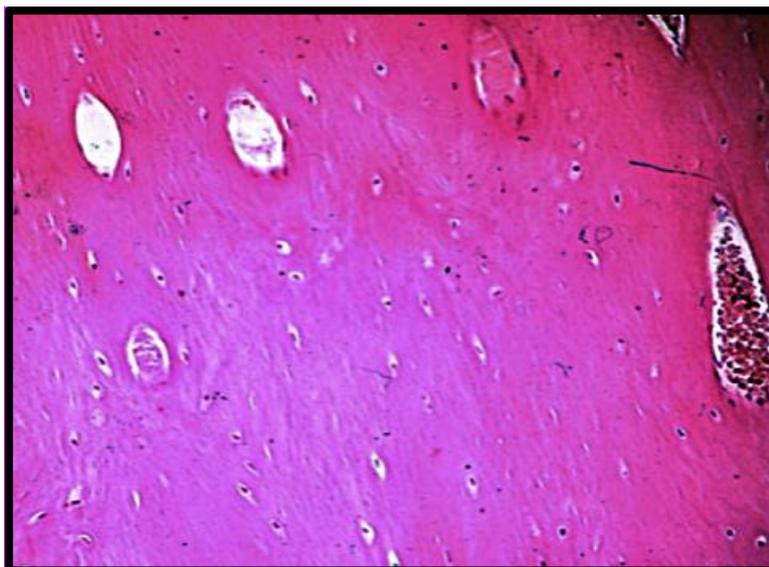


Fig.9. Corte histológico de hueso cortical.

- El tejido óseo esponjoso o hueso trabecular, está compuesto por finos listones u hojas, las trabéculas, que se orientan de forma paralela a las líneas de fuerza, formando un delicado entramado que sirve de soporte y alberga a la médula ósea. Este tejido óseo trabecular se sitúa en la zona interna del hueso, sobre todo en los extremos de éste, llamado epífisis. Se trata de un tejido de tipo reticular, con espacios interconectados por los vasos sanguíneos y que está en contacto con la médula ósea. Supone el 20% del peso de la masa ósea, siendo su volumen diez veces mayor que el del hueso compacto.

La magnitud de las propiedades del hueso esponjoso son muy variables, pero los valores medios de su resistencia son de 5-10 MPa y su módulo de Young oscila entre 50-100 Mpa.

El tamaño de los poros en el hueso esponjoso varía entre 200 y 400  $\mu\text{m}$  y su extensión y sus interconexiones son factores importantes que afectan a la difusión de los nutrientes, la adhesión, migración y expresión celular y al crecimiento tisular, necesarios para la formación ósea, la reparación o la regeneración (Figura 10).

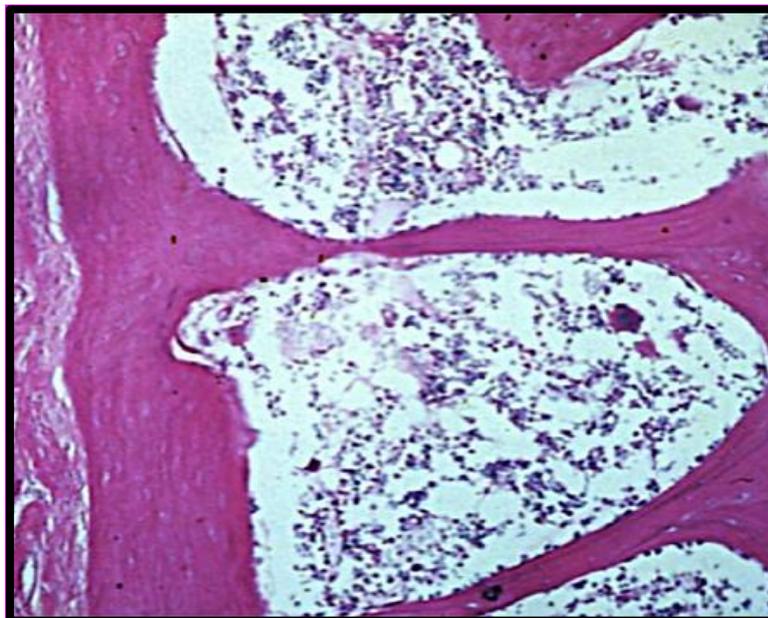


Fig.10. Corte histológico de hueso esponjoso.

### 1.5 - FUNCIONES DEL HUESO

El hueso es el depósito de calcio y fósforo del cuerpo. En el cuerpo hay alrededor de 1,2 Kg de calcio y aproximadamente 1 Kg de fósforo. Apenas el 1% del calcio se encuentra en tejidos blandos y fluidos fisiológicos. La cantidad de calcio en sangre y fluidos permanece constante mediante un equilibrio que se establece entre los huesos y la sangre. El 85% del fósforo se encuentra en los dientes y en los huesos, encontrándose únicamente un 0,1% del fósforo en el torrente sanguíneo (Fawcett DW, 1995).

### 1.6 - ORIGEN EMBRIOLÓGICO DEL HUESO

El hueso tiene como origen embriológico el mesénquima, el cual se ve sometido a un proceso de osificación, que dependiendo de las sustancias y estructuras que intervengan en el proceso, va a dar lugar a dos tipos independientes de osificación; la osificación intramembranosa y endocondral (Franz-Odendaal TA, 2006 ; Shapiro F, 2008).

La osificación que tiene lugar en los huesos del macizo maxilofacial, clavícula, bóveda craneal y mandíbula; es la denominada osificación intramembranosa, la cual se produce a partir de una membrana conectiva. El resto de huesos que conforman el esqueleto, presentan un patrón de osificación denominado endocondral; originándose a partir de un molde de cartílago que seguidamente es sustituido por una matriz ósea.

La osificación endocondral tiene lugar sobre un modelo de matriz cartilaginosa, que precede inmediatamente al hueso. La osificación intramembranosa ocurre de manera directa dentro del tejido conectivo.

Hay que diferenciar un tipo de osificación adicional, la osificación sutural. La formación de hueso sutural es un caso especial de osificación intramembranosa en la cual el hueso se ha formado a lo largo de los bordes de las suturas (Ten Cate AR, 1986).

El hueso experimenta un crecimiento longitudinal y radial, denominado modelación, que ocurre durante el crecimiento y el desarrollo en la infancia y la adolescencia. Por otro lado, además sufre procesos de remodelación durante la vida.

El crecimiento longitudinal se produce en las placas de crecimiento, donde el cartílago prolifera en la epífisis y metáfisis de los huesos largos, antes de que se produzca la mineralización y se forme el nuevo hueso primario.

El tipo de crecimiento que tiene lugar a lo largo de todos los procesos de remodelación y formación de tejido óseo en los individuos adultos es el crecimiento intramembranoso. Éste es un crecimiento en el cual la mineralización se va produciendo por la sucesiva cristalización de la hidroxiapatita en el interior de una matriz de colágeno. En un adulto, se renueva alrededor de un 5% del hueso compacto y el 20% del hueso esponjoso cada año (Ten Cate AR, 1986), de acuerdo con las siguientes leyes (Allegrini S, 2008):

a) - Ley de Wolff de adaptabilidad mecánica del hueso (1869): “Cada cambio en la forma y la función del hueso o sólo de su función, es seguida por ciertos cambios definidos en su arquitectura interna e igualmente alteraciones secundarias definidas en su conformación externa de acuerdo con leyes matemáticas” (Goodship AE, 1979).

El hueso es un tejido complejo y en constante cambio capaz de autorrepararse y adaptarse a cargas nuevas. Los estímulos mecánicos de presión y tensión mediados por la presencia de los elementos dentales permiten el mantenimiento de la forma y la densidad del hueso.

Este mecanismo de adaptación reduce el riesgo de fracturas y mantiene las características morfológicas y funcionales del esqueleto (Bauer TW, 2002).

b) - Ley de la transformación del hueso: “El hueso se crea donde es necesario y se reabsorbe donde ya no lo es”. (Esto es lo que ocurre ante la pérdida dentaria en el proceso alveolar maxilar y mandibular) (Allegrini S, 2008).

Así, la estimulación biomecánica es quien determina que el hueso crezca o sea reabsorbido, de manera que ante una sobrepresión se da una activación osteoblástica y un crecimiento a favor de tensión, y ante una falta de presión se da una activación osteoclástica y una reabsorción por falta de tensión.

En el hueso cortical, la remodelación se produce desde el interior del hueso; en el hueso esponjoso, por el contrario, la remodelación se produce a través de la superficie exterior de las trabéculas.

Existen dudas sobre la existencia de marcadores de la remodelación ósea. Algunos autores, describen que la remodelación está marcada por el reemplazamiento de hueso microdañado por fatiga y que no es necesaria la presencia de una sustancia que remodele todo el esqueleto (Parfitt AM, 2002).

### 1.7 - REMODELACIÓN ÓSEA

El tejido óseo es uno de los más dinámicos del organismo y está sometido a una serie de procesos de: crecimiento, modelado, remodelado y reparación.

De una forma esquemática podemos explicar los mecanismos celulares y moleculares implicados en la remodelación ósea, mediante 5 pasos consecutivos, que son: la activación, la reabsorción, el cambio, la formación y la terminación (Raggatt LJ, 2010).

#### A) Activación

El proceso de remodelación comienza en la superficie de un área pequeña de hueso quiescente, donde la membrana endóstica es digerida por enzimas liberadas por las células de revestimiento óseo. Asimismo, según Martin RB estas células son responsables de la activación de las Unidades Básicas Multicelulares (UBMs) en respuesta a señales provenientes de osteocitos u hormonas (Martin RB, 2000). Los osteoclastos no reabsorben hueso si hay osteoide, es decir materia orgánica. De esta forma, son las células de revestimiento, que sufren cambios morfológicos, las que se encargan de eliminar la matriz orgánica y dejar al descubierto el mineral óseo para que actúen los osteoclastos (Chambers TJ, 1985).

Posteriormente, se produce una neoangiogénesis y la liberación o reclutamiento de precursores de osteoclastos desde el torrente circulatorio a la superficie ósea (Férrandez-Tresguerres I, 2006).

Las señales que hacen que se produzca el proceso de remodelación pueden ser, porque se produzcan microfracturas, que conllevan a la apoptosis de osteocitos y la consiguiente activación de la osteoclastogénesis; o por cambios sistémicos de la homeostasis, donde intervienen las señales hormonales.

### **B) Reabsorción**

Los osteoblastos expresan citoquinas, como CSF-1, RANKL y OPG, modulado por la acción de la Parathormona (PTH). Las dos primeras actúan de modo coordinado, aumentando su concentración en respuesta a la PTH, y por lo tanto activando a los osteoclastos. Mientras que la expresión de OPG se ve reducida, activando también a los osteoclastos. Por otra parte, los osteoblastos expresan, por acción de PTH y/o estímulos mecánicos, las Matriz Metaloproteínas (MMPs), que son las encargadas de degradar el osteoide - matriz no mineralizada-, de la superficie ósea, dejando libres espacios de unión RGD relacionados con las integrinas  $\alpha\beta3$ , de osteoclastos en la matriz mineralizada. De este modo, los osteoclastos se unen a la matriz ósea mediante la interacción con las integrinas que presentan la secuencia RGD, secuencias que se encuentran en proteínas de la matriz como la osteopontina y sialoproteína, que fueron depositadas por los osteoblastos durante el ciclo previo de formación. De este modo comienza la reabsorción mediada por los osteoclastos.

### **C) Cambio**

Seguidamente a la reabsorción mediada por osteoclastos, las lagunas de Howship quedan cubiertas con matriz de colágeno desmineralizada sin digerir. En un principio se pensó que unas células mononucleares eran las encargadas de eliminar estos remanentes de colágeno y preparar la superficie para la consecutiva formación ósea mediada por los osteoblastos.

Estudios posteriores han concluido que estas células pertenecen a la línea celular de los osteoblastos, concretamente se trata de células de revestimiento (Henriksen K, 2009).

#### D) Formación

Durante el proceso de reabsorción, se liberan moléculas embebidas en la matriz ósea, como IGF-I, IGF-II y TGF- $\beta$ . Este último activa el reclutamiento de células mesenquimales al lugar de reabsorción.

Por otro lado, los osteocitos maduros, producen de forma basal esclerostina, que es una molécula antagonista de las Proteínas Morfogenéticas del Hueso (BMPs). La inhibición en la expresión de esclerostina inicia la formación ósea mediada por los osteoblastos e inhibe la reabsorción, favoreciendo un aumento de la masa ósea.

Además la inhibición de la esclerostina activa la ruta de señalización de Wnt, una ruta que regula la masa ósea y la función de las células óseas y que provoca la diferenciación, proliferación y síntesis de matriz ósea por los osteoblastos (Bennett CN, 2005; Gaur T, 2005; Kogianni G, 2007).

#### E) Terminación

Cuando una cantidad igual de hueso reabsorbido ha sido reemplazado, el ciclo de remodelación concluye.

Al completarse la formación del hueso es completa, la secreción de esclerostina por los nuevos osteocitos formados, embebidos en la matriz durante la formación de hueso, inhibe la ruta Wnt y provoca la terminación del ciclo de remodelación, entrando en un estado de reposo. Además, las células de revestimiento vuelven a cubrir la superficie ósea de nuevo.

De esta forma el ambiente de la superficie ósea en reposo se restablece y mantiene hasta que el próximo ciclo de remodelación sea activado.

Una vez mineralizada la matriz ósea sintetizada, los osteoblastos pueden sufrir apoptosis, revertir a células de revestimiento o pueden quedar atrapados en la matriz mineralizada, diferenciándose a osteocitos.

## 1.8 - REPARACIÓN ÓSEA

El tejido óseo destaca de otros tejidos, entre otras características, por su poder de regeneración. Cuando ocurre una lesión o fractura en el tejido óseo surgen una serie de fenómenos que preparan al hueso para su reparación.

Las fases iniciales de la reparación de la fractura ocurren a partir de los tejidos blandos. Las células reparadoras de la fractura son células osteogénicas que proliferan a partir de la capa profunda del periostio, formando un callo de fractura externo; y en menor medida las que proliferan a partir del endostio, formando el callo interno. Cuando el periostio ha sufrido un gran desgarro, las células reparadoras deben diferenciarse a partir de células mesenquimatosas indiferenciadas de los tejidos blandos (Burchardt H, 1983).

Durante este proceso, se observa un crecimiento desmesurado del tejido con capacidad osteogénica, formando una masa gruesa que se corresponde con el callo de fractura. Las células de este tejido, se diferenciarán en osteoblastos que a su vez sintetizarán hueso. Este proceso ocurre en los extremos de la fractura y continúa hasta la fusión. En el centro de la fractura (foco de fractura), donde el aporte sanguíneo es más escaso, se forma el nuevo hueso a partir de cartílago. Las células osteoprogenitoras se diferencian en condroblastos, que formaran cartílago y posteriormente, hueso primitivo.

## 2.- REGENERACIÓN ALVEOLAR DE LOS MAXILARES

### 2.1 - DEFECTOS ÓSEOS DE LOS MAXILARES

La ausencia de tejido óseo en el área maxilar, es uno de los mayores retos a los que el profesional odontológico se enfrenta, a la hora de rehabilitar un paciente. El auge de la implantología y la cirugía maxilofacial, hace necesario la regeneración de estos defectos óseos, como tratamiento preoperatorio a la terapéutica restauradora de los implantes osteointegrados o en los casos que sea necesario el tratamiento de defectos óseos ocasionados por traumatismos, enfermedades congénitas, infecciones o tumores.

El origen de la pérdida del tejido óseo en los maxilares es muy diverso, ya que esta ausencia ósea puede obedecer a enfermedades periodontales y periimplantarias, malformaciones congénitas, lesiones tumorales, resecciones quirúrgicas, pérdidas traumáticas, dificultad de osificación en edades avanzadas... etc.

Estos defectos pueden dificultar la fase quirúrgica del tratamiento implantológico al encontrar un insuficiente volumen óseo para la adecuada colocación de los implantes dentales (Lekovic V, 1997; Tripplet RG, 2000; Bascones A, 2001; Zijderveld SA, 2005).

Entre las causas de pérdida ósea, son muy frecuentes los defectos óseos maxilares causados por la reabsorción alveolar post-extracción; éste es un fenómeno fisiológico que ocurre tras la extracción dentaria por el cual la cresta ósea alveolar ve disminuida su altura y su anchura original, en una cantidad que puede variar entre distintas localizaciones e individuos (Palti A, 2002; Darby I, 2008).

La pérdida de la dentición natural da lugar a una reducción de la estimulación física del hueso alveolar, produciéndose una reabsorción ósea irreversible, crónica y acumulativa. Se han encontrado grandes diferencias entre el maxilar y la mandíbula, siendo la tasa de reabsorción cuatro veces mayor en la mandíbula que en el maxilar (Allegrini S, 2008).

## 2.2 - REMODELACIÓN ALVEOLAR

En los maxilares, se desarrolla un proceso de remodelación alveolar con una progresiva atrofia ósea en sentido vertical y vestíbulo-palatina. La cicatrización del alvéolo y su progresiva regeneración ósea suele durar entre 4-6 semanas, aunque la remodelación definitiva puede llegar hasta los 4 meses (Amler MH, 1969).

Tras la extracción dental, ocurren una serie de cambios morfológicos en el reborde residual que se pueden resumir de la siguiente manera (Amler MH, 1960; Jahangiri L, 1998 ; Pietrokosvki J, 1975 ; Atwood DA, 1963 ; Johnson K, 1969).

- El alveolo se llena con un coágulo de sangre.
- Parte de la cresta ósea alveolar del alveolo original se reabsorbe.
- La superficie se cubre por epitelio escamoso estratificado.
- El coágulo se organiza rápidamente.
- Se sustituye por tejido cicatrizal denso y nuevo hueso.

En este proceso, la formación de tejido conectivo inmaduro y epitelización se observa desde el cuarto día; a los 7 días se observa la formación de tejido granuloso desde la periferia del alveolo que reemplaza al coágulo. Alrededor del mes dos tercios del alveolo se encuentran rellenos de hueso y no es hasta los 100 días aproximadamente, después de la extracción, que el alveolo alcanza su mayor densidad radiográfica (Amler MH, 1960).

En un estudio clínico prospectivo reportaron que los cambios principales en los alveolos de extracción tienen lugar durante los 12 meses siguientes a la extracción del diente, y que el ancho de la cresta alveolar se reduce en un 50% durante este periodo. Dos tercios de esta reducción se produce tan solo 3 meses después de la extracción del diente (Schropp L, 2003).

En la revisión sistemática de la literatura realizada por Tan, se evaluaron los cambios dimensionales en los tejidos duros y blandos del proceso alveolar hasta 12 meses después de la extracción del diente (Tan WL, 2012).

Se concluyó que después de 3 meses de curación, la reabsorción horizontal del hueso alveolar fue de 2,2 mm en la cresta, y 1,3, 0,59 y 0,3 mm a 3, 6, y 9 mm apical a la cresta, respectivamente.

Después de 6 meses de la curación, la reabsorción vertical del hueso alveolar era 11,2%, mientras que la horizontal fue de 29-63%.

Cuando se tuvo en cuenta el tejido blando junto con el tejido duro en las evaluaciones dimensionales se encontró que a los 3 meses de curación, hubo incluso un aumento de 0,4 mm en la dimensión vertical.

A los 12 meses la reabsorción vertical de la cresta alveolar fue de 0,8 mm. Horizontalmente, la resorción considerando el tejido blando y duro junto fue 1,3 mm y 5,1 mm después de 3 y 12 meses, respectivamente.

Los cambios en el reborde alveolar no ocurren de manera homogénea sino que durante su curación ocurren cambios en la forma del reborde:

- Desde la cara oclusal: la cresta del reborde residual se desplaza hacia lingual en comparación con la posición original antes de la extracción.
- Desde el aspecto lateral: el reborde residual a menudo forma una concavidad entre las crestas alveolares de los dientes adyacentes restantes que es más pronunciado cuando falta más de un diente.
- Mayor resorción lingual que vestibular.

Estas deformidades son más severas si:

- La tabla ósea bucal ha sido destruida ya sea por enfermedad o por trauma durante la extracción.
- Si hay pérdidas en la altura del alveolo.
- Si las 4 paredes del alveolo han sido eliminadas y se pierde la protección para el coágulo sanguíneo (O'Brien TP, 1994).
- La resorción del reborde alveolar es diferente en altura y anchura (Johnson K, 1969 ; Tan WL, 2012).
- Hay mayor reducción en ancho que en altura.

Por lo tanto, como consecuencia de estos factores las secuelas después de la extracción del diente pueden dar lugar a una pérdida entre el 40% y 60% de la altura y anchura ósea del alveolo aproximadamente a los 2 a 3 años de la extracción (Ashman A, 2000).

Se ha demostrado que hay diferentes factores que influyen en el tiempo de curación alveolar como por ejemplo el tipo de diente, la pérdida ósea de las paredes, el tamaño del alveolo remanente, de este modo se ha comprobado que:

- Los molares tardan más tiempo en curarse que los dientes anteriores.
- Dientes con pérdida de hueso horizontal y menor diámetro restante sanarán más rápido que aquellos con un ancho mayor del alveolo.

Hay otros factores que tienen gran importancia en la resorción ósea alveolar (Jahangiri L, 1998):

- Edad del paciente en el momento de la pérdida de dientes.
- Marcadas diferencias entre el maxilar superior y la mandíbula.
- Factores tanto locales como sistémicos como por ejemplo: el tabaco.
- Factores protésicos, metabólicos y funcionales.

Así, aunque la resorción del reborde es universal hay una gran variación inter-individuos que es muy importante tener en cuenta.

En un estudio se evaluaron 76 pacientes edéntulos con una media de edad de 65 años con diferentes tiempos de extracción del diente se obtuvieron los siguientes resultados (Atwood DA, 1971):

- Una alta proporción del reborde maxilar eran altos y bien redondeados, incluyendo el 50 % de los pacientes con 20 años o más después de la extracción.
- En contraste, solo el 24 % del reborde mandibular pudo ser clasificado de esta manera y de ellos el 80 % fueron extraídos solo dos años o antes, con un 54 % de los rebordes clasificados como cresta en filo de cuchillo.

- Se encontró una gran variabilidad entre individuos en cuanto a la tasa de reducción del reborde residual anterior, siendo no apreciable en el 23 % y 1 mm o más por año en el 20 %, llegando a ser hasta de 2,2 mm por año alrededor de los tres años en un paciente. La velocidad de resorción promedio fue de 0,5 mm por año.

- La tasa de reducción del reborde residual varió significativamente entre el maxilar y la mandíbula, siendo de 0,1 mm por año en el maxilar y de 0,4 mm por año en la mandíbula. Siendo la velocidad promedio de resorción 4 veces mayor en la mandíbula que en el maxilar.

Aún así, un 9 % tienen una mayor tasa de resorción en el maxilar que en la mandíbula, mientras que en otro 26 % la tasa de resorción es similar.

- Se encontró una baja correlación entre la velocidad de reducción del reborde residual y posibles co-factores como el sexo, la edad y la densidad ósea.

- Considerando que la velocidad de reducción del reborde residual anterior es de 0,5 mm por año esto puede representar una pérdida promedio de 5 mm en la altura del reborde anterior (considerablemente mayor en algunos pacientes) en 10 años, esto resultará en una pérdida significativa de dimensión vertical, estética y de confort.

### 2.2.1 - Influencia de los cambios dimensionales del reborde

Los cambios dimensionales, tanto en vertical así como horizontal, de la cresta alveolar puede complicar los procedimientos de restauración posteriores cuando se decide utilizar implantes dentales. Por ejemplo se ha demostrado que la resorción alveolar puede influir en la colocación del implante de la siguiente manera.

- la resorción del reborde residual, principalmente desde la dirección labial, puede conducir a una compromiso en la posición de la fijación del implante.

- Un espesor de hueso facial menor de 2 mm después de la colocación del implante lleva a una mayor frecuencia de pérdida ósea.
- Implantes que se colocaron en alveolos con un espesor medio de tabla ósea facial de 1,3 mm presentaron una pérdida ósea vertical > 3 mm.

Por estas razones durante los últimos 20 años, ha surgido un interés cada vez mayor con respecto a un concepto llamado "preservación de la cresta alveolar", que se define como "cualquier procedimiento llevado a cabo al momento o después de una extracción para minimizar la reabsorción externa de la cresta y maximizar la formación de hueso dentro del alveolo (Darby I, 2008).

Para la preservación del reborde alveolar se han utilizado los principios de la regeneración ósea guiada, la extracción mínimamente traumática de los dientes y la protección del coágulo de sangre.

El uso de injerto y/o regeneración ósea guiada (ROG) en la extracción de alveolos tiene como objetivos mejorar las dimensiones del reborde alveolar para un tratamiento restaurador futuro.

Durante la fase de curación normal después de la extracción, las células de tejido blando se dividen y migran mucho más rápido que las células óseas, por lo que los defectos tienden a llenarse con tejido blando.

El principio de la ROG es prevenir el crecimiento hacia dentro de los tejidos blandos, que de otro modo podría perturbar o totalmente evitar la osteogénesis y permitir a las células osteoprogenitoras desarrollar hueso dentro de un área protegida.

La inserción del material de relleno en un alvéolo después de la extracción iniciará una respuesta del tejido hospedero. Esto puede resultar en un aumento de la respuesta inflamatoria de macrófagos, y la actividad osteoclástica.

Los biomateriales inertes pueden causar un retraso significativo en la cicatrización a través de la interacción con el tejido huésped. Los efectos en el tejido, los celulares y moleculares dependen de la morfología, la composición química, porosidad y tamaño de partícula del material. El uso de un injerto y/o la membrana puede ayudar a fomentar una repoblación celular selectiva para restaurar el alveolo. El proceso de curación normal de la herida puede ser así deteriorado o acelerado en función del tipo de material utilizado, por lo que este juega un papel muy importante.

Actualmente, los materiales de injerto parecen tener sus limitaciones para el mantenimiento de la cresta alveolar y en la capacidad de promover la regeneración de la arquitectura normal del hueso. Los principales problemas que pueden surgir incluyen efectos sobre la revascularización, la persistencia del material en lugar de ser reemplazado con nuevo hueso, no ser efectivo para restaurar las dimensiones de la cresta alveolar, prolongación en algunos casos del tiempo de curación además de riesgos, aunque pequeños, pero muy importantes de transmisión de enfermedades (por ejemplo, transmisión, viral en el caso de hueso alogénico).

Por otra parte la ROG incluye el uso de membranas. La membrana mantiene el coágulo inicial confinado, protegiéndolo durante su organización, y evitando la entrada de tejido conjuntivo y epitelio (no formadores de hueso) en el interior del alveolo. Esto permite que el alveolo se llene con tejido conectivo esquelético para luego formar hueso. Además el uso de membrana puede ayudar a proteger la herida de una rotura mecánica y la contaminación de la misma.

Se ha demostrado que las membranas son efectivas en la preservación de las dimensiones del reborde alveolar, aumentando la calidad ósea necesarias para los procedimientos de implantes dentales y de estética restauradora.

Las membranas utilizadas se pueden clasificar en dos tipos: reabsorbibles y no reabsorbibles.

Dentro de las reabsorbibles se han reportado en ensayos clínicos controlados la de ácido glicólico y láctico (Lekovic V, 1998), y las membranas de colágeno. Dentro de las no reabsorbibles se encuentran las de politetrafluoroetileno (ePTFE) (Becker W, 1999). Las no reabsorbibles tienen el inconveniente de que la membrana puede quedar expuesta lo que disminuye la efectividad del tratamiento al aumentar el riesgo de infección y que es necesaria una segunda cirugía para la extracción de dicha membrana.

Otro aspecto a considerar es la influencia de la localización del diente y el espesor de las paredes del alveolo en la preservación del reborde alveolar:

En este sentido otros investigadores, estudiaron la influencia del espesor de la pared del hueso facial en la dentición anterior del maxilar superior en tres posiciones diferentes en relación con la cresta del hueso facial, es decir, a una distancia de 1, 3 y 5 mm apical a la cresta (Januario AL, 2011).

Para ello se estudiaron doscientos cincuenta pacientes, con edades comprendidas entre los 17 y 66 años, con todos los dientes del maxilar frontal presentes. Las mediciones demostraron que (i) la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso facial varió entre 1,6 y 3 mm y (ii) la pared del hueso facial en la mayoría de ubicaciones en todos los sitios de dientes examinados fue  $\leq 1$  mm de espesor y que cerca 50% de los sitios tenía un espesor de pared de hueso  $\leq 0,5$  mm.

Estos resultados concluyen que la mayoría de los sitios de dientes en el maxilar anterior tienen una pared ósea facial delgada. Esta disminución de la pared ósea delgada puede experimentar una marcada disminución dimensional después de la extracción del diente.

Este hecho debe ser considerado antes de la extracción del diente y la planificación de la rehabilitación en el segmento anterior de la dentición del maxilar superior.

Por otra parte Ferrus y cols, estudiaron los factores que podían influir en las alteraciones de la cresta vestibular alveolar tras la extracción dental y colocación inmediata del implante en el maxilar superior (ubicaciones de los dientes 15-25) (Ferrus J, 2010). Para ello estudiaron 93 pacientes, donde se colocó un solo implante, se realizaron las evaluaciones a las 16 semanas y se comparó con las hechas después de la colocación del implante. Los sitios de implante fueron agrupados en función de cuatro factores:

(i) ubicación implante (anterior / posterior), (ii) causa de la extracción del diente (periodontitis / no periodontitis), (iii) de espesor de las paredes óseas vestibulares ( $\leq 1 / > 1$  mm) y (iv) la dimensión del espacio horizontal ( $\leq 1 / > 1$  mm).

Los resultados mostraron que (i) la ubicación donde se coloca el implante (anterior / posterior), así como el (ii) espesor de la cresta del hueso bucal y (iii) el tamaño de la separación horizontal influyeron significativamente en el grado de alteración del tejido duro producida tras 4 meses de curación.

En los sitios de implantes en el segmento premolar, el llenado de la brecha horizontal fue más pronunciado que en el segmento incisivo-canino, mientras que la reducción de la cresta vertical fue significativamente más pequeña. Además, en los sitios donde la pared ósea vestibular era gruesa ( $> 1$  mm) y donde el espacio horizontal era grande ( $> 1$  mm), el grado de llenado de la brecha fue sustancial.

Por tanto los autores concluyeron que el espesor de la pared del hueso vestibular, así como la dimensión de la brecha horizontal influyen en las alteraciones del tejido duro producidos después de la colocación inmediata de implantes en alveolos post-extracción.

Aplicando los principios de la ROG el uso de sustitutos óseos junto con una membrana de colágeno ha mostrado claros efectos sobre la preservación tanto de la altura como del ancho del reborde alveolar. Este efecto es más favorable en la dimensión horizontal.

Precisamente porque la pérdida ósea en la dimensión horizontal es el efecto más notable después de la extracción del diente durante los primeros 3-6 meses de la curación (Schropp I, 2003).

Dentro de la conservación y regeneración del reborde alveolar, cabe destacar que el fenómeno más preocupante - que puede objetivarse en la práctica clínica diaria en los casos de pacientes de larga evolución edéntula -, es la reducción del reborde residual (RRR) implicando esto que mantiene cierta actividad catalítica durante largos períodos (Jahangari L, 1998).

La RRR complica el tratamiento reposicionador mediante prótesis, limitando la función y la estética sobre todo cuando se opta por una rehabilitación implanto-protésica. Por ello se ha propuesto el uso único o simultáneo de distintas técnicas y biomateriales con el fin de minimizar esta reabsorción, entre las que destacan mantenimiento de raíces sumergidas (Ortega AJJ, 1991), injertos autógenos, alogénicos, xenogénicos (Wiesen M, 1998), biomateriales sintéticos (Hahn E, 1988), implantes inmediatos postextractivos (Becker BE, 1998) o membranas de regeneración tisular (Lekowic V, 1988).

### 2.3 - REGENERACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO

El tejido óseo puede ser regenerado por medio de las siguientes estrategias: osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción (Mendes SC, 2000).

La **osteogénesis** es la formación de hueso nuevo que se produce a partir de las células presentes en el injerto, las cuales sobreviven al trasplante, proliferan y se diferencian a osteoblastos.

La **osteoinducción** es la transformación de las células mesenquimales indiferenciadas perivasculares de la zona receptora en células osteoformadoras.

La **osteoconducción** consiste en el crecimiento de tejido vascular y células osteoprogenitoras dentro del andamiaje que presenta el injerto.

En condiciones normales el hueso sano está llevando a cabo continuamente procesos de remodelación ósea. Como ya hemos explicado, la remodelación ósea consiste en un equilibrio continuado de creación y destrucción de hueso, como proceso dinámico y continuado que adapta el hueso a esfuerzos localizados (Allegrini S, 2008) y le otorga la capacidad de autorrepararse. Sin embargo, existe un tamaño de defecto crítico, a partir del cual, el hueso no es capaz de emprender la reparación empleando los procesos de osteogénesis propios. Por tanto, cuando el defecto es de un tamaño mayor que el defecto crítico, se hace necesario el empleo de algún tipo de sustituto óseo (Khan Y, 2008).

El sustituto óseo ideal debería poseer las tres cualidades implicadas en la regeneración ósea (osteogénesis, osteoconducción y osteoinducción), por lo que el hueso autógeno continúa considerándose como el referente, al ser el único injerto que reúne este requisito. Disponemos también de otros sustitutos óseos, como son los aloinjertos o los xenoinjertos, que se diferencian del anterior en la ausencia del potencial osteogénico (Kao ST, 2007) y de los injertos de origen sintético (Mohan BG, 2013).

### **2.3.1 - Sustitutos óseos**

Denominamos sustitutos óseos a todos aquellos tejidos o materiales que se pueden emplear para rellenar defectos del hueso, con el fin de lograr la regeneración y reparación del tejido óseo. De acuerdo con esto, podemos reconocer dos tipos fundamentales de sustitutos: los injertos óseos y los biomateriales (Hollinger JO, 1996; Finkemeier CG, 2002; Delloye C, 2003)

### **2.3.2 - Injertos óseos: tipos**

Un injerto se define como un órgano o tejido que se utiliza para su implante o trasplante (Minsk L, 2005). El injerto óseo es un fragmento de hueso que se puede implantar en un área del esqueleto para restaurar el capital óseo perdido. (Burchardt H, 1983; Stevenson S, 1998; Stevenson S, 1999).

En la actualidad, el injerto de tejido óseo ocupa el segundo lugar en cuanto a número de trasplantes de tejidos, siendo tan sólo superado por el número de transfusiones de tejido sanguíneo (Giannoudis PV, 2005, Shegarfi H, 2009).

Durante las últimas décadas se han desarrollado diversas técnicas quirúrgicas para mejorar las situaciones clínicas de falta de hueso descritas anteriormente, mediante la utilización de injerto de hueso autólogo, aloinjertos, hueso de origen animal o sustitutos óseos sintéticos; además, pueden usarse ciertos factores de crecimiento, expansión de la cresta alveolar y otros tratamientos que se están ensayando actualmente, como son las terapias genéticas (Sethi A, 2000; Triplet RG, 2000, Becker W, 2003; Le Guéhenec L, 2004; Giannoudis PV, 2005; Zijderveld SA, 2005; Fischer J, 2011).

Los distintos tipos de injertos óseos pueden poseer alguna de las siguientes cuatro propiedades (Giannoudis PV, 2005; McAllister BS, 2007):

**Osteogénesis:** viene dada por la presencia en el propio injerto de células con capacidad de diferenciarse en osteoblastos y osteocitos.

**Osteoinducción:** es la capacidad de estimular las células mesenquimales del huésped para diferenciarse en células osteoblásticas que formen hueso. Este concepto se estableció en 1965 con la formación ósea heterotópica inducida por la familia glicoproteica de los morfogenes, conocidas como Proteínas Morfogenéticas del Hueso (BMPs)

**Osteoconducción:** describe la facilitación y orientación de los vasos sanguíneos y la creación de nuevos sistemas haversianos; es decir, sobre un soporte físico se lleva a cabo el proceso de colonización y proliferación ósea.

**Osteointegración:** describe la unión en superficie del hueso del huésped con el material de injerto.

PROPIEDADES				
	OSTEOINDUCCIÓN	OSTEOCONDUCCIÓN	OSTEOINTEGRACIÓN	OSTEOGÉNESIS
<b>TIPO DE INJERTO</b>	Autoinjerto Aloinjerto Xenoinjerto Alopástico	Autoinjerto Aloinjerto Xenoinjerto	Autoinjerto Aloinjerto Xenoinjerto Alopástico	Autoinjerto
<b>CARACTERÍSTICAS</b>	Soporte para la neoformación ósea.	Con factores de crecimiento que favorecen la neoformación ósea	Unión de la superficie del material y el hueso	Contiene células osteogénicas

Tabla 1. Propiedades de los distintos tipos de injertos óseos.

El injerto óseo ideal debería comportarse como una material de regeneración que se reabsorba completamente de modo simultáneo a la formación del hueso nuevo, no limitándose a ser sólo un sustituto óseo. Siendo los elementos derivados de su descomposición reutilizados para aumentar la masa ósea existente.

Además, por sus propiedades osteoconductoras deberá permitir la formación de hueso y preservar el espacio y volumen existente, previniendo la invasión del mismo por tejido blando y conectivo (Foitzik C, 2003).

Según la relación genética existente entre el donante y el receptor, así como el origen y la procedencia embriológica de los injertos óseos, se pueden clasificar en cuatro grupos bien diferenciados entre sí (Friedlaender GE, 1987; Goldberg VM, 1987).

### 2.3.2.1 - Autoinjerto

El procedimiento se basa en la obtención de hueso del propio paciente, presentando este injerto las mejores propiedades biológicas. Actualmente es considerado Gold Standar; aportando factores de crecimiento con capacidad osteoinductora, células osteogénicas; actuando además, como un soporte osteoconductor.

Por lo tanto, presenta carácter osteogénico, al contener células osteogénicas viables y proteínas de la matriz ósea, así como poder osteoconductor y osteoinductor, y además no provoca reacciones inmunológicas (Le Guéhenec L, 2004; Giannoudis PV, 2005).

Para su obtención, se pueden considerar dos fuentes principales; una fuente extraoral (principalmente de la cresta iliaca), o una fuente intraoral (rama mandibular, mentón, cresta alveolar edéntula, exóstosis, torus, tuberosidad maxilar...etc). Teniendo en cuenta que la elección de la zona va a determinar la reabsorción y comportamiento posterior del injerto (Minsk L, 2005; Schlegel KA, 2006).

Uno de los principales inconvenientes que presentan los autoinjertos, es la disponibilidad limitada de los mismos (Le Guéhenec L, 2004; Giannoudis PV, 2005) y los problemas asociados a la extracción del mismo; afectación de estructuras anatómicas indemnes, infección y dolor postoperatorio, y la morbilidad quirúrgica ocasionada en la zona donante del injerto (Kalk VW, 1996; Nkenke E, 2001; Nkenke E, 2002; Nkenke E, 2004). Además, sufren una reabsorción considerable y tienen una viabilidad limitada debido a la falta de vascularización. Hay autores, como Esposito y cols, que en su revisión sistemática del año 2006 sobre técnicas de aumento óseo, ponen de manifiesto que el hueso autógeno podría no ser siempre la mejor elección (Esposito M, 2006). Estas desventajas son las que han obligado a los clínicos e investigadores a desarrollar diversos sustitutos óseos que puedan utilizarse con éxito en el tratamiento implantológico con compromiso óseo (Jensen SS, 1996; Kalk VW, 1996; Norton MR, 2002; Schnettler R, 2004; Giannoudis PV, 2005).

El éxito de estos injertos viene determinado por el origen embriológico del hueso utilizado, ya que sufre menos reabsorción si es de origen membranoso que si es de origen endocondral. Otro factor a tener en cuenta es la tasa de revascularización del injerto, que es mejor en los de hueso esponjoso que en los corticales. Por último cabe destacar la importancia de las características estructurales y biomecánicas, la fijación del injerto en el lecho receptor, la orientación del injerto y la disponibilidad de factores de crecimiento locales (Hallman M, 2008).

### 2.3.2.2 - Aloinjerto

El primer reporte en la literatura científica de la utilización exitosa de un aloinjerto óseo fue publicado en 1881 (Mc Ewen W, 1881).

Se obtiene a partir de tejido óseo donando por un individuo de la misma especie (Hallman M, 2008). Se obtiene de bancos de tejidos humanos y normalmente se puede emplear en dos formas: fresco o procesado (congelado, deshidratado y descalcificado).

El empleo de injerto fresco es muy limitado, y actualmente está obsoleto.

Actualmente el injerto congelado es la mejor opción debido su baja degradación enzimática y limitada reacción inmunológica; pero aún así tienen limitaciones, como son los resultados clínicos variables y la potencialidad para transmitir enfermedades.

Sus propiedades mecánicas y biológicas son variables y depende de los sistemas de conservación y esterilización empleados previamente. Son sometidos a esterilización terminal, empleando técnicas como la irradiación gamma o esterilización con óxido de etileno (Burchardt H, 1983; Fernández de Retana P, 1993; Garbuz DS, 1998).

Este tipo de injerto, no posee poder osteogénico, ya que al no contener células viables, provoca que la integración en el hueso del paciente sea más lenta que en el caso de los autoinjerto. Sin embargo, si presenta carácter osteoconductor, y en menor grado osteoinductor (Le Guéhennec L, 2004; Giannoudis PV, 2005; Minsk L, 2005; Hallman M, 2008).

### 2.3.2.3 - Isoinjerto o injerto singénico

Se trata de un tipo de injerto procedente de un donante genotípicamente idéntico al receptor, como es el caso de los gemelos univitelinos o animales de laboratorio procedentes de un mismo ovocito (Elves MW, 1995).

Sin embargo, estos injertos pueden transmitir enfermedades y algún rechazo debido a pequeñas diferencias genéticas (Benito JC, 2000 ; Estrada C, 2006 ; Malloy KM, 2002 ; Valle-Ortiz M, 2000).

#### 2.3.2.4 - Xenoinjerto o heteroinjerto

Los xenoinjertos son injertos procedentes de especies biológicas diferentes de la del injertado, o sea en nuestro caso, que no son humanas. Se obtienen mediante procedimientos de calcinación y lavado alcalino, consiguiéndose productos osteoconductores.

Como ventaja principal cabe destacar la facilidad de su obtención; sin embargo, su capacidad inmunogénica, tanto de las células como de la matriz orgánica, limita su utilización y hace necesaria su desproteinización.

Existen diferentes preparados de heteroinjertos óseos disponibles, siendo los más conocidos los huesos de Kiel y Oswestry, de origen bovino. Presentan las mismas ventajas que los aloinjertos, pero carecen de capacidad osteoinductora siendo sus propiedades biomecánicas deficientes, debido a los procesos de conservación y esterilización.

### 3. - BIOMATERIALES

Se denomina biomaterial, “aquel material diseñado para interactuar con sistemas biológicos con el fin de tratar, aumentar o reemplazar cualquier tejido, órgano o función del cuerpo” (Williams DF, 1999).

Por lo tanto, se puede considerar biomaterial a todas aquellas sustancias o combinaciones de sustancias, naturales, naturales modificadas o sintéticas, que pueden ser implantadas en el organismo e interactuar con el sistema biológico; para tratar, restituir, sustituir o aumentar un órgano o tejido, entre los cuales se encuentra el tejido óseo.

La principal característica de los biomateriales es la biocompatibilidad de los mismos, la cual se define como “la capacidad de un material para desempeñarse en una aplicación específica con una respuesta apropiada del sistema biológico huésped” (Sastre R, 2004).

Este concepto supone la inalterabilidad del tejido circundante, es decir, ausencia total y absoluta de inflamación, necrosis o fibrosis del tejido implantado (Wilson J, 1993).

Si bien, se pone de manifiesto que la implantación de un biomaterial genera la reacción de los tejidos vivos receptores, produciéndose un proceso inflamatorio de cuantía variable que concluye con la cicatrización (Williams DF, 1992; Vallet-Regí M, 2000).

La respuesta de los tejidos puede favorecer la incorporación del material o acelerar la regeneración de una lesión. Este es el caso de los implantes de cementos óseos, los cuales interactúan directamente con los componentes del tejido óseo y el proceso resultante permite la reparación del defecto óseo (Clément J, 2001; Ginebra MP, 2004).

### 3.1 - BIOMATERIALES Y REGENERACIÓN ÓSEA

Aún siendo exitoso los resultados obtenidos en el ámbito de la medicina regenerativa, no se ha logrado conseguir un biomaterial que cumpla con las propiedades de los injertos autólogos: osteoinductor, osteointegrador, osteogénico y osteoconductor.

El injerto óseo ideal se podría definir como aquel sustituto biocompatible que sea capaz de estimular el crecimiento óseo (osteoinductor), mantenga volumen durante el proceso de cicatrización (osteoconductor), y que sea sustituido gradualmente por hueso de nueva formación (Cheumosova S, 2014).

Este hecho promueve que a día de hoy, se investigue sobre el desarrollo de un biomaterial óptimo que cumpla estas cuatro características.

La evolución de los materiales de regeneración ósea en las últimas décadas está recogida en la siguiente tabla (Tabla 2), en la que se muestra la tendencia a reemplazar injertos autólogos o de origen humano o animal por materiales sintéticos.

<b>Injerto Autólogo</b>	Hueso Propio Requiere cirugía de extracción en otra localización No recomendada en pacientes con baja densidad ósea
<b>Transplante Alogénico</b> (DFBD®, Puros®)	Hueso de donante Suministro limitado Riesgo de morbilidad por contaminaciones
<b>Xenotransplante</b> (Bio-Oss®, PepGen15®)	Hueso de animales Considerables riesgos y costes asociados al uso de productos animales.
<b>Material sintético No-reabsorbible</b> (Engipore200®)	Materiales no reabsorbibles como la hidroxiapatita o coral. Bajo riesgo de morbilidad.
<b>Material sintético y reabsorbible</b> (Vitoos®)	Materiales sintéticos lentamente reabsorbibles como el fosfato tricálcico. Muy bajo riesgo de morbilidad.
<b>Material Sintético , osteointegrable y osteoinductivo</b> (Bioglass®)	Materiales vítreos o vitrocerámicos que contienen calcio, sílice e iones metálicos.
<b>Con Factores de Crecimiento</b> (OP-1®, Grafton®, DBM®)	Contienen Colágeno, BMP, DBM, PDGF o PRP. Riesgos según los Factores.

Tabla 2. Evolución histórica de los materiales de regeneración ósea

Los biomateriales que tienen utilidad como sustitutivos óseos son los que al ser implantados tienen la capacidad de promover la regeneración o reparación ósea, por lo que pueden ser empleados con éxito en tratamientos odontológicos con pérdida de tejido óseo, como cirugías de exodoncias, solución de cavidades óseas generadas por la resección de tumores o para rellenar defectos óseos. Se considera que los biomateriales ideales y realmente regenerativos, son aquellos que progresivamente son sustituidos por tejido óseo neoformado en el hueso receptor (Delloye C, 2003; Vallet-Regí M, 2000; Bauer TW, 2002; Greenspan DC, 1999).

El biomaterial ideal para ingeniería de tejido óseo, debería ser multifuncional y cumplir los siguientes requisitos:

- 1. Capacidad de incorporar células:** No sólo debe ser biocompatible, debe además promover la adhesión, diferenciación y proliferación de células osteoproductoras.
- 2. Osteoconductividad y bioactividad:** Debe permitir y promover la deposición directa y migración de nuevo hueso sobre su superficie, sin la mediación de cápsula fibrosa típica de la respuesta inmune a cuerpo extraño.
- 3. Biodegradabilidad:** La composición y porosidad del injerto deben ser tales que se produzca la biodegradación *in vivo* a una tasa similar a la de regeneración del tejido óseo.
- 4. Propiedades mecánicas:** La resistencia mecánica inicial del injerto, determinada por la resistencia intrínseca del material componente y su porosidad, debe ser suficiente para proporcionar la estabilidad mecánica necesaria al sitio implantado, mientras las células sintetizan la matriz extracelular necesaria para la estabilización definitiva.
- 5. Estructura de poros:** El injerto debe tener un elevado volumen de poros abiertos (> 90%) interconectados con diámetros entre 300-500  $\mu\text{m}$  para permitir la penetración celular, la colonización, vascularización y el intercambio de nutrientes y residuos metabólicos entre su interior y el medio circundante.
- 6. Fabricación:** Debe ser fácil de producir en las formas y dimensiones deseadas, y permitir la esterilización y conservación en el tiempo sin alteración de su comportamiento biológico.

En la siguiente tabla (Tabla 3) se muestran los principales materiales actualmente disponibles en el mercado europeo para aplicaciones de regeneración ósea dental y maxilofacial.

Denominación	Fabricante	Características
Ladecce®	DENSPLY France	Hueso bovino desproteinizado y liofilizado
FRIOS Algipore®	DENSPLY France	Fluorhidroxiapatita a partir de algas marinas
Emdogaim®	Strauman Holding	Complejo proteico de matriz de esmalte dental
BoneCeramic®		Sintético: Cerámica bifásica macroporosa
BioGran®	Biomet 3i	Sintético: Vidrio (45% SiO <sub>2</sub> , 6% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 24,5% CaO, 24,5% Na <sub>2</sub> O)
Calcigen Oral®		Sintético: Yeso(CaSO <sub>4</sub> .0,5H <sub>2</sub> O)
Endobone® Xenoinjerto	Biomet Orthopaedics Switzerland GmbH	Hidroxiapatita bovina
Pasta de Aloinjerto RegenerOss®	Interpore Cross Internacional	Matriz ósea bovina desmineralizada y vehículo de lecitina
Aloinjerto RegenerOss®	Banco de tejidos de la Universidad de Miami	Hueso humano cortical o esponjoso, mineralizado o desmineralizado
Puros®	Zimmer Dental	Hueso bovino acelular desgrasado
IngeniOs HA®		Sintético: Cerámica macroporosa de HA
IngeniOs B-TCP®		Sintético: Cerámica macroporosa de B-TCP
Cerasorb®	Curasan AG	Sintético: Cerámica macroporosa de B-TCP
Bio-Oss®	Geistlich Pharma AG	HA bovina
Ostim®	Heraeus S.A	Pasta de nanohidroxiapatita sintética

Tabla 3. Materiales comercializados en Europa.

Dependiendo del origen de las sustancias que componen estos biomateriales empleados para la regeneración ósea, se pueden diferenciar dos grandes grupos; los biomateriales de origen sintético, y los biomateriales de origen natural.

A estos últimos se les atribuye el riesgo potencial de provocar reacción autoinmune y portar infecciones como la encefalopatía espongiforme y el virus de inmunodeficiencia humana.

### 3.1.1 - Biomateriales naturales

Se han realizado varios estudios de biomateriales fabricados a partir de compuestos de origen natural que promueven la formación de nuevo hueso, llegando a ser biomateriales viables para la regeneración ósea.

#### 3.1.1.1 - Derivados coralinos

Born y cols, investigaron acerca de una especie de corales de la familia *Isidella*, también conocido como coral bambú, procedente de mares a profundidades de 1000 m, en el instituto de ciencia de materiales de Alemania. Estos autores hallaron por medio de análisis de espectroscopía, la composición mineral responsable de la estabilidad mecánica del coral; mostrando una fase orgánica compuesta principalmente por glutamina y prolina; y una fase inorgánica, compuesta por calcita  $\text{CaCO}_3$ . La composición del esqueleto y las dimensiones de la matriz orgánica de los corales de bambú son muy similares a la del hueso humano, con estructuras porosas con separaciones a partir de 100 nm, con estructuras calcáreas óseas, alternados por nodos proteicos (Born R, 2010).

Soria y cols, estudiaron el coral rojo y nácar, realizando pruebas de microdureza, encontrando que estas muestras con diferentes porosidades obtenían durezas mayores a las de hueso bovino (55-70 HV), las cuales se encontraban por encima de 130 HV. La porosidad del material es de gran importancia, ya que se encuentra relacionado con la degradación del mismo (Soria J, 2008).

Guangpeng y cols, enfocaron su estudio en la fabricación de un *scaffold* a partir de un coral natural, con una concentración de carbonato de calcio de 99% y tamaño de poro de 100 a 300  $\mu\text{m}$ .

Se insertaron en la matriz células madre osteoinducidas y se cultivaron allí por siete días, luego se realizó inserción en un perro con defectos en el cráneo, obteniendo como resultado la proliferación rápida de células que mantienen su fenotipo osteogénico y creación de matriz extracelular. A 24 semanas postimplantación, se observó corrección completa del defecto óseo (Guangpeng L, 2013).

Por lo tanto, la composición química del coral es similar a la composición química del hueso, ya que a partir de carbonato cálcico es posible obtener fosfato cálcico. Gracias a las propiedades físicas, químicas y mecánicas que ha mostrado el coral, se ha usado como andamio o *scaffold* en la ingeniería de tejidos (Hamza S, 2013).

#### **3.1.1.2 - Hueso bovino desproteínizado:**

La matriz de hueso desmineralizado ha sido empleada como material osteoinductor a lo largo del desarrollo de la ciencia regenerativa, demostrando gran capacidad de inducir la formación de hueso en lugares ectópicos. Esta matriz, ha sido incorporada a distintos tipos de *scaffolds* permitiendo una mejor regeneración de los defectos.

El proceso de desmineralización del hueso, expone los distintos factores de crecimiento de la matriz, los cuales tienen participación directa en las funciones de osteogénesis, osteoconducción, remodelación, realización y homeostasis en el microambiente celular óseo.

La remodelación ósea que presenta este tipo de neohueso formado a partir del material presenta una fase inicial donde las partículas del material se integran al hueso circundante; posteriormente ocurre la reabsorción por actividad osteoclástica y por último, tiene lugar la neoformación ósea, donde los osteoblastos sustituyen las partículas del material con hueso laminar denso (Santoro F, 1997).

##### **3.1.1.2.1 - Geistlich Bio-Oss Collagen®**

Uno de los biomateriales más utilizados es Bio-Oss®, se trata de un material basado en matriz colágena de hueso bovino desmineralizado y esterilizado. Se presenta en forma de granulado y en bloques, con un tamaño de cristales de 10 nm.

Posee una porosidad de un 75% - 80%, ocupando así solo el 20 a 25% del volumen total del sitio donde se coloca, dejando así gran parte del volumen disponible para la formación y remodelación ósea (Artzi Z, 2000). De tal forma que, sus macroporos y microporos son de tamaño similar al hueso cortical, y facilitan el crecimiento de las células (Piatelli M, 1999).

El hueso bovino obtenido es sometido a una calcinación (800 – 1200 °C) con lo cual se produce una ceramización de los cristales de hidroxapatita, lo que determinaría un aumento en el tiempo de reabsorción total de 4 años o más.

Bio-Oss® ha demostrado ser altamente biocompatible con tejidos duros orales en humanos y animales, además cumple con los criterios de ser un material osteoconductor, actuando como un andamio para la formación ósea (Carmagnola D, 2002).

Existe una gran discusión respecto a la degradación de Bio-Oss®, encontrándose estudios que relatan un rápido reemplazo por hueso nuevo y en otros existe un escaso o nulo reemplazo.

Estudios histológicos realizados a los seis meses después de colocar el injerto óseo muestran que las partículas de Bio-Oss® ocupan un 25% a un 30% del área de las muestras obtenidas y un 34% a un 40% de ellas estaban en contacto con hueso (Taylor J, 2002).

En un ensayo clínico controlado aleatorio realizado por Neiva y cols, se estudió la eficacia de una masilla compuesta de hueso bovino inorgánico y un péptido P-15 (Putty P15) en la preservación de la cresta alveolar, comparado con el grupo control sin material de relleno. Se aplicó una membrana de colágeno en ambos grupos. Después de 4 meses de cicatrización, en la re-intervención quirúrgica no se encontraron diferencias entre ambos grupos en la reducción del ancho del reborde, aunque la reducción en altura fue menor en el grupo con PuttyP15 que con el control. Se observó también una mayor densidad ósea en el grupo de estudio (Neiva R, 2008).

Otro estudio clínico reciente se utilizó un diseño de boca dividida, donde se trataron alveolos con esta matriz de hueso bovino inorgánico junto con el péptido sintético P-15 y se compararon con el control sin tratar. En ambos grupos el alveolo se cubrió con matriz dérmica acelular. A los 6 meses de curación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la altura de la cresta alveolar.

Sin embargo, la resorción del ancho de la cresta fue significativamente mayor en el control (3,40 mm) en comparación con el grupo de estudio (2,52 mm) (Fernandes PG, 2011).

Brownfield y cols, compararon la efectividad de una mezcla de hueso esponjoso con matriz ósea desmineralizada siendo el control el alveolo sin rellenar. En ambos casos el alvéolo se cubrió con una membrana de colágeno. En este caso no se encontraron diferencias significativas en la resorción de la cresta alveolar, aunque se encontró una correlación significativa entre el espesor de la placa ósea bucal inicial y la pérdida de altura de la cresta (Brownfield LA, 2012).

En otro estudio llevado a cabo en perros se comparó el Bio-Oss® con alveolos que no se habían rellenado y se observó que estos tuvieron una resorción mucho mayor que los que se trataron con Bio-Oss® aunque este solo actuó como un soporte y no estimuló la formación de hueso (Araujo M, 2009).

### **3.1.2 - Biomateriales sintéticos**

Los materiales totalmente sintéticos carecen de los riesgos que presentan los injertos de origen natural, y generalmente consisten en fosfatos de calcio o vidrios bioactivos, procesados como bloques o granulados cerámicos o como composites, en bloques, granulados o pastas, que incorporan además una o más sustancias aglutinantes, generalmente polímeros.

Los biomateriales de origen sintético, se clasifican en cuatro grandes grupos: biomateriales poliméricos, biomateriales metálicos, biomateriales cerámicos y biomateriales compuestos (Mainard D, 1997).

Destacando entre ellos las cerámicas bioactivas y los cementos de fosfatos de calcio porque son comparativamente similares a la fase mineral del hueso.

### 3.1.2.1 - Biomateriales poliméricos

Tradicionalmente, los materiales poliméricos han sido ampliamente empleados en el ámbito biosanitario. En la actualidad estos materiales siguen desarrollando nuevas aplicaciones y mejorando las propiedades de los polímeros empleados inicialmente (alta ductilidad, bajo peso y fácil conformado y mecanizado).

Debido a que presentan bajos módulos elásticos en comparación con el hueso, estos materiales son empleados en la sustitución de tejidos blandos como piel, cartílagos y ligamentos.

Entre las aplicaciones más importantes cabe destacar su uso como elementos de fijación en forma de cementos óseos, suturas, membranas y prótesis artificiales. Entre los materiales más utilizados se encuentran: polímeros fluorados como el teflón, poliésteres, policarbonatos, poliamidas, elastómeros, siliconas, etc.

Los polímeros de acuerdo a su comportamiento a lo largo del tiempo, se pueden clasificar en; bioestables si presentan un carácter permanente sustituyendo parcial o totalmente tejidos; o bien pueden ser biodegradables si tienen funcionalidad temporal.

Las suturas representan el campo de mayor éxito dentro de los materiales quirúrgicos poliméricos biodegradables. Consisten en materiales bioabsorbibles de manera que la aplicación dentro del organismo pasa de ser permanente a ser temporal.

Entre estos materiales, tienen particular importancia los cementos óseos acrílicos, que presentan importantes campos de aplicación; pudiendo destacar el polimetacrilato de metilo (PMMA), empleado en la medicina traumatológica como cemento óseo. Este cemento permite la unión de materiales biocompatibles como el titanio al hueso vivo.

Pero a pesar de su extendido uso, presenta varios inconvenientes que limitan su empleo en medicina regenerativa; ya que se trata de un biomaterial que a pesar de ser biocompatible, no se reabsorbe, permaneciendo en el lugar de implantación de forma inalterable. Presenta además unas propiedades cohesivas pobres, debido a que la unión formada entre la prótesis y el hueso vivo, no es estable (Kenny SM, 2003).

### 3.1.2.2 - Biomateriales metálicos

De los biomateriales metálicos hay que tener en cuenta en primer lugar, la biocompatibilidad con el medio biológico y la ausencia total de corrosión. Entre los materiales metálicos empleados en medicina destacan los aceros inoxidable tipo 316L, las aleaciones de cobalto y cromo, las aleaciones titanio, aluminio y vanadio y las aleaciones cobalto, níquel, cromo y molibdeno.

Estos materiales poseen una gran resistencia mecánica a tracción, resistencia a la fatiga, ductilidad y tenacidad en comparación con los materiales cerámicos y poliméricos. Gracias a sus propiedades mecánicas y a su gran resistencia; han sido empleados en medicina para fijación de estructuras anatómicas, sustitución de partes de tejido óseo o como elemento de estabilidad biomecánico.

Presentan como principal inconveniente la corrosión de su superficie, debido al contacto del metal con los fluidos biológicos, provocando un empeoramiento progresivo de la propiedades mecánicas iniciales y produciendo la contaminación del tejido circundante debido a la liberación de productos corrosivos (citoquinas, alergias, etc) (Dunstan E, 2008).

Aunque existen metales como el titanio, que forman una capa de óxido en su superficie pasivando el fenómeno corrosivo, de tal forma que protegen el interior del metal evitando que la corrosión progrese (Okazakia Y, 2005; David HK, 1998).

Actualmente se buscan nuevas técnicas de procesamiento para maximizar las propiedades mecánicas de las aleaciones actuales y lograr que sus superficies tengan texturas adecuadas para inducir la respuesta biológica deseada.

Por ejemplo, está en estudio el desarrollo de microelectrodos para dispositivos neurológicos que resistan la corrosión y en particular, el fenómeno de tensión-corrosión (stress corrosión cracking) inducida por el medio biológico.

### 3.1.2.3 - Biomateriales cerámicos

En el campo de la biomedicina, las investigaciones relacionadas con el empleo y aplicación de las cerámicas en el campo de la regeneración ósea se extiende a lo largo de los últimos 45 años, momento en el que son detectados fracasos con los biomateriales clásicos empleados; como eran el acero, aleaciones de cobalto y polimetilmetacrilato.

Los materiales biocerámicos poseen una buena biocompatibilidad y oseointegración, además, son los materiales más parecidos al componente mineral del hueso, por lo que sus expectativas de aplicación son muy amplias.

Los principales motivos que han favorecido el desarrollo de estos materiales han sido sus propiedades mecánicas (dureza y resistencia al desgaste y fricción) y la inalterabilidad en el organismo, debido a su composición. Consiguiendo mejorar sus propiedades mecánicas a través de una optimización de su microestructura.

La gran mayoría de los materiales cerámicos, corresponden a óxidos metálicos que carecen de cualquier tipo de proceso degenerativo (Hench LL, 1998; Greenspan DC, 1999 ; LeGeros RZ, 2002).

Los materiales cerámicos cuando entran en contacto con el tejido óseo, forman en su superficie una capa de material osteoide que posteriormente se mineraliza, dando lugar a un hueso remodelado. Esta capa de osteoide depositada en la superficie, se une íntimamente a la cerámica, inhibiendo la proliferación de cualquier célula fibroblástica.

Por lo tanto, se puede determinar que las cerámicas sintéticas no poseen propiedades osteogénicas ni osteoinductoras (Giannoudis PV, 2005).

Según De Aza y cols, las biocerámicas se pueden clasificar en tres grandes grupos; cerámicas bioinertes, cerámicas bioactivas y cerámicas biodegradables (De Aza PN, 2005).

a) Cerámicas **bioinertes**. Aunque presentan una elevada estabilidad dimensional in vivo, tienen una influencia nula o muy pequeña en el tejido óseo circundante. Poseen gran resistencia mecánica y óptima biocompatibilidad. Su principal representante es la alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ),  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ .

b) Cerámicas **bioactivas**. Establecen contacto íntimo directamente con el hueso vivo. A pesar de ello, sus propiedades mecánicas son inferiores a las de las cerámicas bioinertes. A este grupo pertenecen los vidrios bioactivos y las cerámicas de fosfatos de calcio.

c) Cerámicas **biorreabsorbibles**. Después de su implantación son progresivamente reemplazadas por tejido óseo neoformado. Para ello debe existir una adecuada correlación entre las velocidades de reabsorción del biomaterial y de regeneración del hueso. En este grupo se puede clasificar los cementos de fosfatos de calcio.

Los productos cerámicos suelen estar constituidos de una fase amorfa y/o cristalina. Las características principales de los materiales cerámicos, radica en su buena biocompatibilidad y su gran poder osteointegrador. Teniendo en cuenta este punto, se podría determinar que las cerámicas los biomateriales más parecidos al componente mineral del tejido óseo.

Sin embargo, debido a que son muy rígidas y quebradizas, su aplicación en áreas que deben soportar cargas es muy limitada (Daculsi G, 1998).

La biocompatibilidad de las cerámicas deriva de su composición química, que contiene iones comúnmente encontrados en el ambiente fisiológico (calcio, potasio, magnesio, sodio, etc.) y otros iones con poca toxicidad para los tejidos como aluminio y titanio (Vaccaro AR, 2002).

Otra de las características más importantes, es la porosidad. Presentan en su estructura con macroporosidades, que proporcionan una matriz para la colonización celular, y microporosidades que permiten la circulación de los fluidos corporales (Passutti N, 1997; LeGeros RZ, 2002; Le Guéhennec L, 2004; Allegrini S, 2008).

La buena porosidad del material, viene determinada por la interconexión de los poros y por el tamaño de los mismos, siendo ideal que el tamaño del poro de una cerámica se aproxime al del hueso esponjoso, es decir 565 nm (Hsu YH, 2007).

#### **3.1.2.3.1 - Cerámicas Bioinertes**

Las cerámicas bioinertes cuando son implantadas y expuestas a fluidos fisiológicos, no presentan ningún tipo de modificación, manteniendo sus propiedades mecánicas y físicas durante largos periodos de tiempo. Normalmente la respuesta del cuerpo a este tipo de cerámicas es la formación de una capa fina de tejido fibroso con un espesor del orden de micras o menor, entre el tejido circundante y la superficie del implante (Dubok VA, 2000).

Sin embargo el principal problema para su empleo como sustitutivo óseo es el alto módulo de elasticidad que posee (alrededor de 380-420 GPa), lo cual provoca un elevado desajuste elástico en la interfase con el hueso. Produciéndose una distribución asimétrica de cargas, es decir, el hueso se ve protegido frente a las cargas y esfuerzos, generando un cambio atrófico del mismo. Este hecho provoca que la probabilidad de fractura del hueso, de la interfase o del implante, sea muy elevada.

A este grupo de materiales pertenece la alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), zirconia ( $\text{ZrO}_2$ ) y combinaciones de ambas.

#### **3.1.2.3.2 - Cerámicas Bioactivas**

Bauer y cols, definen material bioactivo como aquel material que promueve una respuesta biológica en la interfaz tejido-injerto, derivando en la formación de un enlace químico entre el material y el tejido óseo en entornos fisiológicos permitiendo así que se produzca una fijación estable (Bauer TW, 2002).

### 3.1.2.3.2.1 - Cerámicas bioactivas a base de fosfato de calcio

Los fosfatos de calcio presentan en su composición elementos inorgánicos idénticos a los constituyentes de la matriz extracelular de tejidos duros tales como los dientes y los huesos; resultando por tanto materiales interesantes en el campo de la regeneración ósea. Además, permiten el intercambio de algunos iones cuando se encuentran en contacto con fluidos biológicos.

Se trata de biomateriales de primera elección destinados a remplazar el tejido, es decir actuar como relleno del defecto óseo. Son altamente biocompatibles, uniéndose íntimamente al tejido óseo mediante una unión química que se establece al poco tiempo de ser implantados. Aunque estos materiales son bioactivos tienen el inconveniente de que no son totalmente reabsorbidos. Los fosfatos de calcio más empleados son la hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), y el  $\beta$ -fosfato tricálcico ( $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), o mezclas de ambos.

Estos biomateriales comerciales de uso en la actualidad, fueron desarrollados e introducidos en el mercado entre los años 70 y 80, y a pesar de funcionar aceptablemente en muy variadas aplicaciones clínicas por sus propiedades osteoconductoras y capacidad de reabsorberse, se les atribuyen diversos inconvenientes, ya que la degradación de la HA es considerablemente más lenta que la del TCP (Nilsson M, 2002).

Los fosfatos de calcio pueden utilizarse junto a matrices de colágeno o mezclados con pegamentos de fibrina, los cuales forman una red en la que los minerales pueden cristalizar y aportar proteínas importantes en el proceso (Hallman M, 2008; Takahasi K, 2009).

Se distinguen dos tipos de fosfatos de calcio: los obtenidos por precipitación a partir de una solución acuosa a temperatura ambiente, conocidos como fosfatos de calcio de baja temperatura, y los obtenidos por una reacción térmica, conocidos como fosfatos de calcio de alta temperatura.

Estos últimos son los tradicionalmente usados en medicina, encontrándose entre ellos el  $\beta$ -fosfato tricálcico. Este compuesto se obtiene a temperaturas de 650°C por varios mecanismos, y difiere del fosfato tricálcico únicamente en la estructura cristalina.

#### A) $\beta$ -fosfato tricálcico

Se trata de un biomaterial ampliamente extendido en el campo regenerativo. Su principal característica radica en su carácter biodegradable; ya que a medida que el hueso nuevo prolifera, el material se reabsorbe por vía osteoclástica (Fujita R, 2003).

Presenta en su superficie múltiples poros que permiten la infiltración celular osteoblástica, y la formación de osteoide mineralizado. El tamaño de estos poros deben superar las 400 micras, para que permita el crecimiento de vasos sanguíneos en el interior (Von Doernberg MC, 2006; Walsh WR, 2008; Ghanaati S, 2010; Bashoor-Zadeh M, 2011; Feng B, 2011).

Sus propiedades mecánicas suponen un inconveniente, debido a su fragilidad frente a cargas y tensiones elevadas; por lo que se intentan desarrollar materiales bioactivos que mejoren las características de éstos para semejarlas a las del hueso vivo.

Se ha demostrado que la microestructura de las partículas de  $\beta$ -fosfato tricálcico afecta tanto a la respuesta inflamatoria inicial, como a la reabsorción del biomaterial y al metabolismo del hueso neoformado (Okuda T, 2007; Ghanaati S, 2010).

El estudio de Franco y cols, *in vitro* e *in vivo* mostró que la superficie del  $\beta$ -fosfato tricálcico es colonizada en primer lugar por proteínas y células, y posteriormente por tejido fibrovascular con una intensa actividad angiogénica y ribetes de células multinucleadas que proceden a la remoción del material. El progreso de esta colonización hacia el interior del material depende de su porosidad. En una segunda fase, la matriz proteica extracelular que embebe fragmentos del material se mineraliza, quedando englobado el  $\beta$ -fosfato tricálcico en su interior (Franco J, 2006).

Por tanto, entre los sustitutos sintéticos, el  $\beta$ -fosfato tricálcico es un material biocompatible, reabsorbible y osteoconductor que ha sido utilizado ampliamente para la reparación de defectos óseos, ya que permite por sus características fisicoquímicas la infiltración de células osteogénicas y la conservación del espacio rellenado con éxito en diversas áreas de la medicina (Linovitz RJ, 2002; Ogose A, 2002; Gaasbeek RDA, 2005; Ogose A, 2005; Ogose A, 2006; Momma F, 2008) y odontología (Foitzik C, 2003; Horch HH, 2006; Aguirre-Zorzano LA, 2007; Zafiroopoulos GG, 2007; Döri F, 2008; Yamauchi K, 2010; Ono D, 2011).

## B) Hidroxiapatita

La Hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), es considerada como la cerámica bioactiva por excelencia, ya que es el único material que verdaderamente se une al hueso. La hidroxiapatita es el componente mineral principal de tejidos duros como son el hueso y dientes (Goyenvalle E, 2000).

Es una sustancia biocompatible, bioactiva y osteoconductor. Presenta una estructura porosa que favorece la infiltración del frente osteoblástico permitiendo la regeneración ósea y la formación de capilares sanguíneos en el interior del propio material. Pero a pesar de ello, esta estructura porosa provoca que la hidroxiapatita presente malas propiedades mecánicas, debido a su baja resistencia y a su fragilidad superficial.

La estructura de la hidroxiapatita permite la sustitución de Ca,  $\text{PO}_4$  y OH por otros iones, tales como fluoruro (F-), cloruro (Cl-) y carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), dando como resultado cambios en sus propiedades, morfología, solubilidad, etc, pero sin tener cambios significativos en su simetría hexagonal. Una de las sustituciones más importantes la representan los carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), los cuales pueden sustituir tanto a los grupos hidroxilo (OH) como a los grupos fosfato ( $\text{PO}_4$ ).

La sustitución de los fosfatos, por los grupos carbonatos, constituyen una composición muy parecida a la estructura de la fase mineral de los huesos y dientes, las cuales se denominan apatitas biológicas.

Las apatitas biológicas o hidroxiapatitas carbonatadas, difieren de la hidroxiapatita pura en estequiometría, composición deficiente de calcio ( $\text{Ca/P} = 1.5-1.65$ ), cristalinidad, y algunas propiedades físicas y mecánicas (Balamurugan A, 2006).

La hidroxiapatita de origen cerámico, presenta una estructura cristalina resistente a los fenómenos de reabsorción *in vivo*, ya que es muy poco soluble y se reabsorbe muy lentamente en aproximadamente un 1 % de su volumen por año desde su implantación.

Este fenómeno, supone un inconveniente en el empleo como material regenerador; por lo que actualmente se investiga acerca de simbiosis con otros materiales u otras formas de fabricación para mejorar su comportamiento reabsortivo (De Aza PN, 2005).

Por lo tanto, se caracteriza por ser un material rígido, frágil y difícil de adaptar a los defectos óseos, que para su utilización en clínica se dispone de presentaciones en forma de gránulos y bloques (Van Landuyt P, 1995).

Existen multitud de biomateriales que combinan ambos elementos; hidroxiapatita (HAp) y beta- fosfato tricálcico (B-TCP), con el fin de mejorar las propiedades regenerativas individuales de cada uno. Uno de estos materiales ampliamente extendido es el Bone Ceramic®.

La evaluación clínica del Bone Ceramic® (material compuesto por HAp y B-TCP) resultó dos veces más eficaz en la preservación del ancho de la cresta alveolar en comparación con Bio-Oss® y similar en cuanto a la altura (Mardas N, 2010).

Sin embargo, en otro ensayo clínico donde se comparó el uso de Bone Ceramic® como material de injerto en el alveolo post-extracción con un control sin rellenar, se encontró que el material parece interferir con los procesos de curación normales del hueso alveolar (De Coster P, 2011).

Por tanto su indicación como material para aumento hueso alveolar cuando sea necesario poner un implante debe ser revisado y basado en nuevos resultados científicos.

### 3.1.2.3.2.2 - Vidrios bioactivos

Por otra parte, existe una amplia variedad de materiales osteoinductivos que aportan diferentes grados de regeneración ósea, todos ellos con sus beneficios y deficiencias.

Ejemplo de ellos son los vidrios bioactivos basados en sílice, que presentan una alta bioactividad y no solo son osteoconductivos, sino también osteoinductivos.

Una de las formulaciones comerciales más importantes es la conocida con el nombre de Bioglass®, con una composición  $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O}$ .

Los vidrios bioactivos presentan como componente mayoritario la sílice, además de estar compuestos de óxido de sodio, óxido de calcio y fosfatos; cambiando sus propiedades de solubilidad en función de la concentración y proporción de estos elementos (Hench LL, 1971).

Los vidrios tienen la capacidad de realizar un rápido intercambio de iones desde la superficie del vidrio a los fluidos circundantes, presentan por tanto una alta reactividad en medio acuoso. Gracias a este intercambio, se produce una modificación de la concentración iónica de fluido, formando la capa de gel de sílice en la superficie del vidrio. Dentro de la capa de gel de sílice los iones de calcio, fosfato y carbonato se combinan formando una capa de carbonato apatita muy similar, a la apatita presente en el hueso (Filho OP, 1996).

Esta capa es química y estructuralmente equivalente a la de la fase mineral del hueso. La apatita formada es similar a la biológica, es nanocristalina y no estequiométrica, con presencia de carbonato. Esta capa de apatita permite una unión química al hueso, sin que se forme tejido conectivo fibroso en la interfaz.

Durante la disolución *in vitro* de estos biovidrios se producen especies iónicas de Si, Ca y P; especialmente las especies iónicas de silicio, ejercen un control genético sobre las células osteoprogenitoras y causan una rápida expresión de los genes que regulan la osteogénesis y la producción de factores de crecimiento, activando los mecanismos de la mineralización y consolidación óseas (Patel N, 2002; Xynos ID, 2001; Hoppe A, 2011 ). Además, se ha demostrado que los biovidrios estimulan la angiogénesis *in vitro* e *in vivo* (Day RM, 2005; Leu A, 2008; Gorustovich AA, 2009).

El Si, es un microelemento esencial para los procesos metabólicos asociados con la formación y calcificación del tejido óseo (Carlisle EM, 1970; Carlisle EM, 1981).

Se han detectado altos niveles de Si durante los primeros estadios de la calcificación de la matriz ósea, lo que se corresponde con las evidencias de que especies de Si acuosas pueden inducir la precipitación de hidroxiapatita, la fase inorgánica del hueso humano (Damen JJ, 1992).

Se ha demostrado que la ingesta de Si aumenta la densidad del mineral óseo en individuos pre-menopáusicos de ambos sexos (Jugdaohsingh R, 2004).

En este sentido, en un estudio en ratas deficientes en calcio corroboraron en que la administración de Si causa efectos positivos sobre la densidad del mineral óseo mediante la reducción de la reabsorción ósea (Kim MH, 2009).

Algunos autores sugieren que el Si tiene una función bioquímica en los procesos de crecimiento óseos que afectan la organización del colágeno y las proteínas de la matriz extracelular (ECM) que contienen ácido siálico, tales como la osteopontina (Nielsen FH, 2004).

Estudios recientes determinan que concentraciones fisiológicas de 10 mmol en ácido orto-silícico ( $\text{Si}(\text{OH})_4$ ) estimulan la diferenciación osteoblástica de células osteoblásticas humanas y la formación de colágeno I ( Reffitt DM, 2005).

Por otra parte, se ha demostrado que el Ca afecta a las células osteoblásticas *in vitro*. Se ha encontrado que concentraciones bajas (2-4 mmol) y medias (6-8 mmol) de Ca son adecuadas para la proliferación y diferenciación de osteoblastos y la mineralización de la matriz extracelular (ECM), mientras que concentraciones mayores (>10 mmol) son citotóxicas (Maeno S, 2005).

Además, el Ca extracelular juega un importante papel en la remodelación ósea mediante la activación directa de mecanismos intracelulares, actuando sobre los receptores sensibles al Ca de las células osteoblásticas. Por ejemplo, el Ca aumenta la expresión de los factores de crecimiento semejantes a la insulina IGF-I o IGFII, responsables de la regulación de la proliferación osteoblástica (Marie PG, 2010).

También se ha descrito que el Ca incrementa la producción de glutamato de los osteoblastos (Valerio P, 2009).

Teniendo en cuenta que la vía de señalización de glutamato juega un papel esencial en la mecano-sensibilidad del hueso, se debe reconocer que la concentración de Ca extracelular es un importante agente regulador del metabolismo óseo (Hinoi E, 2004).

Otro de los elementos importantes para el crecimiento óseo es el fosfato inorgánico, así se ha demostrado que estimula la expresión de la proteína Gla de la matriz (MGP) en células osteoblásticas cuando se añade (10 mmol) al medio de cultivo celular (Julien M, 2009).

Froum y cols, realizaron un ensayo clínico donde compararon histológicamente alveolos rellenos post-extracción con un vidrio bioactivo con una matriz ósea desmineralizada con controles vacíos en 30 alveolos de 19 individuos en un modelo de boca dividida. El estudio demostró una gran variación en cuanto a la resorción entre los materiales de injerto, siendo mucho mayor en el caso del vidrio que de la matriz ósea desmineralizada. Además aunque la diferencia en el porcentaje de hueso vital no fue estadísticamente significativo entre los grupos, este fue mayor en el caso del vidrio (60 %) comparado con un 35 % para la matriz ósea desmineralizada y 32 % en el control (Froum SJ, 1998).

Camargo y cols, realizaron un ensayo clínico en 16 pacientes a los que se les practicó 2 extracciones de dientes anteriores o bicúspides.

El alveolo se rellenó con vidrio bioactivo y se aplicó una capa de sulfato de calcio hemihidratado (SCH) a modo de barrera. Se realizó una elevación de colgajo de espesor total, que al finalizar fue suturado en su sitio inicial, por lo que no se realizó el cierre de la herida (técnica de alveolo abierto) ni en los controles, ni en el grupo de estudio. Como control se utilizó el alvéolo vacío y sin cerrar. Las evaluaciones y la nueva cirugía se realizaron a los 6 meses.

Los resultados mostraron que la utilización de esta técnica produjo un beneficio marginal en cuanto a la preservación del reborde comparado con el control comparado con el uso de membrana con cierre del alveolo realizado por los mismos autores. Este resultado puede deberse a no haberse realizado el cierre del alveolo. La utilización de vidrio bioactivo junto con una capa de SCH logró un relleno interno del alveolo significativamente mayor que en los controles (Camargo PM, 2000; Camargo PM, 2004).

#### 3.1.2.3.2.3 - Vitrocerámicas

Otra familia de materiales similares a estos en composición pero con mejores propiedades son las vitrocerámicas. Se trata de cerámicas policristalinas, compuestas por apatita, cristales de silicatos (como la wollastonita) y una fase vítrea residual.

Surgen con motivo de mejorar las propiedades térmicas y mecánicas de los vidrios bioactivos.

Presentan una superficie irregular lo que favorece la formación de enlaces químicos fuertes con el hueso aledaño.

Dentro de este grupo cerámico cabe destacar Cerabone<sup>®</sup>, material formado por dos fases cristalinas: oxifluoroapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OF}_2)$ ) y wollastonita ( $\beta\text{-CaSiO}_3$ ), además de por una fase vítrea residual de  $\text{SiO}_2$  (Kokubo T, 1986).

#### 3.1.2.3.2.4 - Silicatos de calcio

Los silicatos de calcio son biomateriales capaces de aportar especies iónicas de silicio, activar, y acelerar la regeneración ósea. Presentan en su estructura química grupos  $\text{CaO-SiO}_2$ , teniendo una composición en peso teórica de 48.3% de óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ) y 51.7% de dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ). Esta adicción de calcio supone en combinación con las moléculas de silicio, un factor que mejora las propiedades físicas y mecánicas de los materiales.

La wollastonita ( $\text{CaSiO}_3$ ) constituye el principal elemento de este grupo de biomateriales. Presenta entre sus propiedades un gran poder bioactivo. La wollastonita es un mineral no metálico de múltiples aplicaciones industriales (Fattah H, 1994).

La estructura cristalina de la wollastonita consiste en cadenas de oxígeno-sílice ( $\text{SiO}_4$ ) tetraédricas unidas para formar infinitas cadenas triples unidimensionales de  $(\text{Si}_3\text{O}_9)_6$ . Estas, están enlazadas entre sí por iones de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) coordinadamente con los átomos de oxígeno, lo cual compensa la carga eléctrica (Figura 11).

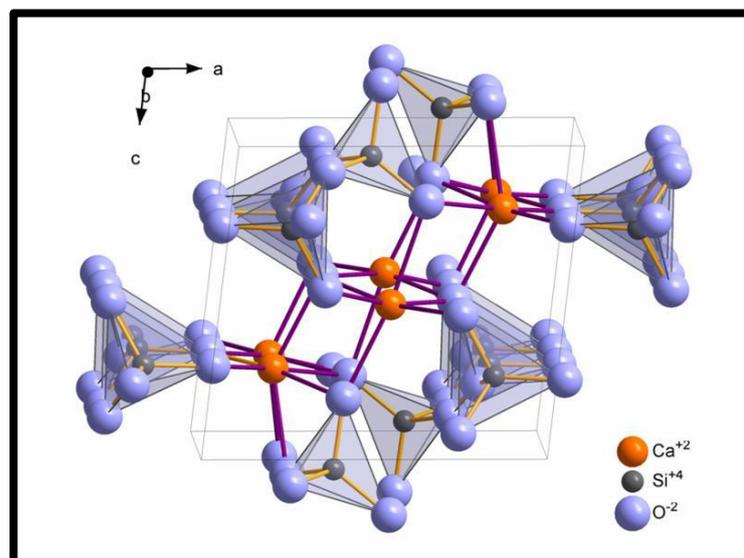


Fig.11. Estructura cristalina wollastonita.

Entre la principales propiedades físicas de la wollastonita se encuentran: densidad = 2.8-3.2 g/cm<sup>3</sup>, punto de fusión = 1540 °C y dureza según la escala Mohs entre 4.5-5.

La wollastonita es única entre los minerales no metálicos industriales por su combinación de color blanco, pH alcalino (8.0-9.0) y su forma cristalina acicular, (forma de agujas) le permite ser utilizada como componente de refuerzo para otros materiales (Fattah H, 1994).

La wollastonita es un mineral polimorfo, es decir, posee diferentes estructuras físicas bajo la misma composición química CaSiO<sub>3</sub>. Los dos polimorfismos más conocidos son:

- La wollastonita formada a baja temperatura, ( $\beta$  -wollastonita).
- La pseudowollastonita formada a alta temperatura, ( $\alpha$  - wollastonita).

En cuanto a su comportamiento biológico, cabe destacar la capacidad de la wollastonita en la formación de una capa de apatita sobre su superficie en un corto periodo de tiempo, en presencia de fluidos biológicos (Weichang X, 2005; Liu X, 2004).

Además Sarmiento y cols, demostraron que la pseudo-wollastonita ( $\alpha$ -CaSiO<sub>3</sub>); es capaz de dirigir la migración de los osteoblastos hacía los lugares donde se implantaba el injerto, gracias al gran poder bioactivo de este elemento (Sarmiento C, 2004).

Es por tanto, un material biocompatible y con características bioactivas, semejantes a las de la hidroxiapatita, que se ha utilizado con gran eficiencia como fase de refuerzo de muchos materiales compuestos.

### 3.1.2.3.3 - Cerámicas Biorreabsorbibles

Se clasifican como materiales que pueden ser degradados por el medio biológico, de tal forma que además de bioactivos son reabsorbibles. Tienen la cualidad de permanecer el tiempo suficiente en el organismo, interactuando con el sistema biológico, mientras el defecto se corrige.

Este grupo de biomateriales está compuesto fundamentalmente por fosfatos de calcio de diferente solubilidad. Siendo esta solubilidad superior a la de la parte mineral del hueso, de tal forma que este material en contacto con el medio biológico llevará a cabo un proceso de degradación.

La velocidad de su degradación biológica está influenciada directamente por tres factores; la composición química del material, el volumen del material y la exposición del material con el medio biológico.

### 3.1.2.4 - Biomateriales Compuestos o Compósitos

Una de las líneas de investigación más actuales, es el desarrollo de nuevos materiales regenerativos que combinen las mejores propiedades biológicas y mecánicas de cada uno de los elementos que las componen. Esta combinación da lugar a la creación de injertos óseos más eficientes, seguros y versátiles (Camapana V, 2014).

El colágeno es frecuentemente empleado en combinación con otros materiales regenerativos para este fin, resultando un compuesto altamente biocompatible para el organismo (Scabbia A, 2004).

La combinación de colágeno junto a la hidroxiapatita granulada, supone el desarrollo de una serie de materiales que mejoran las propiedades mecánicas de los materiales tradicionales. Este hecho se pone de manifiesto en una menor rigidez de los materiales, permitiendo cierta maleabilidad de los mismos y mayor resistencia a la fractura (Yamauchi K, 2004).

Además esta combinación de materiales, presentan mejores propiedades osteoconductoras, si lo comparamos con aquellos materiales compuestos por tan sólo un elemento (Wang RZ, 1995). Promoviendo a su vez mayor diferenciación osteoblástica del medio biológico donde es insertado el compuesto (Xie J, 2004).

### 3.1.2.5 - Biomateriales en forma de cemento

Se trata de un grupo de materiales que a diferencia de los compuestos granulados, se presentan en forma de pasta que es implantada directamente en el defecto óseo. Adquieren de forma inmediata la morfología del defecto a regenerar, produciendo la cristalización directa de sus componentes.

#### 3.1.2.5.1 - Cementos de Fosfato de calcio (COFC)

Desde que en el año 1986 de la mano de Brown y Chow se desarrollase un cemento óseo a base de fosfato cálcico (COFC), el cual era obtenido mediante a mezcla de una porción líquida y polvo, obteniéndose una pasta plástica que endurece en un periodo de tiempo gradual; se ha perseguido la génesis de un cemento que mejorara las prestaciones iniciales (Grover LM, 2003).

Los COFC se clasifican en dos categorías principales dependiendo del producto final de la reacción de fraguado:

- Cemento de hidroxiapatita (HA):  $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2, pH > 4.2)$ .
- Cementos de dihidrato de fosfato dicálcico (DCPD o Brushita):  
 $(CaHPO_4 \cdot 2H_2O, pH < 4.2)$ .

Aunque inicialmente pueden presentar características químicas similares, la principal divergencia radica en la solubilidad y reabsorción. La brushita presenta mayor nivel de solubilidad que la HA, de tal forma que la reabsorción de la brushita se produce más rápidamente. Por lo tanto se podría determinar, que la característica principal de la hidroxiapatita es su buen comportamiento mecánico, y en el caso de la brushita, su rápida reabsorción en condiciones fisiológicas (Driessens FCM, 1998).

### **A) Cementos de hidroxiapatita**

La hidroxiapatita, es el componente mayoritario en los materiales comerciales existentes. Estos materiales, ya sean de origen natural o sintético, tienen en común que los gránulos de HA actúan como un material osteoconductor sobre el cual se forma el nuevo hueso, esta se reabsorbe muy lentamente permaneciendo en el sitio durante años, pero las partículas de HA quedan totalmente osteointegradas.

En el desarrollo de la investigación regenerativa, se ha empleado la hidroxiapatita como material regenerador clásico. La justificación de este hecho, radica en la presencia de la hidroxiapatita en el organismo; pero a pesar de ser un material osteoconductor, su reabsorción ralentizada compromete la calidad del tejido regenerado.

La hidroxiapatita presenta unos tiempos de reabsorción muy extendidos a lo largo del tiempo, lo cual no favorece el fenómeno regenerativo. La reabsorción de la hidroxiapatita, se produce a nivel superficial, limitando la reabsorción completa del núcleo del material, permaneciendo intacto en el interior del organismo (Carmagnola D, 2003).

Existen en la literatura estudios que se decantan por el empleo de cementos que forman hidroxiapatita debido a las propiedades físicas que presentan, al pH en el que tiene lugar la regeneración ósea, y por ser la apatita, la forma de fosfato de calcio presente en el hueso (Low KL, 2010).

Por lo tanto, a pesar de ser una sustancia presente en el organismo, las propiedades en cuanto a los tiempos de reabsorción que presenta la brushita, ha desembocado en el desarrollo de nuevos materiales que emplean esta sustancia como componente principal.

### **B) Cementos de Brushita**

En el hueso, la brushita o fosfato cálcico dibásico dihidratado, es una de las primeras fases de fosfato cálcico que se forma en el comienzo de la nucleación y crecimiento de los cristales de HA siendo un mineral importante en el crecimiento de la hidroxiapatita *in vivo* (Flautre B, 1999).

Es en 1987 cuando Lemaitre y cols, presentan un nuevo cemento a base de brushita, el cual se obtiene mezclando monofosfato cálcico con fosfato tricálcico (Lemaitre J, 1987). Posteriormente Mirtchi y cols realizan un estudio de nuevo con estos cementos en 1989 (Mirtchi AA, 1989).

Estos cementos presentan las siguientes características químicas:

- Fórmula química:  $\text{Ca}(\text{HPO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .
- Peso molecular: 172,10.
- Su composición por peso es la siguiente:
  - Calcio (23,3%), Fósforo (18 %), Hidrógeno (2,93 %), Oxígeno (55,78 %).
  - Alternativamente:  $\text{H}_2\text{O}$  (26,17 %),  $\text{CaO}$  (32,59 %),  $\text{P}_2\text{O}_5$  (41,24 %).

La brushita, es prácticamente insoluble en agua, poco soluble en ácido acético y soluble en HCl o  $\text{HNO}_3$ . La pasta del cemento de brushita es ácida durante el proceso de fraguado debido a que la brushita solo se puede precipitar a  $\text{pH} < 6$ .

La estructura cristalina de la brushita consiste de láminas compactadas de cadenas paralelas en las que los iones de calcio están coordinados por seis átomos de oxígeno de los aniones de fósforo, y por 2 átomos de oxígeno de las moléculas de agua. La brushita contiene 2 tipos de moléculas de agua, una con un ángulo H-O-H igual a  $106,6^\circ$  y la otra con  $105,4^\circ$ .

Las uniones de hidrógeno de estas moléculas varían entre sí, el primer tipo de molécula tiene enlaces de hidrógeno de forma lineal mientras que el segundo tipo los tiene con ángulos de  $167,3^\circ$  y  $165,8^\circ$ .

La brushita puede obtenerse a través de una reacción tipo cemento entre un fosfato de calcio básico, como por ejemplo el  $\beta$ -fosfato tricálcico o la hidroxiapatita, y un fosfato ácido como el ácido fosfórico o el dihidrógeno fosfato de calcio. Al mezclar los componentes en proporción estequiométrica con una solución acuosa, ocurre otro fosfato de calcio de acidez intermedia, siendo en este caso la brushita.

Una vez obtenido el producto, se incorporan sustancias a su composición para así aumentar el tiempo de reabsorción, estas sustancias retardantes son; pirofosfato sódico, iones de citrato, iones de fitatocitrato y citrato de sodio (Grases F, 2000).

A día de hoy, las investigaciones acerca de la brushita se centran en la mejora de sus propiedades mecánicas, reduciendo así su desintegración y mejorando su porosidad. Estas mejoras de sus propiedades se obtienen añadiendo a su fase acuosa gel de sílice y ácido hialurónico (Alkhraisat MH, 2010; Alkhraisat MH, 2009).

### **Comportamiento *in vivo***

Debido a la alta solubilidad de la brushita, sus propiedades mecánicas son bajas en comparación a los cementos de hidroxiapatita. Sin embargo, las propiedades mecánicas de brushita aumentan después de unas semanas de su implantación *in vivo* debido al crecimiento óseo (Ikenaga M, 1998).

En cuanto a los tiempos de reabsorción de la brushita, existen varios estudios que comparan este proceso con el que presentan los cementos a base de hidroxiapatita. La brushita presenta una velocidad de reabsorción *in vivo* superior que la hidroxiapatita, permitiendo la sustitución simultánea del material por el nuevo tejido óseo formado (Chow LC, 2003; Trisi P, 2003).

### **Evidencias previas**

La biocompatibilidad y osteoconducción de los cementos de brushita ha sido demostrada en diferentes estudios *in vivo* realizados en diferentes modelos animales, donde ha quedado patente su eficacia. Existiendo evidencias clínicas en aquellos defectos óseos que habían sido rellenados con brushita, en los cuales el material regenerador fue sustituido por el organismo en tejido óseo nuevo (Tamimi F, 2009).

Otros autores, constatan que los cementos de brushita, a pesar de las ventajas que ofrecen los cementos de hidroxiapatita, presentan resultados regenerativos superiores, produciendo mejor regeneración vertical de hueso a regenerar; pudiéndose aplicar en procedimientos de aumento óseo vertical a través de técnicas quirúrgicas íntimamente invasivas (Ji C, 2010).

Un estudio realizado por Tamimi y cols, evidencian que tras cuatro semanas tras la implantación cemento a base de brushita como material experimental y Bio-Oss® como material control en huesos de calota de conejo, muestra reabsorción del material constituido por cementos de brushita, mientras que el Bio-Oss® permanece sin reabsorber (Tamimi F, 2006).

Por lo tanto la efectividad de los injertos óseos a base de brushita en el proceso de regeneración ósea ha sido demostrada, y su tiempo de reabsorción ha sido valorado positivamente.

### C) Cementos a base de Monetita

Actualmente gracias al creciente desarrollo de los cementos de brushita en el campo de la biomedicina; se ha comenzado a investigar acerca del uso de su derivado, la monetita, como componente de distintos tipos de cementos biológicos y como material sustitutivo óseo.

El hidrógenofosfato de calcio anhidro ( $\text{CaHPO}_4$ ) denominada monetita en mineralogía, es la forma deshidratada de la brushita (Dorozhkin SV, 2007).

Dado que la brushita forma parte de materiales tipo cemento, donde ésta es el producto de una reacción de disolución-precipitación en fase acuosa, el hidrógeno fosfato de calcio precipita como la forma hidratada  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (brushita) y no como monetita, esta es la razón por la que la monetita no se ha usado hasta la fecha en materiales comerciales.

La obtención de monetita puede realizarse mediante el proceso de deshidratación de la brushita en pH bajos o en presencia de iones metálicos, o bien modificando la estructura de los cementos de brushita existentes. Pero la modificación de los cementos de brushita por conversión hidrotermal no presentan las mismas condiciones que los cementos de brushita convencionales, debido a una mayor velocidad de reabsorción.

Otro método sencillo de obtención de la monetita consiste en someter a las estructuras de brushita a un sobrecalentamiento, ya que a temperaturas superiores a 121°C la brushita presenta cambios estructurales debido a un proceso de hidrólisis térmica, transformándose en monetita (Tamimi F, 2012).

La monetita puede cristalizarse en soluciones acuosas, pero solo a temperaturas superiores a 40°C (Budavari S, 1996).

La deshidratación de la brushita en monetita implica una reorganización atómica para formar una estructura cristalina más densa (2,27 g/cm<sup>3</sup> de la brushita vs 2.93 g/cm<sup>3</sup> de la monetita). Este aumento de la densidad esquelética puede resultar en un incremento de la porosidad de la matriz, que resulta favorable para la regeneración ósea. Sin embargo, la variación dimensional global durante la conversión de brushita a monetita es mínima y no afecta prácticamente la estabilidad dimensional ni mecánica del material. Esto permite la fabricación de biomateriales basados en monetita con formas y presentaciones más apropiadas para tratamientos óseos específicos, como son los granulados y piezas de diferentes formas y tamaños.

### **Comportamiento *in vivo* de la monetita**

A pesar de la similitud química entre la brushita y la monetita, esta última presenta un comportamiento *in vivo* curiosamente distinto a la brushita debido a las diferencias de solubilidad entre ambos materiales. La brushita es más soluble lo cual provoca una rápida liberación de protones e iones de calcio que acidifican el medio circundante y provocan la re-precipitación en forma de hidroxiapatita, comprometiendo la biocompatibilidad y reabsorción del material (Theiss F, 2005; Takagi S, 1998).

Como hemos mencionado con anterioridad, la monetita es químicamente similar a su forma hidratada, la brushita. Este cambio químico provoca que la solubilidad de ambas sustancias sea diferente; siendo la monetita el fosfato de calcio más estable a valores de pH bajos (pH < 7,4).

Otro cambio importante que presenta la monetita con respecto a la brushita, es la aceleración de la reabsorción. Este hecho tiene lugar debido a la no conversión de la monetita en hidroxiapatita *in vivo*; aunque mantiene las propiedades osteoinductoras y de biocompatibilidad estudiadas en la brushita.

Trabajos recientes han demostrado los beneficios de este biomaterial utilizándolo en nuevas formas y para nuevas aplicaciones, donde han mostrado una excelente capacidad osteoconductora.

### 3.2 - SIL-OSS® NUEVO BIOMATERIAL REGENERADOR

Sil-Oss® es un granulado sintético reabsorbible compuesto de monetita [ $\text{Ca}_{(1-x)}\text{Zn}_x\text{HPO}_4$   $0,01 \leq x \leq 0,06$ ], hidroxiapatita deficiente en calcio [ $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ] y una fase amorfa constituida por gel de sílice [ $(\text{H}_2\text{SiO}_3)_n$ ] y fosfatos de calcio.

Su composición centesimal es: CaO (38-44 %),  $\text{P}_2\text{O}_5$  (41-48 %),  $\text{SiO}_2$  (4,7-5,9 %), ZnO (0,4-2,8 %) y  $\text{H}_2\text{O}$  (2-10 %). La composición de fases es: monetita (35-65 %), hidroxiapatita (19-29 %) y fase amorfa (17-29 %).

Sil-Oss® tiene una superficie específica de  $\approx 50 \text{ m}^2/\text{g}$  y una porosidad intra-granular abierta de 60 % vol. correspondiente a poros interconectados con diámetro en el rango de 0,01-50  $\mu\text{m}$ . Su porosidad inter-granular abierta e interconectada es de 35 %, con un diámetro de poros entre 50-300  $\mu\text{m}$ , para el caso del granulado con tamaño de partícula entre 0,25 a 1,00 mm.

#### 3.2.1 - Fabricación

Sil-Oss® se fabrica mediante un proceso diseñado y patentado por AzureBio S.L. El proceso de fabricación implica una reacción de cementación ácido-base llevada a cabo a una temperatura determinada dando lugar a un producto sólido. Tras los procesos de fraguado y secado el sólido se lava con agua y después del secado final se tamiza entre 1 y 0,25 mm, se envasa y se esteriliza mediante haz de electrones (e-beam; 25 kGy).

El proceso en sí, consiste básicamente en hacer reaccionar una mezcla de pseudo-wollastonita ( $\text{ps-CaSiO}_3$ ) e hidroxiapatita deficiente en calcio ( $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ), con una disolución acuosa de ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) conteniendo Zn en las proporciones adecuadas.

Según el análisis del patrón de difracción de rayos X, cualitativamente la fase cristalina del material corresponde a monetita e hidroxiapatita mayormente, no mostrando ningún otro componente cristalino. Cuantitativamente el análisis revela una composición del 57% en peso de monetita, 25% en peso de hidroxiapatita y un 18% en peso de fase amorfa.

La presencia de Zn y Si es confirmada en el análisis químico del producto encontrándose una composición del 1,1% en el caso del Zn y de un 2,5% de Si.

Sus gránulos presentan un patrón morfológico irregular con bordes suaves y una superficie rugosa y porosa. La superficie de estos gránulos presenta homogéneamente una estructura de aglomerado redondeado. Estos aglomerados proporcionan microporosidad y rugosidad que se distribuye al azar en toda la superficie e interior del material.

Estos microporos (< 10 micras) varían entre 0,15 y 3,5 micras con un tamaño medio de 1,8 micras. El análisis físico cuantifica la presencia de macroporos (>50 mm) y mesoporos (50-10 micras), ambos por encima y dentro de granulados que oscila entre 15 a 215 micras, siendo más grande en la superficie (tamaño medio de 53 micras) , que dentro de los granulados (tamaño medio 25 micras).

La distribución del tamaño de los poros de los gránulos se obtienen por porosimetría de Hg. Los poros mayores de 50 micras, son asignados a los espacios intergranulares entre los gránulos vecinos del empaquetado del material. Los poros restantes, más pequeños de 10 micras, son asignados a la porosidad intragranular del interior de los gránulos. Estos poros muestran dos centros máximos de 1 micra y 20 nm.

Este tamaño intragranular observado corresponde con el tamaño de las interconexiones entre los poros más grandes.

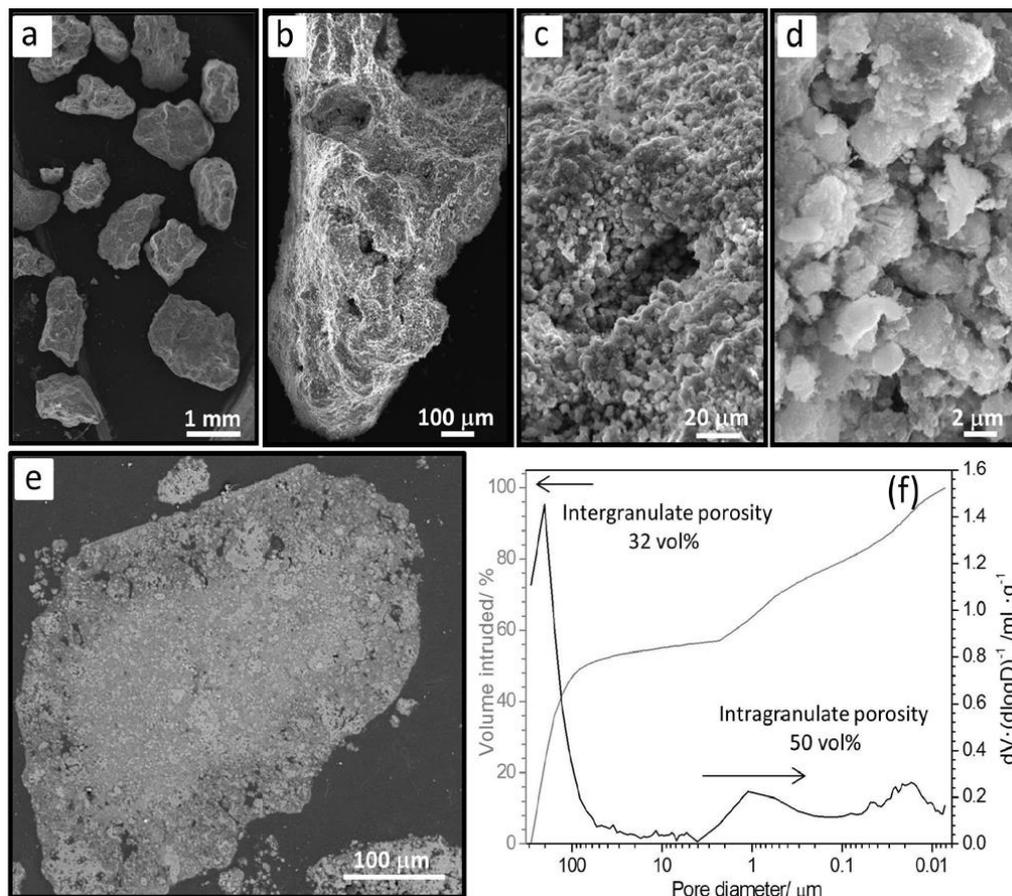


Fig.12. Micrográficas de la superficie del granulado (a-d). Micrografía transversal del granulo (e). Curvas de volumen Hg y distribución de tamaño de poro (f) (Padilla S, 2015).

En cuanto a la densidad del material hay que destacar la coincidencia de la densidad de los gránulos (2,821g/ml), y la del material en polvo equivalente (2,828 g/ml), que indica que toda la porosidad del material está abierta a la superficie.

La porosidad total de los gránulos es de hasta un 82% en volumen, de los cuales un 32% corresponde a la porosidad intergranular y un 50% a la porosidad intragranular. Por lo tanto los gránulos del material presentan espacios alrededor de 200 micras, como poros en la superficie; y en el interior gránulos que van de 6 nm a 215 micras con interconexiones de 6 nm y 3 micras (Padilla S, 2015).

Resumiendo, este material está compuesto principalmente por monetita donde el calcio de retículo cristalino está parcialmente sustituido por Zn, junto gel de sílice y otros fosfatos de calcio amorfos. Además a su composición se añaden compuestos liberadores de sustancias iónicas de silicio, como la pseudo-wallastonita y geles de sílice; e hidroxiapatita deficiente de calcio similar a la existente en la porción mineral del hueso.

### 3.2.2 - Indicaciones

Como otros muchos materiales comerciales del mismo tipo, Sil-Oss® se aplica directamente rellenando el defecto óseo y como agente único. Potenciales indicaciones de Sil-Oss® incluyen defectos óseos de distinta índole: periodontales, post extracción de piezas dentales previo a implantación, post-traumáticos, relacionados con osteotomías, tras extracción del tercer molar, aumento y elevación del seno maxilar.

Por lo tanto, Sil-Oss® está indicado para la regeneración ósea de defectos óseos en aplicaciones dentales tales como:

- 1. Implantología:** Aumento vertical y horizontal del reborde alveolar, elevación de seno, preservación del reborde alveolar (relleno de cavidades alveolares post-extracción).
- 2. Periodoncia:** Reparación de lesiones de furca, defectos intraóseos, bolsas periodontales.
- 3. Cirugía dental:** Relleno de defectos quísticos y periapicales. Estabilización del reborde alveolar en caso de extracciones seriadas.

El producto tiene una presentación en blíster.

Para mejorar la manipulación y el empaquetamiento del material en el sitio de implantación se recomienda impregnar previamente el granulado con sangre del propio paciente o suero salino.

### 3.2.3 - Evaluación preclínica de Sil-Oss®

Sil-Oss® ha sido evaluado desde el punto de vista físico-químico y biológico tanto *in vitro* como *in vivo*. La composición del material y los altos valores de porosidad intra e inter granular y de área superficial específica, juegan un papel fundamental en el comportamiento *in vivo* del Sil-Oss®.

Se han llevado a cabo los siguientes ensayos preclínicos con el fin de asegurar la ausencia de toxicidad y la eficacia de Sil-Oss® en el ámbito de la regeneración ósea:

Tipo de estudio	Tipo de ensayo
Comportamiento <i>in vitro</i> en medio acelular	Ensayo de disolución
	Bioactividad <i>in vitro</i> en fluido biológico simulado
Seguridad biológica <i>in vitro</i>	Citotoxicidad <i>in vitro</i>
Eficacia <i>in vitro</i>	Actividad osteogénica <i>in vitro</i>
Seguridad Biológica <i>in vivo</i>	Reactividad intracutánea <i>in vivo</i> en conejos
	Toxicidad sistémica aguda en dosis única en ratas
	Toxicidad sistémica subaguda en dosis repetidas en ratas
Seguridad biológica y eficacia <i>in vivo</i>	Implantación en defecto crítico de ovejas
	Regeneración ósea vertical en calota de conejo
	Implantación en defectos críticos de calota de ratas

Tabla 4. Estudios preclínicos realizados con Sil-Oss®.

Como conclusión a todo estos estudios se ha determinado que Sil-Oss® es un material sintético e inorgánico compuesto de agentes inorgánicos con antecedentes en regeneración ósea.

Presenta una acción osteoinductiva ya que libera al medio átomos de especies iónicas de Ca, P, y Si.

Esta presencia de Si es causante de la activación del mecanismo de la biotividad del producto; advirtiéndose la nula citotoxicidad del material para las células osteoblásticas.

Osteogénicamente, la composición del material favorece la maduración y diferenciación de los osteoblastos que se refleja en una menor proliferación, mayor expresión de osteocalcina y formación de depósitos minerales.

No caben por tanto posibles riesgos de transmisión de agentes infecciosos que puedan formar parte del material.

La experiencia preclínica, tanto en cultivos celulares como en los diferentes modelos animales de evaluación de los efectos locales después de la implantación y eficacia demuestra que Sil-Oss® es un material seguro y que en el contexto de la regeneración ósea tiene una gran capacidad de regeneración ósea.

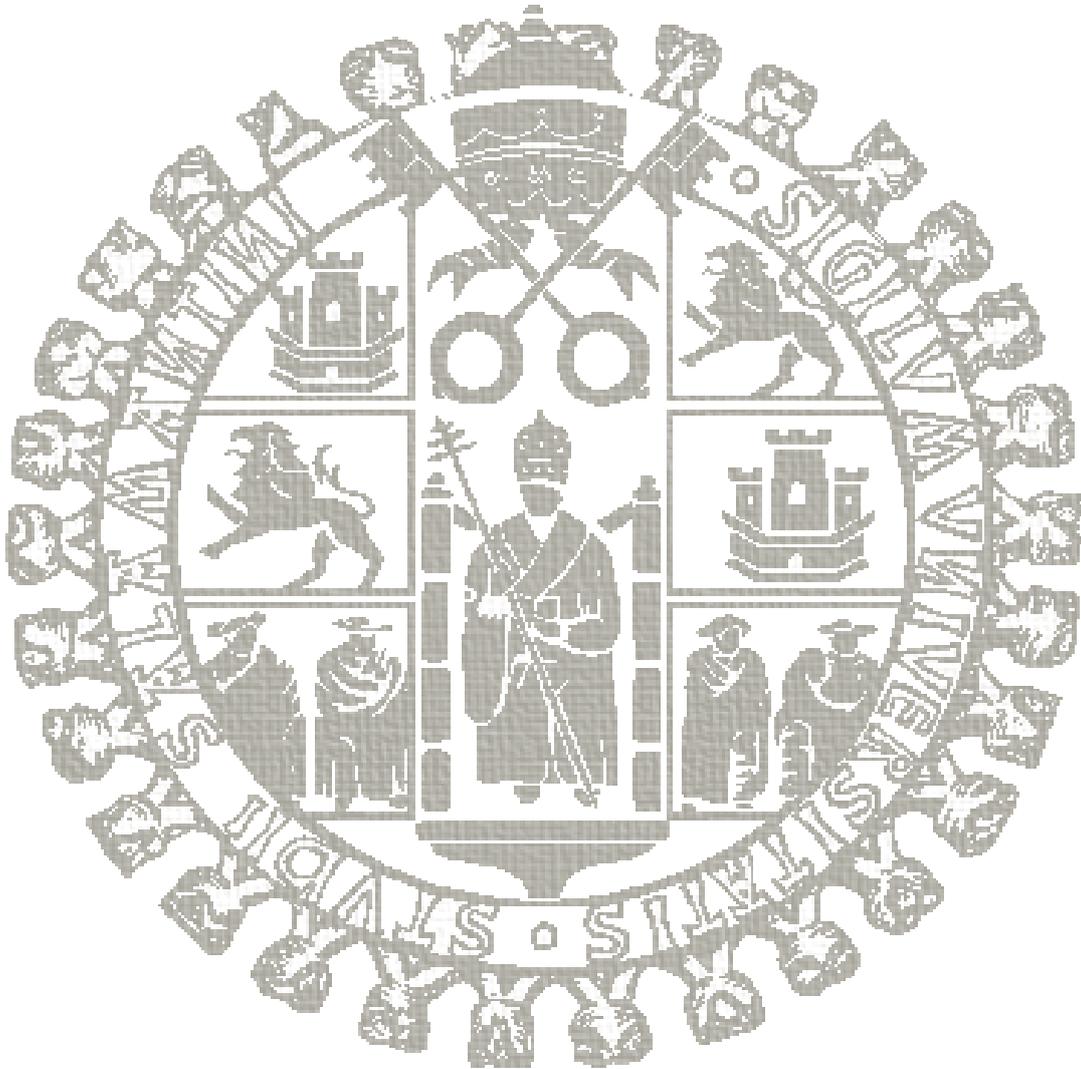
Los resultados de los ensayos *in vivo* coinciden en que el Sil-Oss® es capaz de regenerar defectos óseos a la vez que se reabsorbe. Por tanto la experiencia preclínica justifica su evaluación clínica sin que se aprecie que esto conlleve un riesgo distinto al de otros materiales de regeneración ósea comúnmente utilizados.

Sil-Oss® un material sintético e inorgánico compuesto de agentes inorgánicos con antecedentes en regeneración ósea. No caben por tanto posibles riesgos de transmisión de agentes infecciosos que puedan formar parte del material.



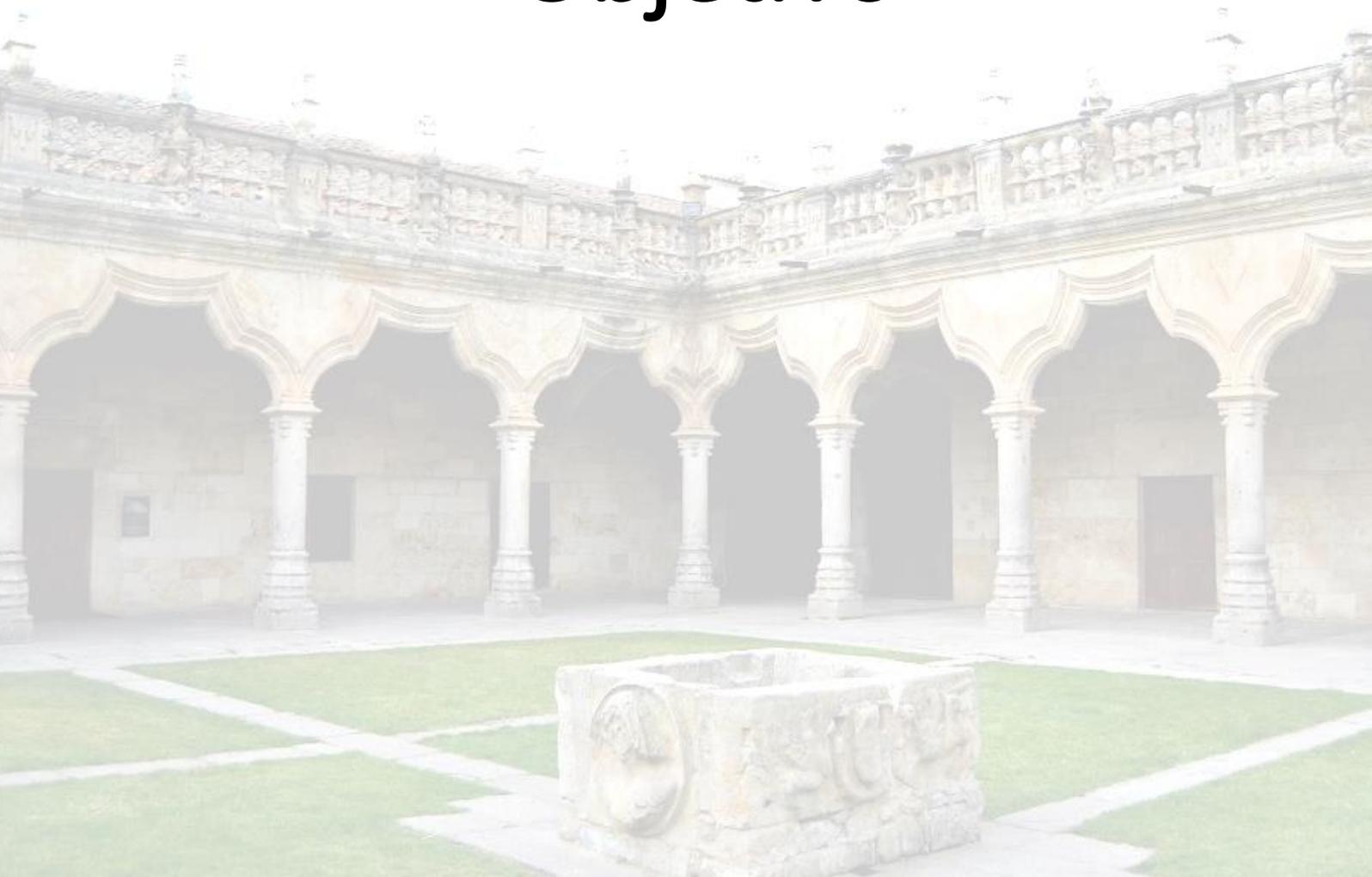
Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# III. Justificación y Objetivo



## 1. - JUSTIFICACIÓN

Dadas las características de Sil-Oss<sup>®</sup>, los estudios reportados en la literatura, los materiales comerciales existentes y los ensayos *in vitro* e *in vivo* llevados a cabo se espera que el comportamiento en humanos sea similar al obtenido en animales y no se esperan efectos adversos graves debidos al producto.

Los precedentes comerciales a Sil-Oss<sup>®</sup>, llevan años en el mercado y no han presentado problemas que impliquen su retirada. Por lo que se espera que Sil-Oss<sup>®</sup> sea tan seguro como dichos comerciales.

Sin embargo, Sil-Oss<sup>®</sup> presenta tres características que podrían ser causantes de alguna reacción adversa leve. Una de ella es que al igual que los cementos de brushita, tienen un pH ligeramente ácido en agua (pH 5 - 6), aunque en fluido biológico simulado el pH se mantiene en 7,4. Por otra parte al ser un material reabsorbible puede ocurrir un aumento local puntual de especies iónicas de calcio, fosfato o silicio. Por último, podría reabsorberse más rápidamente que la formación de nuevo hueso.

Estos tres aspectos son los mayores riesgos asociados a Sil-Oss<sup>®</sup>, siendo similares a los de materiales comerciales como el VitalOs<sup>®</sup>, Chronos Inject<sup>®</sup>, Kasios Jectos<sup>®</sup> y Nanobone<sup>®</sup>.

Los riesgos que esto conllevaría serían edema y/o inflamación en los primeros días después de la cirugía. Si esto ocurriera se extraería el líquido del edema y se llevaría a cabo el tratamiento convencional.

Teniendo en cuenta los ensayos *in vivo* realizados en ovejas, conejos y ratas no es esperable que Sil-Oss<sup>®</sup> se reabsorba antes que el hueso se haya formado.

Si esto ocurriera, en el peor de los casos el resultado para el paciente sería el mismo que si no se hubiera rellenado el alveolo con biomaterial. Esto no implicaría riesgo para el paciente ya que el alveolo se terminaría regenerando por sí solo y tampoco comprometería el éxito del implante, aunque los cambios dimensionales del reborde podrían ser algo mayores.

Los posibles riesgos mencionados se compensarían con el resultado final esperado: alveolo regenerado en menor tiempo sin o muy pocos restos de material y con una calidad ósea superior al que se obtiene con otros materiales comerciales.

Por lo tanto, los principales motivos que justifican el presente estudio son:

1- El material más utilizado actualmente en regeneración ósea en el ámbito dental y maxilofacial es Bio-Oss®, de origen bovino y con muy escasa o ninguna reabsorción.

El resultado por tanto de su implantación no es la regeneración del defecto, sino su relleno con una estructura que contiene hueso y material osteointegrado. Este material se mantiene en el defecto incluso después de 10 años.

2- El presente estudio está justificado por los datos preclínicos de eficacia de Sil-Oss® en regeneración ósea en modelos animales que de forma consistente demuestran su capacidad de ser reabsorbido a la vez que regenera hueso.

El resultado de su implantación es un hueso regenerado con poco o ningún material remanente.

3- Sil-Oss® se considera seguro, tanto por su composición como por los datos preclínicos que así lo demuestran.

## **2. - OBJETIVOS**

Actualmente son muchos los biomateriales desarrollados para conseguir la regeneración del reborde alveolar humano, presentando características osteogénicas, osteointegradoras, osteoinductoras y/o osteoconductoras; las cuales, suponen una gran ventaja y desarrollo para a práctica clínica.

A su vez, estos mismos materiales presentan una serie de inconvenientes que ponen en duda la eficacia de los mismos, principalmente en cuanto a los tiempos de reabsorción e inalterabilidad a lo largo del tiempo. Este hecho pone de manifiesto, que biomateriales empleados para la regeneración del reborde alveolar deben de manifestar unos tiempos de reabsorción adecuados para conseguir unas propiedades mecánicas óptimas para la rehabilitación del sujeto.

### 2.1 - Objetivo primario

Por todo lo expuesto anteriormente, el objetivo primario de este trabajo es determinar si el tratamiento con el material experimental Sil-Oss® es tan seguro y efectivo como el tratamiento con el material comercial de control Bio-Oss® para la preservación del reborde alveolar post-extracción.

Además de verificar si posee prestaciones y propiedades mejorables al material regenerador más extendido y empleado en la práctica regenerativa alveolar.

### 2.2 - Objetivo secundario

Comparar el comportamiento del material experimental Sil-Oss® y Bio-Oss® en:

- Reacciones adversas intraoperatorias.
- Reacciones adversas postoperatorias.
- Preservación del reborde alveolar regenerado.
- Mantenimiento del volumen óseo.
- Cantidad y calidad de la regeneración ósea.
- Grado de reabsorción del material.

### 3. - HIPÓTESIS

El material experimental Sil-Oss® es tan seguro y efectivo como el material comercial Bio-Oss® para la preservación del reborde alveolar post-extracción.

#### 3.1 - Hipótesis específicas

a) El material experimental Sil-Oss® no se diferencia significativamente del material comercial Bio-Oss® en lo que respecta a:

- La manifestación clínica de reacciones adversas.
- La preservación del reborde alveolar.
- La madurez ósea del hueso.
- La manifestación histológica de inflamación.

b) La cantidad de material remanente es significativamente menor en el caso del Sil-Oss® que en el caso del Bio-Oss®.

c) La cantidad de hueso regenerado es significativamente mayor en el caso del Sil-Oss® que en el caso del Bio-Oss®.

Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# IV. Material y Método



El título de este capítulo es suficientemente expresivo de su contenido, pues en él se exponen los materiales empleados durante la investigación, así como la metodología de trabajo seguida en el estudio realizado.

## 1. - MATERIALES E INSTALACIONES DISPONIBLES

A continuación se describen todos aquellos medios e instalaciones que han sido necesarios para la realización de este trabajo, ilustrando y describiendo en la medida de lo posible todo el material empleado.

### 1.1 - MATERIALES

Se han empleado los materiales selectivos más aconsejados en investigaciones precedentes, con resultados que confirman la bondad científica de los mismos.

#### 1.1.1 - Material control: Biomaterial Bio-Oss®

Como material control del estudio se emplea el biomaterial de origen bovino Bio-Oss® (Geistlich Pharma AG, Suiza), esterilizado mediante radiación gamma. El tamaño del gránulo seleccionado es de 0,25-1,0 mm.

Bio-Oss® es un material comercial compuesto por HA de origen bovino. Es comercializado como “Material implantable, sustituto de hueso esponjoso”.

Está indicado en el relleno de defectos óseos y regeneración ósea. Como por ejemplo:

- Aumento/Reconstrucción del reborde alveolar.
- Relleno de alveolos post-exodoncia.
- Implantología: Preparación de lechos implantarios, dehiscencias óseas y elevación del suelo sinusal maxilar.
- Periodoncia: Relleno de defectos óseos, soporte de la membrana durante la regeneración ósea guiada.



Fig.13. Envase comercial de Bio-Oss®.

Bio-Oss® fue seleccionado como control ya que es el material comercial más utilizado en España y uno de los más utilizados en Europa en estas aplicaciones clínicas, siendo una referencia para el sector. Existen además un gran número de publicaciones científicas de estudios en animales y en humanos con este material, lo que hace que su comportamiento *in vivo* sea muy conocido.

### 1.1.2 - Material experimental: Biomaterial Sil-Oss®

Como material experimental del estudio se emplea Sil-Oss® (AzureBio S.L.). Como anteriormente se ha explicado; el componente principal de este producto es la monetita, Zn, fosfato de calcio amorfo y gel de sílice. El material se encuentra esterilizado mediante haz de electrones (e-beam; 25 kGy). El tamaño del gránulo seleccionado, al igual que el material de control es de 0,25-1,0 mm.

Sil-Oss® está indicado para la regeneración ósea de defectos óseos en aplicaciones dentales tales como:

- Implantología: Aumento vertical y horizontal del reborde alveolar, elevación de seno, preservación del reborde alveolar (relleno de cavidades alveolares post-extracción).

- Periodoncia: lesiones de furca, defectos intraóseos, bolsas periodontales.
- Cirugía dental: Relleno de defectos quísticos y periapicales. Estabilización del reborde alveolar en caso de extracciones seriadas.



Fig.14. Envase comercial de Sil-Oss®.

Se emplea Sil-Oss®, como material experimental para valorar la eficacia del producto en humanos, constatando así los buenos resultados obtenidos en estudios experimentales previos descritos anteriormente.

### 1.1.3 - Membrana de colágeno

Se ha utilizado una membrana reabsorbible de colágeno Bio-Gide® (Geistlich) para proteger la zona de implantación del biomaterial y así evitar el desplazamiento de los gránulos a los tejidos adyacentes, así como para prevenir la contaminación del injerto.



Fig.15. Presentación membrana Bio-Gide®.

### 1.1.4 - Sutura

Con el objeto de lograr un cierre completo del campo quirúrgico a regenerar, se propone como material de sutura Supramid® USP 5/0.

Supramid® es una sutura sintética no absorbible de poliamida. El calibre USP 5/0 es una sutura monofilar de poliamida 6.

La elección de este tipo de sutura viene justificada por los beneficios que describe el fabricante y ratificados por la experiencia clínica del operador:

- Excepcional manejabilidad debido a combinar las características de una sutura monofilar y una polifilar.
- Atraumático, ya que permite su paso suave a lo largo de los tejidos.
- Gran resistencia a la tracción.
- Óptima histocompatibilidad.



Fig.16. Presentación sutura Supramid® 5/0.

### 1.1.5 - Instrumental.

A continuación se describe todos aquellos materiales e instrumental que han sido empleados para la elaboración y desarrollo de este estudio.

### A) Material quirúrgico:

Se han empleado materiales quirúrgicos utilizados habitualmente en el campo de la odontología y la implantología oral, como son (Fig.17, Fig.18, Fig.19):

1. Sonda periodontal.
2. Bisturí. Hoja nº 15.
3. Periostotomo Prichard.
4. Cucharilla de legrado
5. Botador recto.
6. Forceps superiores.
7. Pinza gubia
8. Tijeras Mayo.
9. Separador Farabeuff.
10. Gasas estériles.
11. Recipiente de acero.
12. Pinzas Adson sin dientes.
13. Porta-agujas Mayo.



Fig.17. Campo quirúrgico básico.

- 14. Jeringa de anestesia local autoaspirativa (Aspijet®).
- 15. Carpules de anestesia.
- 16. Aguja corta.



Fig.18. Material de anestesia.

- Fresas trepanadoras (trefinas):
  - Trefina de 3.7mm de diámetro.
  - Trefina de 4.2mm de diámetro.



Fig.19. Fresas trepanadoras.

- Caja quirúrgica de implantes dentales:
  - o Fresa de inicio de lanza.
  - o Fresa de 1.5 mm de diámetro
  - o Fresa de 2 mm de diámetro.
  - o Fresa de 3 mm de diámetro.



Fig.20. Caja quirúrgica BTI®.

## B) Implantes dentales BTI®

Como implante a posicionar se seleccionó los implante dentales BTI® de conexión interna.



Fig.21. Implantes dentales BTI® conexión interna

### C) Limpieza y esterilización del material

- Sellador de bolsas de autoclave (Selecta Sealcom 600®).
- Esterilizador por gases Amprolene AN74i®.
- Autoclave Raypa Steam Sterilizer®.
- Baño de ultrasonidos Branson 2510®.

## 1.2 - INSTALACIONES

### 1.2.1 - Clínica Odontológica

La infraestructura experimental básica pertenece a la Clínica Odontológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca, dado que las características del proyecto exigían un espacio amplio para la experimentación.



Fig.22. Clínica Odontológica de la Universidad de Salamanca.  
Centro donde se llevó a cabo este trabajo.

A continuación se describen todas aquellas dependencias de la Clínica Odontológica en las cuales tuvo lugar el desarrollo de cada una de las etapas de este trabajo:

**A) Clínica norte:**

Se trata de una parte habilitada del edificio destinada a la recepción y tratamiento de pacientes odontológicos. Forma parte de un conjunto de tres clínicas independientes, habilitadas con los siguientes habitáculos:

- **Boxes:**

Componen los centros de ejecución de los tratamientos odontológicos. Cada box está habilitado con sistema de agua y aire comprimido que permiten el funcionamiento de los sillones dentales. Disponen del soporte informático necesario para la gestión de datos clínicos, y visualización de pruebas radiográficas.



Fig.23. Boxes odontológicos.

- **Dispensario:**

Sala situada en el centro de la clínica con el fin de distribuir y almacenar todo el material y medios necesarios para el correcto funcionamiento de la misma.

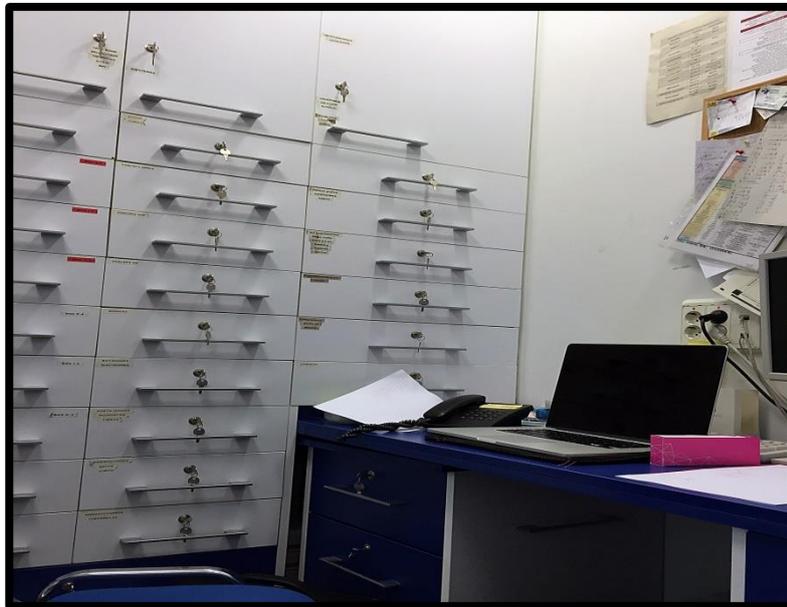


Fig.24. Dispensario.

- **Esterilización**

Sala situada en el sótano del edificio, dotada de tres autoclaves con control de esporas para asegurar una correcta esterilización del material.



Fig.25. Sala de esterilización.

- **Sala de rayos x intraoral:**

Habitáculo plomado con los medios materiales necesarios para la realización de pruebas radiográficas intraorales digitales y analógicas. En ella se encuentra instalado un sistema de Rayos X PLANMECA INTRA®. Además dispone de un sistema informático que almacena, procesa y envía las pruebas radiográficas realizadas al resto de ordenadores de cada uno de los boxes.



Fig.26. Sala de RX intraoral.

**B) Sala Rayos X Panorámicas:**

Ubicada dentro de la Clínica Odontológica, esta instalación dispone de dos subsalas plomadas. La primera subsala dispone de los medios informáticos necesarios para el procesamiento de las ortopantomografías obtenidas.

En la segunda subsala, se encuentra ubicado un equipo de rayos X panorámico; el cual realiza un reconocimiento en barrido de la imagen.

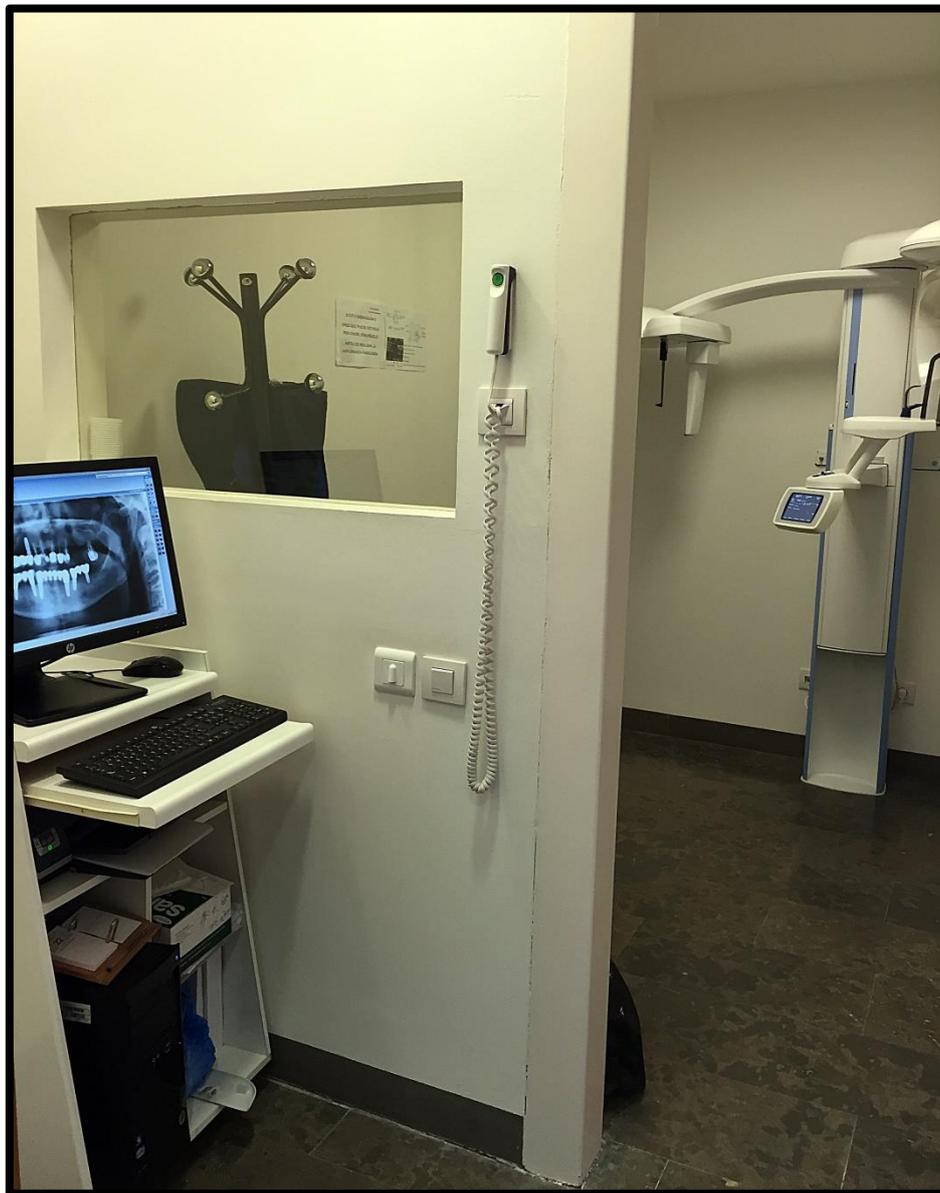


Fig.27. Sala de ortopantomografías.

El ortopantomógrafo empleado es un modelo PROMAX® de la casa comercial PLANMECA®. Los parámetros empleados en este estudio fueron 68 kv, 13mA con un disparo de 16s.



Fig.28. Ortopantomógrafo

**C) Seminario:**

Destinado a mantener reuniones de trabajo, dotado de sistema informático, con sistemas de proyección fijos y mobiliario.

### 1.2.2 - Instalación externa. TAC helicoidal.

Para las exploraciones de TAC se empleó un equipo modelo PaX-Flex 3D (Vatech®) con software Ez3D-Lite. Para el procesamiento de las imágenes y mediciones de densidad ósea y densitometrías se empleó el software DicomWorks®.



Fig.29. Equipo TAC haz helicoidal.

## 2. - MÉTODO

A continuación se describirá todos los procedimientos que se han llevado a cabo, para la correcta elaboración de este ensayo, así como los protocolos y variables fijadas para su ejecución. El protocolo de este ensayo ha sido aprobado por el Comité Ético Regional de Castilla y León, así como por la Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios (AEMPS), y por la Universidad de Salamanca (Anexo Ia, Ib, Ic, Id).

### 2.1 - SUJETOS DE ESTUDIO

Se presentan todos aquellos factores y criterios que se han tenido en cuenta para la selección de los sujetos a estudiar. Se proporcionó a todos los pacientes un documento informativo que describe el procedimiento y las distintas fases del ensayo. Todos los pacientes cumplieron el correspondiente consentimiento informado (Anexo II).

#### 2.1.1 - Criterios de inclusión en el estudio

- Consentimiento informado escrito anterior al reclutamiento.
- Adulto entre 30 y 65 años de edad.
- Buen estado de salud general.
- Presencia de premolar superior indicado para extracción y remplazo por implante dental.
- Presencia de al menos un diente vecino al diente con extracción indicada.
- Tiene disponibilidad para realizar el seguimiento.
- Índice de placa bacteriana menor del 30%.

#### 2.1.2 - Criterios de exclusión en el estudio

- Negar el consentimiento a ser incluidos en la investigación antes del reclutamiento o en el período comprendido entre el reclutamiento y la cirugía.
- No disponibilidad para realizar el seguimiento.
- Discapacidad física o mental que pueda interferir con la capacidad de comprender las informaciones médicas y cumplir las indicaciones post-operatorias.

- Cualquier enfermedad (excepto *diabetes mellitus* controlada), medicación asociada, infecciones o intervención quirúrgica reciente (1 mes de la visita de reclutamiento) que pueda afectar el estado bucal del paciente o con contraindicación del tratamiento.
- Pacientes que hayan recibido algún otro tratamiento o medicamento experimental en los 30 días anteriores a la visita de reclutamiento.
- Pacientes embarazadas o en período de lactancia.
- Pacientes sometidos a terapia anticoagulante.
- Portadores de VIH o hepatitis.
- Enfermedad periodontal no tratada o fuera de control.
- Índice de placa bacteriana superior a 30 % en la visita de reclutamiento.
- Bruxismo severo.
- Tratamientos en los últimos 3 meses que pueden afectar al estudio.
- Lesiones endodónticas agudas en el diente colindante.
- Lesiones endodónticas agudas en el diente a extraer.
- Pacientes tratadas o en tratamiento con bifosfonatos.

### 2.1.3 - Criterios para la interrupción de la participación

Se interrumpirá la participación en el estudio de los siguientes pacientes:

- Pacientes perdidos de vista o que no cumplan con las visitas programadas.
- Que expresen su voluntad de abandonar el estudio.
- Que durante el estudio sufran enfermedades, patologías o estados fisiológicos ajenos al tratamiento y que interfieran con el estudio.
- Que sufran un episodio o reacción adversa grave que a juicio del equipo investigador interfieran con el estudio.

En todos los casos, se registrarán las causas detalladas y la fecha de la interrupción de la participación. En ningún caso, la interrupción de la participación invalidará al paciente de recibir el tratamiento convencional adecuado en cualquier ocasión.

#### 2.1.4 - Determinación del tamaño muestral

Para la selección del tamaño de muestra se tuvieron en cuenta las diferentes variables de salida del presente estudio. De todas ellas, la que requiere un mayor número de pacientes son los cambios en las dimensiones del reborde alveolar, debido a que las variaciones esperadas son pequeñas, y que las herramientas de medida no tienen un alto nivel de precisión. Por lo tanto para el cálculo del número de pacientes se consideró, teniendo en cuenta reportes de la literatura, que una diferencia entre las dimensiones del reborde tanto de ancho como altura de 1,5 mm se considerarían significativas, y una desviación estándar de 1,3 mm.

Se hizo el cálculo para un ensayo bidireccional, considerando un nivel de significación ( $\alpha$ ) de 0,05 y una potencia del estudio del 80%. Se consideró una pérdida de pacientes del 15 %. Esperándose una tasa muy baja de sujetos retirados del estudio, por la importancia estética, económica y funcional que tiene para éstos la colocación del implante y de la prótesis, así como por la escasa incidencia de episodios o efectos negativos que se esperan.

El cálculo indicó que son necesarios 30 pacientes, 15 para el grupo control y 15 para el de prueba.

Existen varios factores que pueden influir en la reabsorción del reborde alveolar, y en la regeneración ósea como pueden ser: la edad del paciente, la localización de la pieza dental, tratamientos médicos o patologías que puedan interferir en la regeneración ósea. Para tratar de reducir al máximo la variabilidad del ensayo se ha restringido en gran medida todos los factores que puedan provocar un riesgo en este sentido.

Como por ejemplo restringir la edad de los pacientes, y homogenizar la calidad del hueso adyacente donde se colocará el material mediante medidas de densidad ósea, restringiéndolo a valores  $\geq 400$  HU, obtenidas con la realización de un TAC previo.

### 2.1.5 - Asignación del tratamiento

Cada sujeto seleccionado recibió un tratamiento, ya sea experimental o control. Asimismo a cada paciente numerado se asignó el tratamiento determinado por una lista de randomización generada de manera automática previamente al comienzo del estudio en la que se determina el material de tratamiento.

En el caso de tratamientos bilaterales se asignó tratamiento a uno u otro lado, según una lista de randomización suplementaria.

Con los resultados obtenidos se elaboró una tabla, en la cual se registró el código asignado a cada paciente, y el producto regenerador asignado.

Dado que Sil-Oss® y Bio-Oss® resultan físicamente identificables se planteó en un inicio el re-embalado de Bio-Oss® y Sil-Oss® para su enmascaramiento en el estudio; pero este hecho conllevaría posibles riesgos que afectarían negativamente los productos (contaminación, ruptura de los gránulos, etc.).

Por esta razón tanto Sil-Oss®, como Bio-Oss® se utilizarán en sus envases originales tal como lo entregan los fabricantes.

Para la evaluación posterior, las tomografías y las muestras del material enviadas para análisis histológico irán codificadas; de tal forma que no interferirán en los resultados, con el fin de ser lo más objetivo posible.

## 2.2 - PROTOCOLO DE ACTUACIÓN

A continuación se describe el protocolo llevado a cabo para cada una de las fases del estudio, con el objetivo de facilitar la recogida de datos que se expondrán a lo largo del desarrollo de esta tesis (Tabla 5).

VISITAS	FECHA
Visita de Reclutamiento	Hasta 20 días previo al tratamiento
Visita de Tratamiento Quirúrgico. Primera fase	Día 0
Visita TAC Post-operatorio	Día 0 a 5
Visita de Retirada de Sutura	Día 8 a 10
Visita de Seguimiento 3 semanas	Día 21 +/- 4
Visita de Seguimiento 6 semanas	Día 42 +/- 6
Visita de Seguimiento 12 semanas	Día 84 +/- 6
Visita TAC Pre-implante 25 semanas	Día 175 +/- 5
Visita de Toma Biopsia y colocación de Implante a las 26 semanas. Segunda fase	Día 180 +/- 5
Visita de Seguimiento a medio plazo	6 meses
Visita de Seguimiento a largo plazo	24 meses

Tabla 5. Organización del protocolo de actuación cronológicamente.

### 2.2.1 - Reclutamiento: recopilación de datos iniciales e identificación.

En la primera visita se registró la información demográfica, e historia médica y dental de los pacientes, y se les realizó la evaluación para el diagnóstico mediante examen clínico y tomográfico; midiéndose además el índice de placa dento-bacteriana.

Todos los sujetos siguieron un régimen de higiene bucal riguroso incluyendo cualquier tratamiento periodontal (en caso de ser indicado) antes del inicio del estudio.

Una vez realizada la selección de aquellos pacientes que cumplieron los criterios de inclusión establecidos, se lleva a cabo la asignación de un código que sigue la siguiente fórmula:

El código “X-ABC-nn” de diente asignado a cada paciente donde:

- X: Numero de entrada en el estudio
- ABC: Iniciales del Paciente
- nn: localización del premolar a intervenir.

La población incluida en el estudio está constituida por 33 individuos; de los cuales 20 son varones y 13 mujeres. Los sujetos presentan una edad comprendida entre 30 y 65 años. Uno de los pacientes con 67 años supera la edad establecida, pero cumpliendo el resto de criterios, se admite en el estudio (Tabla 6).

Código Paciente	Edad(años)	Sexo	CódigoDiente	Tratamiento	Observaciones
1-RMM	61	Hombre	1-RMM-25	Bio-Oss®	
2-DMM	49	Hombre	2-DMM-15	Bio-Oss®	
3-IGM	36	Hombre	3-IGM-24	Sil-Oss®	
4-EMB	34	Hombre	4-EMB-14	Sil-Oss®	
5-JPD	54	Hombre	5-JPD-24	Sil-Oss®	
6-LRM	49	Hombre	6-LRM-15	Sil-Oss®	
7-GSM	47	Hombre	7-GSM-14	Bio-Oss®	
8-JCS	53	Hombre	8-JCS-24	Bio-Oss®	
9-JHM	32	Hombre	9-JHM-25	Sil-Oss®	
10-EGA	46	Hombre	10-EGA-25	Bio-Oss®	
11-JVS	37	Hombre	11-JVS-15	Sil-Oss®	
			11-JVS-24	Bio-Oss®	
12-MZS	29	Mujer	12-MZS-25	Sil-Oss®	
13-EHL	44	Hombre	13-EHL-24	Bio-Oss®	
14-IFA	35	Hombre	14-IFA-14	Bio-Oss®	
15-NMP	47	Mujer	15-NMP-15	Sil-Oss®	
16-DRG	52	Mujer	16-DRG-25	Sil-Oss®	

Código Paciente	Edad(años)	Sexo	CódigoDiente	Tratamiento	Observaciones
17-RRL	40	Hombre	17-RRL-24	Bio-Oss®	
18-CRG	56	Mujer	18-CRG-25	Sil-Oss®	
19-MIP	54	Mujer	19-MIP-25	Sil-Oss®	
20-JGS	39	Hombre	20-JGS-25	Bio-Oss®	
21-CBL	40	Hombre	21-CBL-24	Sil-Oss®	Hipertenso en tratamiento con Ramipril
22-SMH	34	Hombre	22-SMH-24	Bio-Oss®	
			22-SMH-14	Sil-Oss®	
23-JRV	50	Hombre	23-JRV-14	Bio-Oss®	Colesterol alto. Hipertiroidismo
23-JRV			23-JRV-25	Sil-Oss®	
24-CIP	45	Mujer	24-CIP-25	Sil-Oss®	
25-FSH	67	Mujer	25-FSH-25	Bio-Oss®	> 65
26-AGP	42	Hombre	26-AGP-14	Sil-Oss®	
27-MJL	41	Mujer	27-MJL-14	Sil-Oss®	
28-CMC	30	Mujer	28-CMC-25	Bio-Oss®	
29-MSJ	48	Mujer	29-MSJ-14.15	Bio-Oss®	
			29-MSJ-25	Sil-Oss®	
30-ACA	33	Mujer	30-ACA-14	Bio-Oss®	Diabetes tipo 1 controlada
			30-ACA-25	Sil-Oss®	
31-JGR	47	Mujer	31-JGR-15	Bio-Oss®	
			31-JGR-24	Sil-Oss®	
32-MRB	42	Hombre	32-MRB-24	Bio-Oss®	
33-SBG	40	Mujer	33-SBG-14	Bio-Oss®	Alergia a nolotil

Tabla 6. Pacientes admitidos. Asignación de código y tratamiento.

### 2.2.2 - Protocolo quirúrgico.

A continuación se describe el protocolo llevado a cabo en este estudio, realizando varias fases que se resumen en el siguiente índice:

- Primera fase quirúrgica. Exodoncia e implantación del material.
- Protocolo de seguimiento de primera fase.
- Segunda fase quirúrgica. Toma de biopsia.
- Protocolo de seguimiento de segunda fase.

#### 2.2.2.1 - Primera fase quirúrgica. Exodoncia e implantación de material.

Una vez determinada la pieza dental a extraer, se procede a la anestesia local de la zona a regenerar, mediante la técnica de infiltración anestésica periapical. A continuación se practicó una incisión intracrevicular (intrasulcular) extendida mínimamente a los dientes adyacentes con una hoja de bisturí nº 15.

A continuación en los casos de pérdida total de la corona, se procedió a la elevación de un colgajo mucoperióstico de 3-4 mm de la cresta ósea bucal y lingual, con la ayuda de un periostotomo. En el diseño del colgajo, se evita la realización de cualquier tipo de descarga e incisión vertical, para así evitar el desgarro innecesario del campo, preservando al máximo las papilas interproximales adyacentes.

Posteriormente, se procede a la exodoncia del diente seleccionado de forma atraumática, empleando fórceps en los casos periodontales y botadores en casos de dientes con buena inserción con el fin de preservar las tablas óseas del alveolo a exodonciar. En caso de daño severo o pérdida total de alguna pared ósea durante la extracción, el paciente fue excluido del estudio.

Se eliminó cualquier tipo de residuo patológico y tejido de granulación con la ayuda de una cucharilla de legrado ósea. Durante este proceso si se advirtiese la presencia de alguna espícula ósea residual, se eliminará con la ayuda de una pinza gubia.



Fig.30. Pieza dental a extraer. Exodoncia.

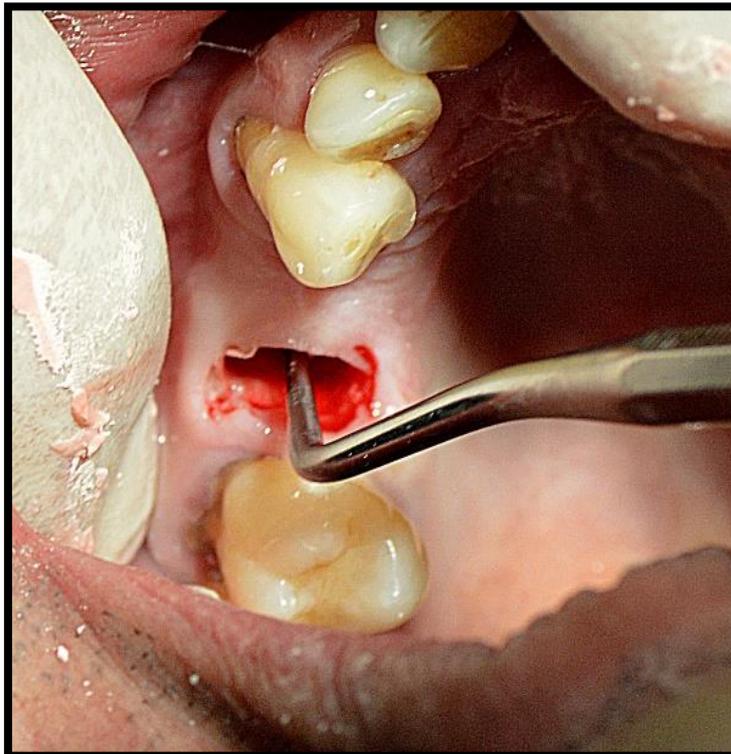


Fig.31. Legrado y limpieza del alveolo tras la extracción dental.

Inmediatamente después de la exodoncia, se procede a realizar las mediciones intraoperatorias del reborde remanente con una sonda milimetrada siguiendo la metodología descrita por Mardas y cols (Mardas N, 2010).

- **B-P:** Ancho de Cresta Palatal-Lingual.
- **P-Bw:** Ancho de tabla ósea Palatal.
- **B-Bw:** Ancho de tabla ósea Bucal.
- **M-Da:** Anchura del alveolo.
- **M-Dd:** Anchura de espacio entre dientes (si los dos están presentes).
- **Mbh:** Altura cresta cemento del diente mesial contiguo.
- **Ddh:** Altura cresta cemento del diente distal contiguo.
- **Pf.B:** Profundidad hasta el borde bucal.
- **Pf.P:** Profundidad hasta el borde palatal.
- **Pf.M:** Profundidad hasta el borde mesial.
- **Pf.D:** Profundidad hasta el borde distal.

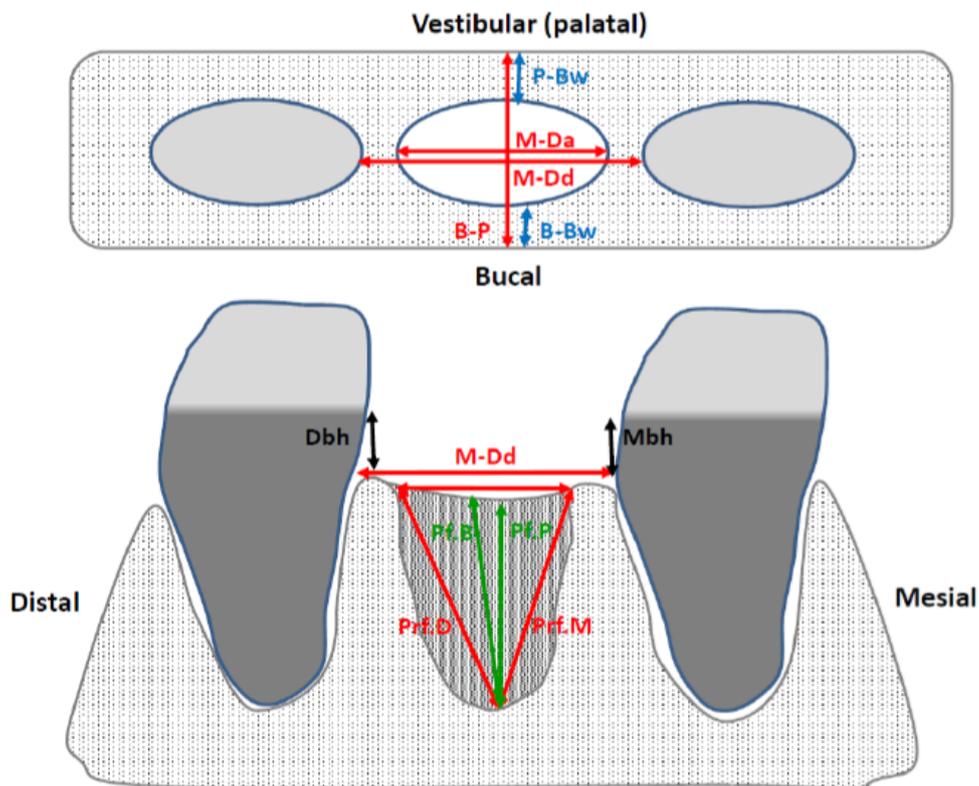


Fig.32. Esquema medidas intraoperatorias del alveolo postextracción.

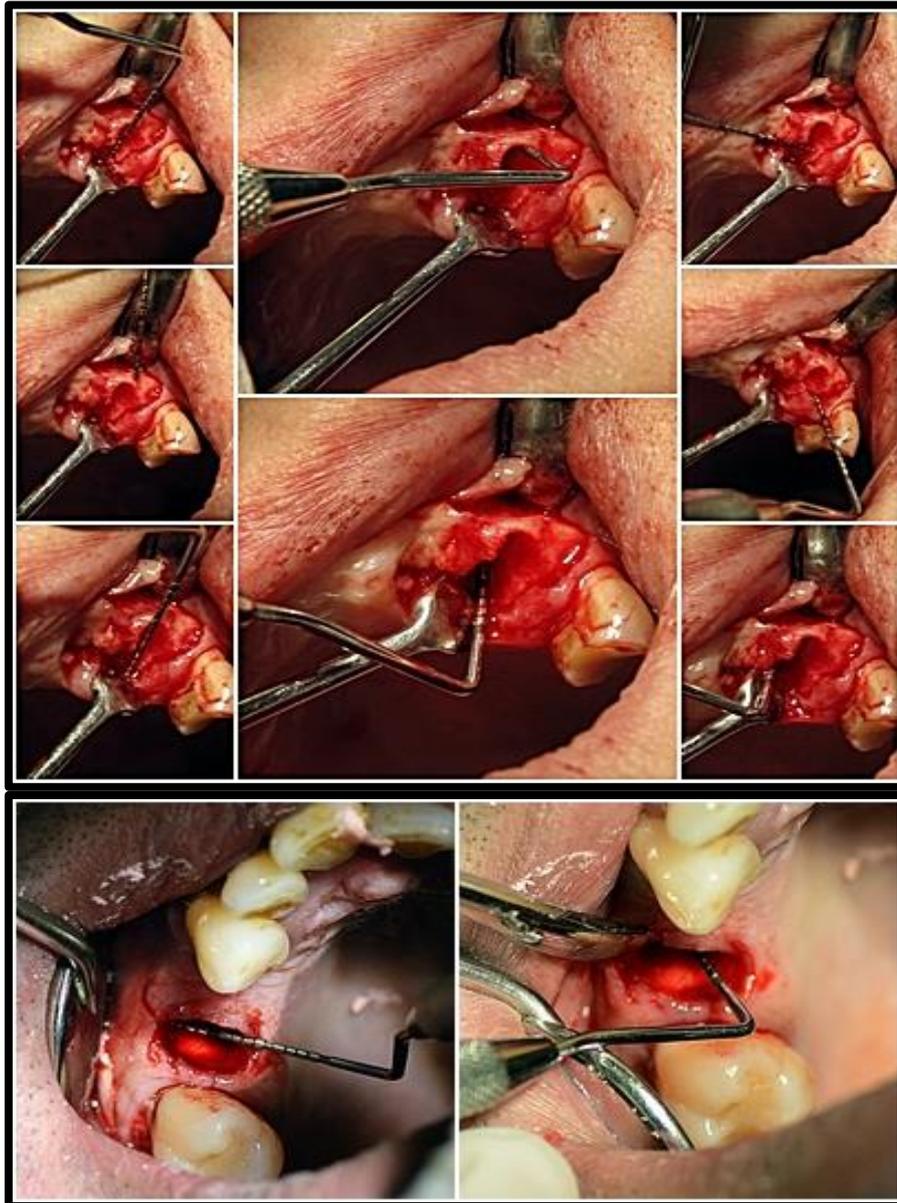


Fig.33. Medidas intraoperatorias del alveolo.

Al concluir las mediciones intraoperatorias, se procede a la inserción del material regenerativo asignado a cada paciente Sil-Oss® o Bio-Oss®.

En el momento de su implantación, el material regenerador de relleno se humedece con suero fisiológico estéril para su mejor manipulación. La cavidad alveolar se rellena hasta el nivel de la tabla ósea bucal y palatal.



Fig.34. Hidratación del material regenerador.

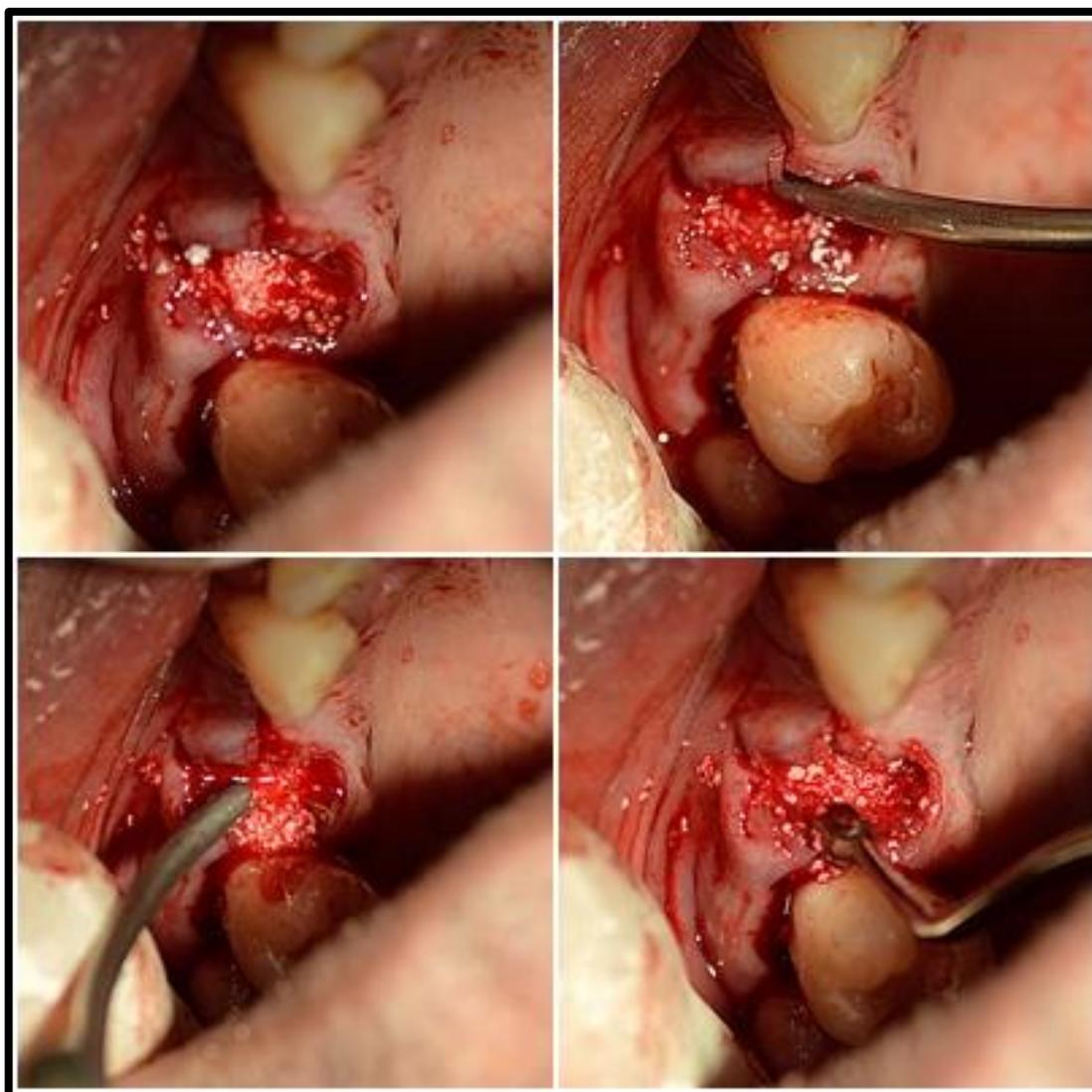


Fig.35. Colocación y compactación del biomaterial en el alveolo fresco y legrado.

Una vez ubicado y compactado el material en el interior del alveolo, se ubicó coronalmente en el campo a regenerar una membrana reabsorbible de colágeno (Bio-Gide®, Geistlich) recortada a 25 x 25 mm; colocándose y ajustándose para que cubra el material implantado.

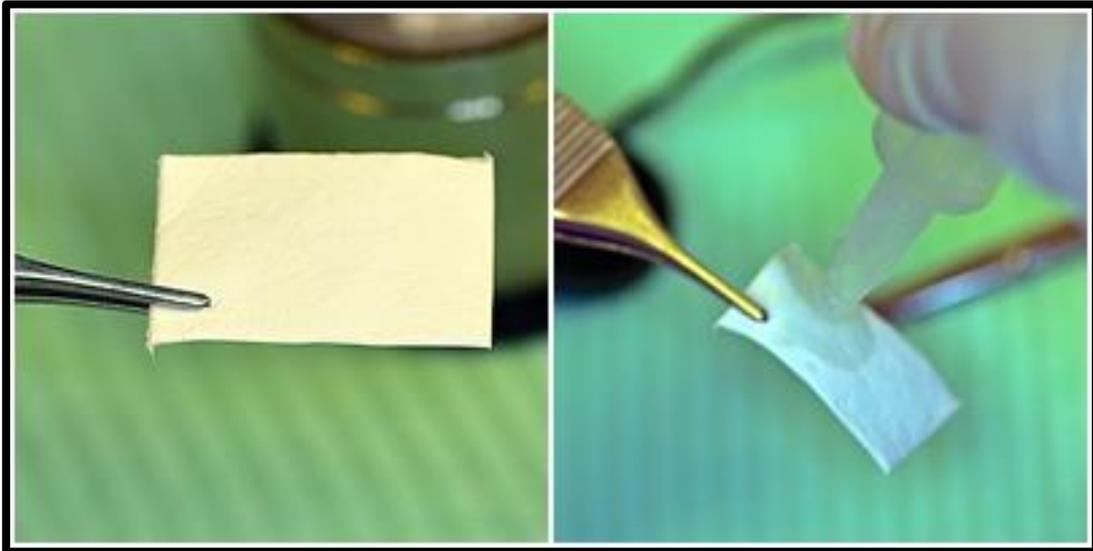


Fig.36. Membrana Bio-Gide®. Hidratación de la membrana.

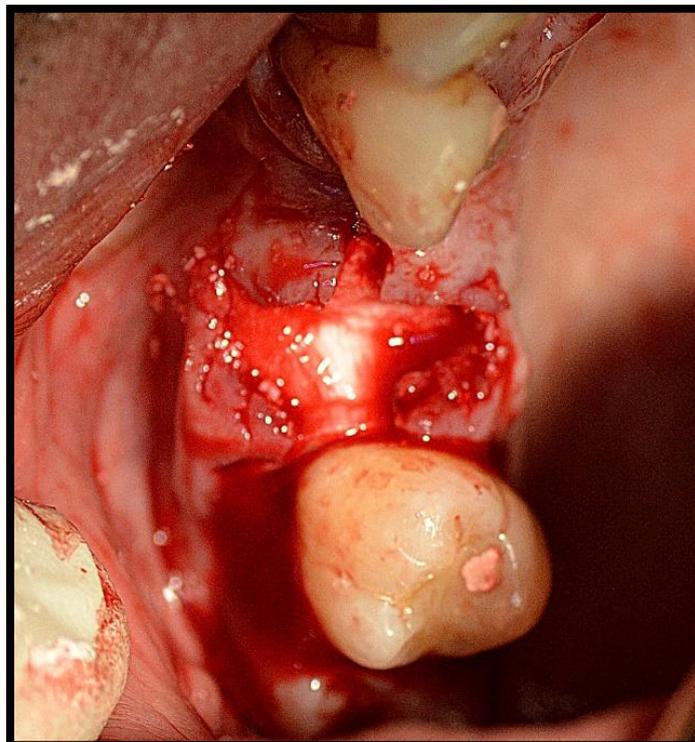


Fig.37. Membrana ubicada coronalmente al área regenerada.

Una vez realizado todo el aislamiento del material, se procedió al reposicionamiento del colgajo y sutura del mismo, mediante la técnica de punto colchonero coronal, con Supramid® 5/0; asegurando que quedan cubiertos en su totalidad la membrana y material implantado.

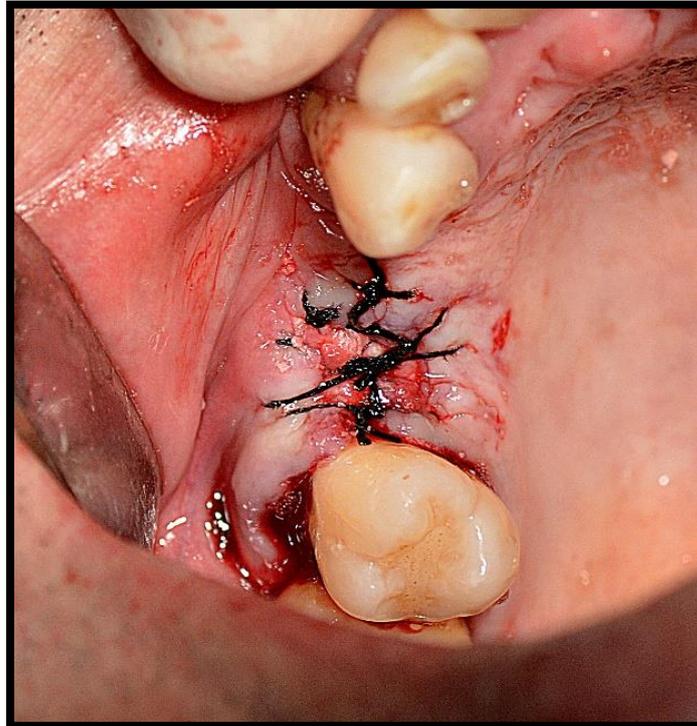


Fig.38. Cierre y sutura del alveolo a regenerar.

Finalizado el procedimiento quirúrgico, se prescribe al paciente un antibiótico de tipo penicilina; amoxicilina/clavulánico (500/125 mg), por vía oral cada 8h durante los primeros 8 días del post-operatorio. En caso de alergia a la penicilina, la amoxicilina se sustituyó por eritromicina en la misma dosis. El posible dolor post-operatorio se controló mediante paracetamol (1 g) cada 8 horas mientras existiese dolor.

A todos los pacientes se les indicó evitar el cepillado del área afectada y hacer enjuagues con clorhexidina al 0,12 %, 2 veces al día durante las primeras 2 semanas del post-operatorio. Prohibiendo el uso de cualquier tipo de prótesis temporal removible durante las primeras tres semanas del post-operatorio; y advirtiéndole que pasado este tiempo se ajustarían las mismas para aliviar cualquier posible presión sobre el área implantada.

Las suturas fueron retiradas a los 8-10 días de la intervención previa realización de TAC para evaluación tomográfica, y realizándose posteriormente seguimientos de la cicatrización con profilaxis a 3, 6 y 12 semanas de la operación.

#### **2.2.2.1 - Protocolo de seguimiento de primera fase quirúrgica.**

##### **A) Retirada de sutura**

Se retiraron las suturas a los 8-10 días de la intervención y tras la realización de TAC para evaluación tomográfica. En la visita evaluaron criterios de seguridad sistémicos (fiebre) y locales (dolor, inflamación, edema, supuración, pérdida del material, cicatrización y exposición de la membrana).

##### **B) Seguimiento a 3, 6, y 12 Semanas**

A las tres, seis y doce semanas de la intervención se realizó una visita de seguimiento en la que se evaluaron criterios de seguridad sistémicos (fiebre) y locales (dolor, inflamación, edema, supuración, pérdida del material, cicatrización y exposición de la membrana).

##### **C) TAC a las 25 Semanas**

A las veinticinco semanas se lleva a cabo una segunda TAC y realizan las mediciones de densidad ósea en Hounsfield (Hu).

#### **2.2.2.3 - Segunda fase quirúrgica. Toma de biopsia.**

Transcurridas 26 semanas de la extracción dental y relleno del alveolo con el material regenerativo, se llevó a cabo la reintervención del área a estudiar. Una hora antes de la re-intervención se administró 3g de amoxicilina, con el propósito de evitar cualquier tipo de infección. En caso de alergia a las penicilinas se recetó 3g de eritromicina.

Se procede a la anestesia local del paciente, utilizando lidocaina al 2%, infiltrando dicha solución a nivel del espacio regenerado.

Se realiza la exposición de la zona regenerada, mediante la incisión con bisturí frío del nº 15, realizando un colgajo mucoperióstico de 3-4mm de espesor total con dos descargas verticales adyacentes según el procedimiento anteriormente descrito.



Fig.39. Tramo regenerado previo a la segunda fase quirúrgica.

Exposición de zona regenerada.

Una vez realizado el despegamiento del colgajo, se llevó a cabo las mediciones intraoperatorias del reborde alveolar remanente con una sonda milimetrada recogiendo observaciones y las siguientes medidas:

- **B-P:** Ancho de cresta Palatal-Lingual.
- **h:** Altura a nacimiento de dientes.
- **Dd:** Distancia entre dientes (si los dos están presentes).
- **Mbh:** Altura cresta cemento del diente mesial contiguo (si está presente).
- **Ddh:** Altura cresta cemento del diente distal contiguo (si está presente).

Realizadas dichas mediciones, se procede a la toma de una biopsia del tejido regenerado mediante la ayuda de una fresa trefina de 3,7 mm de diámetro hasta una profundidad de 6 mm realizando una osteotomía parcial de la zona. Se obtiene una biopsia del tejido de la parte central del alveolo previamente relleno con el material experimental o control.



Fig.40. Obtención de biopsia mediante trefina.



Fig.41. Orificio trefina.



Fig.42. Biopsia ósea en interior de trefina.

La muestra de tejido regenerado, se extrajo cuidadosamente de la trefina tratando de mantenerla intacta, y se depositó en un contenedor con formalina tamponada al 4% asegurando la identificación de la parte apical y coronal. La muestra se identificó con el código correspondiente para su procesamiento y evaluación histológica.

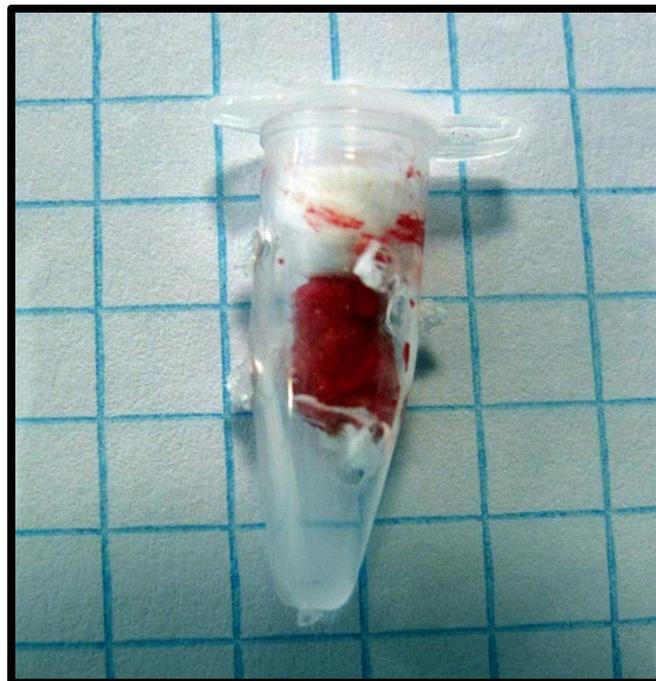


Fig.43. Biopsia en formalina.

Inmediatamente tras la obtención de la biopsia del tejido óseo regenerado, se procedió a la colocación del implante BTI Interna® (Ref.IIPU4\_\_\_), mediante el protocolo estándar, y en función de las mediciones radiológicas obtenidas en el TAC. Teniendo en cuenta, que si durante la colocación del implante se manifestó algún tipo de dehiscencia o fenestración ósea, se procedió a realizar regeneración ósea guiada simultáneamente con el mismo tipo de biomaterial empleado como relleno alveolar.

Para la colocación de estos implantes se llevó a cabo el protocolo de fresado biológico indicado por el fabricante, el cual consiste principalmente en realizar esta secuencia de fresado a bajas revoluciones y sin irrigación. Empleando el motor quirúrgico BTI Drill Tech W&H®.

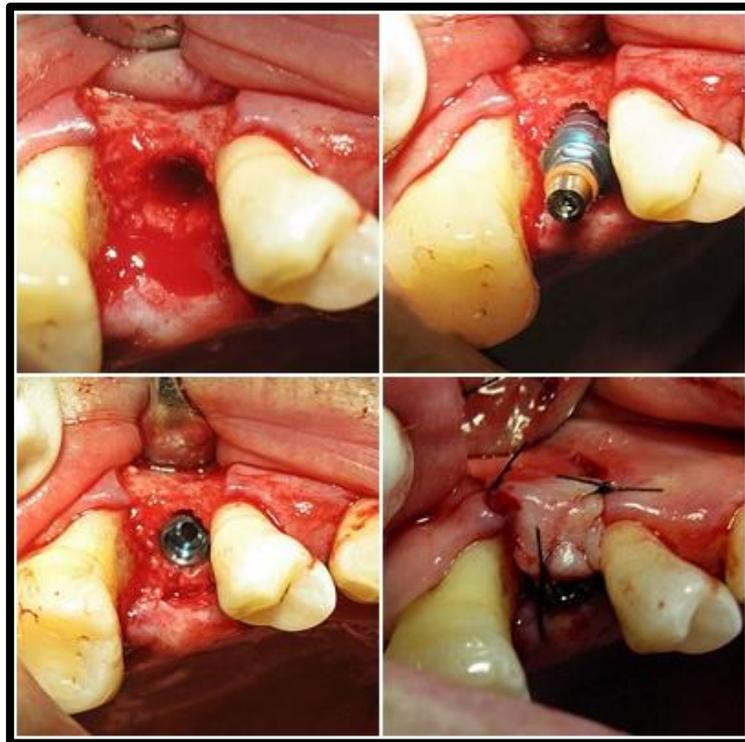


Fig.44. Colocación de implante y sutura.

Por último se reposicionó el colgajo coronal para cubrir totalmente el material de regeneración, y se procedió a la sutura del tejido con sutura 5/0 y 6/0 no reabsorbible Supramid®.

Tras la intervención de las 26 Semanas, a los pacientes se les prescribió terapia antibiótica con 3g de amoxicilina o 3g de eritromicina inmediatamente antes de la intervención. Se prescribió como medida analgésica paracetamol (1g) cada 8 horas para el control del dolor post-operatorio, mientras existiese algún signo de dolor.

Del mismo modo que en la primera cirugía, se aconseja a los pacientes evitar el cepillado del área afectada y, realizar enjuagues con clorhexidina al 0,12 % dos veces al día durante las primeras dos semanas del post-operatorio. Prohibiendo el uso de prótesis temporal removible durante las primeras 3 semanas del post-operatorio.

#### **2.2.2.4 - Protocolo de seguimiento de la segunda fase quirúrgica.**

##### **A) Retirada de sutura**

Se retiraron las suturas a los 8-10 días de la intervención. En la visita evaluaron criterios de seguridad sistémicos (fiebre) y locales (dolor, inflamación, edema, supuración, pérdida del material, cicatrización y exposición de la membrana).

##### **B) Seguimiento 26 semanas**

Transcurridos 26 semanas tras la colocación del implante y 52 semanas tras la implantación del material regenerativo, se lleva a cabo un llamamiento de todos aquellos paciente que continuaron en el estudio, a fin de evaluar los cambios producidos a nivel óseo, valorar la estabilidad del implante insertado, y proceder a la realización de una segunda fase implantológica para continuar con la rehabilitación completa de los pacientes.

Para dicha valoración se realiza inspección visual de los mismos, observando cualquier alteración de la forma de los tejidos periimplantarios y del propio implante como tal.

Se procede a la realización de una segunda fase quirúrgica, donde se procede a la exposición de los tornillos de cierre, y a la colocación del pilar de cicatrización correspondiente, con el objetivo de favorecer el crecimiento del tejido blando adyacente; para su posterior rehabilitación protésica. Se toman las medidas protésicas.

Además se realiza una radiografía panorámica extraoral (ortopantomografía), con el objeto de tener una prueba diagnóstica objetiva que permita observar de forma directa cualquier grado de pérdida ósea o problema subyacente.

### **C) Seguimiento a medio plazo 56 semanas**

En esta fase se lleva a cabo la colocación de una prótesis fija implantoretinida atornillada sobre el implante dental ubicado en el alveolo regenerado con el biomaterial.

Se realizan las fotografías oportunas con el fin de obtener un registro de los pacientes rehabilitados.

Se omite la realización de ortopantomografía en esta visita, con el objeto de no irradiar innecesariamente al paciente, dada la proximidad de la ortopantomografía anterior.

### **D) Seguimiento a largo plazo 24 meses**

Una vez transcurridos 24 meses tras la inserción del injerto óseo, 18 meses tras la colocación del implante, y 10 meses tras la rehabilitación con la corona protésica, se propone una recepción de todos aquellos pacientes a los que se le tomó biopsia.

A todos aquellos pacientes que acuden a la cita se les realiza ortopantomografía, radiografía intraoral con paralelizador y una fotografía de la zona injertada.

### 2.3 - PROTOCOLO HISTOLÓGICO

A continuación se describe todas las fases llevadas a cabo para el procesamiento de las muestras y su posterior análisis.

#### A) Fijación

La biopsia de tejido obtenida al colocar el implante se depositó en un vial con formalina tamponada al 4% asegurando la identificación de la parte apical y coronal, identificándolo con el código histológico correspondiente, y se dejándose fijar durante al menos 7 días.

Después de la fijación las muestras fueron enjuagadas cuidadosamente con suero fisiológico, y se sometieron a deshidratación por inmersión sucesiva en disoluciones etanol-agua de concentración creciente de etanol (70, 80, 90, 95 y 100 %), estando embebidas cada día en cada una de ellas, hasta llegar a etanol absoluto, donde se mantuvieron durante 48 h.

#### B) Inclusión

La inclusión de las muestras óseas se realizó en metilmetacrilato en estado líquido durante 15 días a 4°C y en agitación.

Los componentes de dicho metilmetacrilato son:

- 800 ml M-metacrilato (monómero estabilizado de hidroquinona).
- 160 ml Nonifenol poliglicol-éter acetato (Plastoid N).
- 16 ml Dibutil-ftalato.
- 40 g Peróxido de benzoilo (este catalizador se adiciona de inmediato).

Una vez preparada la mezcla se guardó en un frasco cerrado y en nevera a 4°C.

Por otro lado se prepararon unos cilindros de vidrio con una base de metilmetacrilato polimerizado que fueron empleados como soporte para la posterior inclusión de las muestras de tejido óseo.

Para ello, los tubos de vidrio se rellenaron con la mezcla de metilmetacrilato hasta una altura de 2.5 cm, se cerraron herméticamente con parafilm y se dejaron en la estufa a 32°C durante 2 o 3 días para que polimerizase.

Una vez que las piezas óseas fueron incluidas en metilmetacrilato líquido, se pasaron a los cilindros con bases de metilmetacrilato ya polimerizado.

Utilizando un tubo con la base de metilmetacrilato se introdujo la pieza ósea, siendo muy importante su orientación, junto con una etiqueta de papel cebolla con la referencia de la muestra, se recubrió de metilmetacrilato líquido, se etiquetó el tubo por fuera, y se tapó con parafilm para que no entrara aire, tras lo cual se introdujeron los tubos en la estufa a 32°C para su polimerización durante 5 - 6 días.

Seguidamente se rompió el tubo de vidrio, quedando el bloque polimerizado con la muestra ósea que iba a ser cortado con una sierra de cinta para desbastar la muestra, antes de realizar los cortes definitivos.

### **C) Corte de las muestras**

El bloque fue serrado y lijado para obtener un tamaño que permitiera su manejabilidad, y se colocó en el microtomo (Microm HM 350 S).

Tanto el bloque como la cuchilla se pincelaron con alcohol de 70° constantemente para mantenerlos humedecidos durante el proceso. Los primeros cortes se realizaron con un grosor de 30 µm hasta llegar a la pieza ósea, momento en el cual, se empezó a cortar a 5 µm, desechando los primeros cortes obtenidos.

La gelatinización de los portaobjetos se realizó calentando el agua a 55°C para disolver la gelatina. Una vez enfriado se añadió glicerina y fenol. Para gelatinizar el porta se puso una gota de gelatina sobre él y se extendió con ayuda de otro porta.

Los cortes de 5  $\mu\text{m}$  se colocaron en un portaobjetos previamente gelatinizado con gelatina de Haupt (Composición gelatina de Haupt: 1g de gelatina, 100 ml de agua destilada, 15 ml de glicerina, 2 g de fenol) y fueron impregnados por encima con unas gotas de alcohol de 95° y, pasados 5 minutos, se cubrieron con un film de polietileno y se aplanaron con un rodillo de goma para que el film cubriera toda la superficie del portaobjetos, donde se encontraba el corte.

Los portas se fueron colocando uno encima del otro en una prensa con soportes de madera o metacrilato de 5 a 8 mm de grosor. Apretando la prensa hasta encontrar resistencia, momento a partir del cual se mantuvieron en la estufa 24 h a 60 °C. Transcurrido ese tiempo, se quitó el film de polietileno que cubría el portaobjetos, y se desplastificó el corte introduciendo los portas en una solución de metil-acetato durante 55 minutos.

Posteriormente, se lavaron en soluciones decrecientes de alcohol (100 - 70%) y por último, se procedió a la tinción de las muestras: tinción Tricrómico de Goldner y tinción de Von Kossa.

#### **D) Protocolo de tinciones**

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

### TRICRÓMICO DE GOLDNER:

Para esta técnica de tinción se ha utilizado la Hematoxilina férrica de Weigert 5'; formada por dos compuestos:

- Weigert A (concentrada x2):
  - Hematoxilina (2g) + Alcohol 96o (100 ml).
- Weigert B:
  - Percloruro de hierro (1,16 g)
  - HCl (10 ml) + Agua destilada (5 ml): 1 ml
  - Agua destilada 98 ml

Mezclar a partes iguales las soluciones A y B sólo antes de su uso. Se introducen los portas con el material a estudiar en la solución de hematoxilina y posteriormente se siguen los siguientes pasos:

- Agua corriente durante 10'.
- Ponceau de xilidina durante 40':
  - 200 ml agua destilada.
  - 2 g Ponceau de xilidina.
  - 0,4 ml ácido acético glacial.
  - 1 g fucsina ácida.
- Lavado rápido en ácido acético al 1%.
- Lavado rápido en agua destilada.

Se diferencian las preparaciones histológicas con ácido fosfotungstico – Orange G 10':

- 200 ml agua destilada.
- 2 g ácido fosfotungstico.
- 1 g orange G.

- Lavado rápido en ácido acético al 1%.
- Lavado rápido en agua destilada.
- Verde luz 15':
  - 200 ml agua destilada
  - 0,4 g verde luz
  - 0,4 ml ácido acético glacial
  
- Lavado rápido en ácido acético al 1%.
- Lavado rápido en agua destilada.
- Deshidratar y montar

Con esta tinción observamos la sustancia osteoide en rojo o fucia y el hueso en azul turquesa.

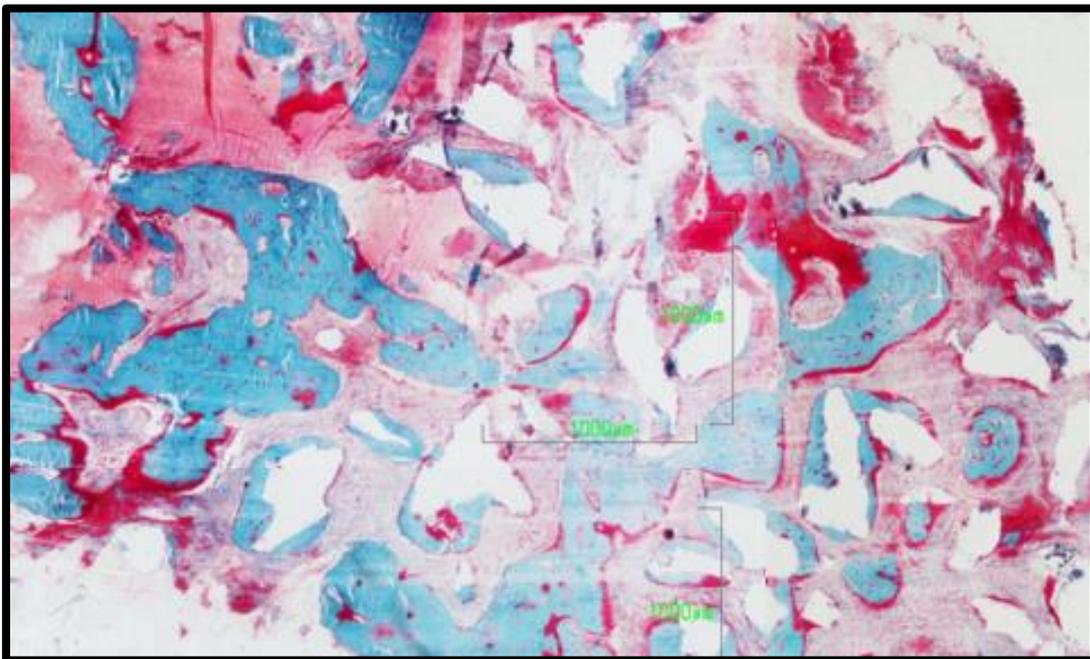


Fig.45. Fotografía microscópica de muestra ósea mediante tinción Goldner.

### VON KOSSA:

Los portas con el material óseo a estudiar se procesaron en las siguientes soluciones durante los tiempos adecuados como se indica:

- Nitrato de plata al 3% durante 5 min.
- Agua destilada x2 veces durante 5 min.
- Formol-carbonato de sodio durante 5 min:
  - 10 mg de carbonato de sodio.
  - 150 ml de agua destilada.
  - 50 ml de formaldehído al 37%.
  
- Agua corriente 10 min.
- Sulfato de sodio al 5%, 5 min.
- Agua corriente, 10 min.
- Ponceau de xilidina 45 min.
- Lavado rápido en ácido acético al 1%.
- Lavado rápido en agua destilada.
  
- Diferenciar en ácido fosfotúngstico - Orange G 15 min.
- Lavado rápido en ácido acético al 1%.
- Lavado rápido en agua destilada.
- Deshidratar y montar.

Con la tinción de Von Kossa observamos en rojo anaranjado la sustancia osteoide y en negro el hueso mineralizado.

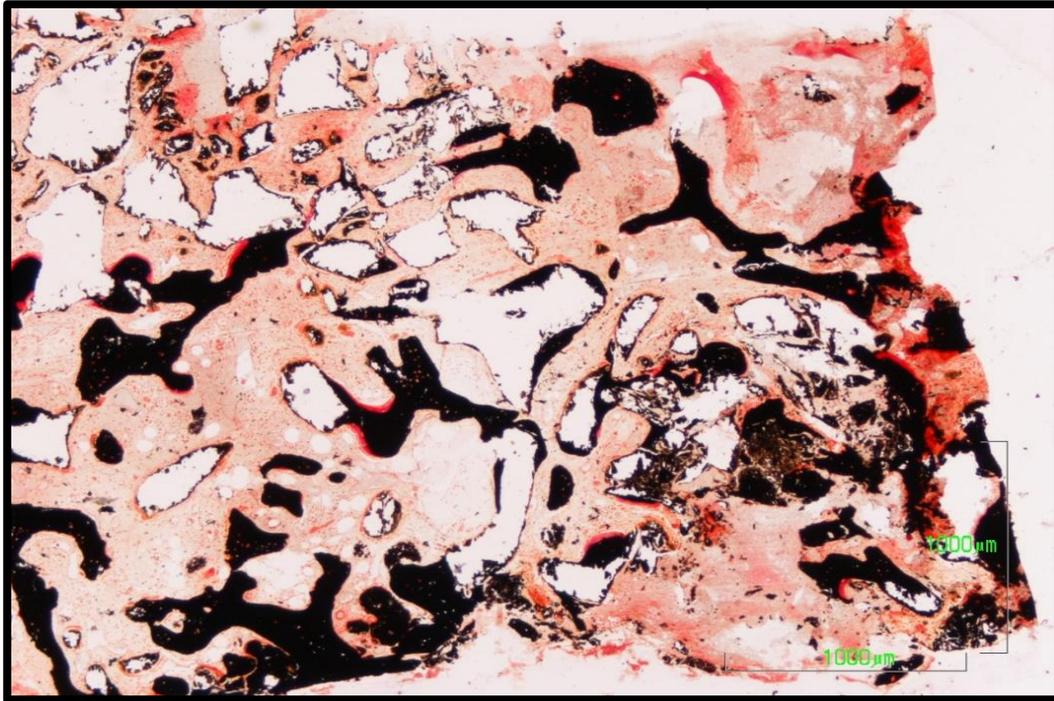


Fig.46. Fotografía microscópica de muestra ósea mediante tinción Von Kossa.

#### **E) Protocolo fotográfico**

Las fotografías de las preparaciones histológicas teñidas tanto con Tricrómico de Goldner como con Von Kossa, se efectuaron mediante una lupa Zeiss Stemi 2000-C® con una fuente de luz Zeiss KL1500 electronic® acoplada a una cámara Nikon digital camera DXm 1200®, de este modo se obtiene una imagen completa del corte histológico.

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

## 2.4 - PROTOCOLO DE EVALUACIÓN

A continuación se describen los distintos protocolos empleados para la evaluación de los resultados de este trabajo.

### 2.4.1 - Evaluación de efectos adversos.

A todos los pacientes incluidos en el ensayo se les solicitó su lugar de residencia y teléfono en la primera visita, con la finalidad de su posible localización para garantizar las visitas de control programadas. Además, al finalizar el tratamiento, les fue entregada una hoja con indicaciones precisas sobre los cuidados post-operatorios, teléfono de contacto y el calendario para visitas de seguimiento, que se realizaron a las 8-10 días, 3, 6, 12 (en el intervalo de  $\pm 2$  días de la fecha exacta) y 26 semanas.

La evaluación clínica se llevó a cabo en las visitas de seguimiento correspondientes a los períodos de 8-10 días, 3, 6, 12 y 26 semanas.

Para evaluar los posibles efectos adversos de Sil-Oss® se valoró mediante examen de la zona afectada e interrogatorio al paciente las siguientes variables con sus niveles:

- Dolor post-operatorio: 0-2 (0: sin dolor, 1: leve, 2: fuerte).
- Fiebre: NO, SI (temperatura máxima y duración de la fiebre).
- Inflamación: 0-2 (0: sin inflamación; 1: leve; 2: fuerte).
- Edema: 0-2 (0: sin edema; 1: leve; 2: abundante).
- Supuración: SI/NO.
- Pérdida del material: 0-2 (0: no; 1: poco; 2: abundante).
- Cicatrización (Cierre de la herida): SI/NO.
- Exposición de la membrana: SI/NO.

Mediante interrogatorio al paciente se investigó la aparición de cualquier otro evento que pudiese ser atribuido al tratamiento.

#### 2.4.2 - Evaluación del volumen óseo. Mediciones intraoperatorias del reborde

Para evaluar los cambios en las dimensiones del reborde alveolar tras el tratamiento con Sil-Oss® y Bio-Oss® se realizaron medidas intra-operatorias del reborde alveolar remanente inmediatamente después de la extracción (0 semanas) y en el momento de la colocación del implante (26 semanas).

Estas medidas fueron llevadas a cabo, empleando una sonda periodontal milimetrada siguiendo la metodología descrita anteriormente (Mardas M, 2010).

**B-P:** Ancho de Cresta Palatal-Lingual.

**P-Bw:** Ancho de tabla ósea Palatal.

**B-Bw:** Ancho de tabla ósea Bucal.

**M-Da:** Anchura del alveolo.

**M-Dd:** Anchura de espacio entre dientes (si los dos están presentes).

**Mbh:** Altura cresta cemento del diente mesial contiguo.

**Ddh:** Altura cresta cemento del diente distal contiguo.

**Pf.B:** Profundidad hasta el borde bucal

**Pf.P:** Profundidad hasta el borde palatal

**Pf.M:** Profundidad hasta el borde mesial

**Pf.D:** Profundidad hasta el borde distal

Transcurridas las 26 semanas, en la intervención de colocación del implante intraóseo y después de haberse practicado un colgajo mucoperióstico para exponer el área, se repitieron las mediciones intraoperatorias a ciegas del reborde alveolar: **B-P:** Ancho de Cresta Palatal-Lingual, **h:** Altura a Nacimiento de Dientes, **Dd:** Distancia entre dientes (si los dos están presentes), **Mbh:** Altura cresta cemento del diente mesial contiguo (si está presente), **Ddh:** Altura cresta cemento del diente distal contiguo (si está presente); según lo descrito anteriormente.

### 2.4.3 - Diagnóstico y evaluación mediante Tomografía Computarizada de Haz Cónico

#### A) Diagnóstico inicial de la calidad ósea del hueso alveolar periférico:

Aquellos pacientes que cumpliesen los criterios clínicos de inclusión fueron remitidos a evaluación tomográfica para valorar la densidad ósea del hueso en la periferia del diente a tratar, y determinar su inclusión o exclusión definitiva de la investigación.

La densidad ósea del hueso periférico se determinó sobre cortes axiales de 1,0 mm de espesor paralelos a la bóveda palatina y que comprendan desde la semi-altura altura de la cavidad alveolar hasta 3 mm por debajo de ápice.

#### B) Evaluación tomográfica a las 25 semanas:

Las mediciones se realizan sobre cortes paralelos a la bóveda palatina resultantes de dividir la profundidad del alveolo regenerado entre cuatro secciones equidistantes: Corte Crestal (Cc), Corte Medio (Cm) y Corte Apical (Ca). Se realiza también una medida sobre el Corte Ortoradial (Co). La densidad del hueso de referencia se determina a partir de Cortes de Referencia a 2mm del ápice del alveolo regenerado (CRa) y en la misma área contralateral (Crc).

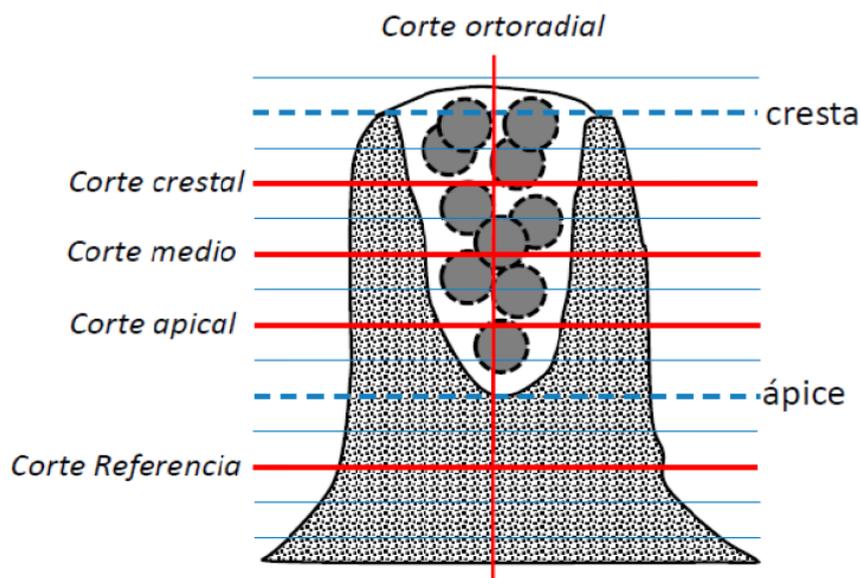


Fig.47. Esquema de mediciones tomográficas empleadas.

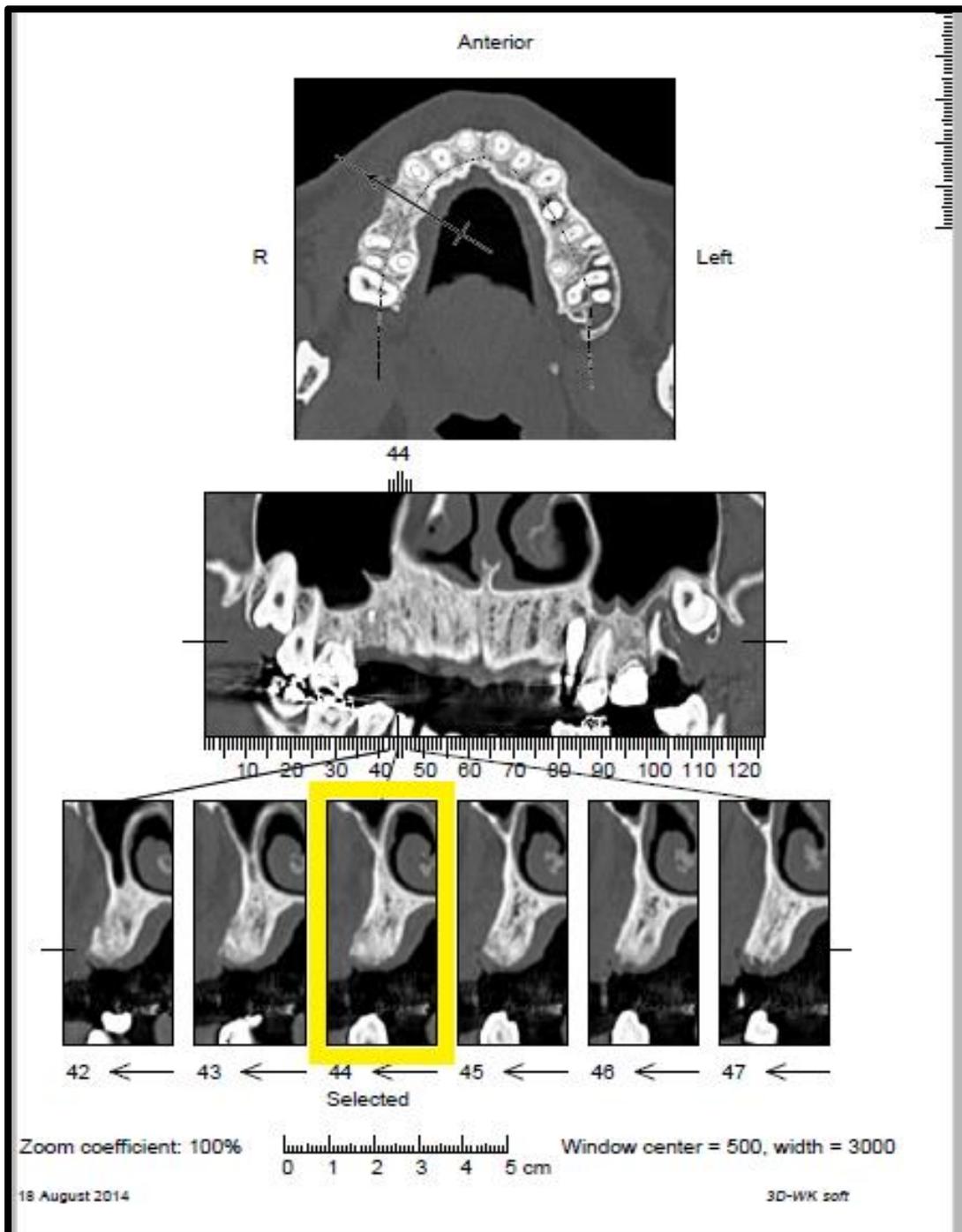


Fig.48. TAC realizado.

Como se puede observar en el TAC anterior, se realiza una selección del corte transversal del maxilar, determinando la curva de exposición a estudiar. Posteriormente se selecciona un corte coronal, determinando el corte exacto donde se pretende efectuar la medición de la densidad.

#### 2.4.4. - Evaluación Histológica

Se evalúan todas las biopsias realizadas en la semana 26, obteniendo distintas muestras histológicas, que permitirán su posterior análisis.

Las muestras se codifican de la siguiente forma:

#### **Nº Entrada - Código Paciente - Diente**

Inicialmente todas las biopsias serán mostradas con una imagen panorámica 2x, con el objetivo de permitir una visualización global de la muestra. En aquellos casos que permitan una visualización a mayor aumento se realizó un enfoque mayor (4x, 10x, 20x).

Todas las imágenes obtenidas son descritas con la máxima precisión que sea posible con el objeto de mostrar de una forma objetiva los resultados histológicos obtenidos.

Siguiendo un método semicuantitativo-cualitativo subjetivo, que recoge los nueve parámetros que se exponen a continuación:

1. Presencia de restos de los materiales implantados (Bio-Oss® / Sil-Oss®).
2. Presencia de signos de inflamación.
3. Presencia de signos de necrosis.
4. Presencia de regeneración.
5. Presencia de líneas de osteoide.
6. Presencia de macrófagos con restos del material implantado en su citoplasma.
7. Presencia de células gigantes.
8. Presencia de calcificación del tejido óseo neoformado.
9. Presencia de gránulos de material implantado encapsulados por tejido conectivo.

Se valorarán estos parámetros en función de si están presentes en los cortes histológicos o no, y en qué grado, según la escala:

- ausencia, \* leve, \*\* moderado, \*\*\*abundante

Como resultado de la evaluación se emitió un informe con los resultados detallados, y un resumen de los siguientes variables:

- Respuesta inflamatoria (0-4)
- Vascularización (0-4)
- % de hueso formado
- % de tejido conectivo
- % de material reabsorbido
- Madurez ósea del hueso formado (0-4)

#### **2.4.5 - Evaluación radiográfica. Ortopantomografía.**

Con la ortopantomografía se pretende observar de forma general los cambios volumétricos más destacables y compararlos con las ortopantomografías de control.

Permitiéndonos de ese modo, observar cualquier cambio relevante que se hubiese producido.

##### **A) Seguimiento y evaluación radiográficos:**

Se llevaron a cabo ortopantomografías:

- Semana 52. Coincidiendo con la colocación de los pilares de cicatrización.
- 24 meses tras regeneración.

## **2.5 - ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico se realizará mediante el programa informático IBM SPSS Statistics® Versión 20. Como entrada al programa de análisis se empleará la hoja Excel donde se recogen todos los datos. El nivel de significancia a emplear será  $\alpha = 0,05$ .

Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# V. Resultados



## 1. - PACIENTES EVALUABLES

Se reclutaron un total de 33 pacientes. Se implantó biomaterial Bio-Oss® (n=19) o Sil-Oss® (n=20).

PACIENTE	CÓDIGO DIENTE	OBSERVACIONES
1-RMM	1-RMM25	Evaluable
2-DMM	2-DMM15	Evaluable
3-IGM	3-IGM24	Evaluable
4-EMB	4-EMB14	Evaluable
5-JPD	5-JPD24	Evaluable
6-LRM	6-LRM15	Evaluable
7-GSM	7-GSM14	Evaluable
8-JCS	8-JCS24	Evaluable
9-JHM	9-JHM25	Evaluable
10-EGA	10-EGA25	Evaluable
11-JVS	11-JVS15 / 11-JVS24	Evaluable
12-MZS	12-MZS25	Evaluable
13-EHL	13-EHL24	Evaluable
14-IFA	14-IFA14	Evaluable
15-NMP	15-NMP15	Evaluable
16-DRG	16-DRG25	Evaluable
17-RRL	17-RRL24	Evaluable
18-CRG	18-CRG25	Evaluable
19-MIP	19-MIP25	Evaluable
20-JGS	20-JGS25	Excluido –No contesta Semana 26
21-CBL	21-CBL24	Evaluable
22-SMH	22-SMH24 / 22-SMH14.15	Evaluable
23-JRV	23-JRV14 / 23-JRV25	Evaluable
24-CIP	24-CIP25	Evaluable
25-FSH	25-FSH25	Evaluable
26-AGP	26-AGP14	Evaluable
27-MJL	27-MJL14	Evaluable
28-CMC	28-CMC25	Evaluable
29-MSJ	29-MSJ14.15 / 29-MSJ25	Excluido –Tratamiento con metotrexato
30-ACA	30-ACA14	Excluido –No contesta Semana 26
31-JGR	31-JGR15 / 31-JGR24	Evaluable
32-MRB	32-MRB24	Evaluable
33-SBG14	33-SBG14	Evaluable

Tabla 7. Pacientes admitidos y reclutados.

## 2. - EVALUACIÓN DE EFECTOS ADVERSOS

Para la evaluación de los efectos adversos del biomaterial Sil-Oss® en comparación con el biomaterial de control Bio-Oss®; se analizan los resultados registrados durante las visitas de seguimiento a los 8-10 días, 3 semanas, 6 semanas, 12 semanas y 26 semanas.

Teniendo en cuenta el protocolo presentado con anterioridad donde se estimaban los posibles valores para cada una de las variables de estudio.

Para evaluar los posibles efectos adversos de Sil-Oss® se valoró mediante examen clínico la zona afectada, y se realizó un interrogatorio al paciente con las siguientes variables:

- Dolor post-operatorio: 0-2      0: sin dolor, 1: leve, 2: fuerte.
- Fiebre: NO/ SI (temperatura máxima y duración de la fiebre).
- Inflamación:0-2              0: sin inflamación; 1: leve; 2: fuerte.
- Edema: 0-2                    0: sin edema; 1: leve; 2: abundante.
- Supuración: SI/NO.
- Pérdida del material: 0-2      0: no; 1: poco; 2: abundante.
- Cicatrización (Cierre de la herida): SI/NO.
- Exposición de la membrana: SI/NO.

Mediante el interrogatorio al paciente, se investigó la aparición de cualquier otro evento que pudiese ser atribuido al tratamiento.

En las visitas se evaluaron criterios de seguridad sistémicos (fiebre) y locales (dolor, inflamación, edema, supuración, pérdida del material, cicatrización y exposición de la membrana).

### 2.1. - Datos registrados en la retirada de la sutura 8-10 días

Código	Fiebre SI/NO	Dolor Postoper. 0,1,2	Inflamación 0,1,2	Edema 0,1,2	Supuración SI/NO	Perdida Material 0,1,2	Cicatrización SI/NO	Exposic. Membrana SI/NO
1-RMM25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
2-DMM15	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
3-IGM24	NO	1	0	0	NO	NO	SI	NO
4-EMB14	NO	1	0	0	NO	NO	SI	NO
5-JPD24	NO	1	0	0	NO	NO	SI	NO
6-LRM15	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
7-GSM14	NO	1	0	0	NO	NO	SI	NO
8-JCS24	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
9-JHM25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
10-EGA25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
11-JVS15	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
11-JVS24	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
12-MZS25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
13-EHL24	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
14-IFA14	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
15-NMP15	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
16-DRG25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
17-RRL24	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
18-CRG25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
19-MIP25	NO	0	1	0	NO	NO	SI	NO
20-JGS25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
21-CBL24	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH15.24	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
23-JRV14. 25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
24-CIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
25-FSH25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
26-AGP14	NO	1	0	0	NO	NO	SI	NO
27-MJL14	NO	1	0	0	NO	NO	SI	NO
28-CMC25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
29-MSJ14.15.25	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
30-ACA14	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
31-JGR15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
32-MRB24	NO	1	1	0	NO	NO	SI	NO
33-SBG14	NO	2	2	0	NO	NO	SI	NO

Tabla 8. Efectos adversos a los 8-10 días.

2.2 - Datos registrados en la visita de seguimiento a las 3 Semanas

Código Diente	Fiebre SI/NO	Dolor 0,1,2	Inflamación 0,1,2	Edema 0,1,2	SupuraciónSI/NO	Perdida Material 0,1,2	Cicatrización SI/NO	Exposic. Membrana SI/NO
1-RMM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
2-DMM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
3-IGM24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
4-EMB14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
5-JPD24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
6-LRM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
7-GSM14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
8-JCS24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
9-JHM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
10-EGA25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
11-JVS15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
12-MZS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
13-EHL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
14-IFA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
15-NMP15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
16-DRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
17-RRL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
18-CRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
19-MIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
20-JGS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
21-CBL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH14.15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
23-JRV14.25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
24-CIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
25-FSH25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
26-AGP14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
27-MJL14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
28-CMC25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
29-MSJ14.1525	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
30-ACA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
31-JGR15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
32-MRB24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
33-SBG14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO

Tabla 9. Efectos adversos a las 3 semanas.

### 2.3 - Datos registrados en la visita de seguimiento a las 6 Semanas

Código Diente	Fiebre SI/NO	Dolor 0,1,2	Inflamación 0,1,2	Edema 0,1,2	SupuraciónSI/NO	Perdida Material 0,1,2	Cicatrización SI/NO	Exposic. Membrana SI/NO
1-RMM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
2-DMM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
3-IGM24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
4-EMB14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
5-JPD24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
6-LRM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
7-GSM14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
8-JCS24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
9-JHM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
10-EGA25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
11-JVS15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
12-MZS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
13-EHL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
14-IFA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
15-NMP15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
16-DRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
17-RRL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
18-CRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
19-MIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
20-JGS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
21-CBL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH14.15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
23-JRV14.25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
24-CIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
25-FSH25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
26-AGP14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
27-MJL14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
28-CMC25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
29-MSJ14.1525	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
30-ACA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
31-JGR15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
32-MRB24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
33-SBG14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO

Tabla 10. Efectos adversos a las 6 semanas.

2.4 - Datos registrados en la visita de seguimiento a las 12 Semanas

Código Diente	Fiebre SI/NO	Dolor 0,1,2	Inflamación 0,1,2	Edema 0,1,2	SupuraciónSI/NO	Perdida Material 0,1,2	Cicatrización SI/NO	Exposic. Membrana SI/NO
1-RMM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
2-DMM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
3-IGM24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
4-EMB14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
5-JPD24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
6-LRM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
7-GSM14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
8-JCS24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
9-JHM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
10-EGA25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
11-JVS15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
12-MZS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
13-EHL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
14-IFA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
15-NMP15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
16-DRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
17-RRL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
18-CRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
19-MIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
20-JGS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
21-CBL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH14.15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
23-JRV14.25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
24-CIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
25-FSH25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
26-AGP14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
27-MJL14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
28-CMC25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
29-MSJ14.1525	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
30-ACA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
31-JGR15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
32-MRB24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
33-SBG14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO

Tabla 11. Efectos adversos a las 12 semanas.

## 2.5- Datos registrados en la visita de seguimiento a las 26 semanas

Código Diente	Fiebre SI/NO	Dolor 0,1,2	Inflamación 0,1,2	Edema 0,1,2	Supuración SI/NO	Perdida Material 0,1,2	Cicatrización SI/NO	Exposic. Membrana SI/NO
1-RMM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
2-DMM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
3-IGM24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
4-EMB14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
5-JPD24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
6-LRM15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
7-GSM14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
8-JCS24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
9-JHM25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
10-EGA25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
11-JVS15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
12-MZS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
13-EHL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
14-IFA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
15-NMP15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
16-DRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
17-RRL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
18-CRG25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
19-MIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
20-JGS25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
21-CBL24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
22-SMH14.15	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
23-JRV14.25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
24-CIP25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
25-FSH25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
26-AGP14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
27-MJL14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
28-CMC25	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
29-MSJ14.1525	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
30-ACA14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
31-JGR15.24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
32-MRB24	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO
33-SBG14	NO	0	0	0	NO	NO	SI	NO

Tabla 12. Efectos adversos a las 26 semanas.

2.6 - Agrupación y análisis de datos para la evaluación de efectos adversos

Una vez obtenidos todos los datos, se realiza una nueva tabla que reúne de forma global todos los resultados.

Material y visita	Fiebre SI/NO	Dolor 0, 1, 2	Inflam. 0, 1, 2	Edema 0,1,2	Supura. SI/NO	Perdida Material 0,1,2	Cicatriz. SI/NO	Exposic. Membrana SI/NO
<b>Bio-Oss 8-10 días</b>	"SI" - 0	"0" - 1	"0" - 1	"0" - 19	"SI" - 0	"0" - 19	"0" - 19	"SI" - 0
	"NO" - 13	"1" - 17	"1" - 17	"1" - 0	"NO" - 19	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 19
		"2" - 1	"2" - 1	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Sil-Oss 8-10 días</b>	"SI" - 0	"0" - 3	"0" - 6	"0" - 20	"SI" - 0	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0
	"NO" - 14	"1" - 17	"1" - 14	"1" - 0	"NO" - 20	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Bio-Oss 3 Sem</b>	"SI" - 0	"0" - 19	"0" - 19	"0" - 19	"SI" - 0	"0" - 19	"0" - 19	"SI" - 0
	"NO" - 13	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 19	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 19
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Sil-Oss 3 Sem.</b>	SI - 0	"0" - 20	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0
	NO - 14	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Bio-Oss 6 Sem.</b>	"SI" - 0	"0" - 19	"0" - 19	"0" - 19	"SI" - 0	"0" - 19	"0" - 19	"SI" - 0
	"NO" - 13	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 19	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 19
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Sil-Oss 6 Sem.</b>	SI - 0	"0" - 20	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0
	NO - 14	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Bio-Oss 12 Sem.</b>	"SI" - 0	"0" - 19	"0" - 19	"0" - 19	"SI" - 0	"0" - 19	"0" - 19	"SI" - 0
	"NO" - 13	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 19	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 19
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Sil-Oss 12 Sem.</b>	SI - 0	"0" - 20	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0
	NO - 14	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Bio-Oss 26 Sem.</b>	"SI" - 0	"0" - 17	"0" - 17	"0" - 17	"SI" - 0	"0" - 17	"0" - 17	"SI" - 0
	"NO" - 11	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 17	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 17
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	
<b>Sil-Oss 26 Sem.</b>	SI - 0	"0" - 20	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0	"0" - 20	"0" - 20	"SI" - 0
	NO - 14	"1" - 0	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20	"1" - 0	"1" - 0	"NO" - 20
		"2" - 0	"2" - 0	"2" - 0		"2" - 0	"2" - 0	

Tabla 13. Agrupación de datos por material y periodo de tiempo.

Para determinar posibles diferencias en los efectos adversos leves resultantes del uso de Bio-Oss® o Sil-Oss® se estableció un método estadístico de determinación de la X<sup>2</sup> sobre los datos obtenidos; considerando la hipótesis nula de que no hay diferencia entre el grupo tratado con Bio-Oss® y el grupo tratado con Sil-Oss®; y un intervalo de confianza superior al 0,01 (99% de probabilidad).

La siguiente Tabla (Tabla14), recoge las diferencias observadas donde “NO” indica que no hay diferencia significativa y “SI” indica que si hay diferencia. **Puede concluirse que no hay diferencia significativa en los efectos adversos leves observados en los pacientes tratados con Bio-Oss® y con Sil-Oss®.**

Visita	Fiebre SI/NO	Dolor 0, 1, 2	Inflam. 0, 1, 2	Edema 0,1,2	Supura. SI/NO	Perdida Material 0,1,2	Cicatriz. SI/NO	Exposic. Membrana SI/NO
8 - 10 Días.	NO	NO*	NO*	NO	NO	NO	NO	NO
3 Semanas.	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
6 Semanas.	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
12 Semanas.	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
26 Semanas.	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO

Tabla 14. Diferencias observadas.

**\*Detalle del tratamiento estadístico a los 8-10 días en aquellos indicadores que presentan mayores diferencias en los datos observados.**

DOLOR	Bio- Oss®	Sil- Oss®	Total "n"	Eb	Es	O-Eb	O-Es	O- Es2/Es	O- Eb2/Eb	X2
"0"	1	3	4	1,949	2,051	-0,949	0,949	0,462	0,439	<b>1,9757</b>
"1"	17	17	34	16,564	17,436	0,436	-0,436	0,011	0,011	
"2"	1	0	1	0,487	0,513	0,513	- 0,513	0,540	0,513	
Total	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>39</b>					1,013	0,963	
<b>NO DIFERENCIA P &gt; 99%</b>										

Tabla 15. Análisis estadístico para “Dolor” en ambos grupos.

INFLAM.	Bio-Oss®	Sil-Oss®	Total "n"	Eb	Es	O-Eb	O-Es	O-Es2/Es	O-Eb2/Eb	X2
"0"	1	6	7	3,410	3,590	-2,410	2,410	1,703	1,618	4,8392
"1"	17	14	31	15,103	15,897	1,897	-1,897	0,238	0,226	
"2"	1	0	1	0,487	0,513	0,513	-0,513	0,540	0,513	
Total	19	20	39					2,482	2,358	
<b>NO DIFERENCIA P &gt; 99%</b>										

Tabla 16. Análisis estadístico para "Inflamación" en ambos grupos.

En ambos grupos de tratamiento; Bio-Oss® y Sil-Oss® presentaron efectos adversos leves, y ninguno efectos graves.

### 3. - EVALUACIÓN DEL VOLUMEN CRESTAL

La estimación de volumen del lugar regenerado se realiza mediante la comparación de las Medidas Intraoperatorias realizadas inmediatamente tras la exodoncia (Tabla 17 M.I día 0) y en la semana 26 (Tabla 18 M.I semana 26). Tres pacientes descontinuaron el estudio tras la visita de seguridad de las 12 semanas.

#### 3.1 Mediciones registradas en la visita 0. Acto quirúrgico

Código Diente	Ancho	Tabla Ósea		Diámetro Alveolo		Altura Cresta-Cemento		Profundidades			
	B-P	B-BW	P-BW	M-Da	M-Dd	Mbh	Dbh	Pf.B	Pf.P	Pf.M	Pf.D
1-RMM25	10,0	1	-	4	7	6	2	10	11	11	12
2-DMM15	7,0	1	1	5	17	-	4	11	9	11	13
3-IGM24	7,0	1	1,5	7	8	3	6	11	13	14	10
4-EMB14	9,0	0,5	1	6	9	1	2	14	14	15	13
5-JPD24	6,0	1	2	4	11	4	6	6	4	6	4
6-LRM15	9,0	1	2	5	8	4	5	8	5	8	7
7-GSM14	11,0	2	2	4	9	9	7	M7, 9 dis7	M9 p8 d9	-	-
8-JCS24	6,0	1	-	4	11	6	6	11	10	11	11
9-JHM25	8,0	1,5	1	4	7	4	4	11	10	12	12
10-EGA25	9,0	3	1	5	libre	4	-	11	10	9	9
11-JVS15	B5;P4	2	1	B5;P6	17	5	4	B4;P9	B6;P9	B3;P11	B6;P9(Sept3)
11-JVS24	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M
12-MZS25	7,0	1	1,5	3	9	4	6	14	15	15	14
13-EHL24	9,0	1	1,5	7	15	6	6	6	14	15	15

Código Diente	Ancho	Tabla Ósea		Diámetro Alveolo		Altura Cresta-Cemento		Profundidades			
	B-P	B-BW	P-BW	M-Da	M-Dd	Mbh	Dbh	Pf.B	Pf.P	Pf.M	Pf.D
14-IFA14	9,0	1	1,5	6	-	9	-	2	13	12	9
15-NMP15	9,0	1,5	0,5	6	17	3	2	6	7	6	11
16-DRG25	9,0	2	1	6	7	6	6	14	15	15	14
17-RRL24	8,0	-	1	6	9	5	6	4	8	10	7
18-CRG25	9,0	1	1	5	23	x	9	12	12	16	15
19-MIP25	9,0	1	1,5	4	libre	4	x	14	12	13	13
20-JGS25	11,0	2	2	5	9	4	4	15	15	14	15
21-CBL24	11,0	0,5	1	6	13	4	4	12	8	15	BD7;PD15
22-SMH24	9,0	1	1	5	9	4	4	14	14	14	15
22-SMH14.15	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M
23-JRV14	11,0	1,5	0,5	4	libre	7	NoDist.	10	8	10	7
23-JRV25	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M
24-CIP25	8,0	1,5	1	7	10	7	3	15	16	12	17
25-FSH25	9,0	0,5	0,5	9	libre	3	NoDist.	15	13	14	15
26-AGP14	10,0	1	0,5	8	11	5	4	11	8	11	10
27-MJL14	9,0	1,5	2	4	13	3	4	13	8	11	10
28-CMC25	9,0	1	1	6	11	6	4	13	16	14	16
29-MSJ14.15	6/5	1/0,5	0,5/1	4/6	16/No	4/No	No/7	10/9	9/10	9/10	11/9
29-MSJ25	5,0	1	1	7	8	5	7	7	7	6	6
30-ACA14	9,0	0,5	1	5	14	4	4	14	13	13	14
30-ACA25	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M	S.M
31-JGR15	8,0	1	2	4	NoDist	3	No	11	9	12	11
31-JGR24	7,0	1	0,5	4	NoMes	No	4	11	11	11	12
32-MRB24	5	-	1	5	9	4	5	8	9	9	9
33-SBG14	11,0	0,5	0,5	6	16*	4	5	11	10	11	10

Tabla 17. Medidas intraoperatorias. Semana 0.

### 3.2- Mediciones registradas en la visita 26. Acto quirúrgico

Código Diente	Ancho Cresta (B-P)	Altura a nacimiento dientes (h)	Distancia entre Dientes (Dd)	Altura cresta cemento	
				Distal	Mesial
1-RMM25	6	1	9	7	2
2-DMM15	8	4	X	6	4
3-IGM24	8	3 (+2 blando)	10	7	6
4-EMB14	9	2 (+3 blando y duro a 7mm)	10	3	3

Código Diente	Ancho Cresta (B-P)	Altura a nacimiento dientes (h)	Distancia entre Dientes (Dd)	Altura cresta cemento	
				Distal	Mesial
5-JPD24	5	0 (+3 blando abajo muy duro)	11	4	7
6-LRM15	9	0	X	X	2
7-GSM14	8	1	10	7	8
8-JCS24	6	1	9	7	2
9-JHM25-2	17	6	x	-2	1
10-EGA25	0	x	5	x	0
11-JVS15	-5	x	7	x	-5
11-JVS24	-2	18	7	7	-2
12-MZS25	-3	10	4	5	-3
13-EHL24	-4	15	6	6	-4
14-IFA14	-2	x	4	x	-2
15-NMP15	+1	18	4	4	1
16-DRG25	-1	6	5	8	-1
17-RRL24	0	8	6	6	0
18-CRG25	+1	24	x	9	1
19-MIP25	-3	x	6	x	-3
20-JGS25	-	-	-	-	-
21-CBL24		1	1	3	3
22-SMH24	-4	11	5	4	-4
22-SMH14.15	+2	17	8	8	2
23-JRV14	3	x	6	x	3
23-JRV25	2	x	6	x	2
24-CIP25	3	11	4	4	3
25-FSH25	3	x	4	x	3
26-AGP14	2	11	4	3	2
27-MJL14	3	10	5	4	3
28-CMC25	3	7	6	3	3
29-MSJ14.15 / 25	-	-	-	-	-
30-ACA14	-	-	-	-	-
31-JGR15	0	x	3	x	0
31-JGR24	0	x	4	x	0
32-MRB24	2	8	3	5	2
33-SBG14	0	16	6	7	0

Tabla 18. Medidas intraoperatorias. Semana 26.

### 3.3 - Agrupación de las medidas intraoperatorias obtenidas

A continuación, se recogen las medidas obtenidas (semana 0 y semana 26), haciéndose un cálculo medio con el fin de obtener dos nuevos datos: variación de anchura y variación de altura (Tabla 19).

Código Diente	Variación Ancho		Variación Alto		Comentarios
	Bio-Oss®	Sil-Oss®	Bio-Oss®	Sil-Oss®	
1-RMM25	-4,0		-0,5		
2-DMM15	+1,0		-1		
3-IGM24		+1,0		-2	
4-EMB14		0,0		-1,5	
5-JPD24		-1,0		-0,5	
6-LRM15		0,0		2,5	
7-GSM14	-3,0		0,5		
8-JCS24	0,0		-0,5		
9-JHM25		-2		-2	
10-EGA25	0,0		-1		
11-JVS15					No tomadas medidas
11-JVS24			-2		
12-MZS25		2		0,5	
13-EHL24	-1		0		
14-IFA14	0		5		
15-NMP15				-1,5	
16-DRG25		-2		-0,5	
17-RRL24	-1,0		-0,5		
18-CRG25		-2		0	
19-MIP25		-2		-2	
21-CBL24		-4		1	
22-SMH24	-3,0		-0,5		
22-SMH14.15		6		0	
23-JRV14	-4,0		1		
23-JRV25					No tomadas medidas
24-CIP25		1		1	
25-FSH25	0		-1		
26-AGP14		-3		1	
27-MJL14		-2		-1	

Código Diente	Variación Ancho		Variación Alto		Comentarios
	Bio-Oss®	Sil-Oss®	Bio-Oss®	Sil-Oss®	
28-CMC25	0,0		0,5		
31-JGR15	-2,0		0		
31-JGR24		-2		0	
32-MRB24	2,0		0,5		
33-SBG14	-2,0		-2		

Tabla 19. Agrupación de medidas.

Para el cálculo de “Variación de Altura” se restan la media de altura de la cresta al nacimiento de dientes adyacentes en el momento de la exodoncia, y la misma medida sobre el mismo paciente en la Semana 26. Los valores negativos reflejan pérdida de altura.

Para el cálculo de “Variación de Ancho” se restan la media de altura de la cresta al nacimiento de dientes adyacentes en el momento de la exodoncia, y la misma medida en la semana 26. Los valores negativos reflejan pérdida de anchura.

### 3.4 - Análisis estadístico de variación de anchura y variación de altura

El análisis estadístico mediante el *Student t-test* indica que **no hay diferencia significativa** ni en la variación de altura ni en la variación de ancho de la cresta en el lugar regenerado entre el grupo control tratado con Bio-Oss® y el grupo tratado con Sil-Oss®, tal y como muestra la tabla (Tabla 20).

	Variación Ancho		Variación Altura	
	Bio-Oss	Sil-Oss	Bio-Oss	Sil-Oss
<b>n</b>	13	14	16	16
<b>Media</b>	-0,88	-0,57	-0,125	-0,312
<b>Desv. Std</b>	2,14	2,53	1,65	1,31
<b>Varianza</b>	4,589	6,417	2,716	1,729
	T Stat: -0,345 P two-tail: 0,732 t Critica (α 0,05): 2,059 tStat < tCritical NO DIFFERENCE		t Stat: 0,356 P two-tail: 0,724 t Critica two-tail (α 0,05): 2,042 tStat < tCritical NO DIFERENCIA 95% Conf.	

Tabla 20. Análisis estadístico para la variación de anchura y variación de altura de las medidas intraoperatorias obtenidas la semana 0 y semana 26.

## 4. - EVALUACIÓN TOMOGRÁFICA

### 4.1 - Densidad de alveolos tratados con Bio-Oss®

Código Diente	BIO-OSS® (HU)		REFERENCIA (HU)		DIFERENCIA (HU)
	Media	STD	Media	STD	
8-JCS24	1198,5	268	450,5	281,5	748
10-EGA25	1194,5	220,5	575	336	619,5
11-JVS25	776	245	415	299,5	361
13-EHL24	1102,8	251,3	433	287,5	669,8
14-IFA14	1463,8	131,6	766,5	232,5	697,3
17-RRL24	1168	192,5	433,5	246	734,5
22-SMH24	1335,8	386	566	274	769,8
23-JRV14	1022,5	230,3	372	284	650,5
25-FSH25	1559,3	199,3	126	195	1433,3
28-CMC25	983	420,5	450	347,5	533
31-JGR15	1390,8	217	308,5	267,5	1082,3
32-MRB24	1014,5	295,3	768	366,5	246,5
33-SBG14	1151,8	328,5	920,5	437	231,3
<b>MEDIA</b>	<b>1181,6</b>		<b>506,5</b>		<b>675,1</b>
<b>STD</b>	<b>215</b>		<b>212,7</b>		<b>324,3</b>

Tabla 21. Diferencia de densidad (HU). Alveolos tratados con Bio-Oss®.

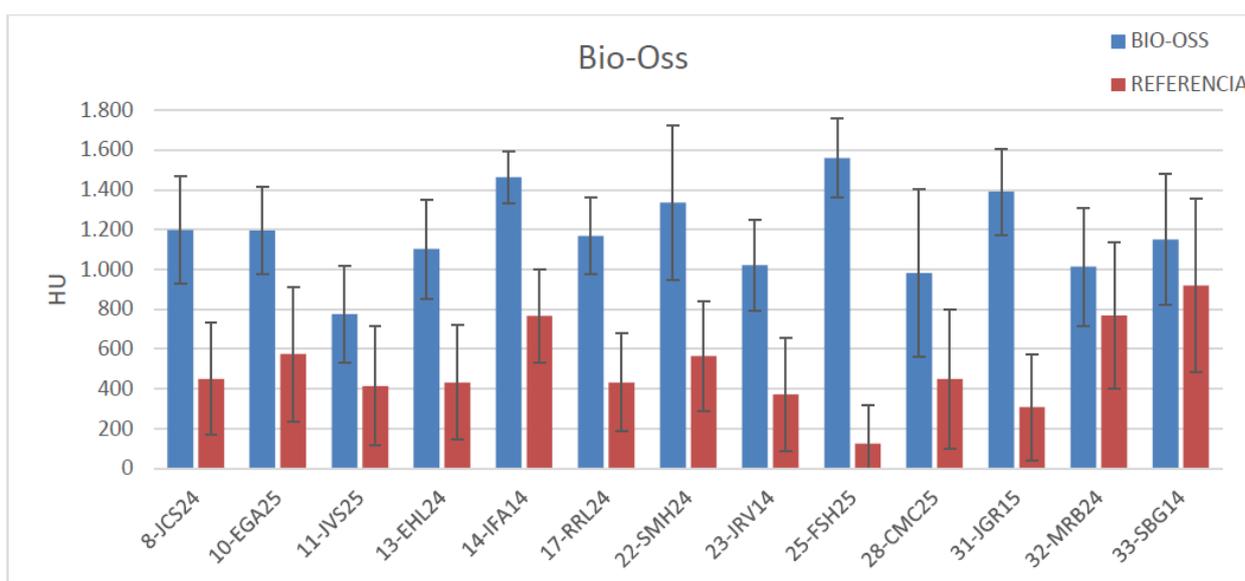


Fig.49. Diferencia de densidad (HU). Alveolos tratados con Bio-Oss®.

4.2 - Densidad de alveolos tratados con Sil-Oss®

Código Diente	SIL-OSS® (HU)		REFERENCIA (HU)		DIFERENCIA (HU)
	Media	STD	Media	STD	
9-JHM25	912,5	126,5	636,5	268,5	276
11-JVS15	731,5	263	415	299,5	316,5
12-MZS25	866,3	218,3	593,5	321,5	272,8
15-NMP15	910,8	194	361	362,5	549,8
16-DRG25	803,5	225,5	358	219	445,5
18-CRG25	893,3	231,8	148	173	745,3
19-MIP25	883,8	167,5	205	251,5	678,8
21-CBL24	629,5	334,8	362	199,5	267,5
22-SMH14.15	1013,3	234,3	436,5	185	576,8
23-JRV25	600,5	260	594	233,5	6,5
24-CIP25	773,8	212	419	226,5	354,8
26-AGP14	460	217,5	526,5	235	-66,5
27-MJL14	722	264,5	256	306,5	466
<b>MEDIA</b>	<b>784,7</b>		<b>408,5</b>		<b>376,1</b>
<b>STD</b>	<b>153,7</b>		<b>151,4</b>		<b>238,1</b>

Tabla 22. Diferencia de densidad (HU). Alveolos tratados con Sil-Oss®.

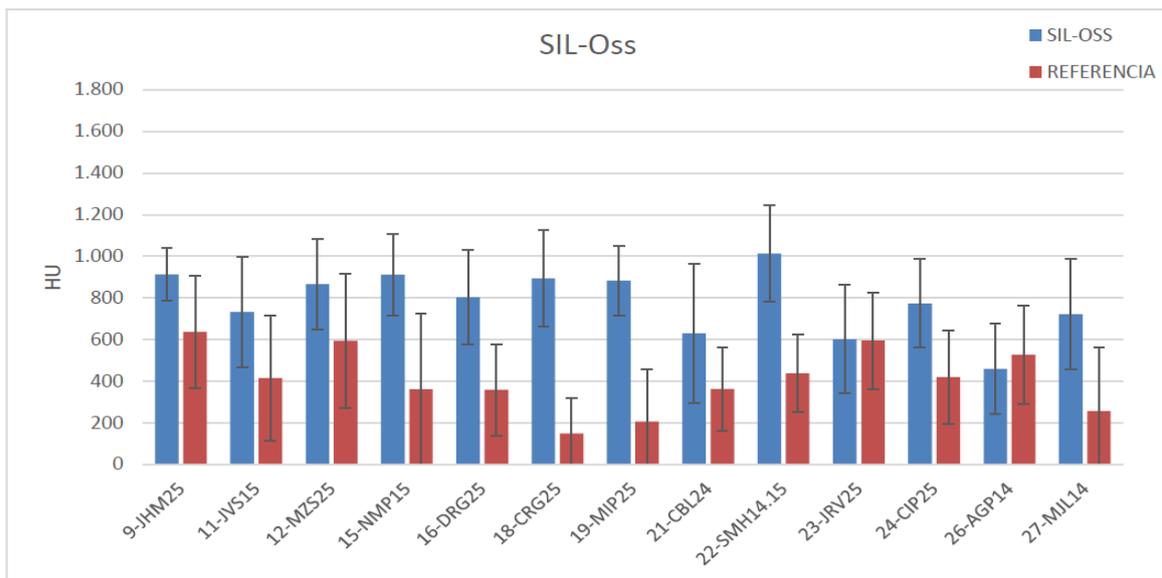


Fig.50. Diferencia de densidad (HU). Alveolos tratados con Sil-Oss®.

Las gráficas anteriores representan la densidad ósea media en Housfield (HU) de los lugares regenerados:  $MEDIA\ ALVEOLO\ REGENERADO = (Cc+Cm+Ca+Co)/4$ ; y de sus correspondientes medidas de referencia:  $MEDIA\ DE\ REFERENCIA = (Cra+CRc)/2$ .

El diagrama de Whisker (Figura 51) indica la mediana (dentro de las cajas) +/- ; el primer y tercer cuartil (límites de las cajas) y las barras de error representado el valor mínimo y máximo. Los valores representan la diferencia en HU respecto al hueso propio tomado como referencia (valor cero) representado por la línea discontinua.

Pude apreciarse que los lugares regenerados con Bio-Oss® tienen una densidad media apreciablemente mayor que el hueso nativo adyacente; y que el hueso regenerado con Sil-Oss®. A la vista de extensa bibliografía sobre Bio-Oss® indicando alta opacidad y escasa reabsorción de Bio-Oss® cabe interpretar la mayor densidad observada para los lugares regenerado con Bio-Oss® como consecuencia de material no reabsorbido.

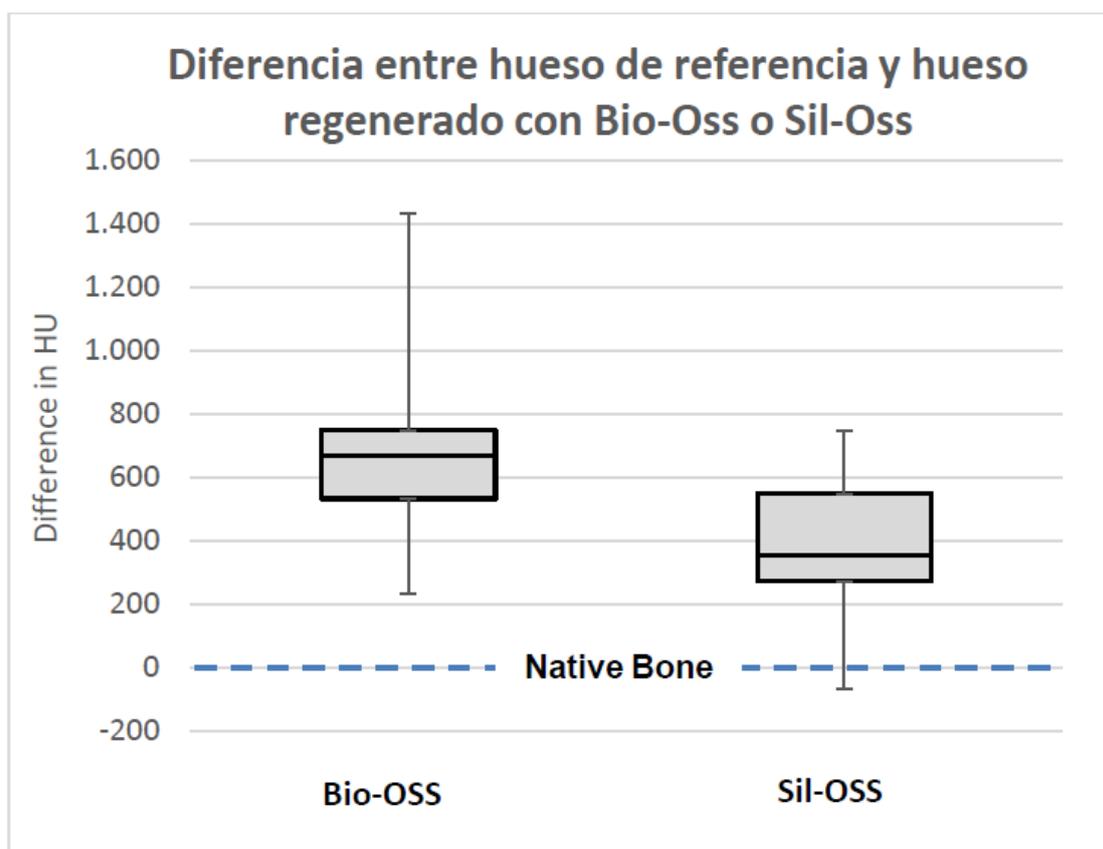


Fig.51. Diagrama de Whisker para la diferencia de densidad (HU).

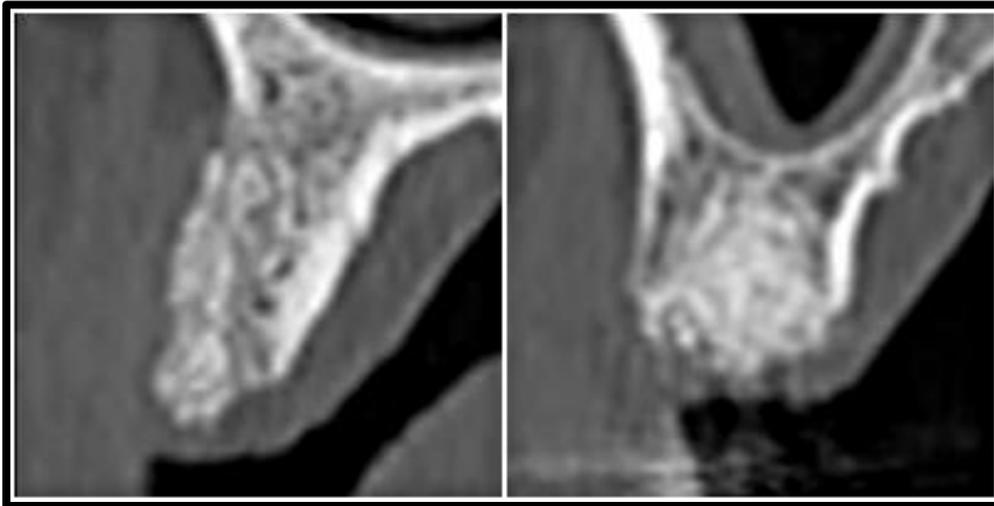


Fig.52. Diferencia de densidad observada en el TAC.

4.3 - Análisis estadístico de la diferencia de densidad (HU), entre Bio-Oss® y Sil-Oss®

El análisis estadístico mediante el *Student t-test* indica que **si hay diferencia** significativa, con un intervalo de confianza >95%, entre las diferencias de densidad ósea (tratado vs referencia) en los lugares regenerados con Bio-Oss® y los lugares regenerados con Sil-Oss® (Tabla 23).

**t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances**

	Variable 1	Variable 2
Mean	675,1153846	376,1154
Variance	105177,6418	56682
Observations	13	13
Pooled Variance	80929,81891	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	24	
t Stat	2,679622294	
P(T<=t) two-tail	0,013104009	
t Critical two-tail	2,063898562	

tStat > t Critical para un IC de 95% indicando diferencia

Tabla 23. Análisis estadístico de la diferencia de densidad.

## 5. - EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

### Biopsia 1-RMM-25

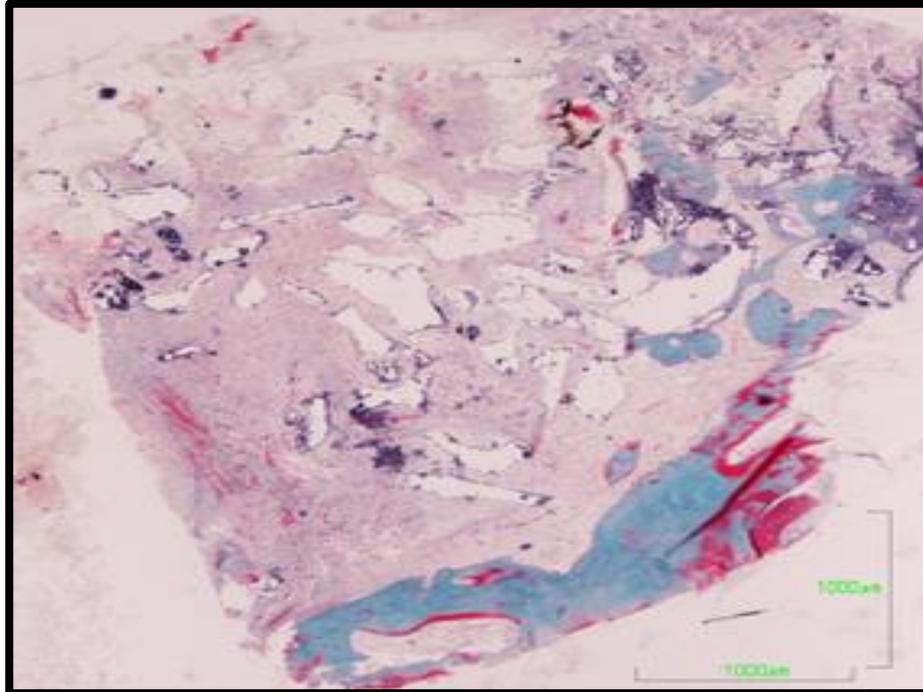


Fig.53. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

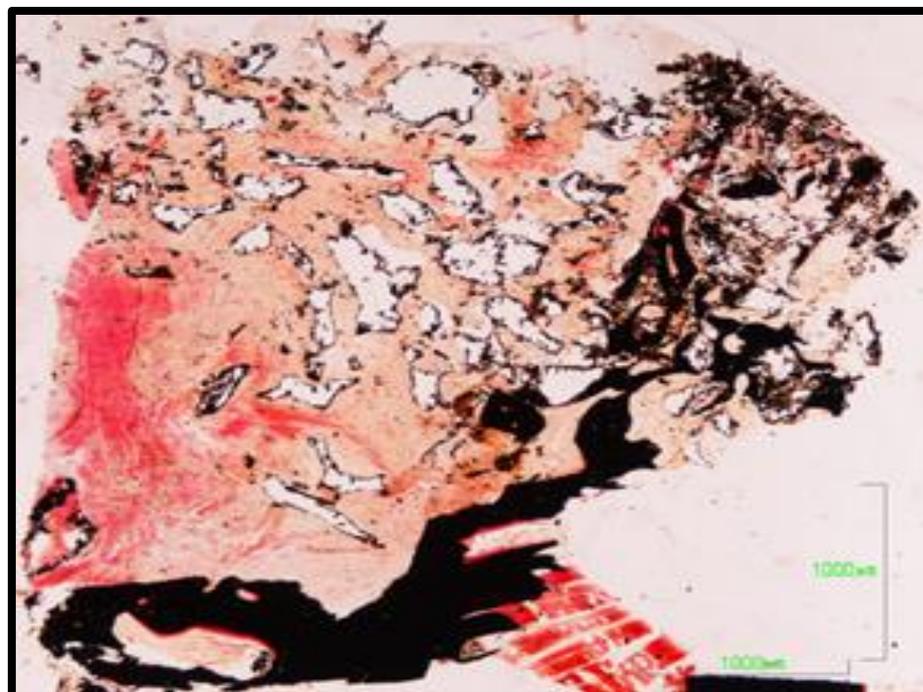


Fig.54. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Superficie: tejido conectivo vascularizado. Restos de Bio-Oss® no osteointegrados. Profunda: Hueso trabecular poco activo con canales vasculares.

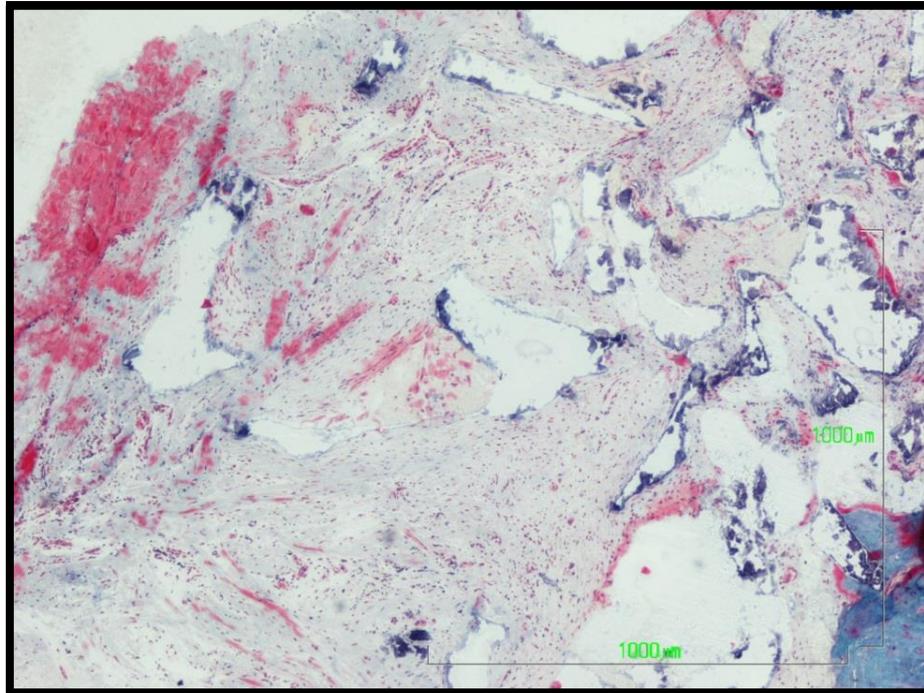


Fig.55. Tricrómico de Goldner. 4x. Zona Sup: restos de Bio-Oss® no osteointegrados rodeados de tejido conectivo vascularizado.

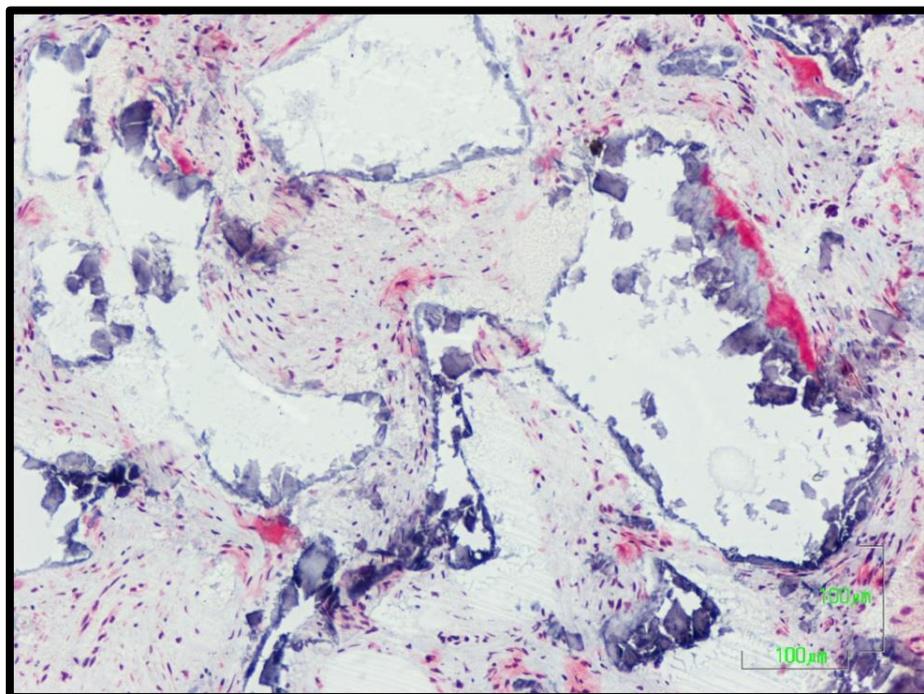


Fig.56. Tricrómico de Goldner. 10x. En la superficie de alguna partícula se aprecia un depósito de osteoide, pero es muy escaso.

Biopsia 2-DMM-15

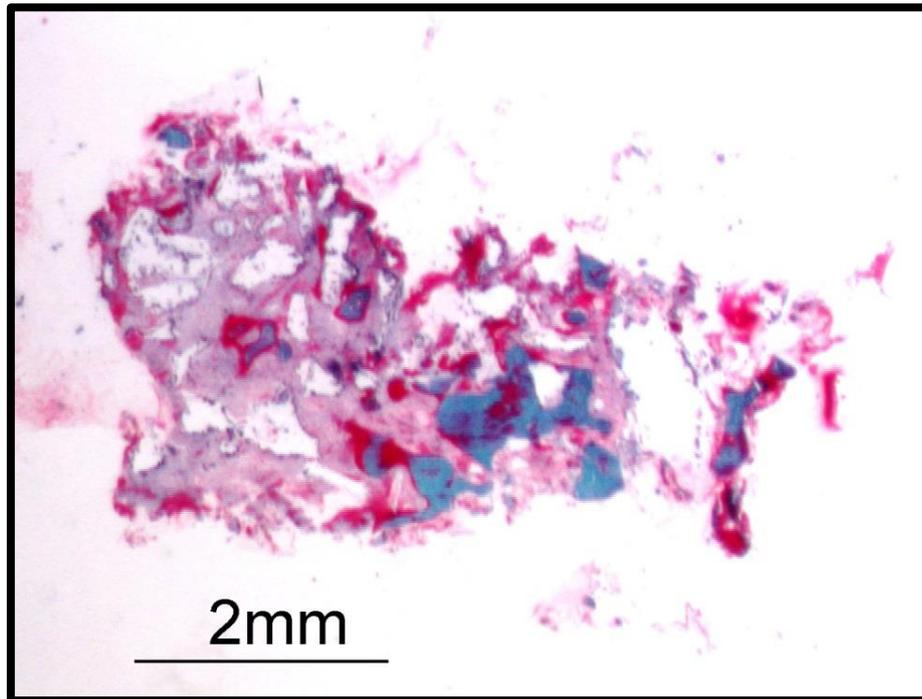


Fig.57. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

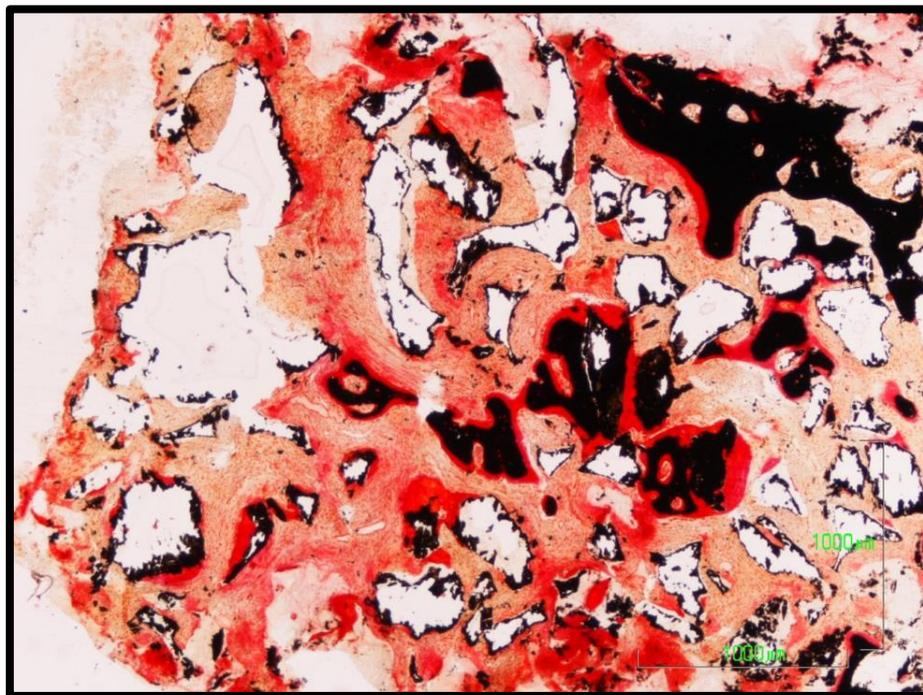


Fig.58. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Z. Sup: Tejido conectivo con partículas no osteointegradas de Bio-Oss®. Espículas óseas inmaduras, grandes zonas no mineralizadas y rebordes con un grueso osteoide. Z. Prof: Trabéculas inmaduras.

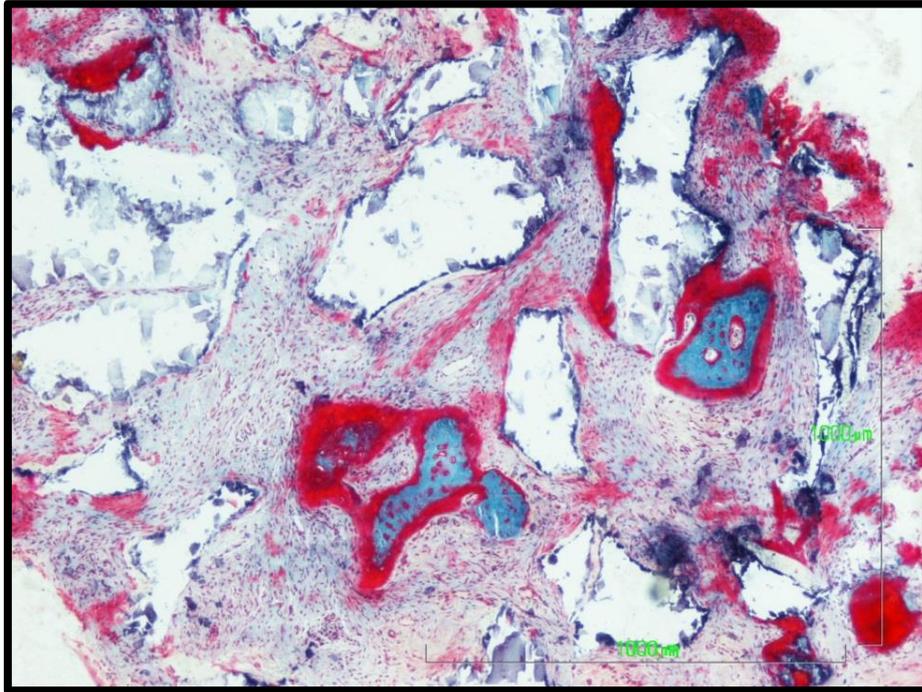


Fig.59. Tricrómico de Goldner. 4x. Tejido conectivo, con numerosos restos de Bio-Oss® no osteointegrados. Espículas óseas inmaduras: osteocitos en lagunas inmaduras, gruesas líneas de osteoide y zonas no mineralizadas.

#### Biopsia 3-IGM-24

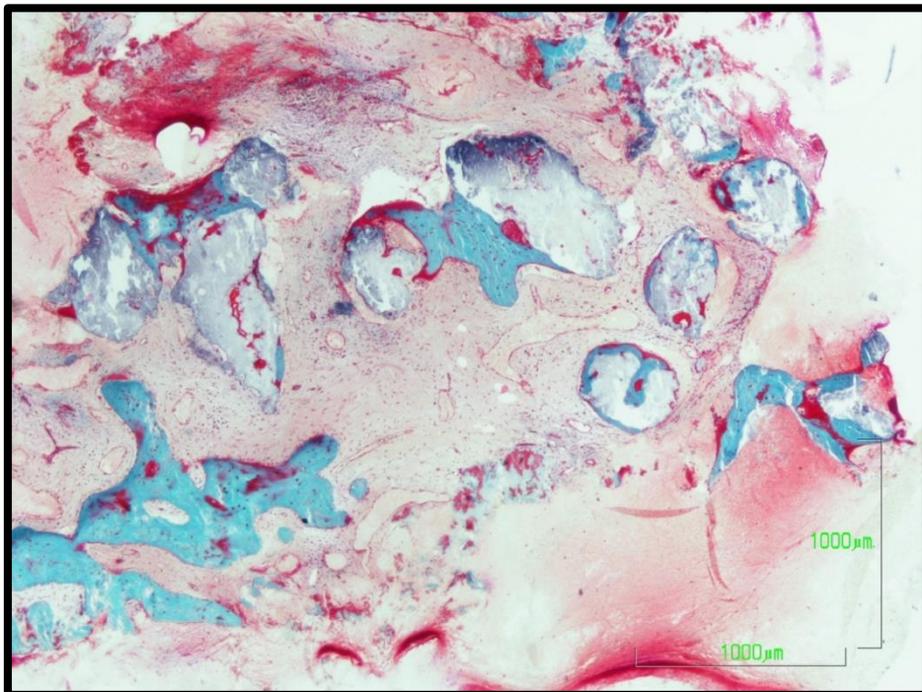


Fig.60. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.



Fig.61. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Tejido conectivo con vasos de grandes luces. Hueso neoformado: trabéculas inmaduras primarias, con distribución heterogénea de osteocitos. Zonas óseas no mineralizadas. Osteointegración de restos de Sil-Oss®. En las partículas de material encontramos centros de osificación.

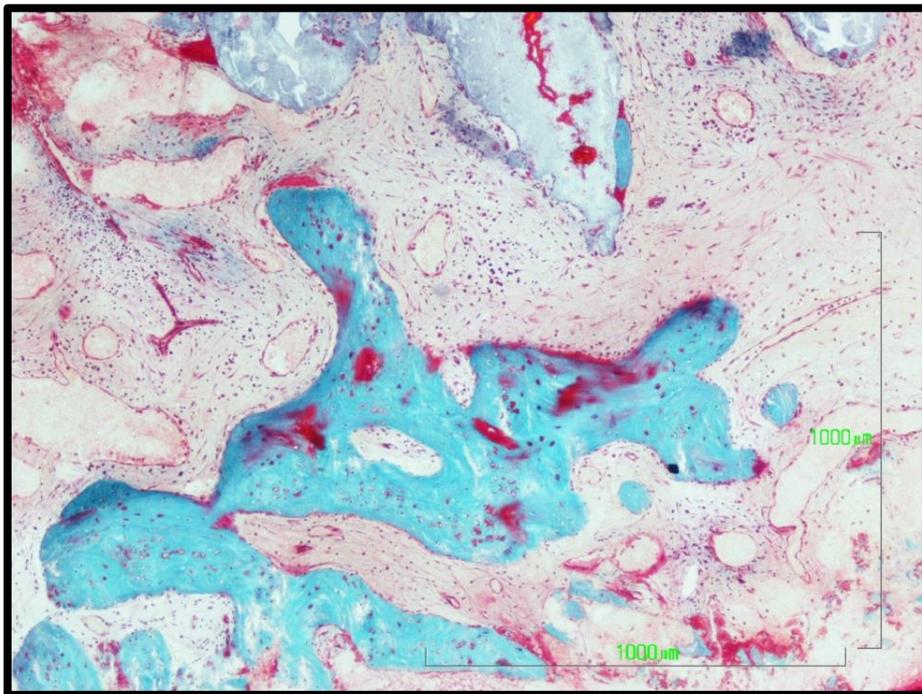


Fig.62. Tricrómico de Goldner. 4x. Hueso primario neoformado. Osteocitos desordenados en lagunas no mineralizadas.

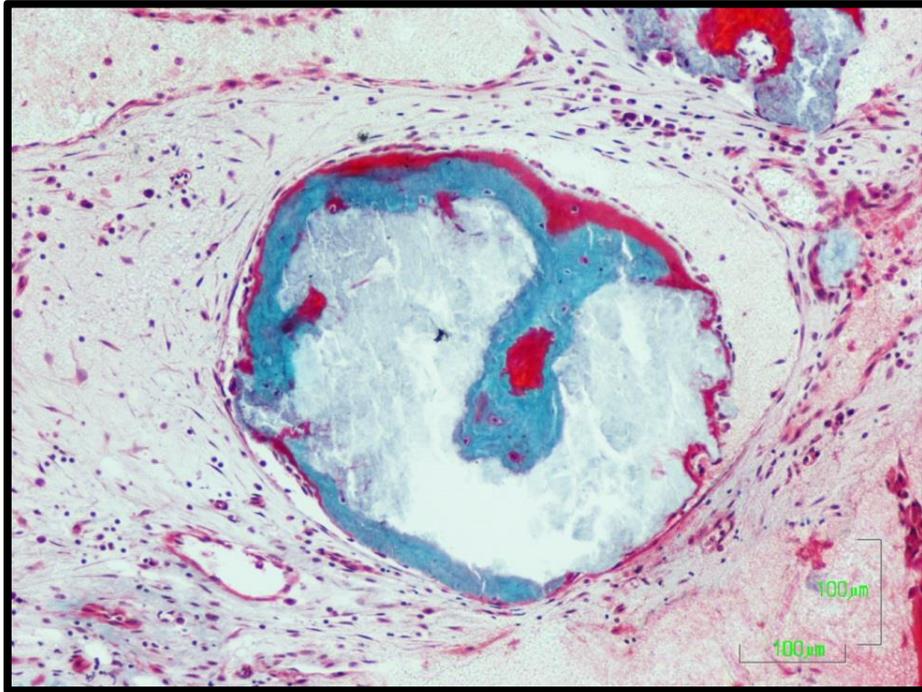


Fig.63. Tricrómico de Goldner. 10x. Restos de material con procesos de osificación. Formación de hueso, invasión celular, zonas no mineralizadas y frentes osteoblásticos con osteoide sobre la superficie del material. Tejido conectivo vascularizado.

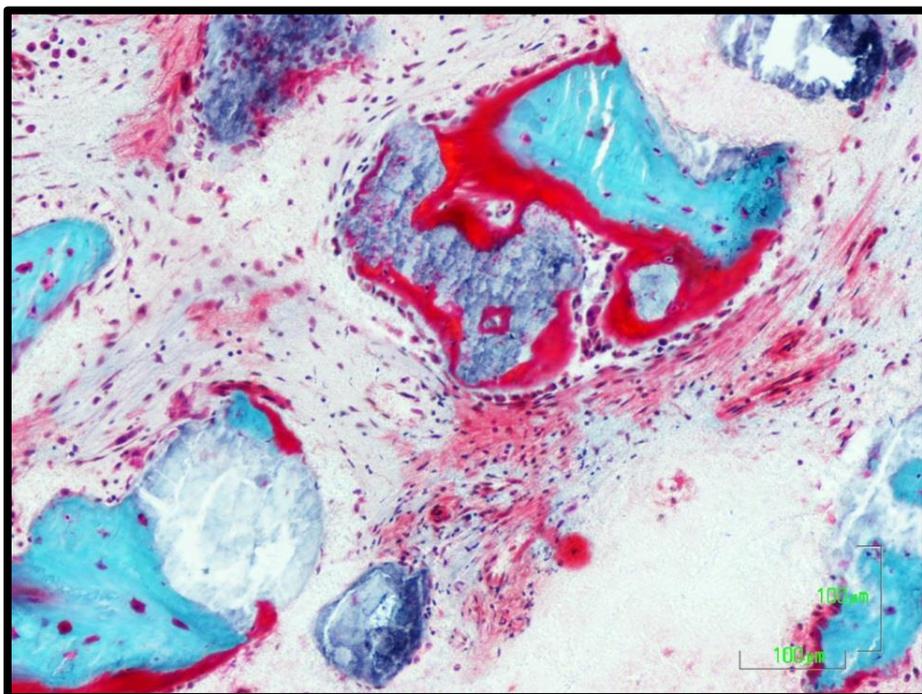


Fig.64. Tricrómico de Goldner. 10x. Osteointegración de material en espícula ósea neoformada. Gruesas líneas de osteoide. Rodeado por tejido conectivo.

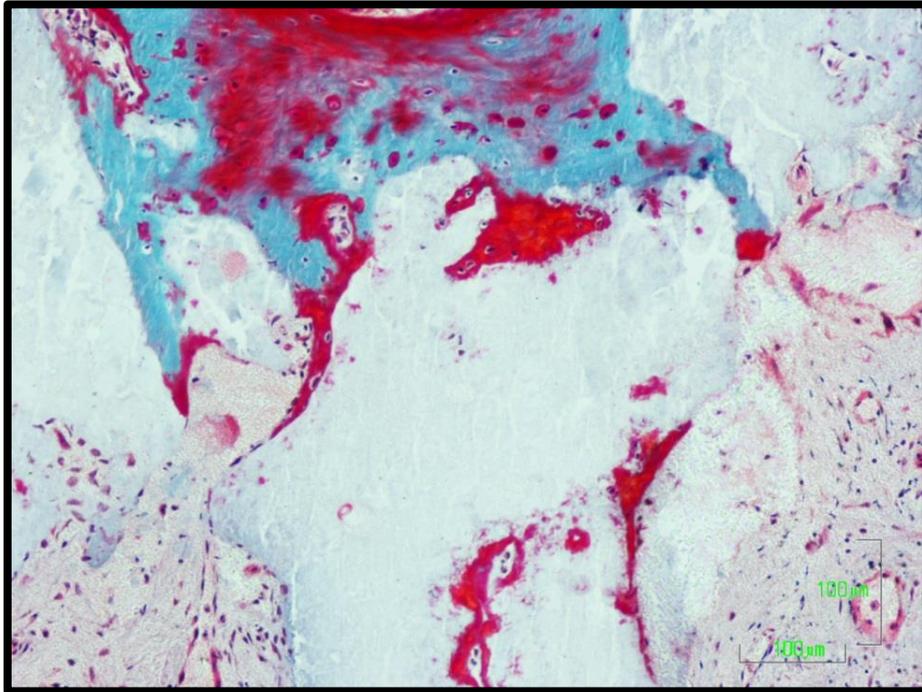


Fig.65. Tricrómico de Goldner. 10x. Material osteointegrado en hueso primario. Osteocitos inmaduros, zonas de hueso no mineralizadas. Zonas de osificación en la partícula de material.

#### Biopsia 4-EMB-14

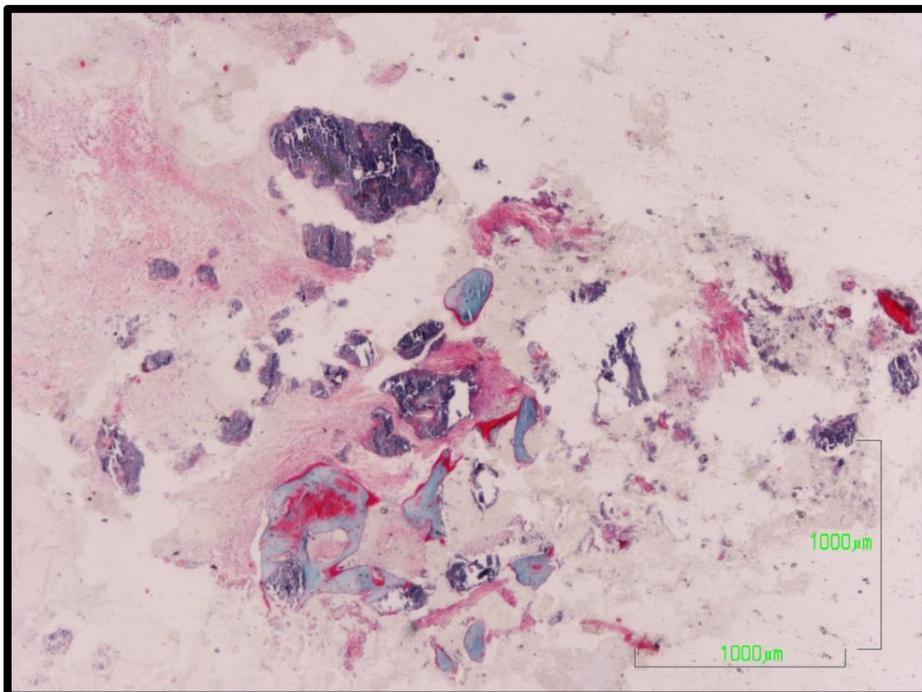


Fig.66. Tricrómico de Goldner. 2x. Panorámica. Predominio de tejido conectivo con escasos restos de material Sil-Oss® no osteointegrado. En una zona aparece alguna espícula ósea con algo de material osteointegrado.

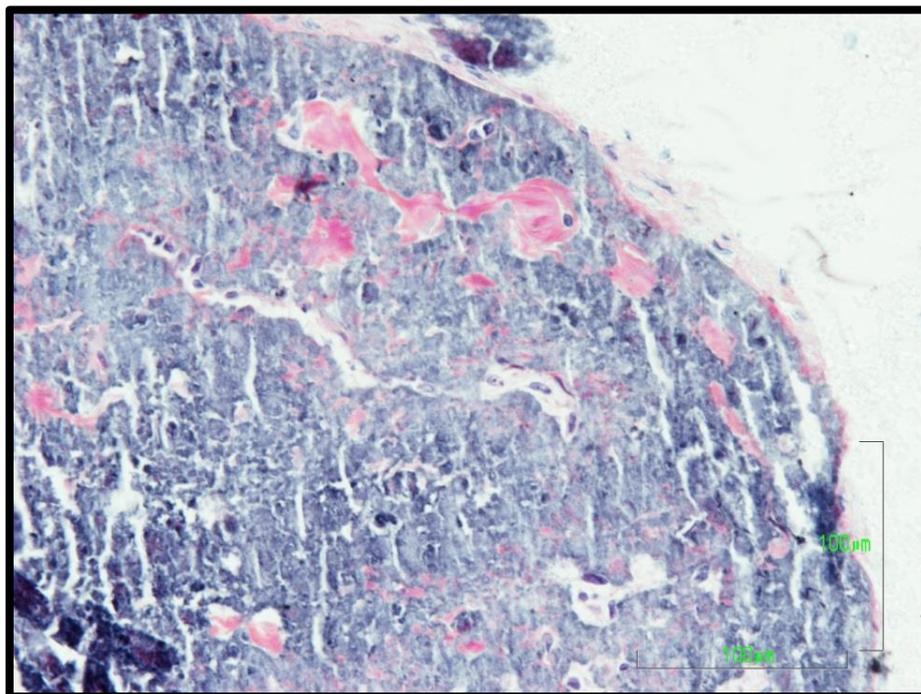


Fig.67. Tricrómico de Goldner. 20x. Colonización celular en partícula de material.

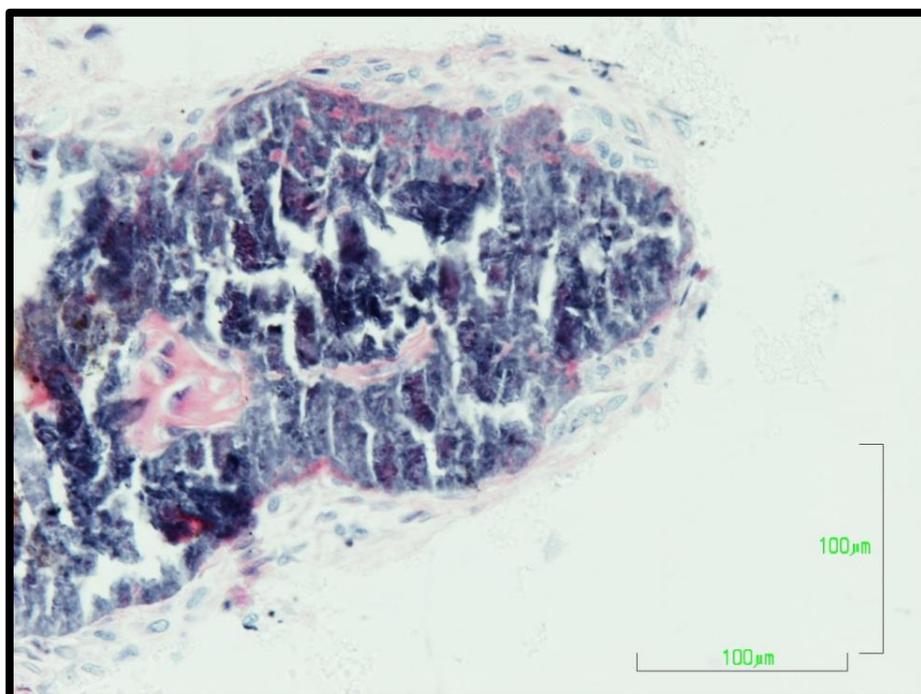


Fig.68. Tricrómico de Goldner. 20x. Colonización celular en partícula de material.

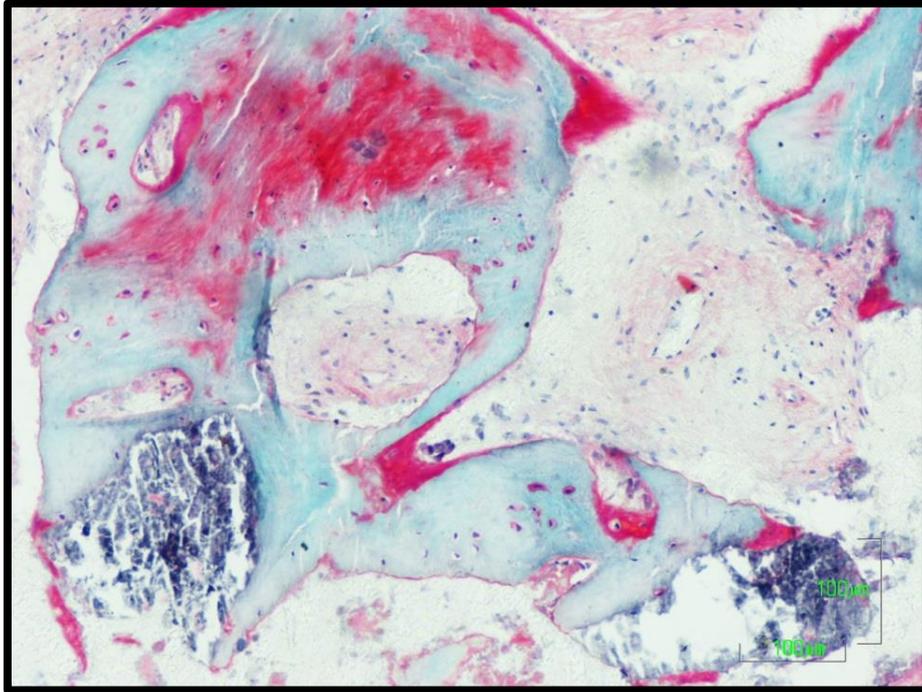


Fig.69. Tricrómico de Goldner. 10x. Osteointegración material en trabécula ósea inmadura, zonas desmineralizadas y osteocitos inmaduros.

#### Biopsia 5-JPD-24

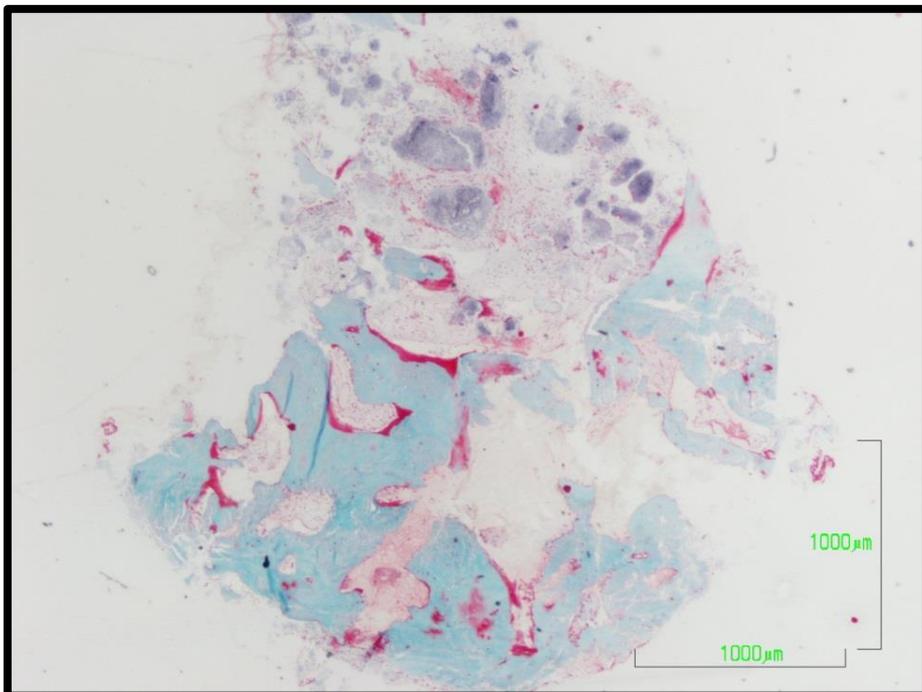


Fig.70. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

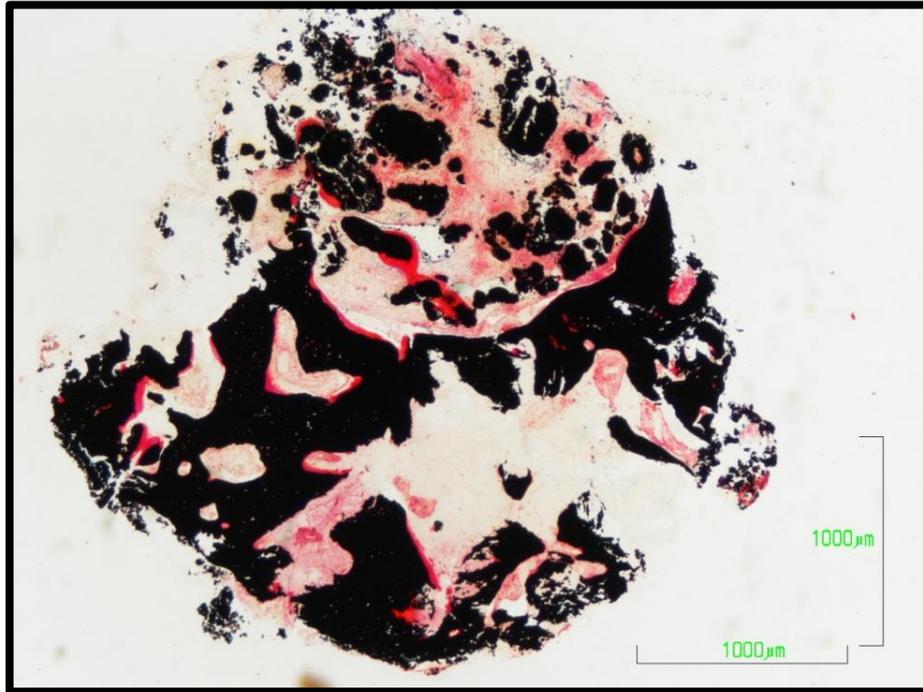


Fig.71. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Zona donde predomina la formación de tejido conectivo con restos de material Sil-Oss® no osteointegrados, pero que muestran centros de osificación. Hueso trabecular muestra frentes osteoblásticos con líneas de osteoide y material osteointegrado.

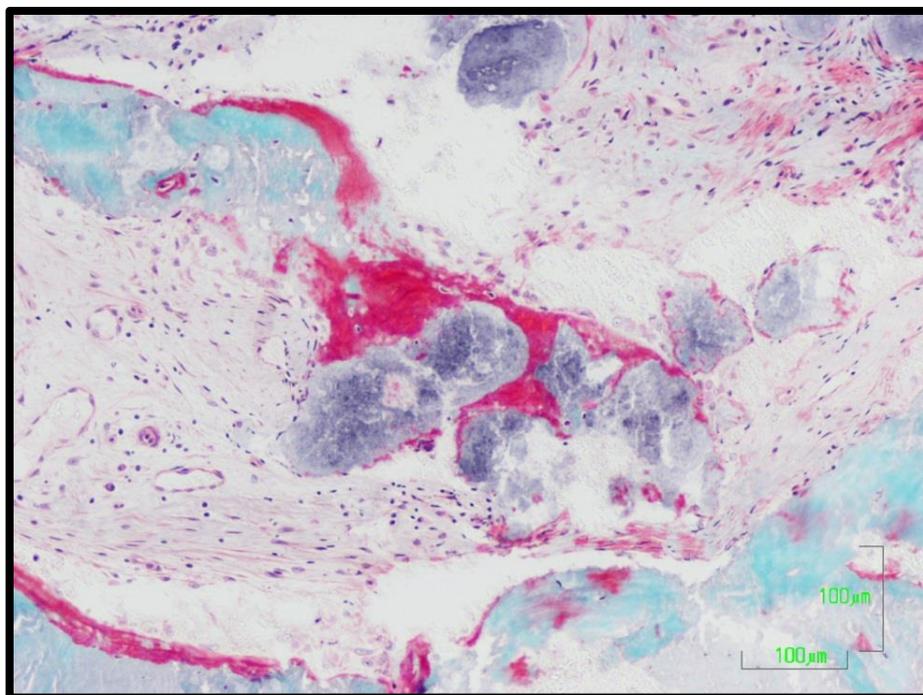


Fig.72. Tricrómico de Goldner. 10x. Proceso de osificación en las partículas de material osteointegrado.

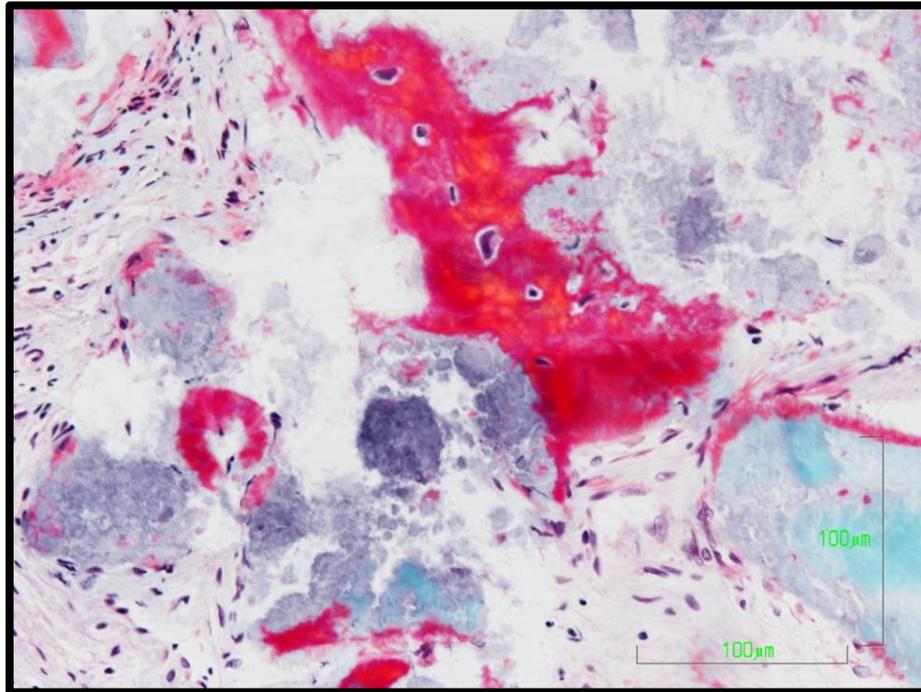


Fig.73. Tricrómico de Goldner. 20x. Depósitos de matriz orgánica sobre restos de material. Presencia de celularidad en la matriz ósea.

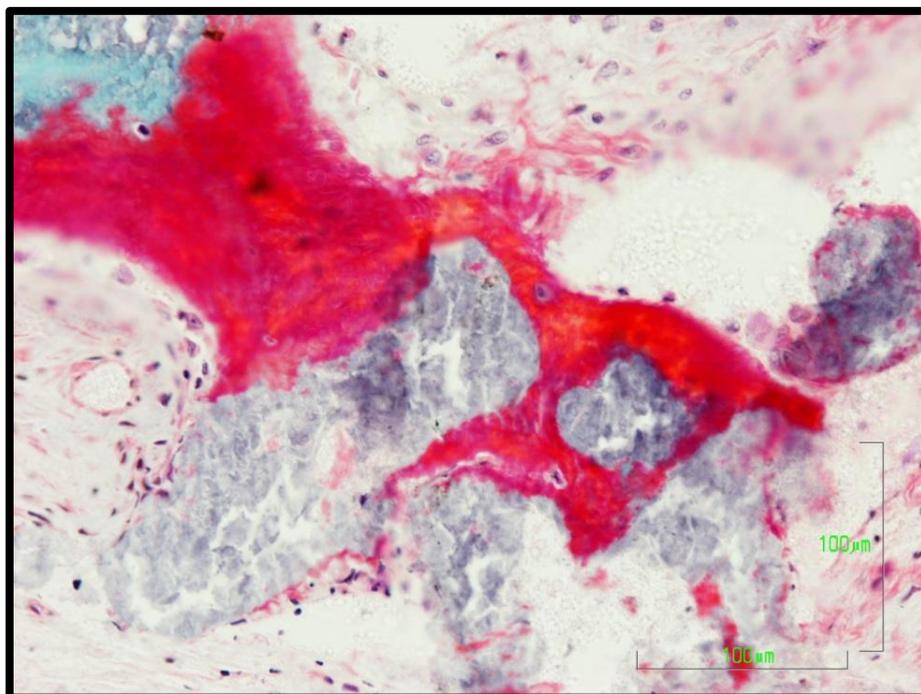


Fig.74. Tricrómico de Goldner. 20x. Depósito de matriz orgánica ósea sobre partícula de Sil-Oss® osteointegrada. Existe celularidad en la matriz.

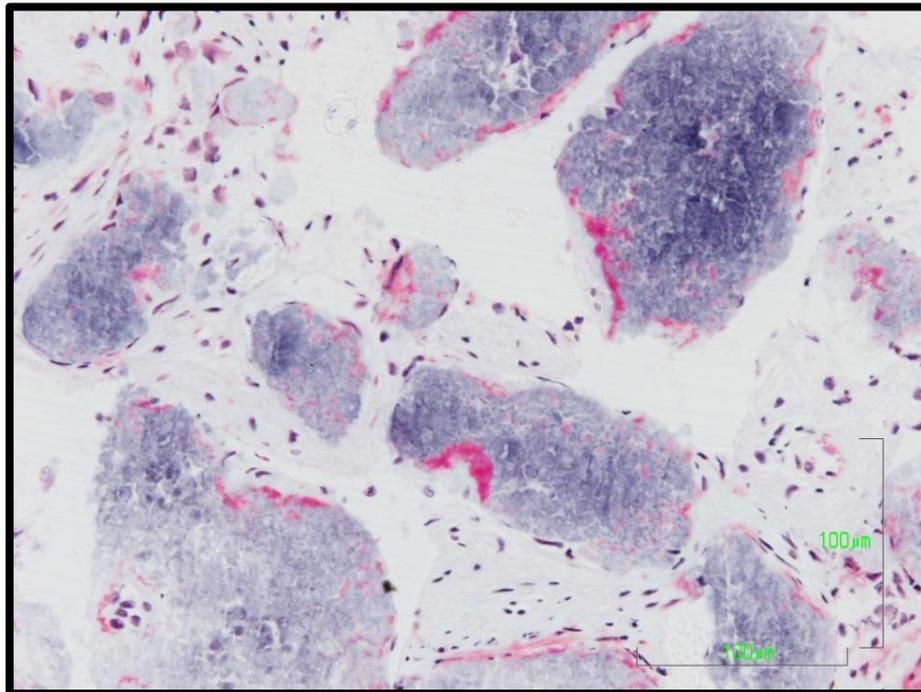


Fig.75. Tricrómico de Goldner. 20x. Restos de Sil-Oss® no osteointegrados, rodeados por tejido conectivo. Presentan ligero depósito de osteoide sobre su superficie.

**Biopsia 6-LRM-15**

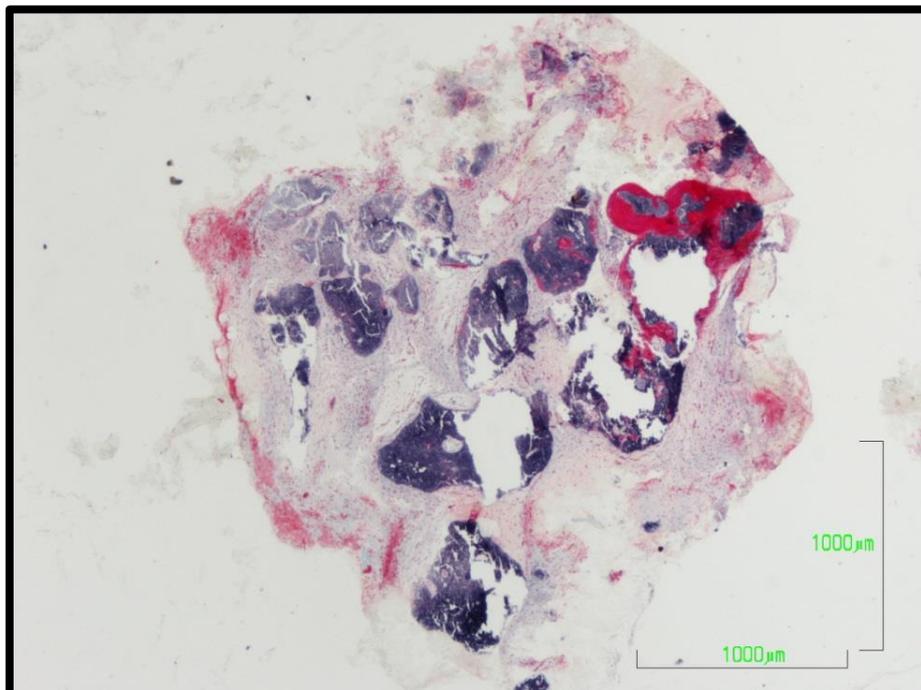


Fig.76. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

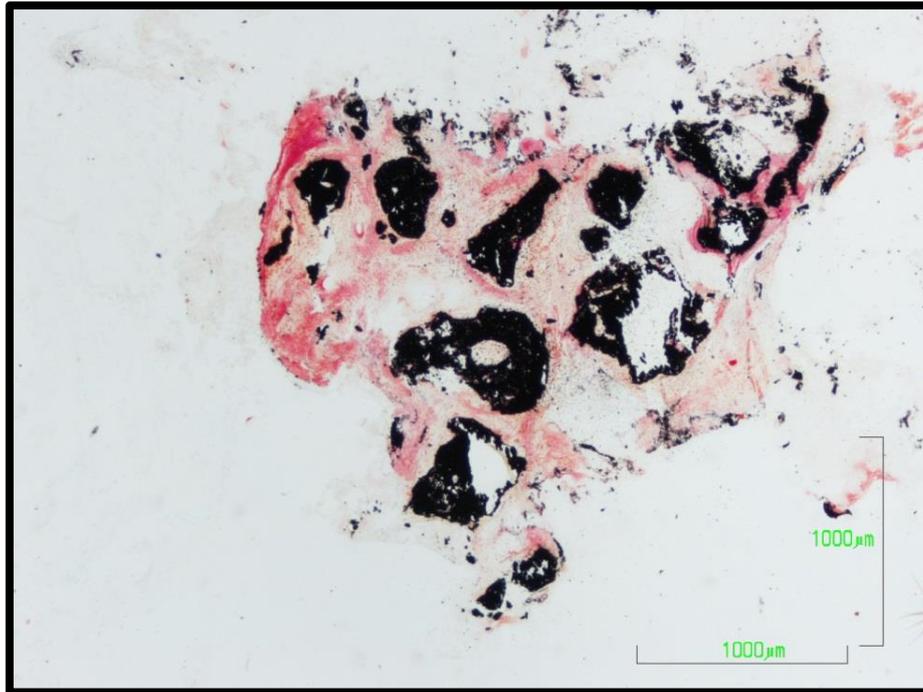


Fig.77. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Muestra orientada. No presencia de hueso. Desarrollo de tejido conectivo con restos de Sil-Oss® no osteointegrados aunque presentan procesos de osificación. Tejido conectivo vascularizado.

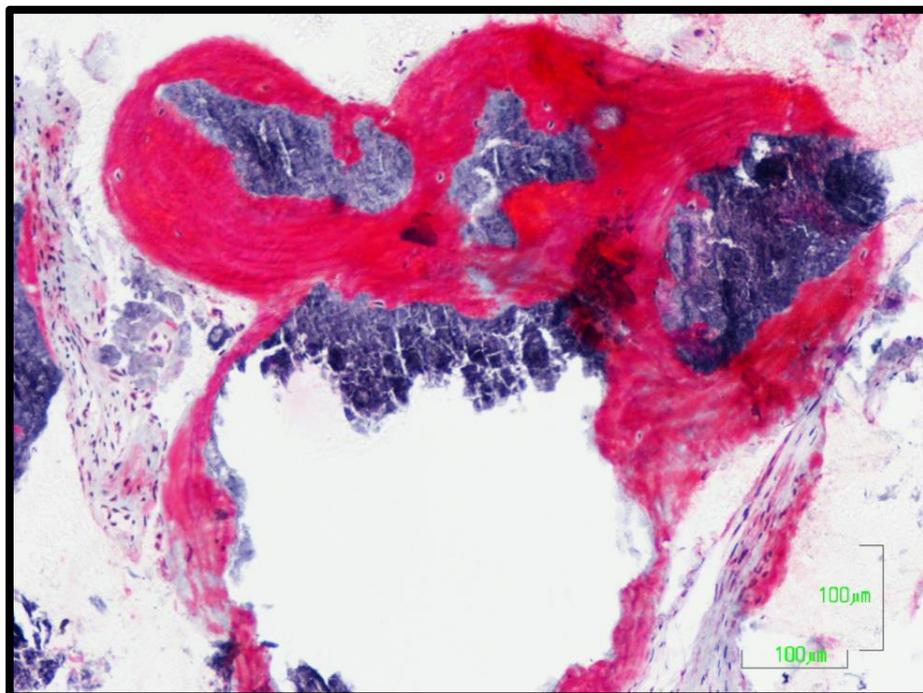


Fig.78. Tricrómico de Goldner. 10x. Gran depósito de matriz orgánica alrededor material.

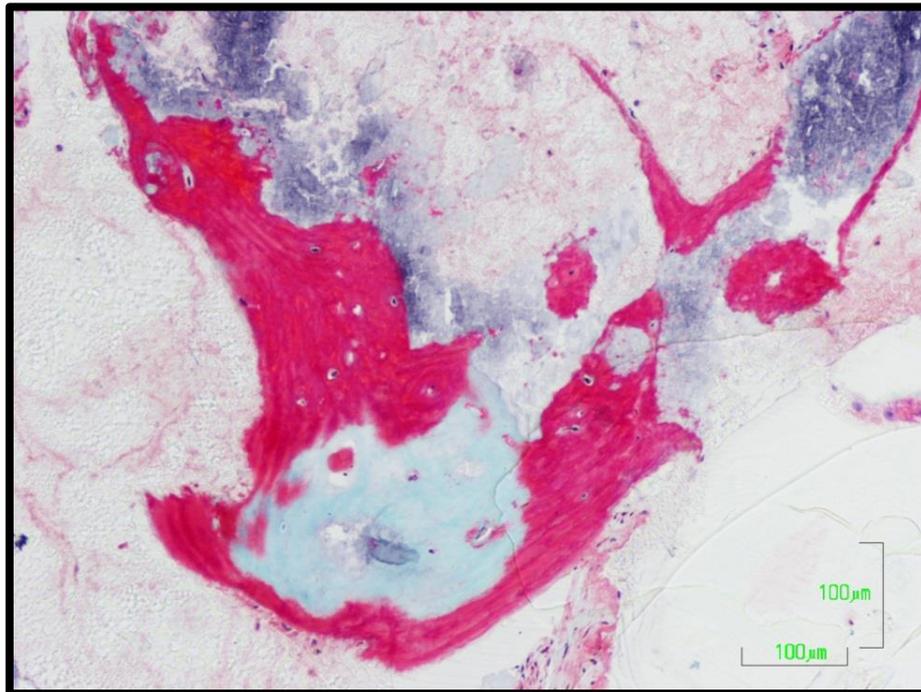


Fig.79. Tricrómico de Goldner. 10x. Depósito de matriz orgánica ósea alrededor el material. Presencia de celularidad y zona de hueso neoformado primario.

#### Biopsia 7-GSM-14

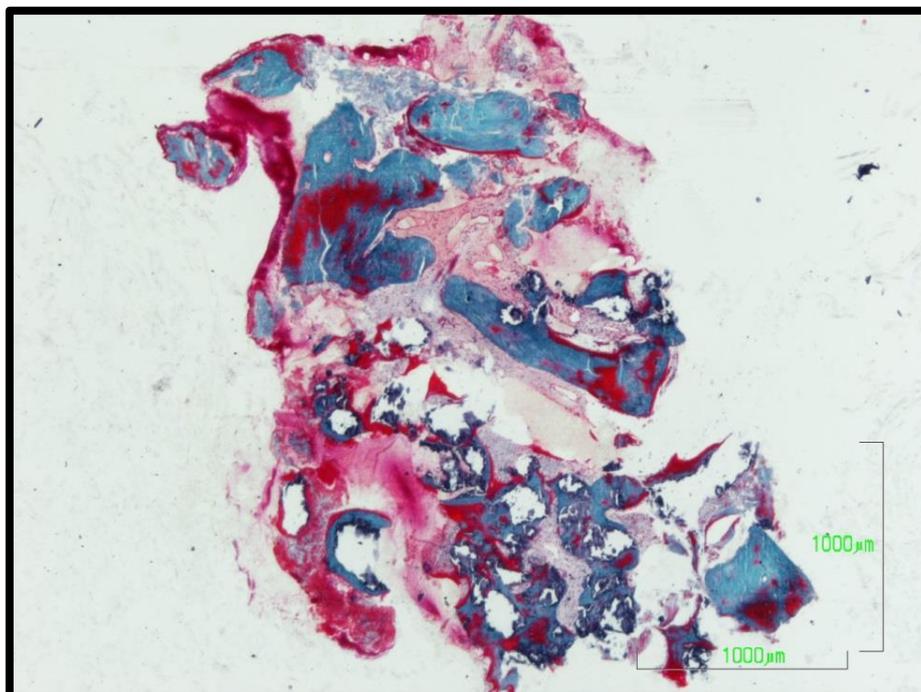


Fig.80. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.



Fig.81. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Se aprecia algo de hemorragia por la cirugía en la toma de biopsia. Hay bastante hueso, con zonas desmineralizadas y buena osteointegración de Sil-Oss®. EL tejido conectivo desarrollado presenta vasos con luces dilatadas.

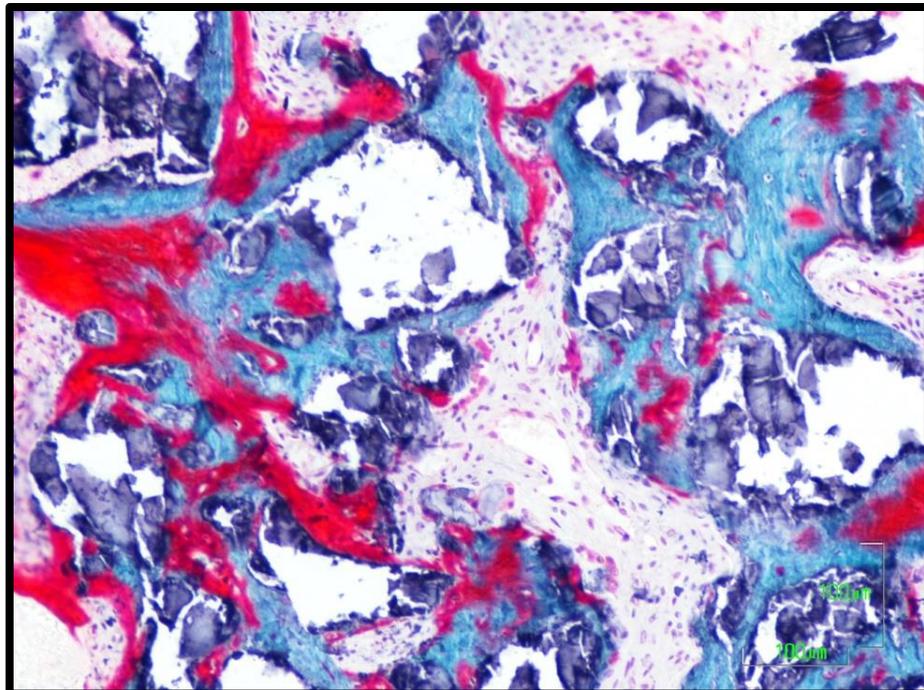


Fig.82. Tricrómico de Goldner. 10x. Osteointegración de material, zonas de matriz no mineralizada. Trabécula muy desorganizada, inmadura.

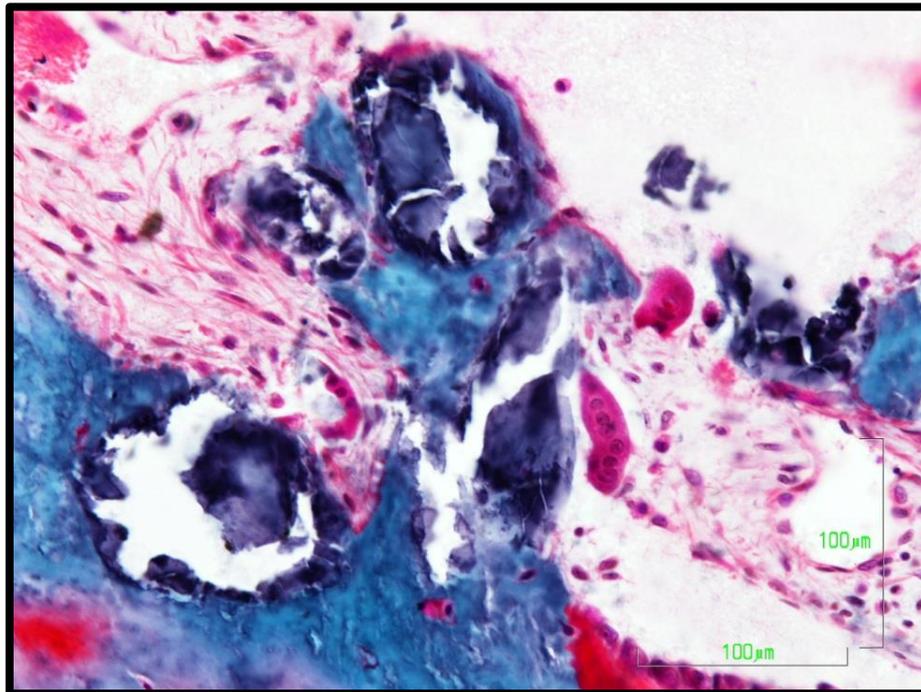


Fig.83. Tricrómico de Goldner. 20x. Remodelación ósea: osteoclastos sobre superficie del material osteointegrado.

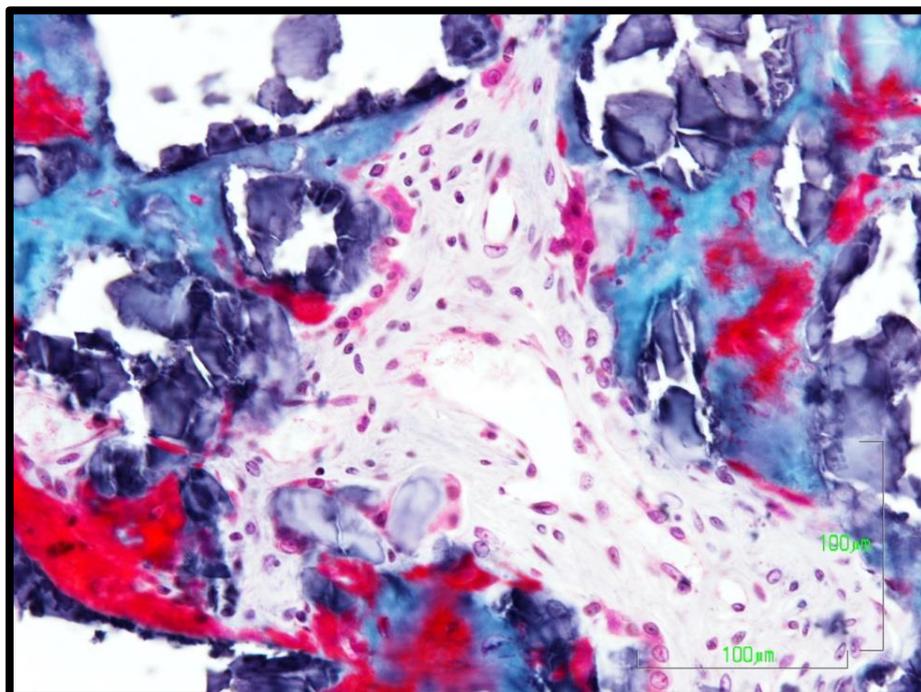


Fig.84. Tricrómico de Goldner. 20x. Osteoclastos sobre superficie del material osteointegrado.

Biopsia 8-JCS-24

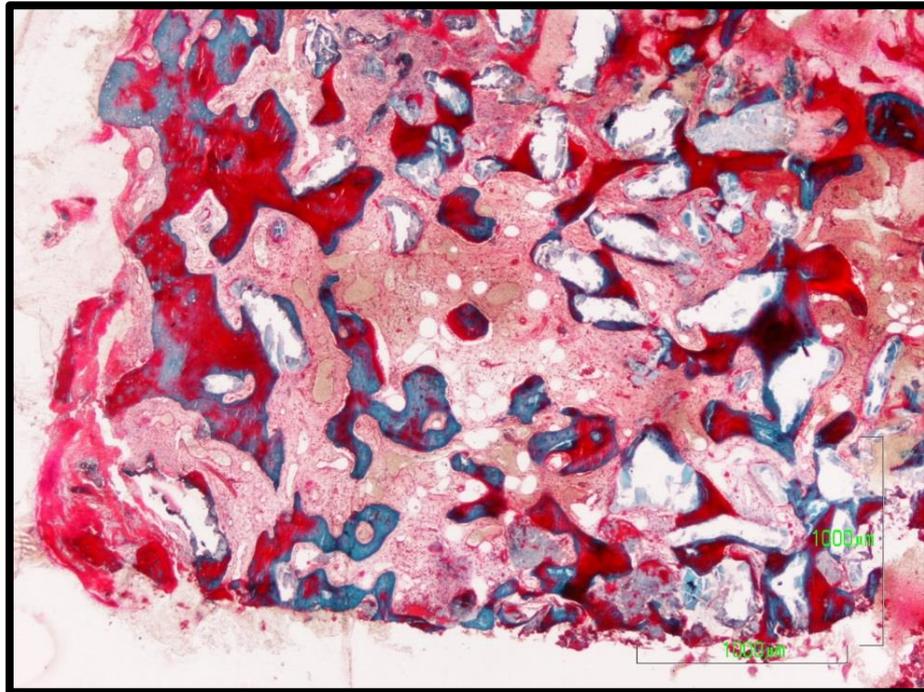


Fig.85. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

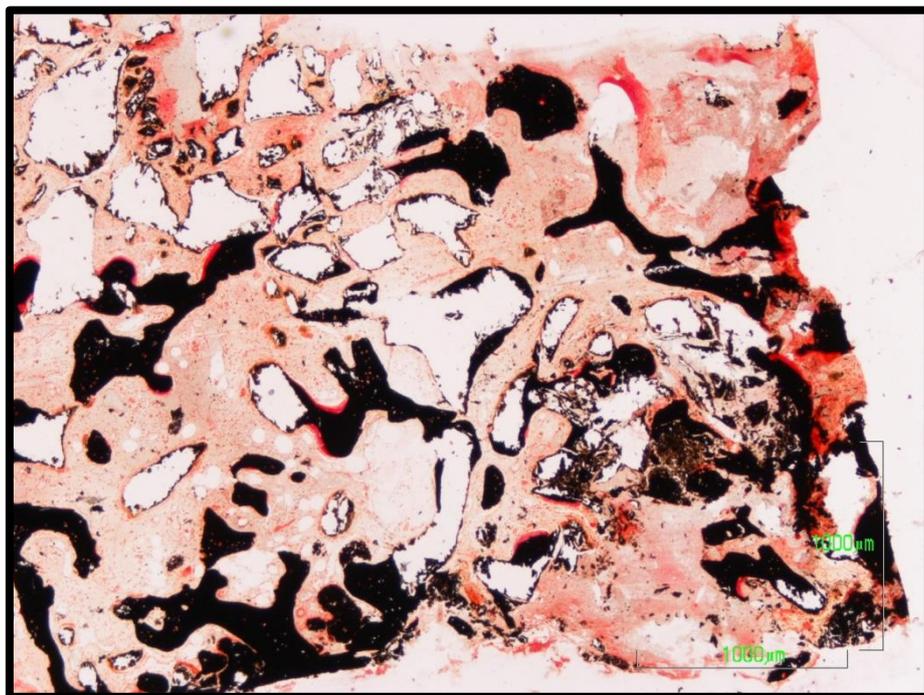


Fig.86. Von Kossa de la muestra ósea. Restos de Bio-Oss® rodeados de tejido conectivo. La muestra presenta hemorragia. Hueso con materia orgánica ósea no mineralizada. Zonas con inflamación crónica.

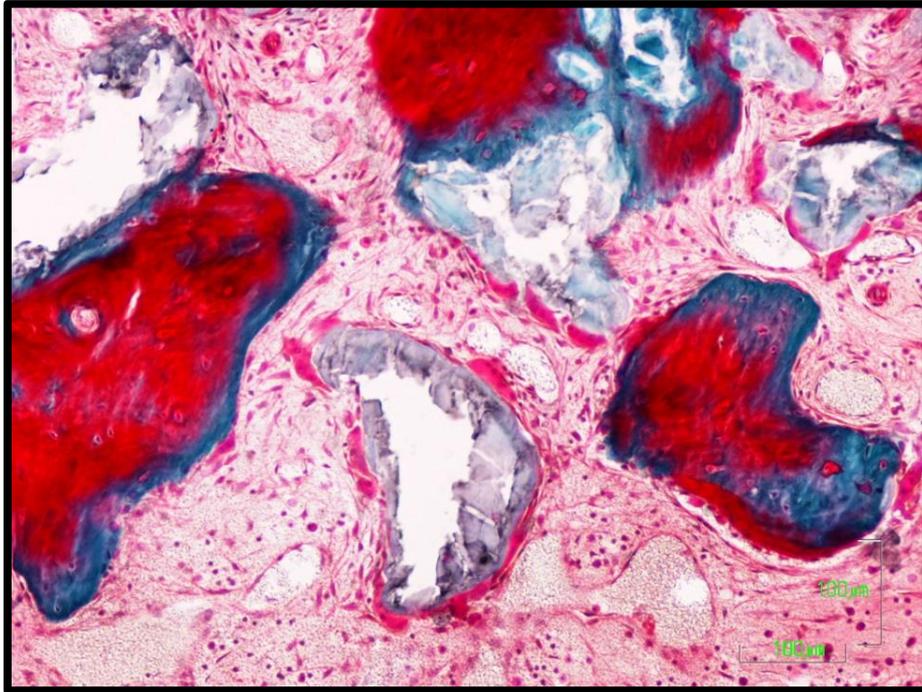


Fig.87. Tricrómico de Goldner. 10x. Material osteointegrado y no osteointegrado con células multinucleadas sobre su superficie. Espículas óseas no mineralizadas.

**Biopsia 9-JHM-25**

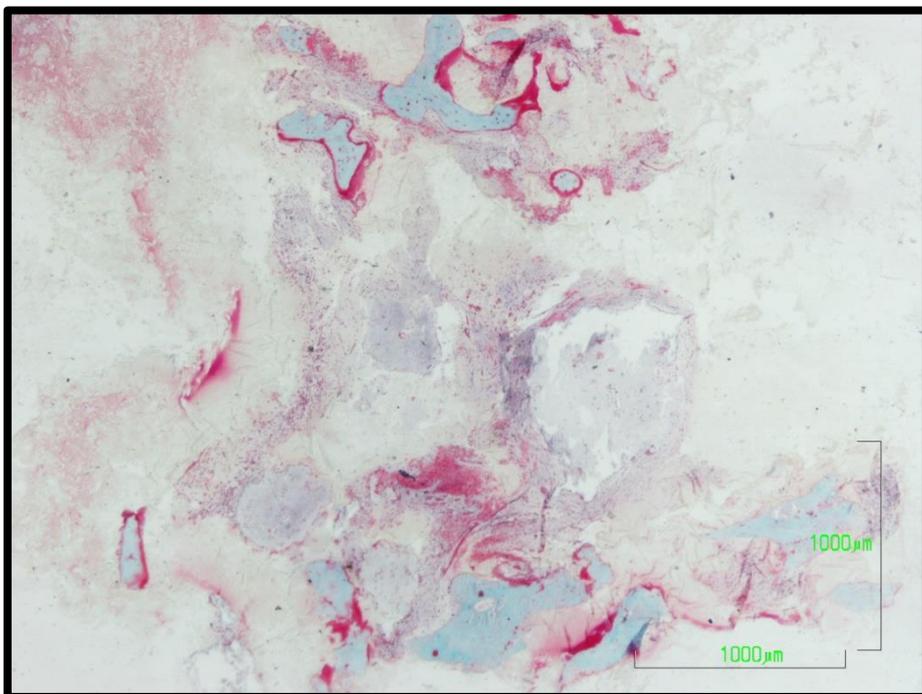


Fig.88. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Espículas óseas con osteocitos inmaduros y líneas de osteoide. Si bien, se distingue colonización celular en los restos de material.

Biopsia 10-EGA-25

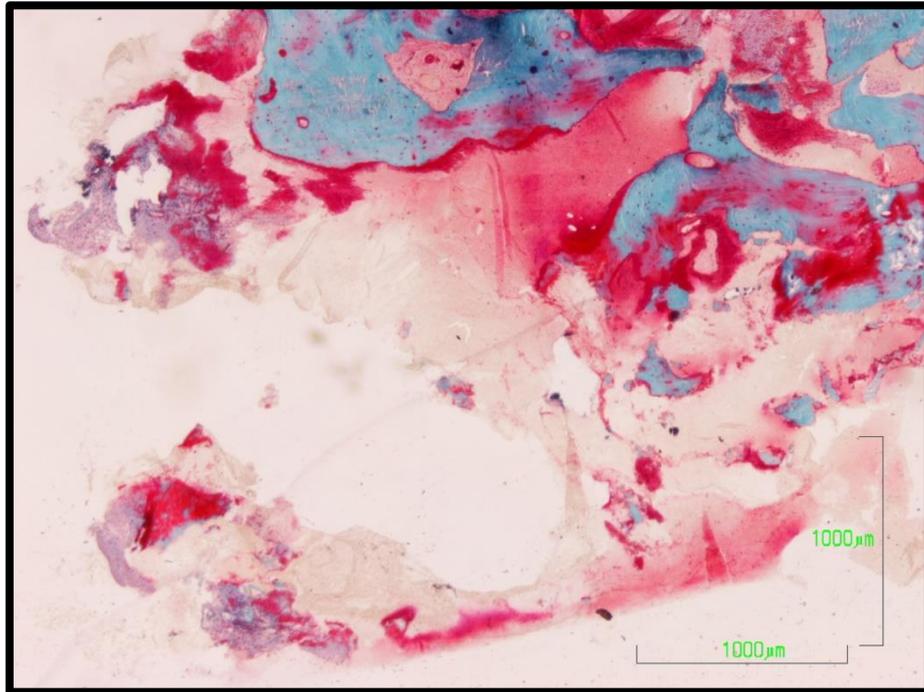


Fig.89. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

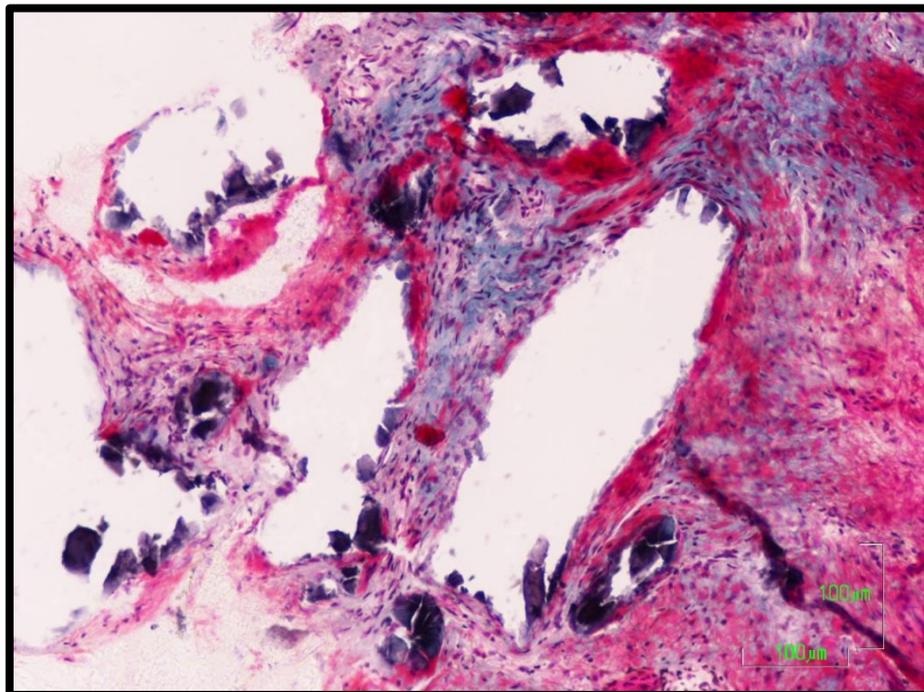


Fig.90. Tricrómico de Goldner. Panorámica 10x. Sólo se observa material en una zona de la biopsia; rodeado de tejido conectivo denso.

Biopsia 11-JVS-15

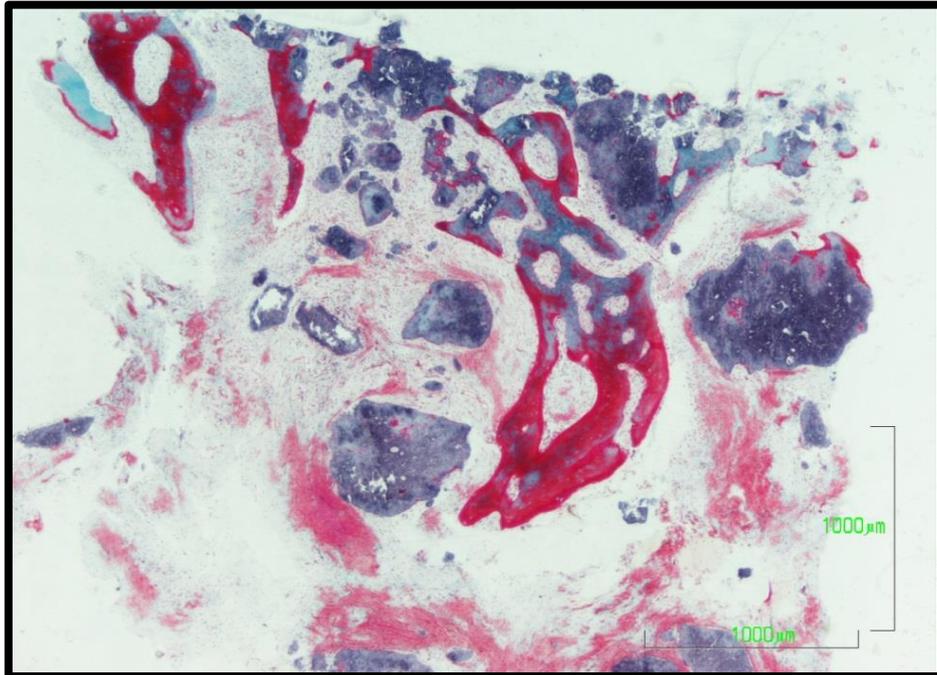


Fig.91. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Restos de Sil-Oss® con centros de osificación sobre su superficie y colonización celular. Neoformación ósea: hueso inmaduro, con matriz ósea orgánica no mineralizada. Osteointegración de material.

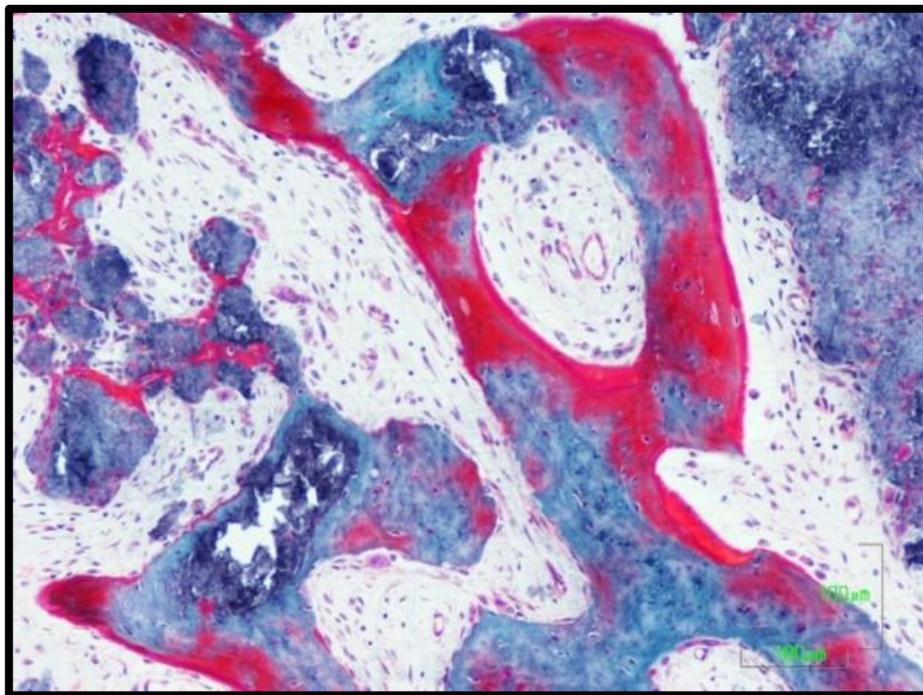


Fig.92. Tricrómico de Goldner. Panorámica 10x. Restos de Sil-Oss® con depósitos de matriz orgánica ósea. Trabécula con deficiencia de mineralización y material osteointegrado.

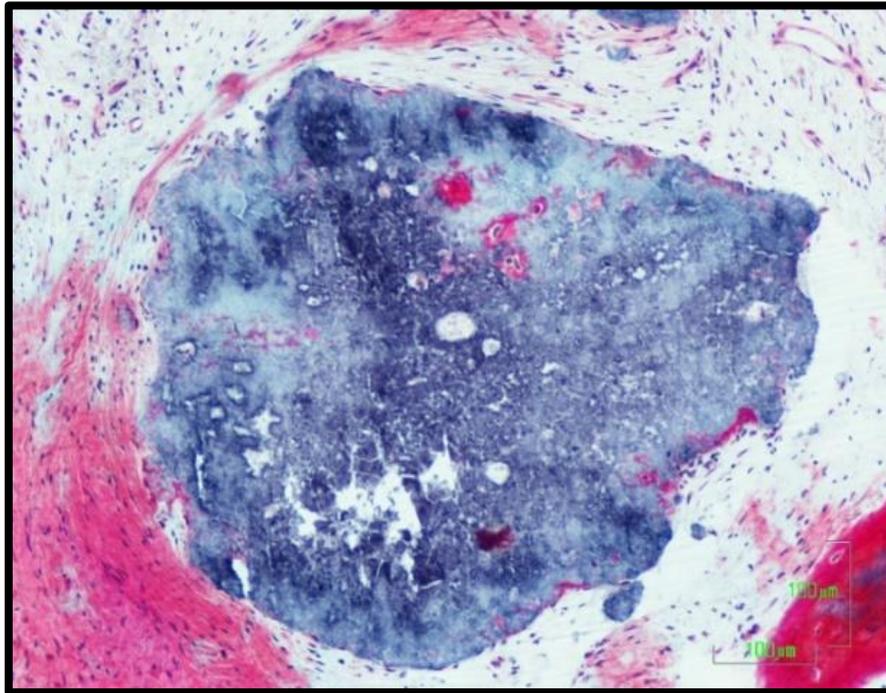


Fig.93. .Tricrómico de Goldner. Panorámica 10x. Sil-Oss® no osteointegrado con colonización celular y depósito de materia orgánica.

#### Biopsia 11-JVS-24

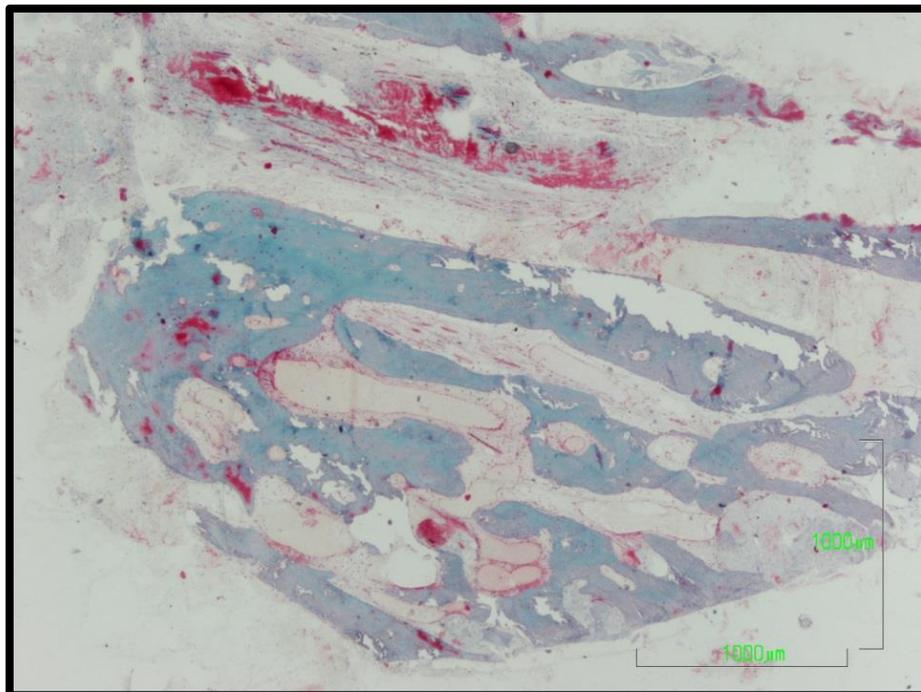


Fig.94. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. No se distinguen bien restos de material. El hueso parece maduro. Tejido conectivo con vasos de gran diámetro.

Biopsia 12-MZS-25

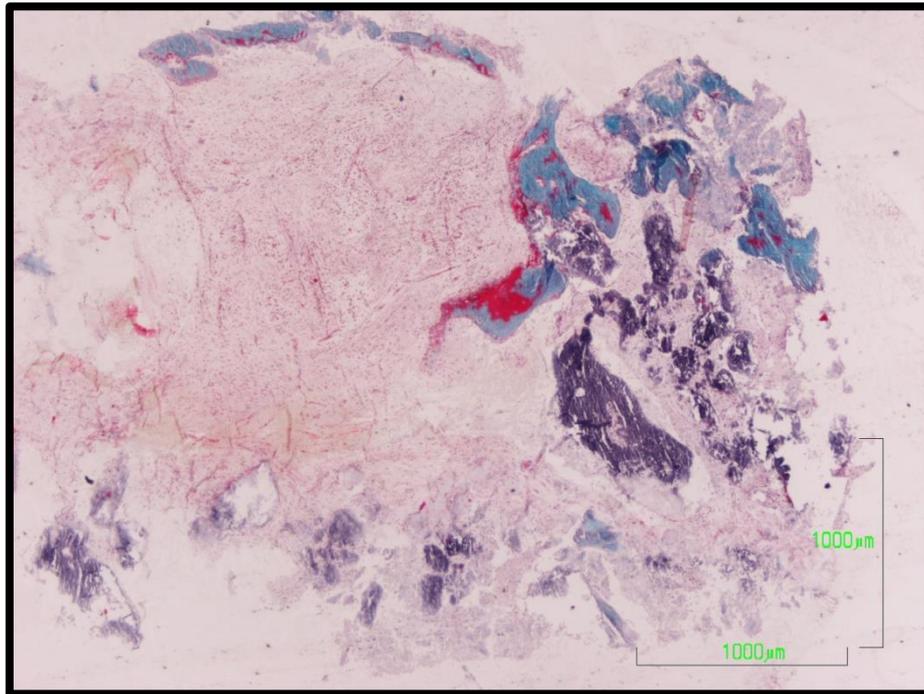


Fig.95. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

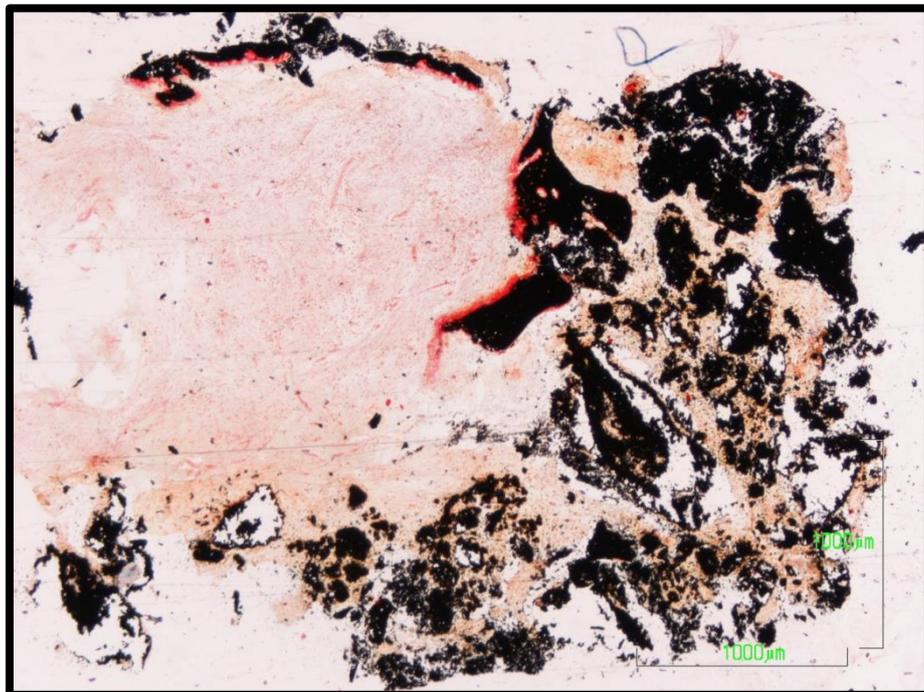


Fig.96. Tinción Von Kossa. Panorámica 2x. Zona superficial: infiltrado de tejido conectivo de tipo inflamatorio. Zona profunda: escasos restos de material, predominio no osteointegración.

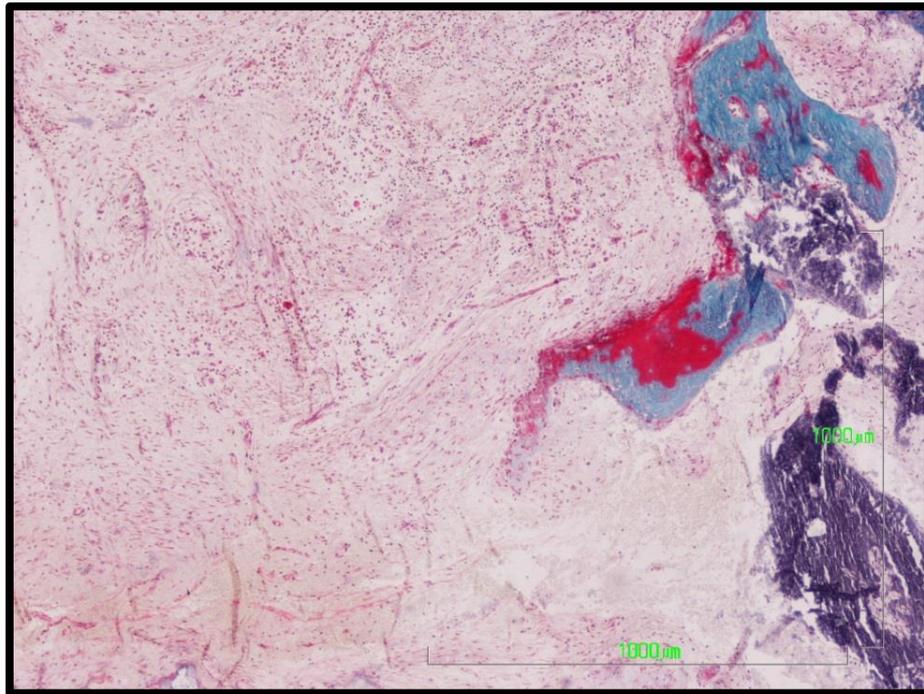


Fig.97. Tricrómico de Goldner. 4x. Tejido conectivo con componente inflamatorio. No hay una respuesta celular frente al biomaterial sobre su superficie.

#### Biopsia 13-EHL-24

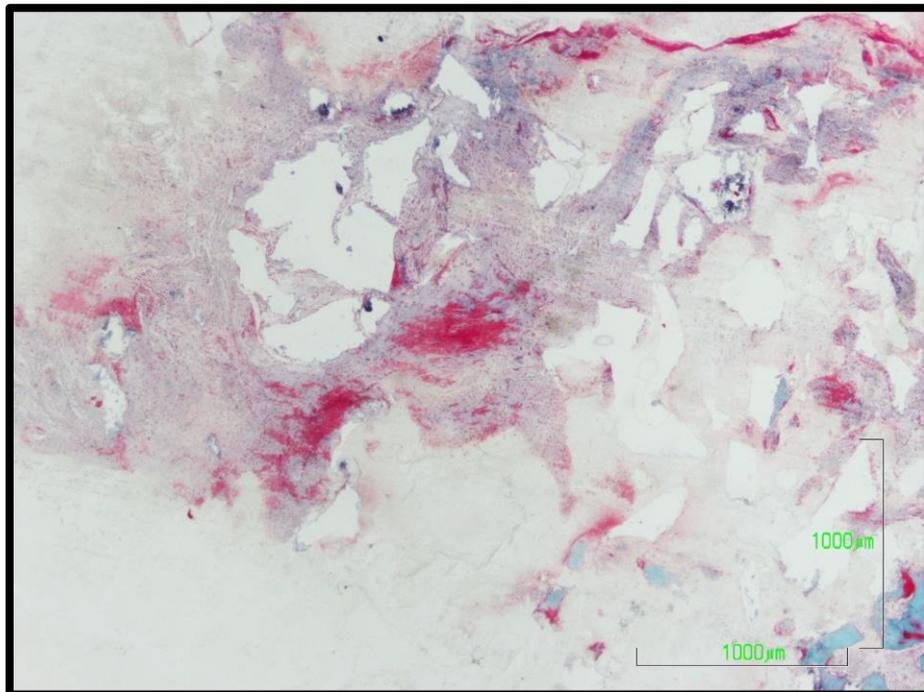


Fig.98. Tricrómico de Goldner. 2x. Panorámica. No regeneración ósea. Desarrollo de tejido conectivo denso. No osteointegración de material. Inflamación y hemorragia.

## Biopsia 14-IFA-14

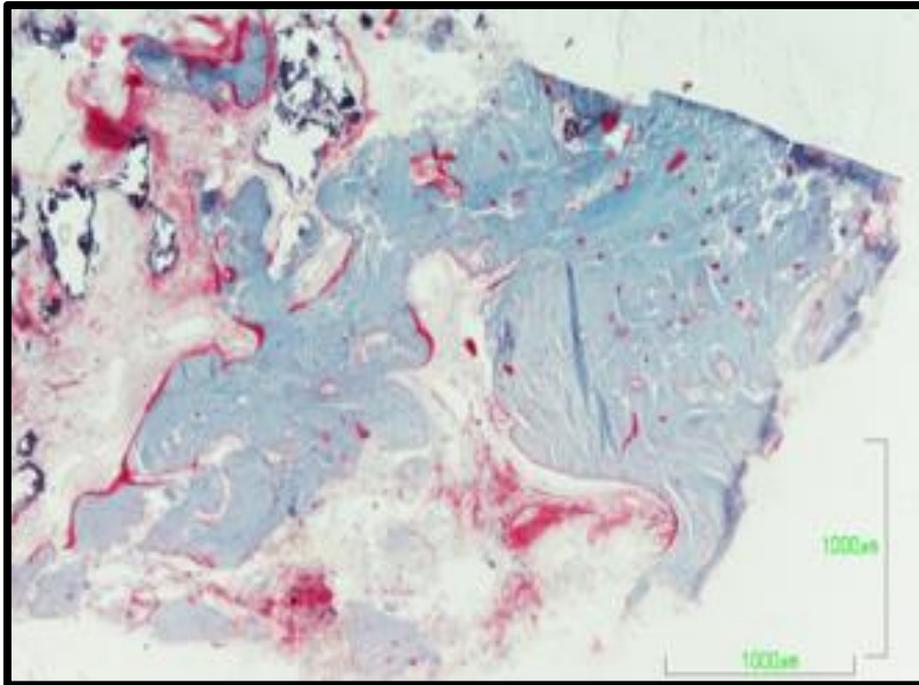


Fig.99. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Se distinguen pocos restos de material, solo en la zona superficial. Zona profunda aparece notable hueso, pero con apariencia de maduro, no regenerado.

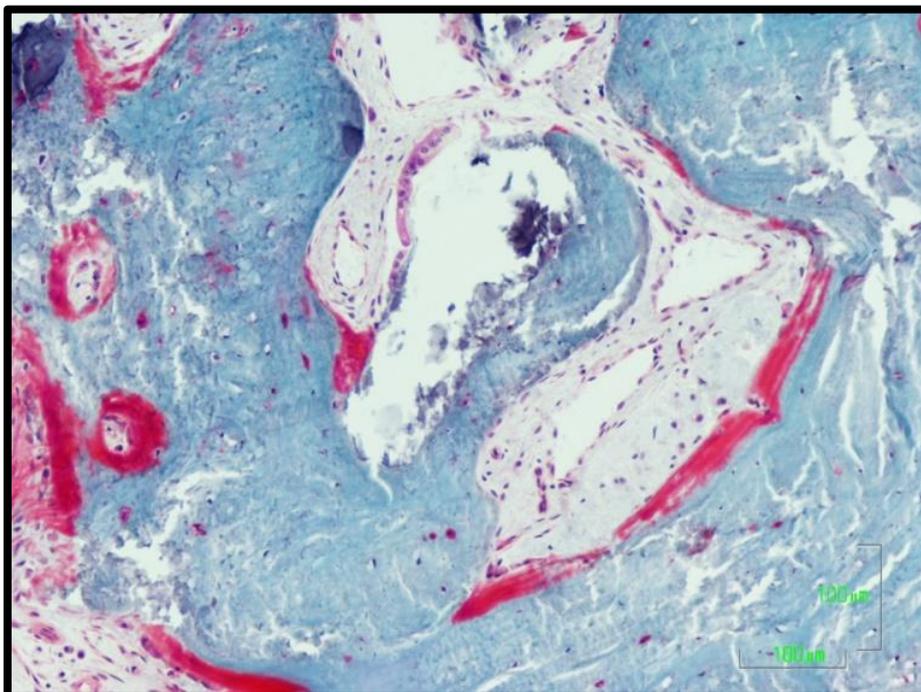


Fig.100. Tricrómico de Goldner 10x. Material osteointegrado, superficie del material en contacto con el tejido conectivo rodeado por una célula multinucleada. Tejido conectivo con vasos de grandes luces.

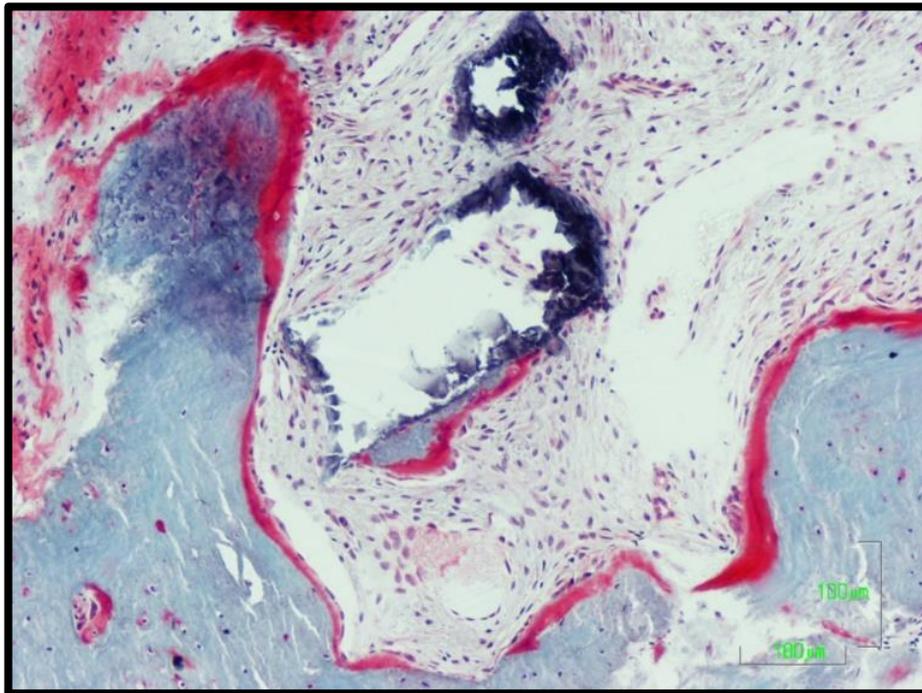


Fig.101. Tricrómico de Goldner 10x. Material no osteointegrado, con algo de formación ósea sobre una de sus superficies. Rodeado por tejido conectivo.

#### Biopsia 15-NMP-15

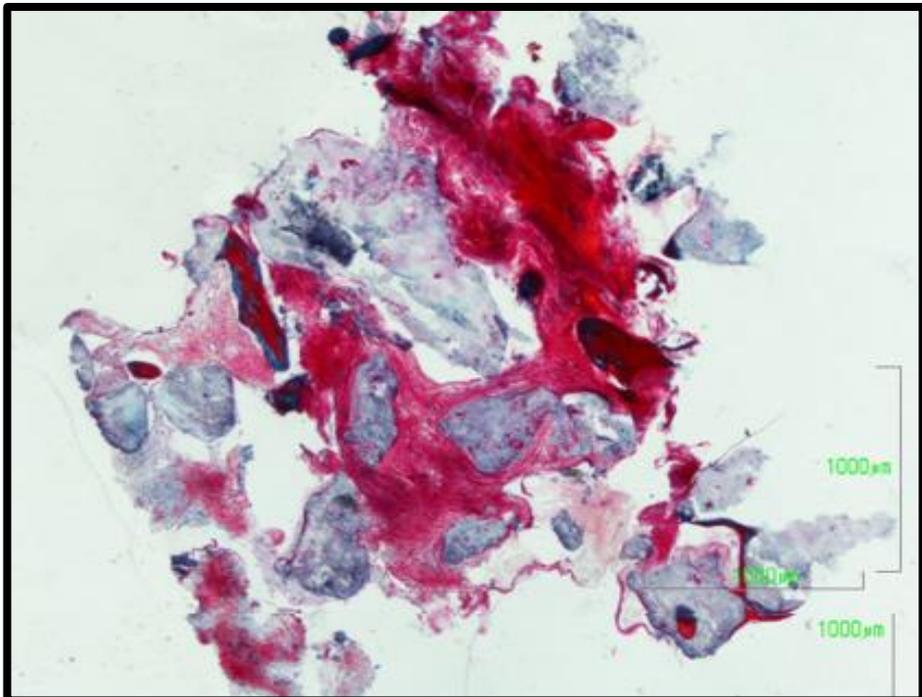


Fig.102. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Macroscópicamente se ven gránulos de material. Numerosos y grandes restos de material rodeados por tejido conectivo denso. Algunas partículas muestran centro de osificación.

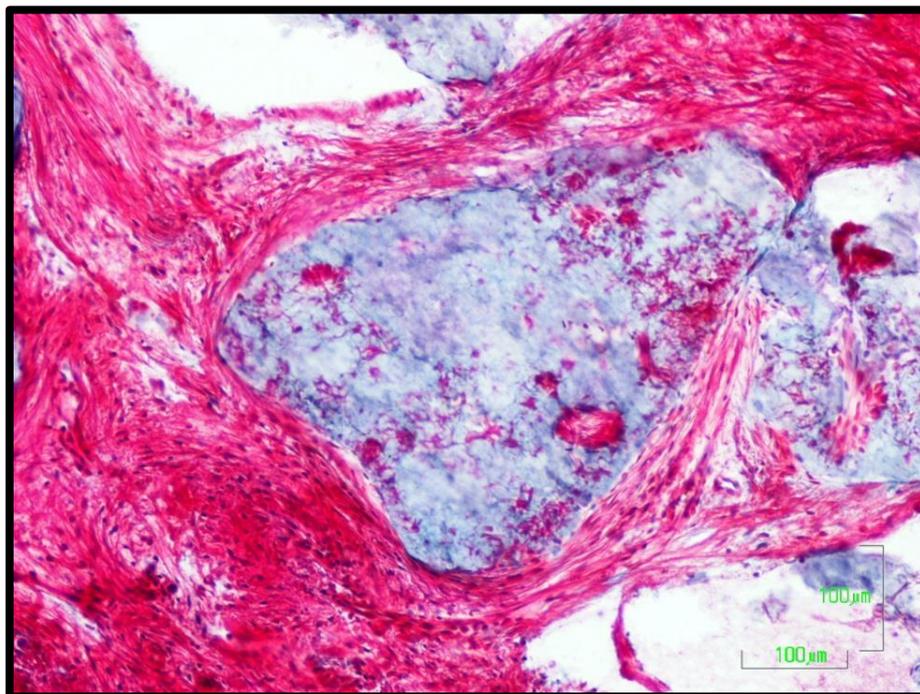


Fig.103. Tricrómico de Goldner. 10x. Gránulo de material rodeado por tejido conectivo muy fibroso. Presenta centros de osificación, colonización celular.

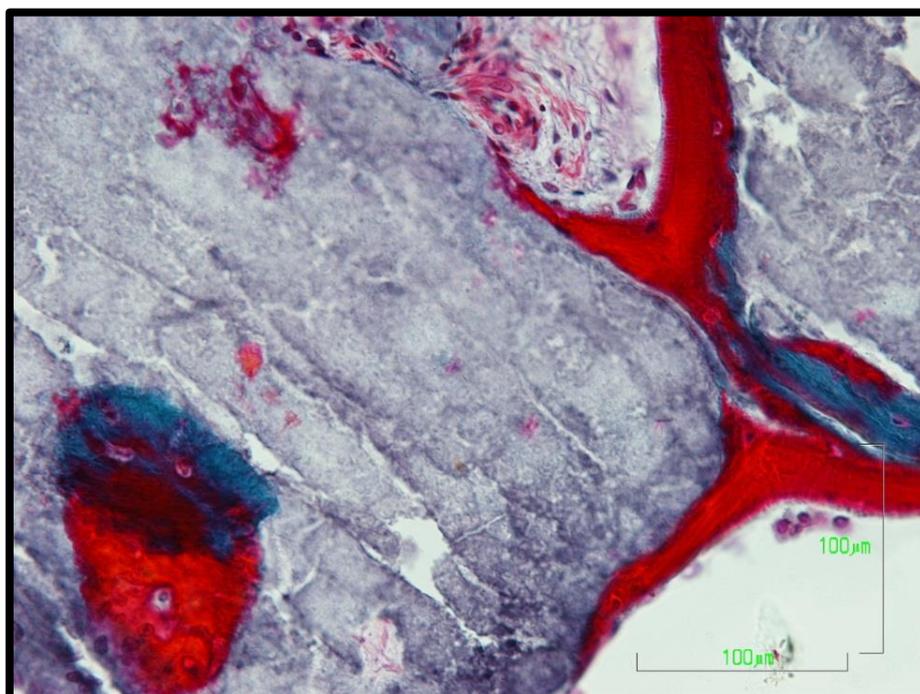


Fig.104. Tricrómico de Goldner. 10x. Gránulo de material rodeado por tejido conectivo muy fibroso. Presenta centros de osificación, colonización celular.

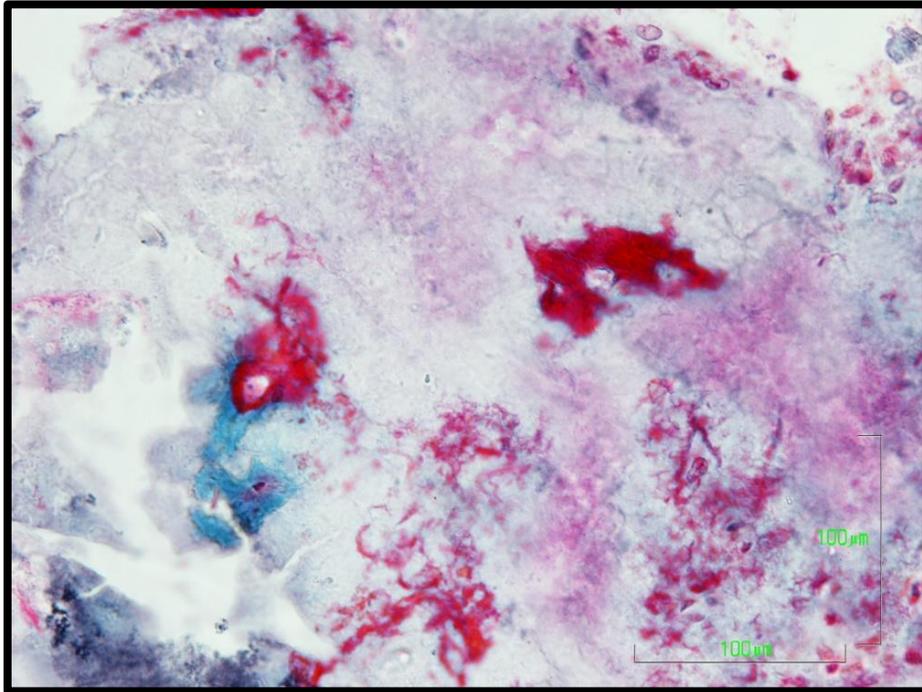


Fig.105. Tricrómico de Goldner. 20x. Depósito de matriz orgánica y mineralizada ósea sobre partícula de material. Hay colonización celular.

#### Biopsia 16-DRG-25

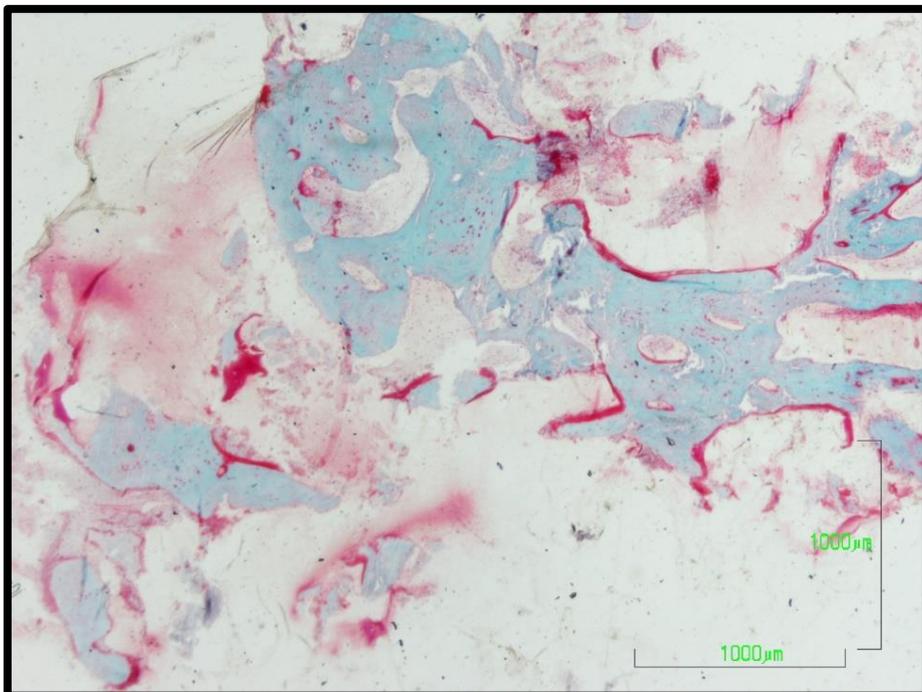


Fig.106. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. No se aprecian restos de material. El hueso presenta osteoide y osteocitos inmaduros. Las trabéculas son gruesas. Hay hemorragia. Encontramos hueso que parece reactivo, remodelado.

Biopsia 17-RRL-24

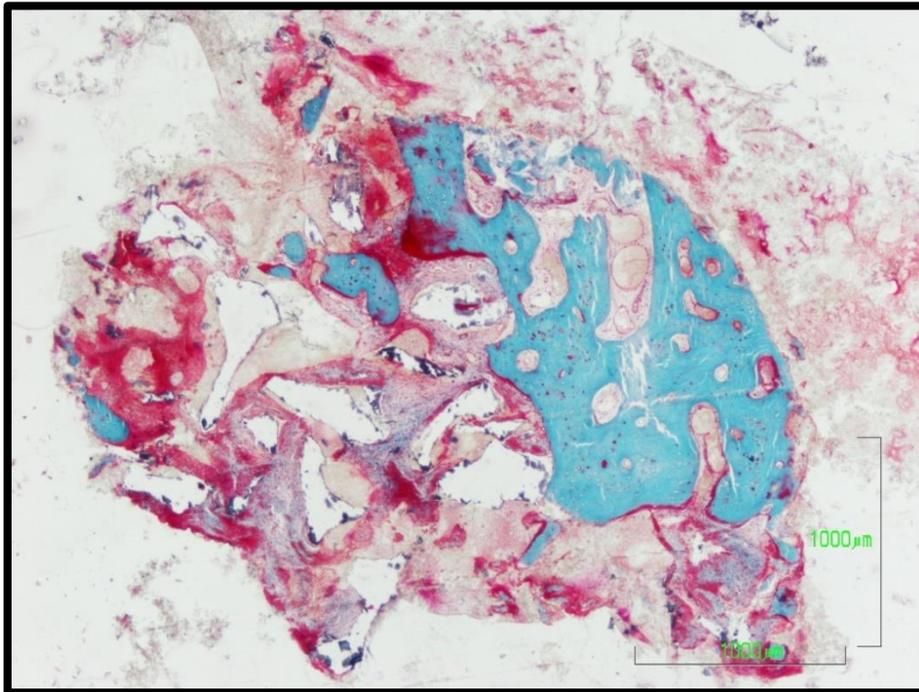


Fig.107. Tricrómico de Goldner. 2x Panorámica.

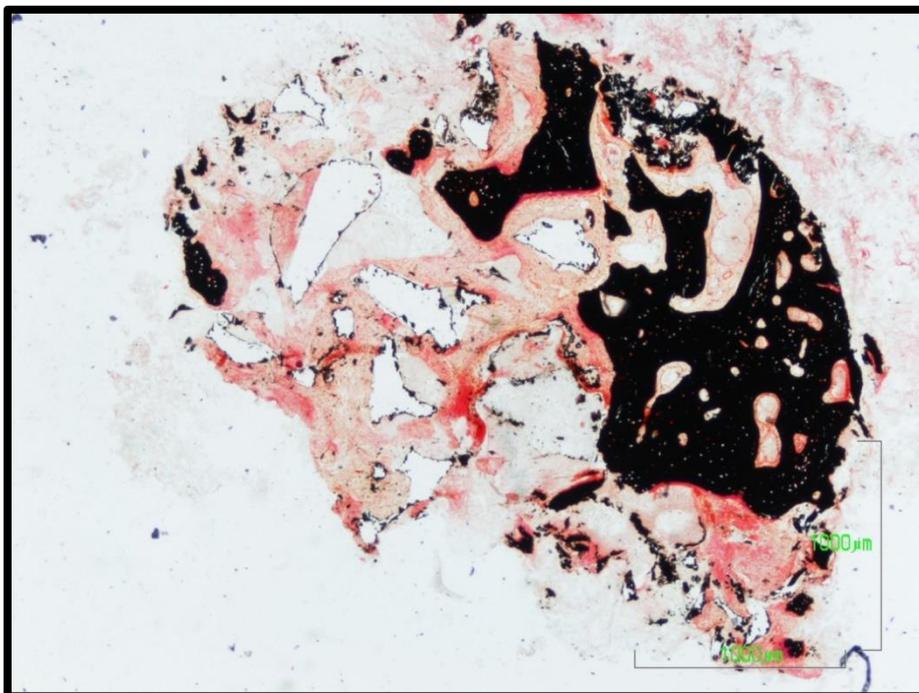


Fig.108. Von Kossa. 2x Panorámica. Restos de Bio-Oss® no osteointegrados rodeados por tejido conectivo. El hueso presente en la zona más profunda está desorganizado, inmaduro. Presenta zonas no mineralizadas. Aunque no muestra osteointegración de material.

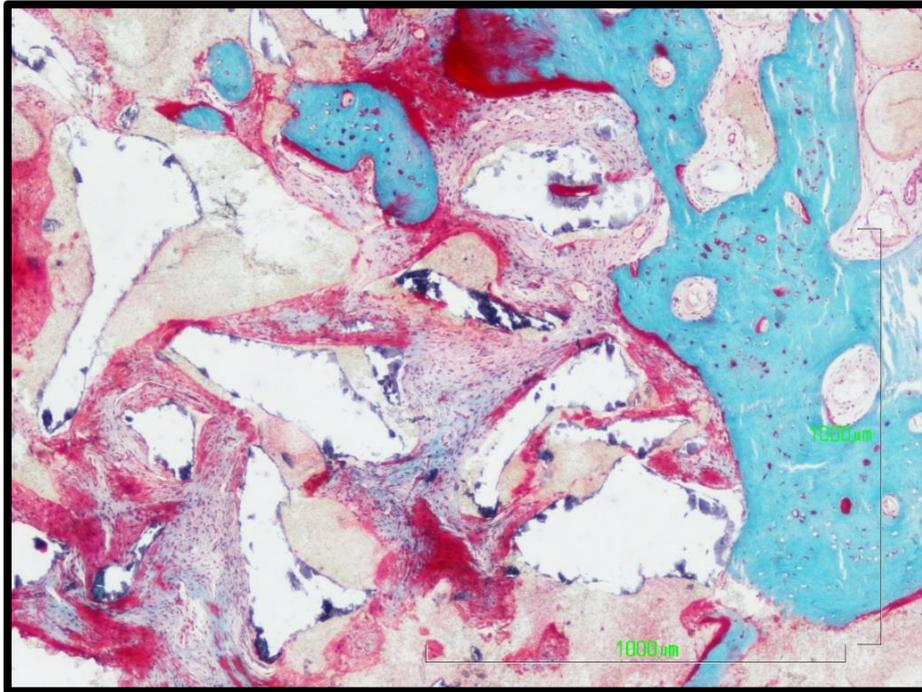


Fig.109. Tricrómico de Goldner. 4x. Bio-Oss® rodeado por tejido conectivo denso.

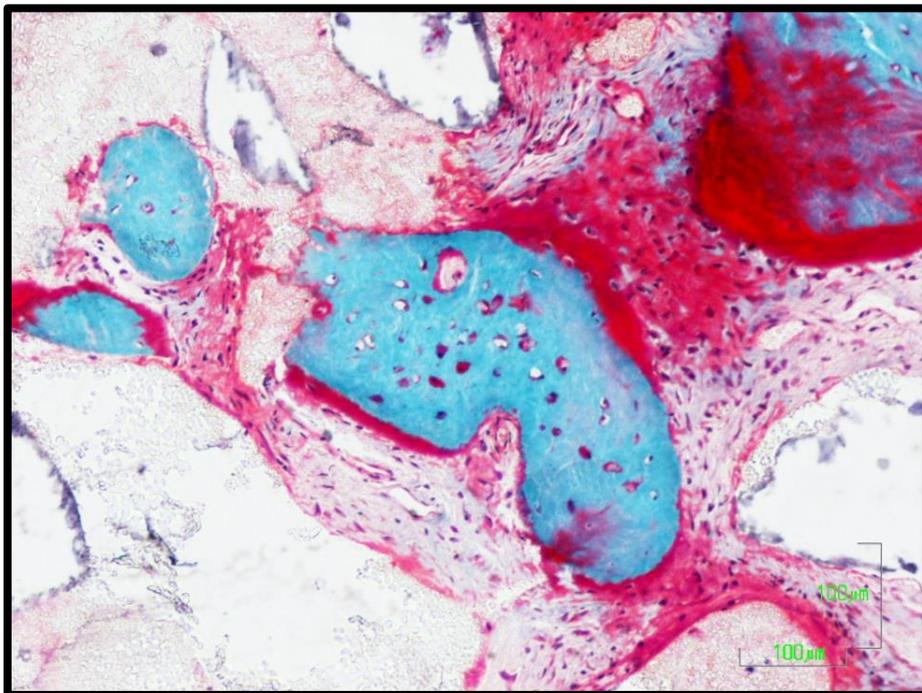


Fig.110. Tricrómico de Goldner. 10x. Trabécula ósea inmadura, osteocitos desorganizados, regiones no mineralizadas. Rodeado por tejido conectivo denso y restos de material no osteointegrados.

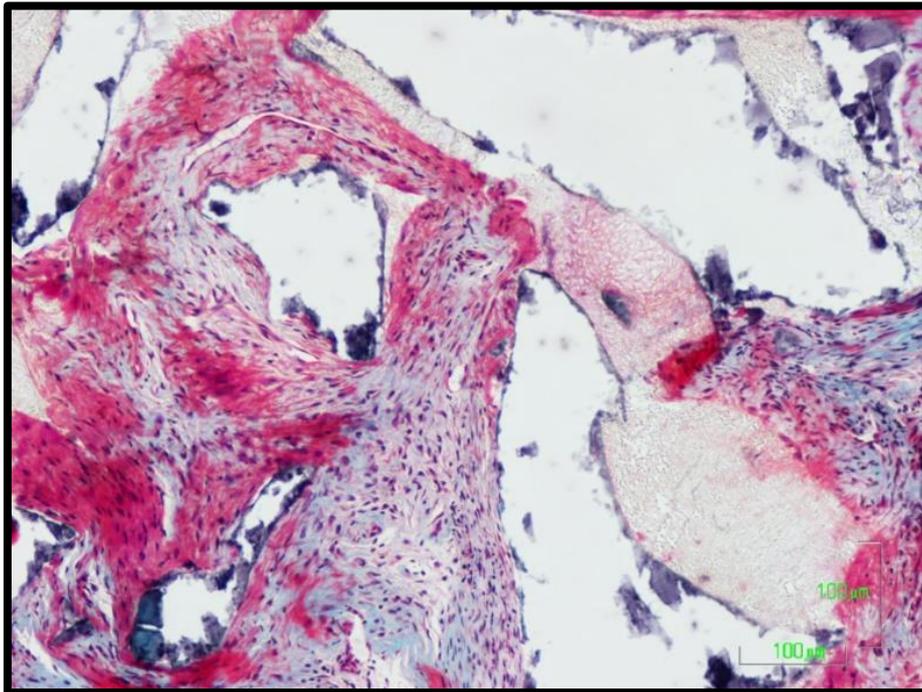


Fig.111. Tricrómico de Goldner. 10x. Bio-Oss® rodeado por tejido conectivo denso con infiltrado inflamatorio.

#### Biopsia 18-CRG-25 superficial

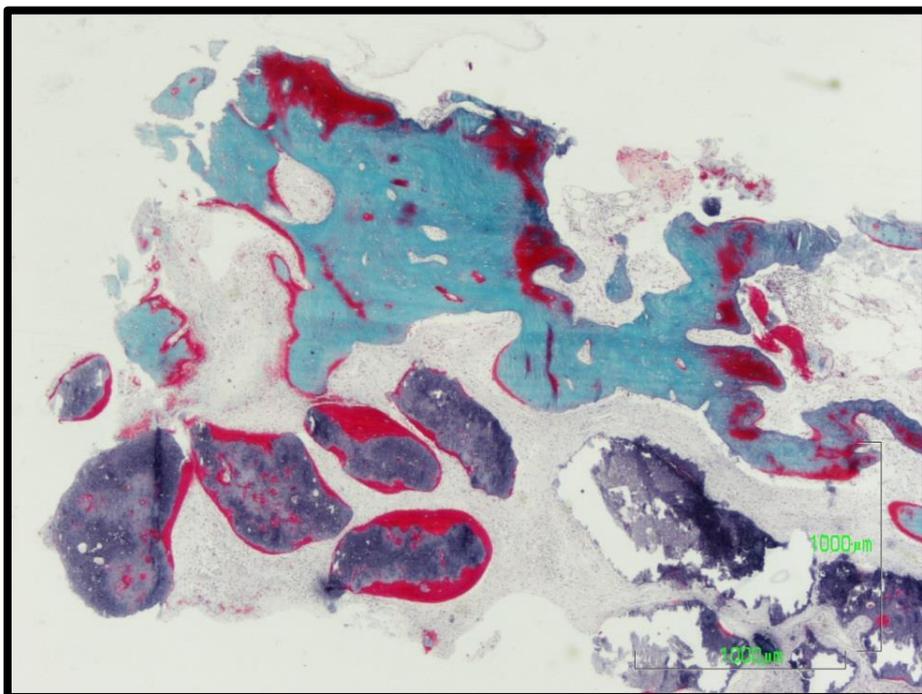


Fig.112. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. El hueso es inmaduro con zonas no mineralizadas. Sil-Oss® no osteointegrado, rodeado por tejido conectivo vascularizado. Las partículas de material presentan grandes depósitos de matriz orgánica ósea.

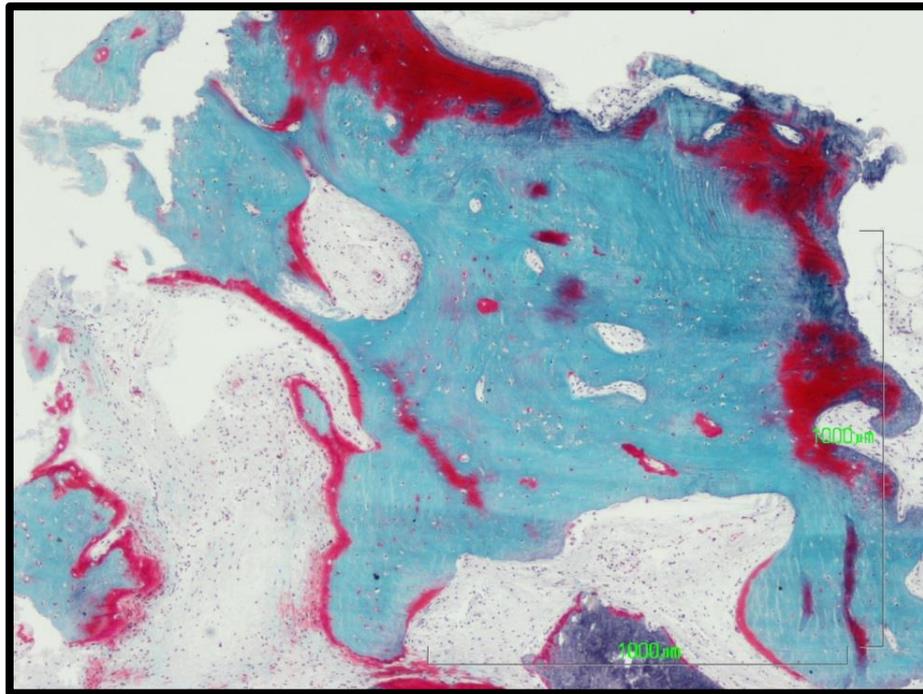


Fig.113. Tricrómico de Goldner. 4x. Hueso inmaduro con osteocitos desorganizados y zonas no mineralizadas.

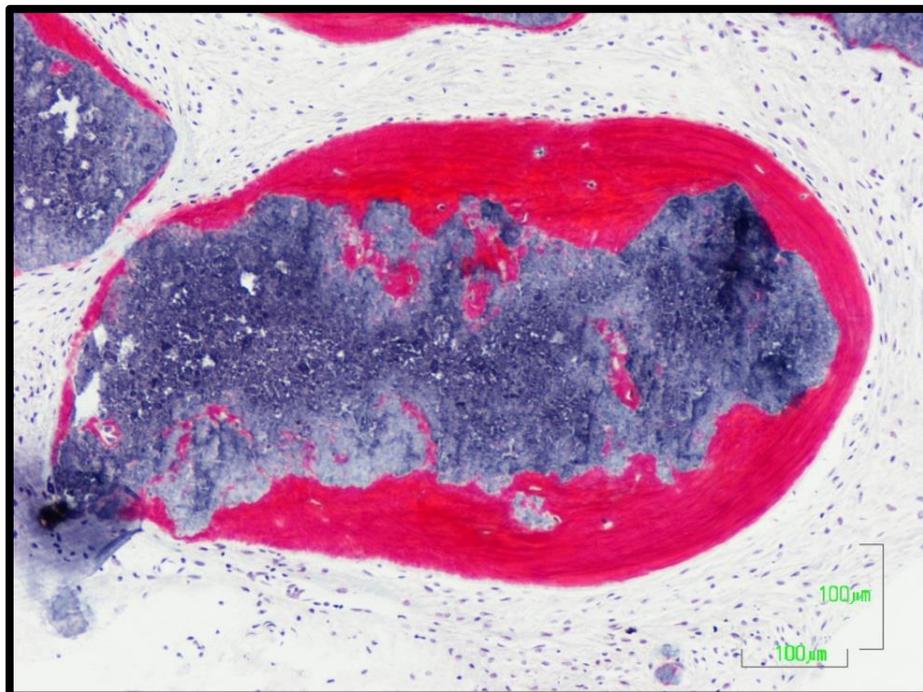


Fig.114. Tricrómico de Goldner. 10x. Sil-Oss® con depósito de matriz orgánica. Fibras de colágeno con distribución paralela alrededor de la partícula de material. Zonas de colonización celular.

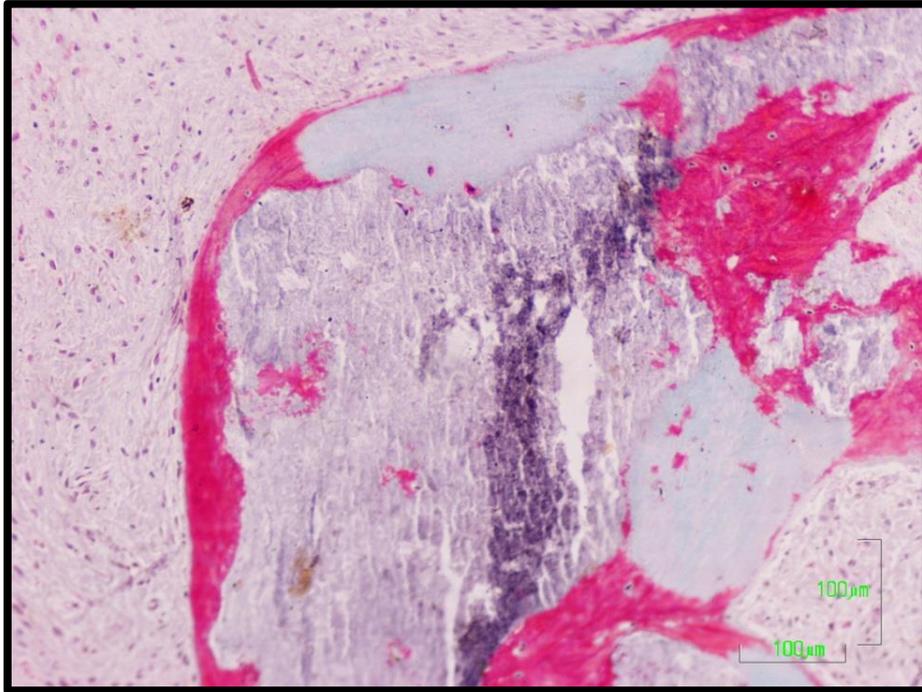


Fig.115. Tricrómico de Goldner. 10x. Formación ósea sobre el material. Infiltración celular en los restos de material. Depósito de materia orgánica.

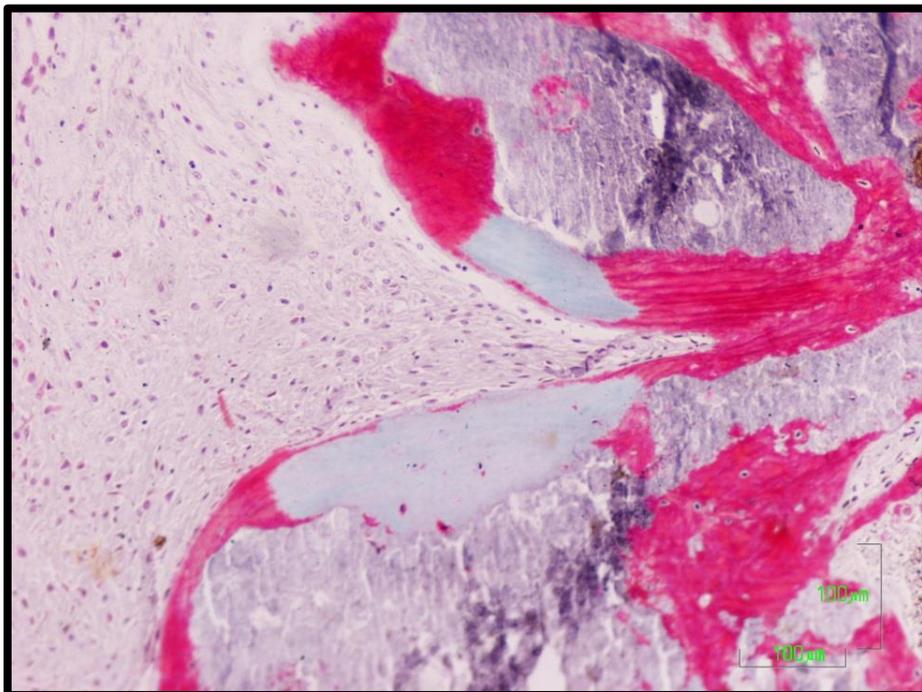


Fig.116. Tricrómico de Goldner. 10x. Osteosíntesis, orientación de fibras colágenas paralelas, formando el osteoide, rodeando la partícula de material. Osteocitos atrapados en el osteoide.

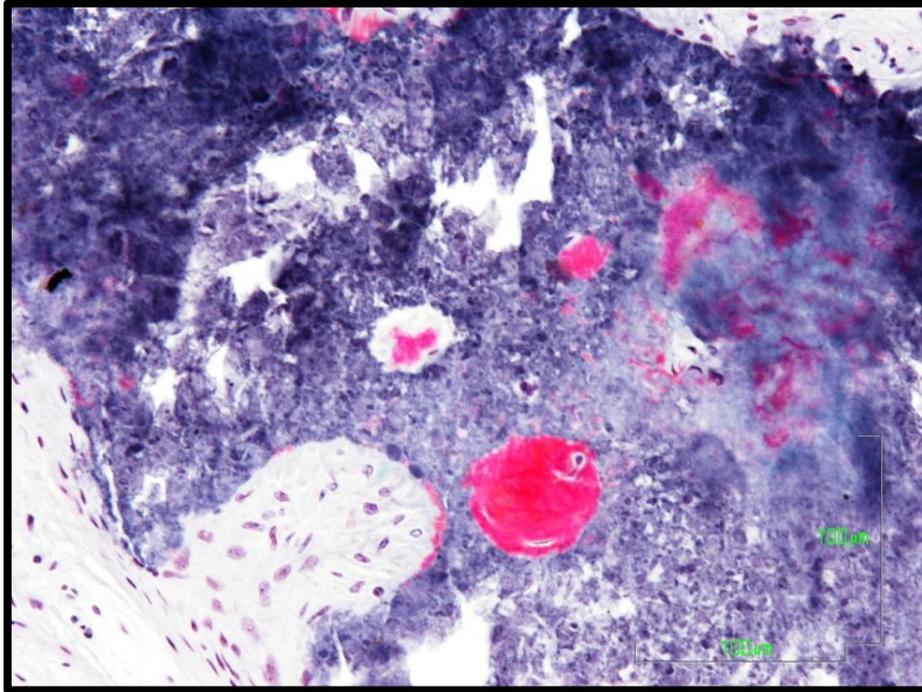


Fig.117. Tricrómico de Goldner. 20x. Colonización celular en el interior de la partícula de Sil-Oss®.

#### Biopsia 18-CRG-25 profundo

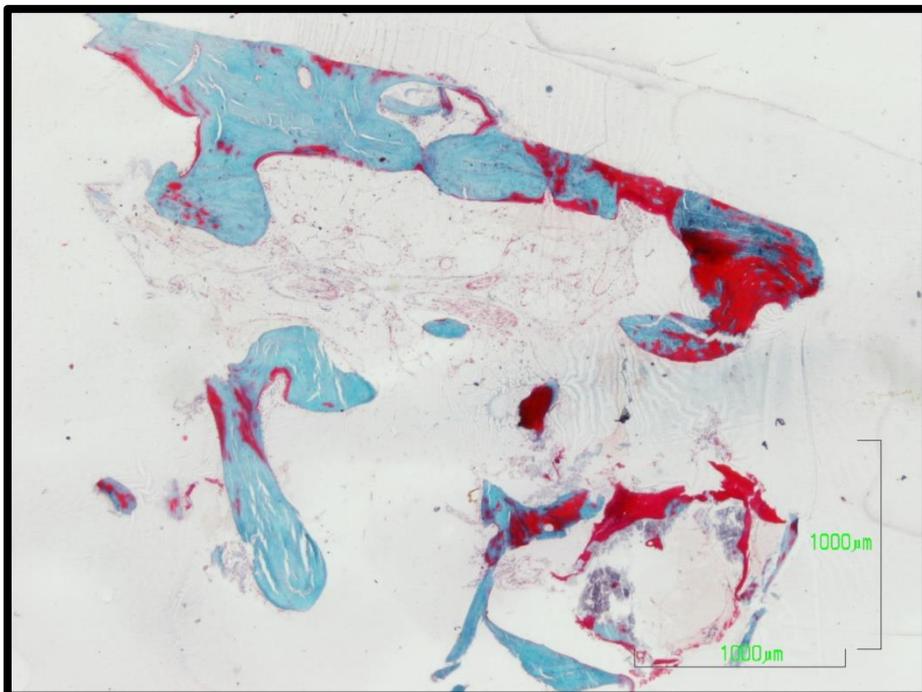


Fig.118. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Restos de material de gran tamaño pero escasos. Presentan centros de osificación. Notable deficiencia de mineralización. Muy poco hueso, el que hay es laminar y presenta médula adiposa. Mala biopsia.

## Biopsia 19-MIP-25

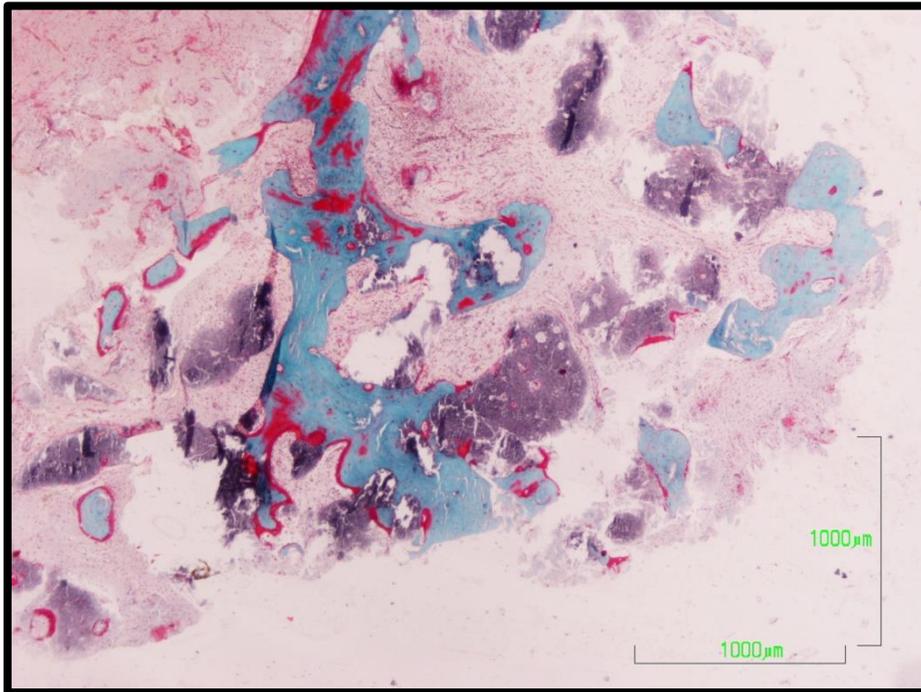


Fig.119. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Formación ósea con material osteointegrado, zonas no mineralizadas y osteocitos inmaduros. Zona superficial: predomina el tejido conectivo con algún foco inflamatorio. Zona profunda predominan los restos de material.

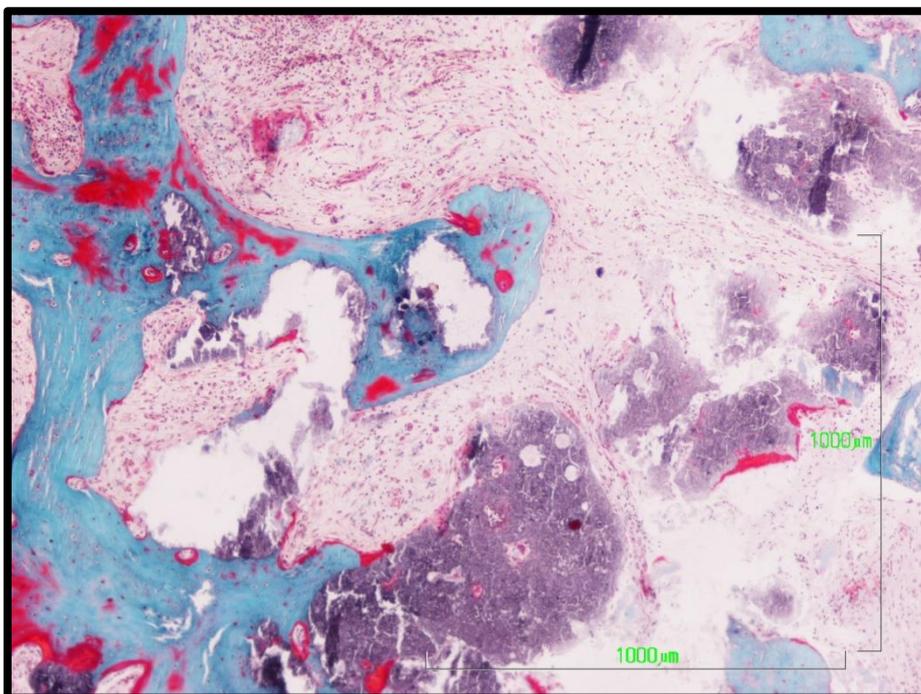


Fig.120. Tricrómico de Goldner. 10x. Hueso trabecular regenerado, con osteointegración de material. Osteocitos en lagunas inmaduras. Material no osteointegrado, con centros de osificación, con depósito de materia orgánica.

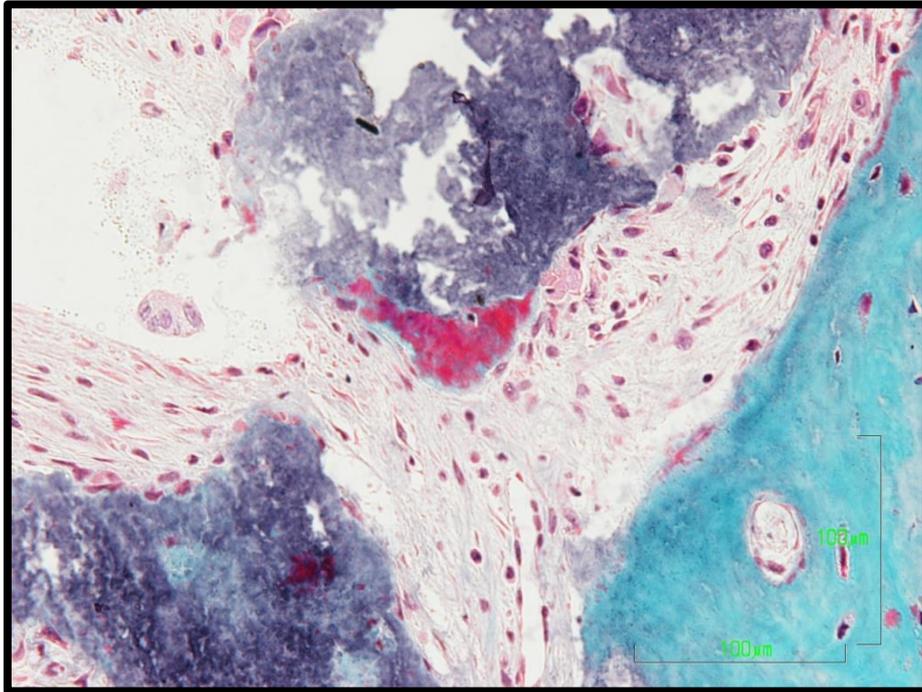


Fig.121. Tricrómico de Goldner. 20x. Depósito de materia orgánica en resto de material no osteointegrado. Colonización celular.

#### Biopsia 22-SMH-14

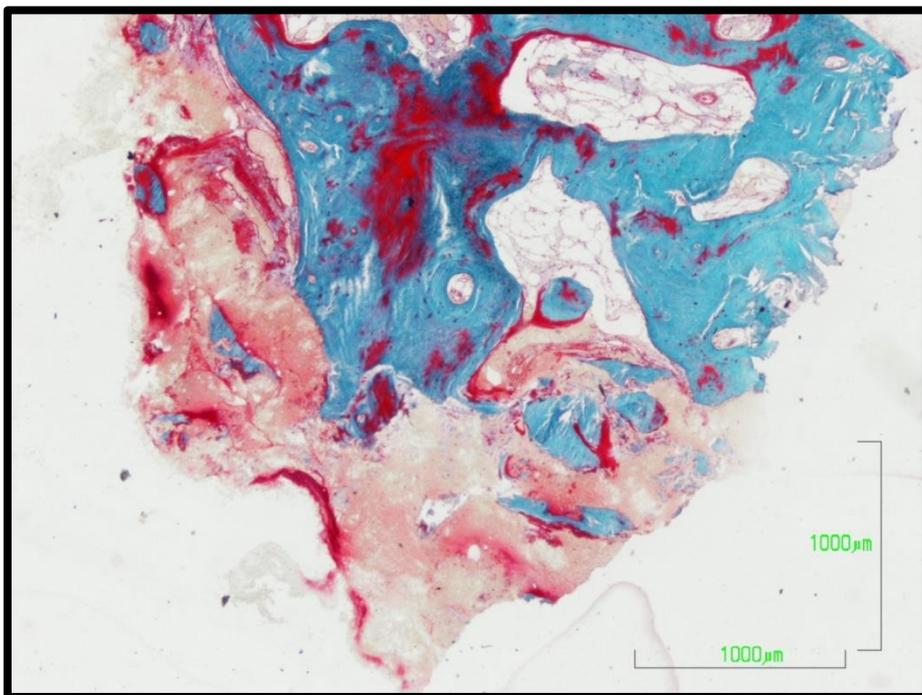


Fig.122. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Hueso trabecular maduro. Encontramos escasos restos de material que puede ser Sil-Oss®. Médula adiposa.

## Biopsia 22-SMH-24

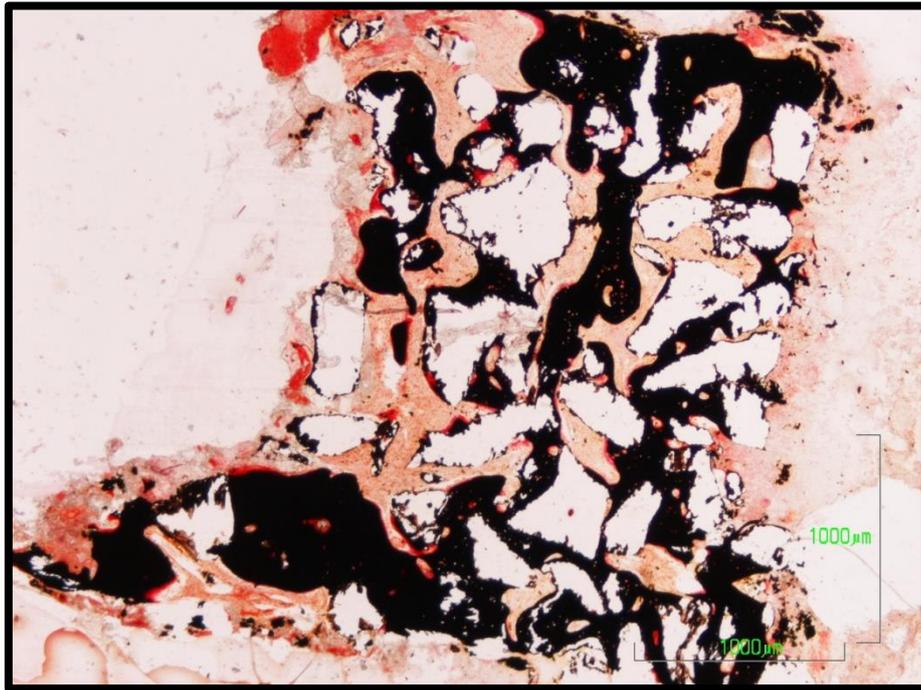


Fig.123. Von Kossa. 2x Panorámica. Hueso regenerado formando trabéculas estrechas, gran osteointegración de material. Formación característica de Bio-Oss®. También se detectan restos de material no osteointegrados.

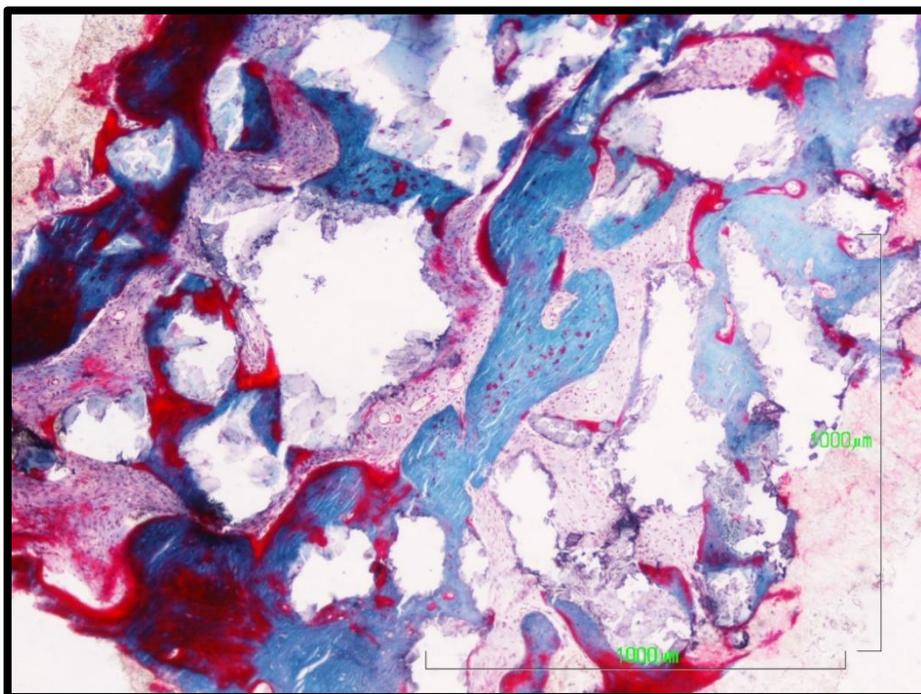


Fig.124. Tricrómico de Goldner. 4x. Hueso trabecular regenerado con osteocitos inmaduros. Osteointegración de material y material rodeado por tejido conectivo y componente celular inflamatorio. Hueso regenerado con líneas de osteoide y zonas no calcificadas.

Biopsia 23-JRV-14

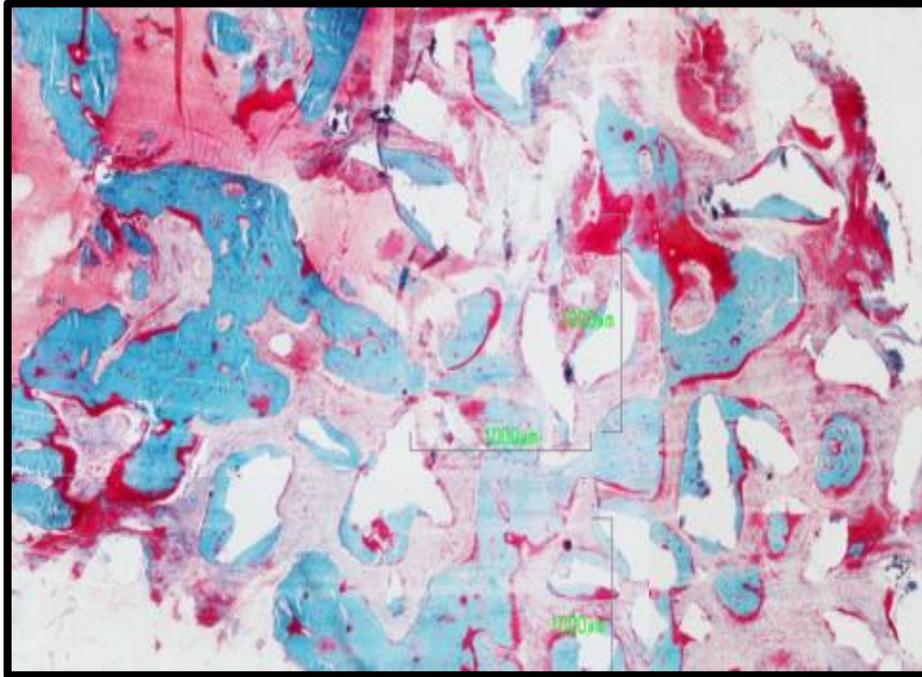


Fig.125. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Hueso regenerado: trabéculas gruesas, osteoide. Material osteointegrado. Material no osteointegrado rodeado por tejido conectivo denso.

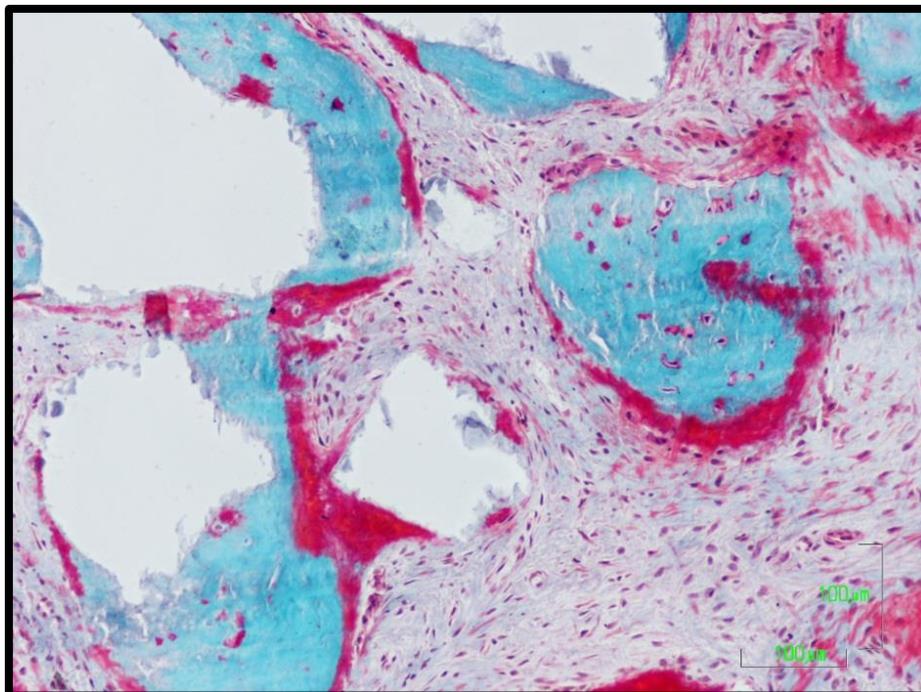


Fig.126. Tricrómico de Goldner. 10x. Material osteointegrado. Línea osteoide. Tejido conectivo denso.

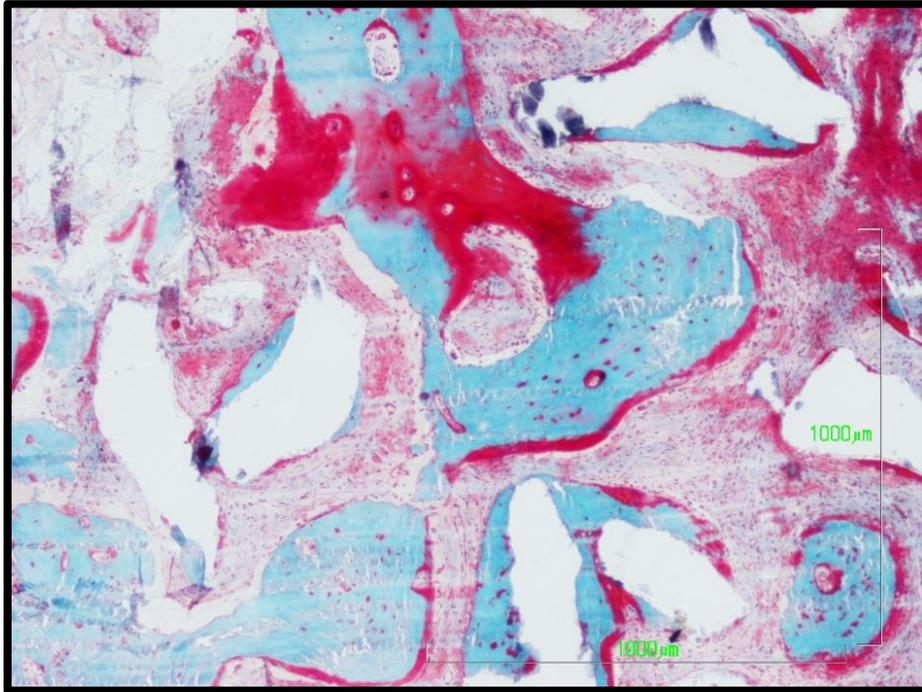


Fig.127. Tricrómico de Goldner. 4x. Hueso trabecular regenerado con trabéculas gruesas y material osteointegrado. Zonas con deficiencia de mineralización.

**Biopsia 23-JRV-25**

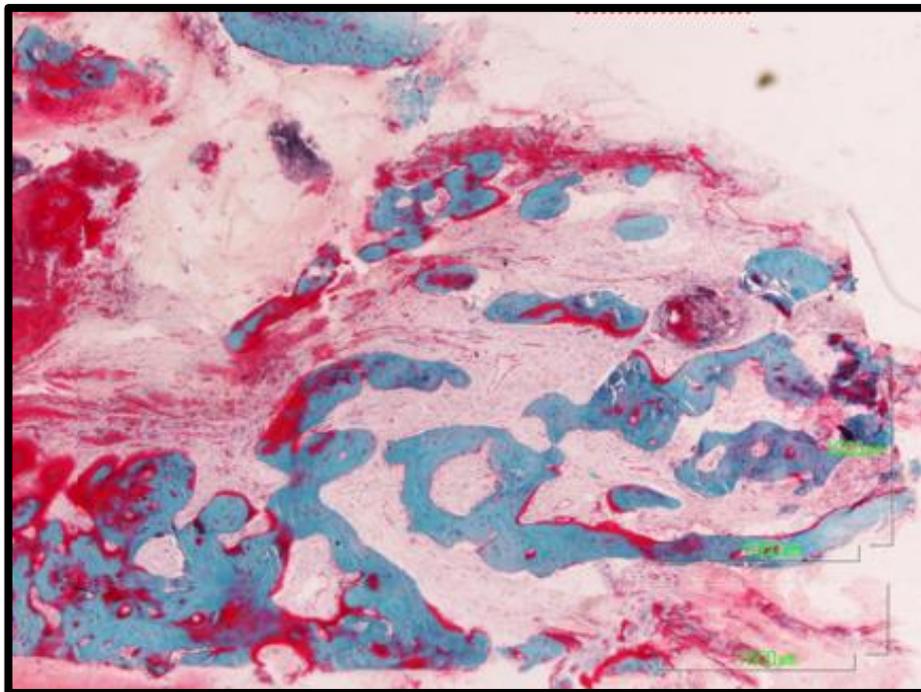


Fig.128. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Escasos restos de material. Desarrollo de tejido conectivo denso altamente vascularizado en la zona superficial. Inflamación.



Fig.129. Tricrómico de Goldner. 4x. Grueso osteoide y canales vasculares. Osteocitos en lagunas inmaduras.

#### Biopsia 24-CIP-25

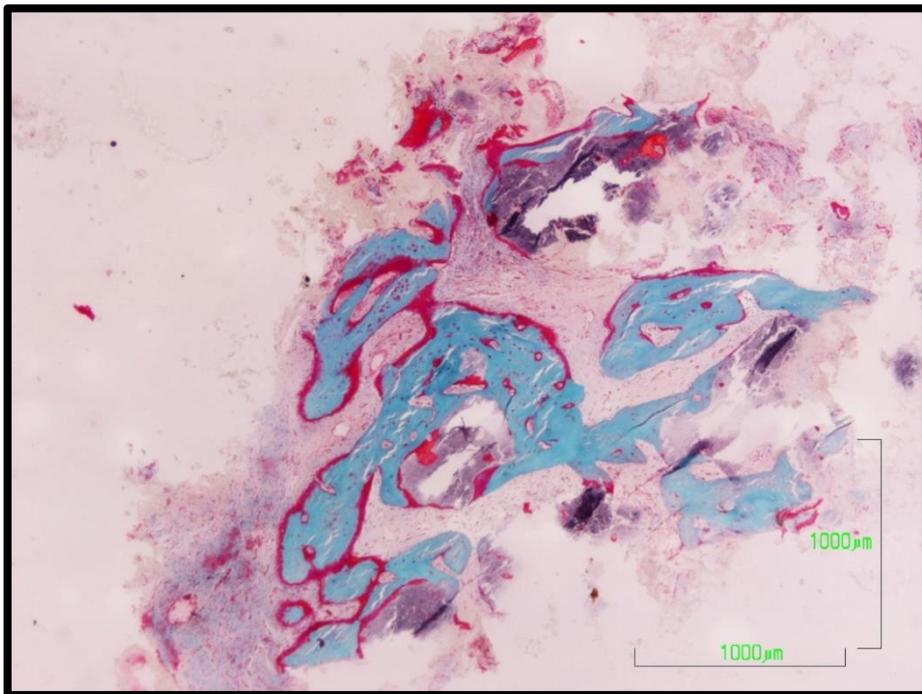


Fig.130. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Grandes restos de material. Hueso regenerado, gruesas líneas de osteoide, cavidades vasculares, osteocitos inmaduros y material osteointegrado.

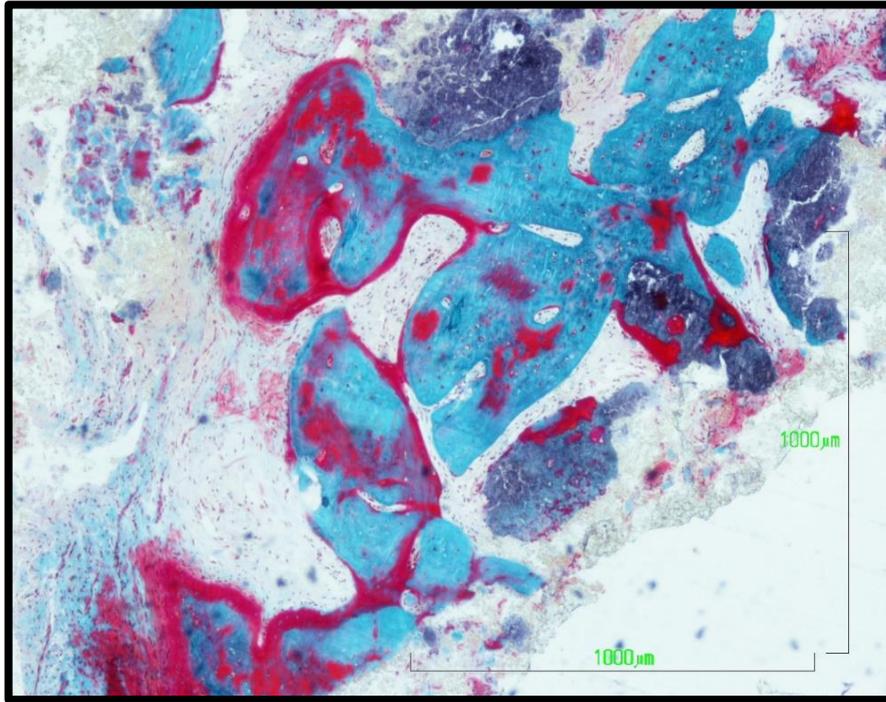


Fig.131. Tricrómico de Goldner. 4x. Hueso regenerado. Osteoide y zonas no mineralizadas. Osteointegración material.

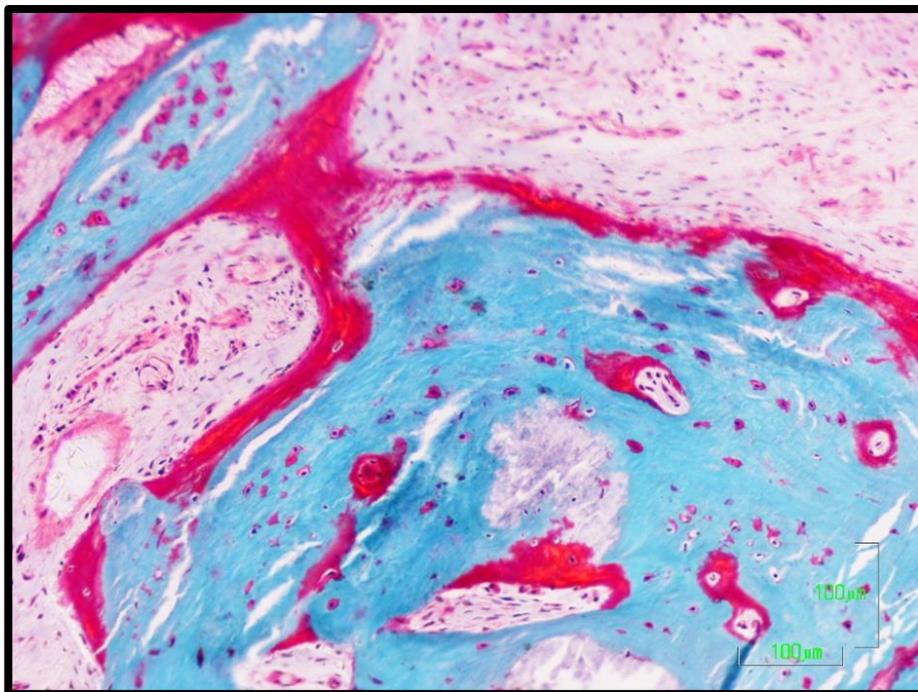


Fig.132. Tricrómico de Goldner. 10x. Hueso regenerado con material osteointegrado. Osteocitos inmaduros, gruesas líneas de osteoide sobre superficie trabecular. Tejido conectivo vascularizado.

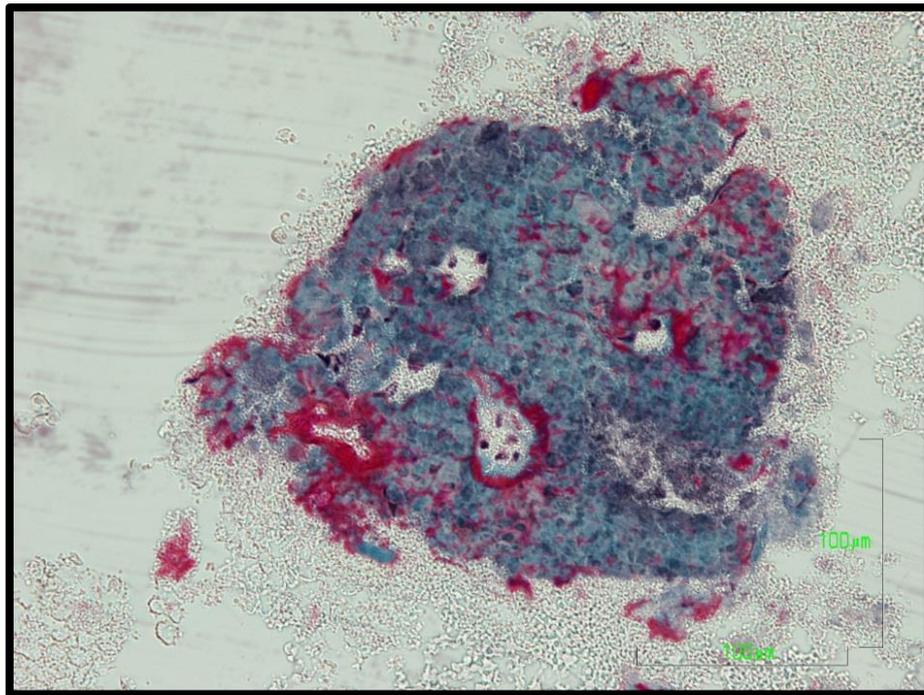


Fig.133. Tricrómico de Goldner. 20x. Material aislado con colonización celular y depósitos de materia orgánica.

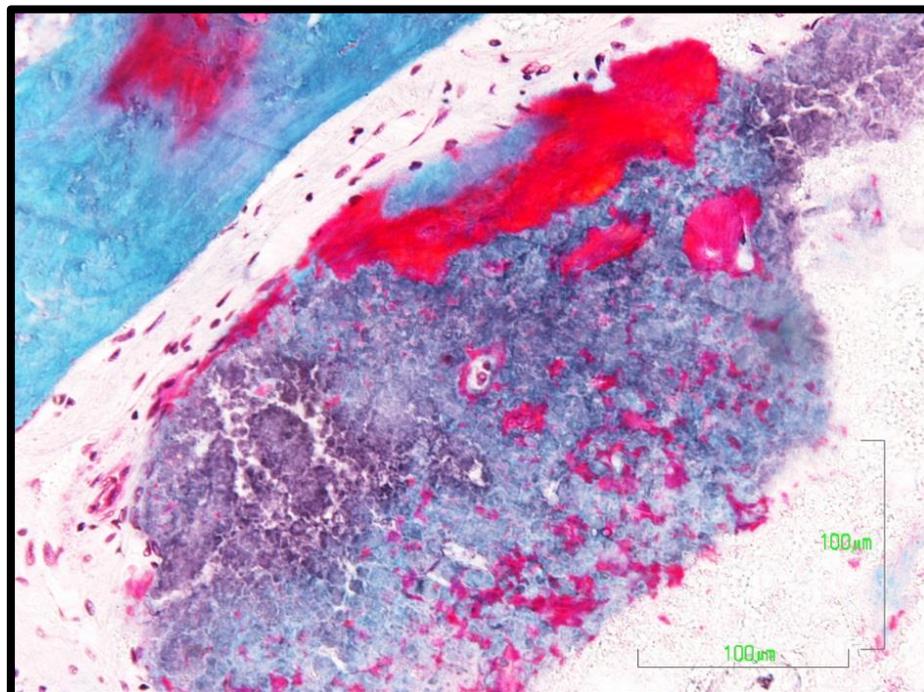


Fig.134. Tricrómico de Goldner. 20x. Material aislado con colonización celular y depósitos de materia orgánica. Osteoformación.

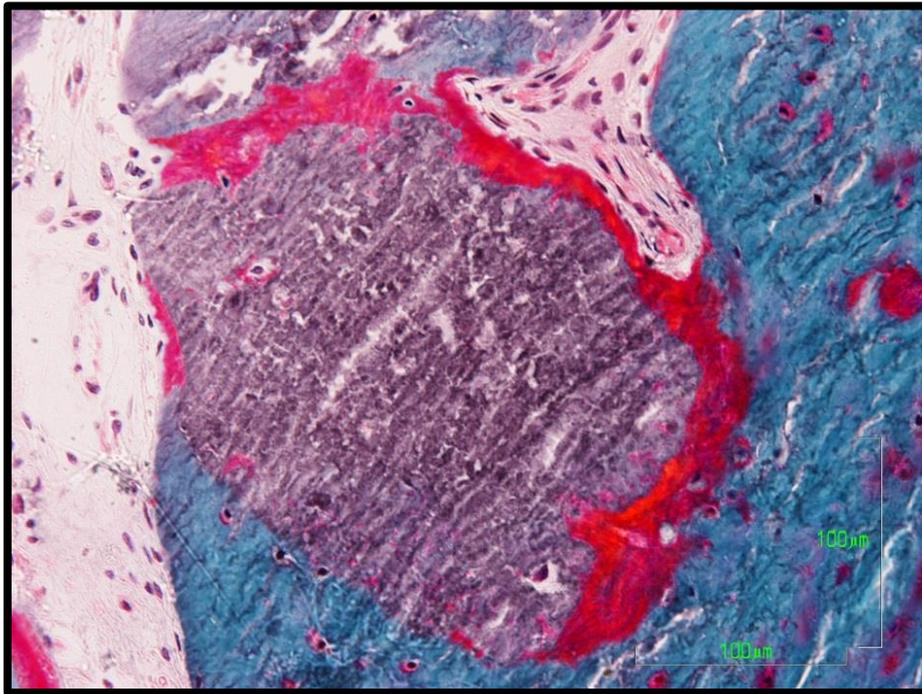


Fig.135. Tricrómico de Goldner. 20x. Material osteointegrado, con colonización celular y depósitos de materia orgánica.

#### Biopsia 25-FSH-25

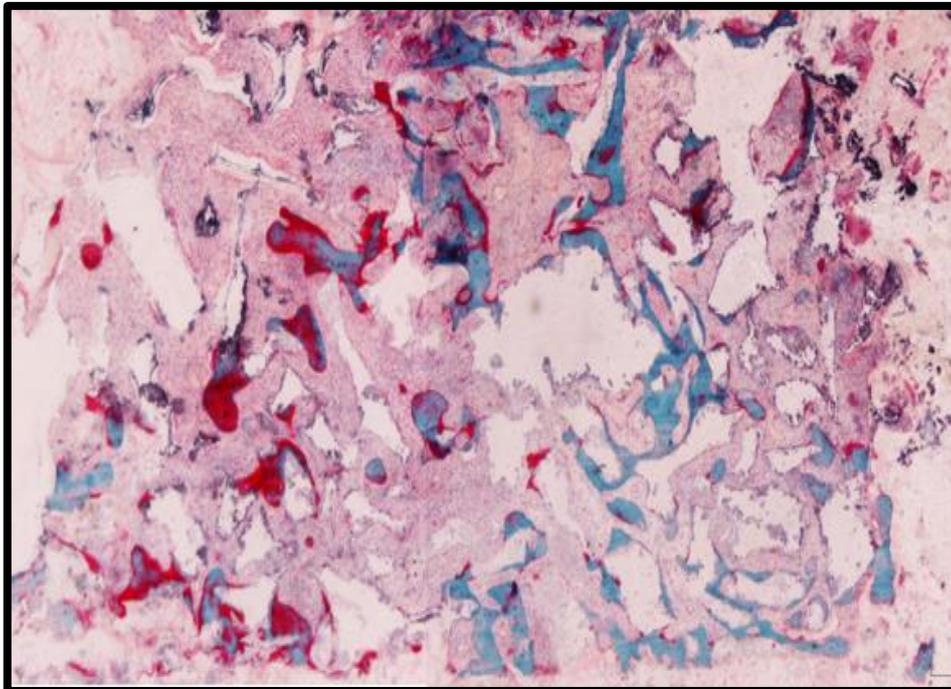


Fig.136. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Numerosos restos de Bio-Oss® y escasa formación ósea. Material rodeado por tejido conectivo.

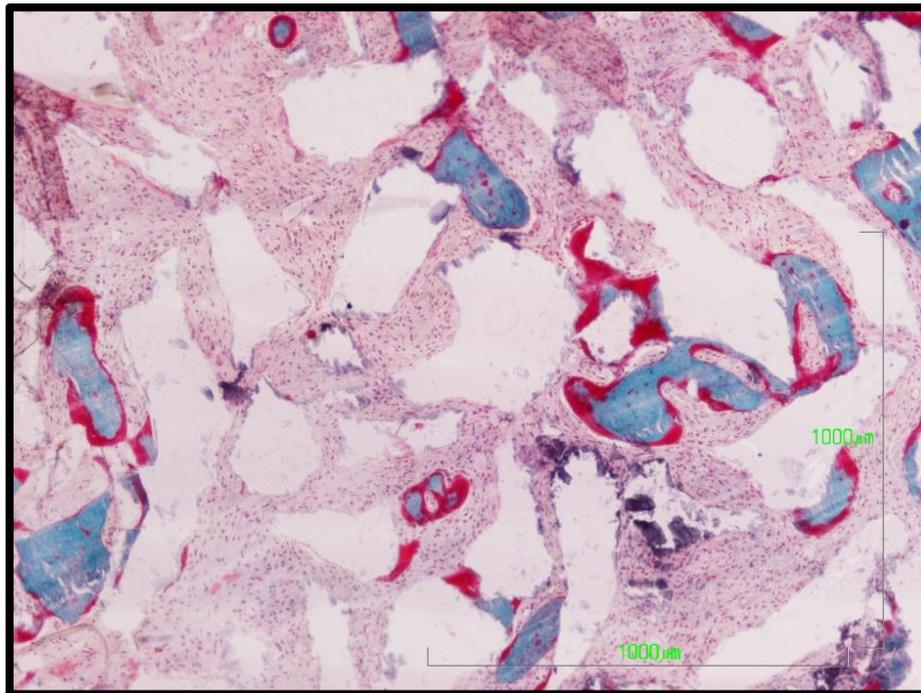


Fig.137. Tricrómico de Goldner. 4x .Predominio material no osteointegrado rodeado por tejido conectivo con cierto componente inflamatorio. Trabéculas regeneradas con material osteointegrado, zonas de osteoide.

#### Biopsia 26-AGP-14

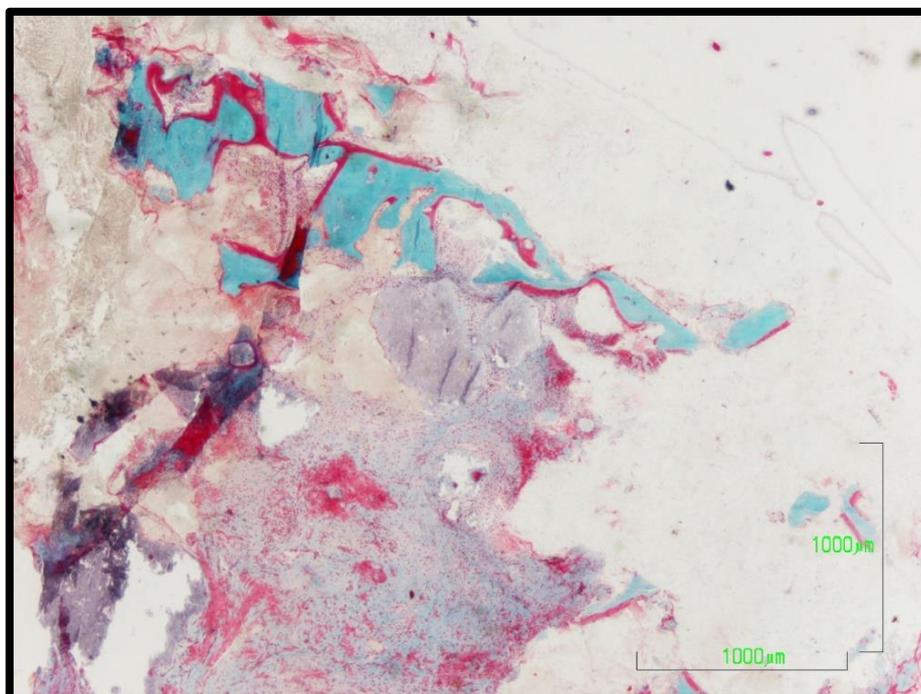


Fig.138. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Desarrollo de tejido conectivo denso con grandes restos de material no osteointegrado. Componente celular de tipo inflamatorio crónico. Hemorragia.

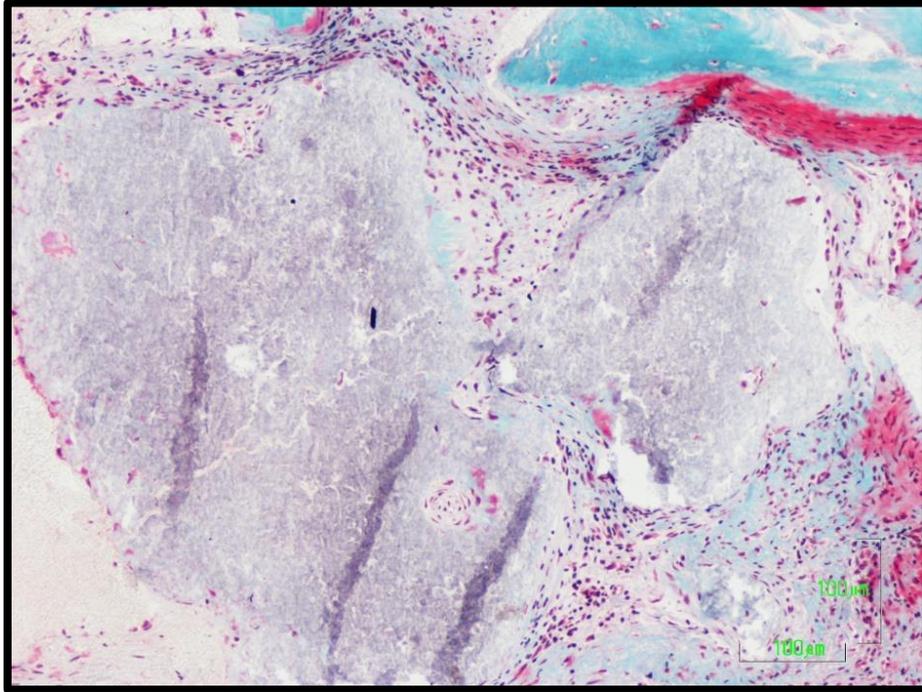


Fig.139. Tricrómico de Goldner. 10x. Gránulos no osteointegrados, rodeados por tejido conectivo con infiltrado inflamatorio crónico. Escasa colonización celular en los restos de material.

#### Biopsia 27-MJL-14

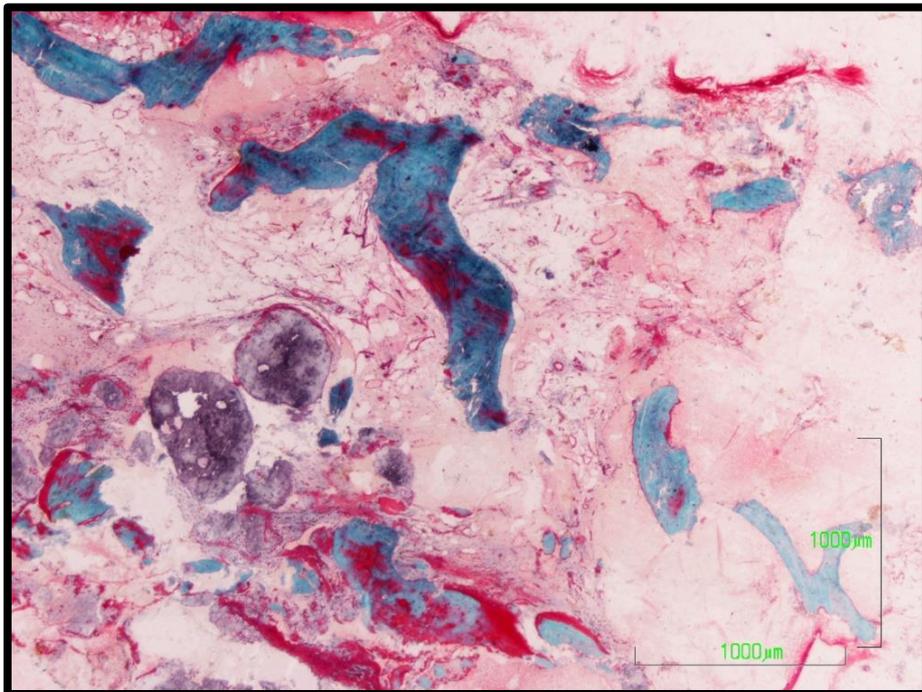


Fig.140. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Hueso con orientación diferente. Predominio de grandes restos de material no osteointegrados rodeados por tejido conectivo denso, tejido adiposo y componente celular inflamatorio.

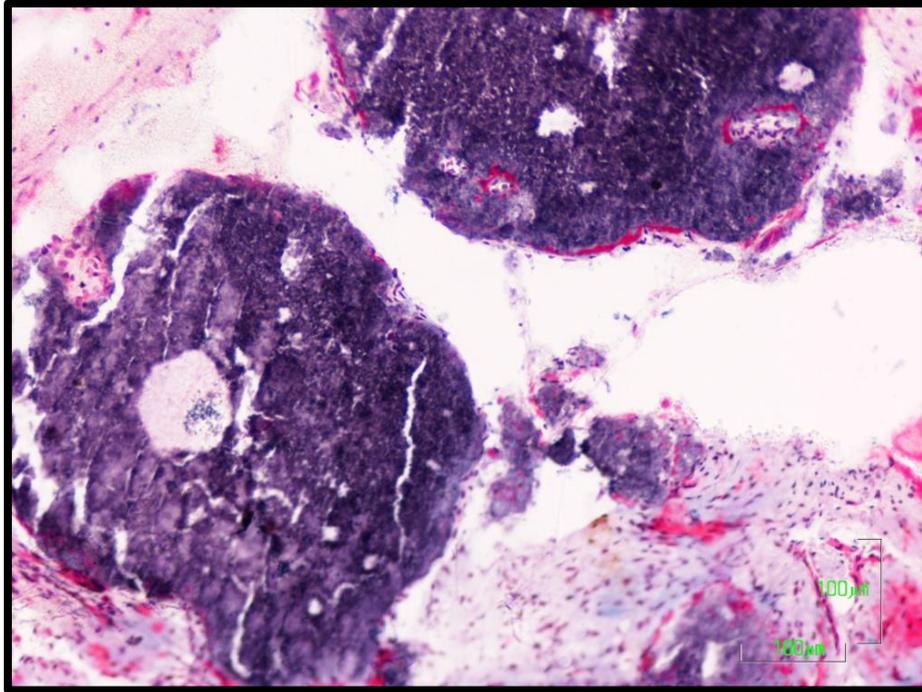


Fig.141. Tricrómico de Goldner. 10x. Material no osteointegrado con escasos centros de osificación.

#### Biopsia 28-CMC-25

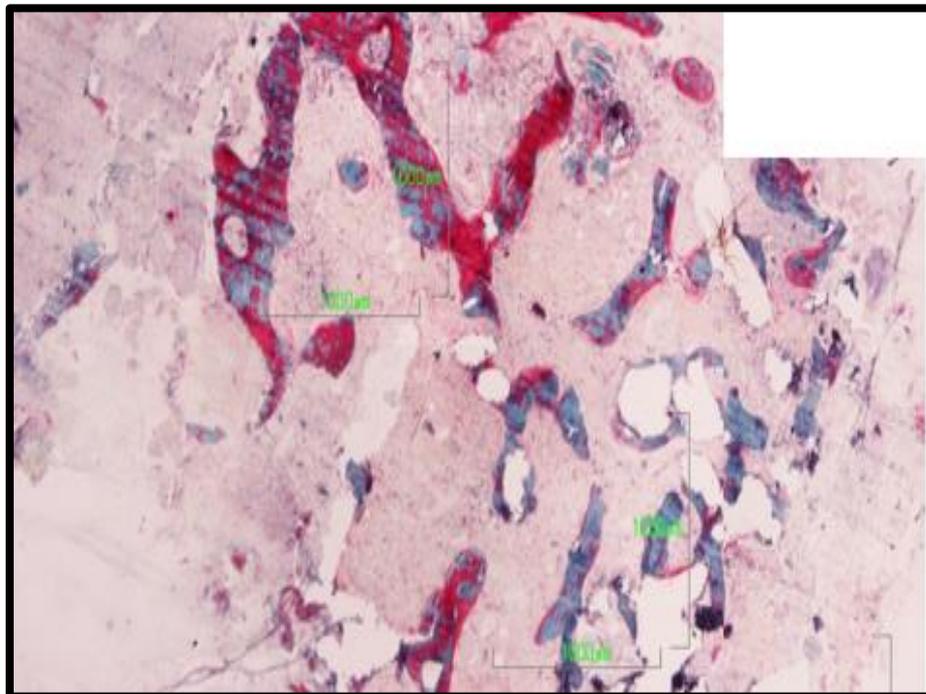


Fig.142. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Zona superficial predominio de tejido conectivo con algún resto de material no osteointegrado. Zona más profunda escaso hueso trabecular con osteointegración de material. Hueso no mineralizado. Algún foco inflamatorio.

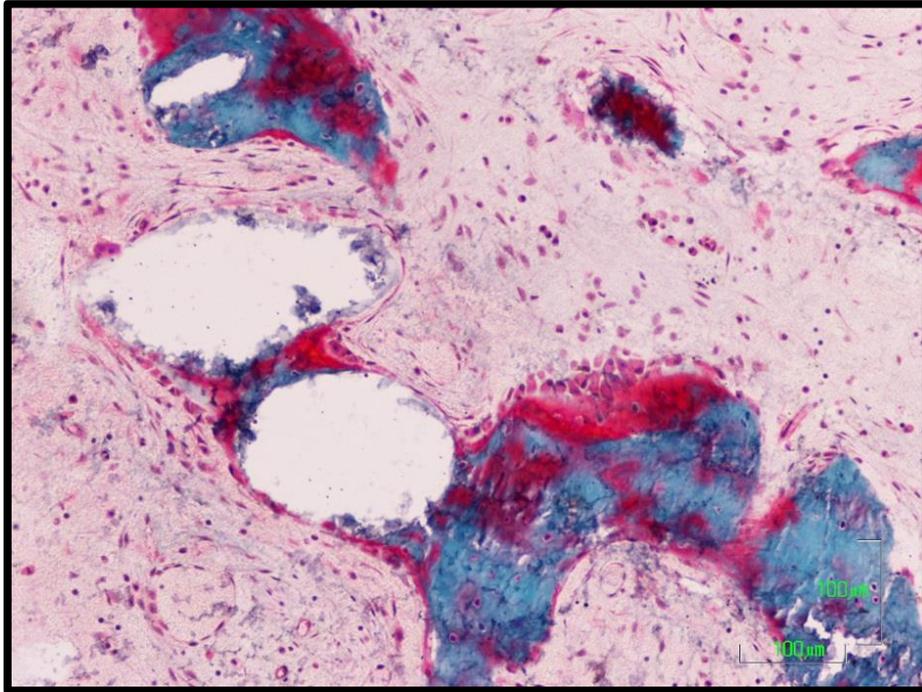


Fig.143. Tricrómico de Goldner. 10x. Material osteointegrado. En médula ósea: tejido conectivo vascularizado.

**Biopsia 31-JGR-15**

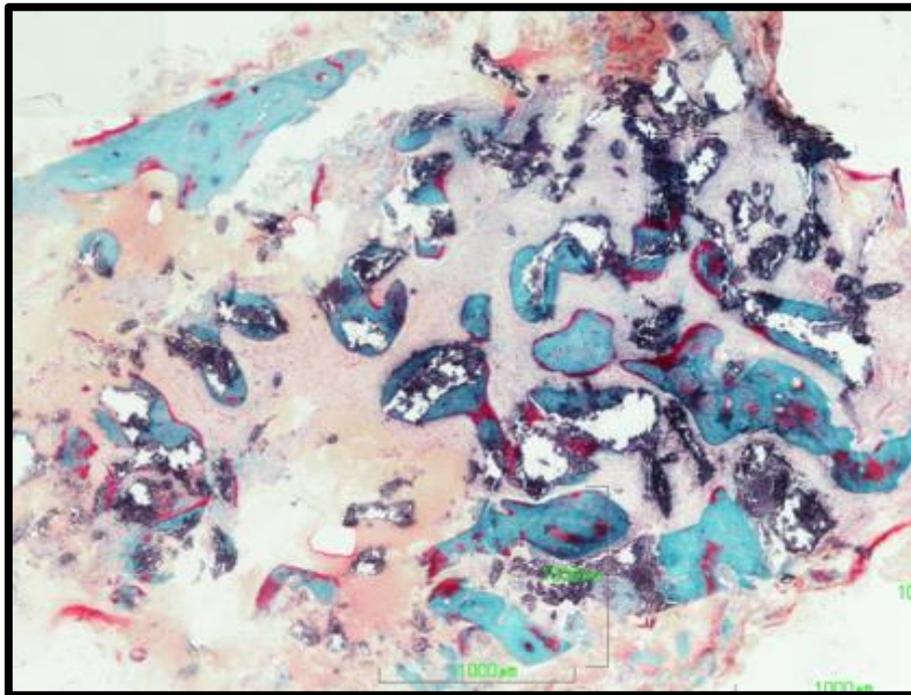


Fig.144. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Restos de material osteointegrados y no. Hueso con zonas de grueso osteoide y zonas no mineralizadas.

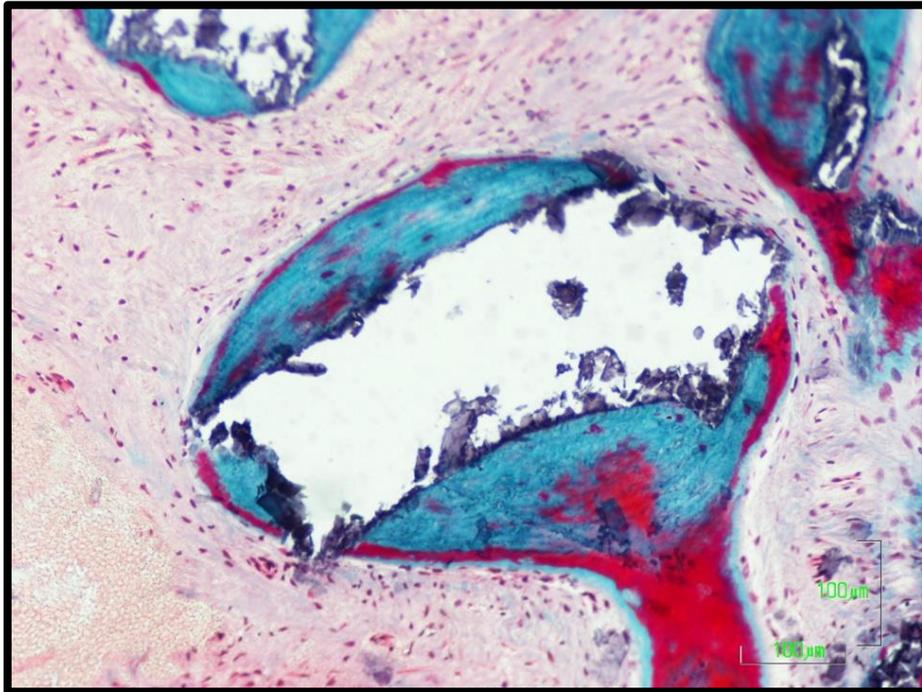


Fig. 145. Tricrómico de Goldner. 10x. Material osteointegrado. Desarrollo de tejido conectivo con componente celular inflamatorio.

#### Biopsia 31-JGR-24

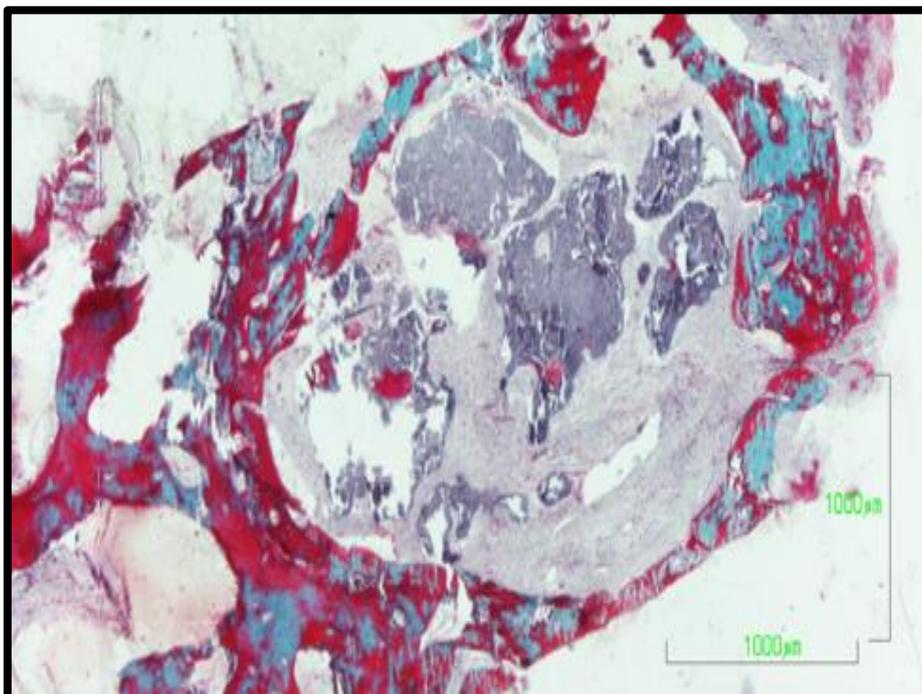


Fig. 146. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Grandes restos de material no osteointegrados. Centros de osificación en gránulos de material. Desarrollo de tejido conectivo de tipo inflamatorio.

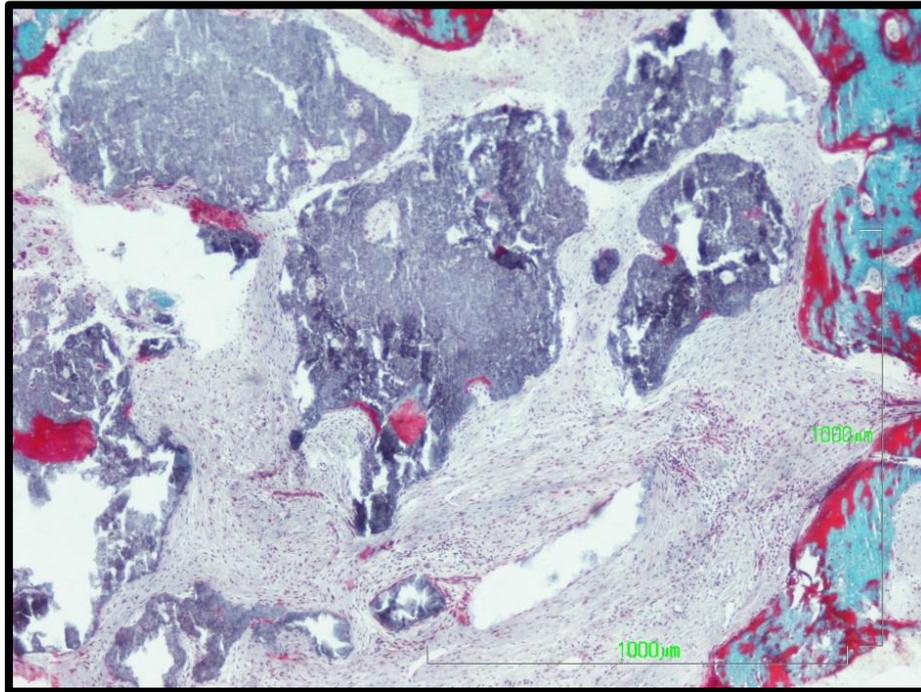


Fig. 147. Tricrómico de Goldner. 4x. Restos de material rodeados por tejido conectivo con celularidad inflamatoria

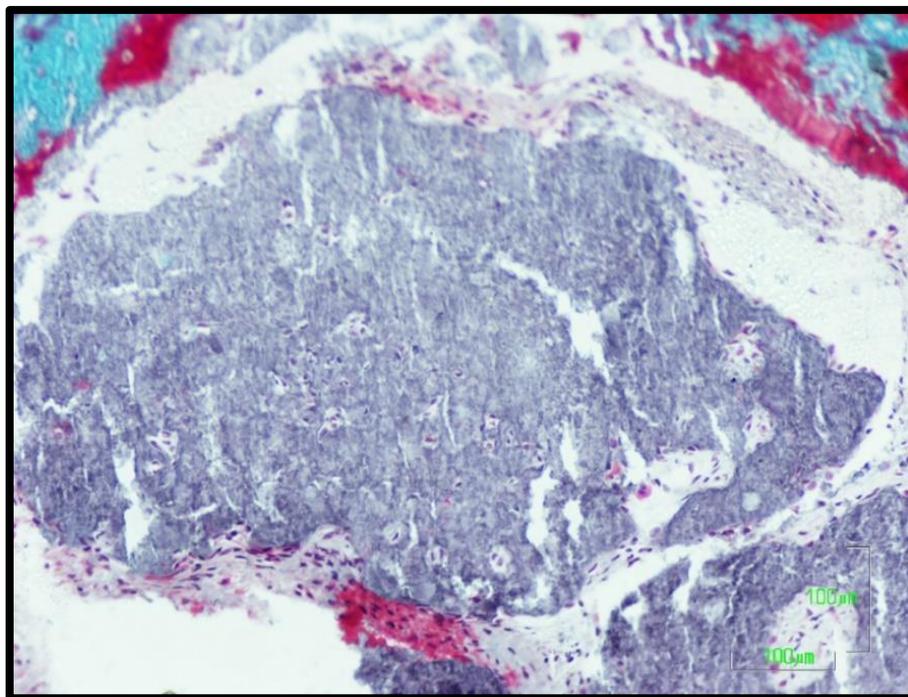


Fig. 148. Tricrómico de Goldner. 10x. Restos de material con colonización celular pero no centros de osificación.



Fig.149. Tricrómico de Goldner. 20x. Centro de osificación en resto de material no osteointegrado.

#### Biopsia 32-MRB-24

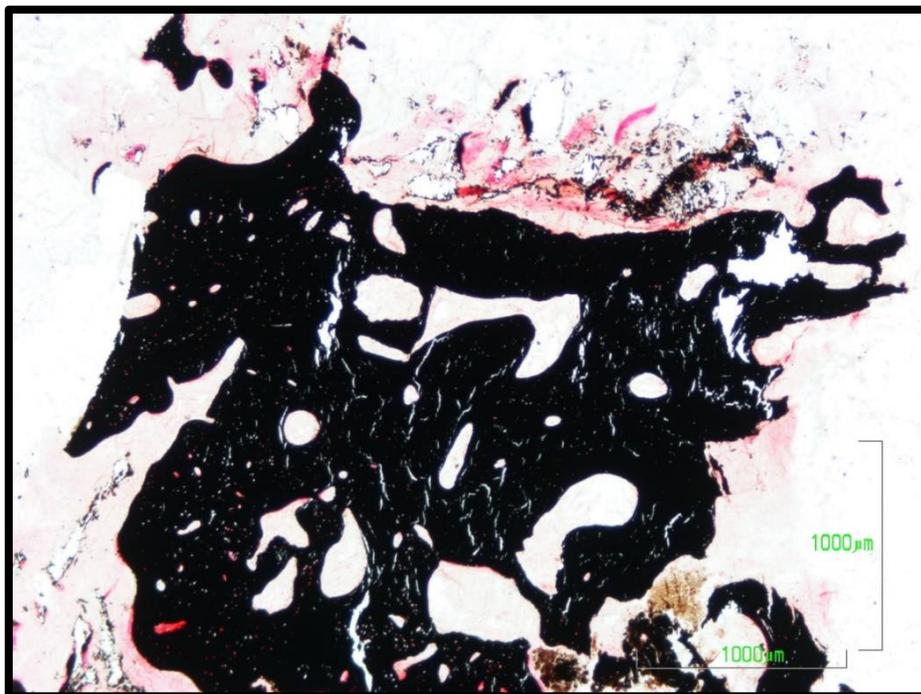


Fig.150. Von Kossa. Hueso quiescente y compacto. Aparecen restos de Bio-Oss® en la zona superficial y en la más profunda, puede que se haya tomado mal la biopsia. Material no osteointegrado rodeado por tejido conectivo.

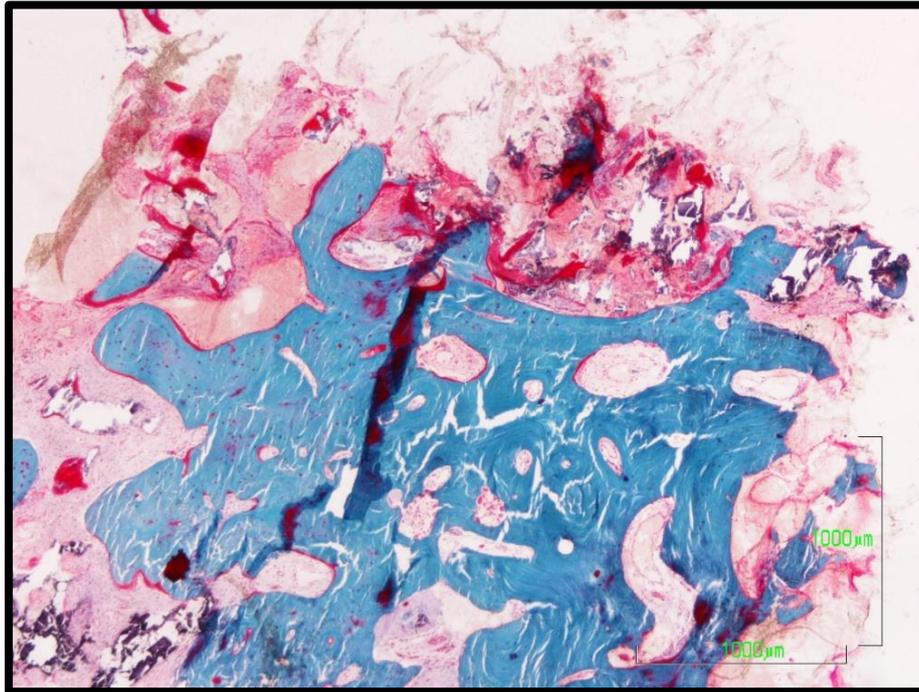


Fig.151. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x.

Biopsia 33-SBG-14

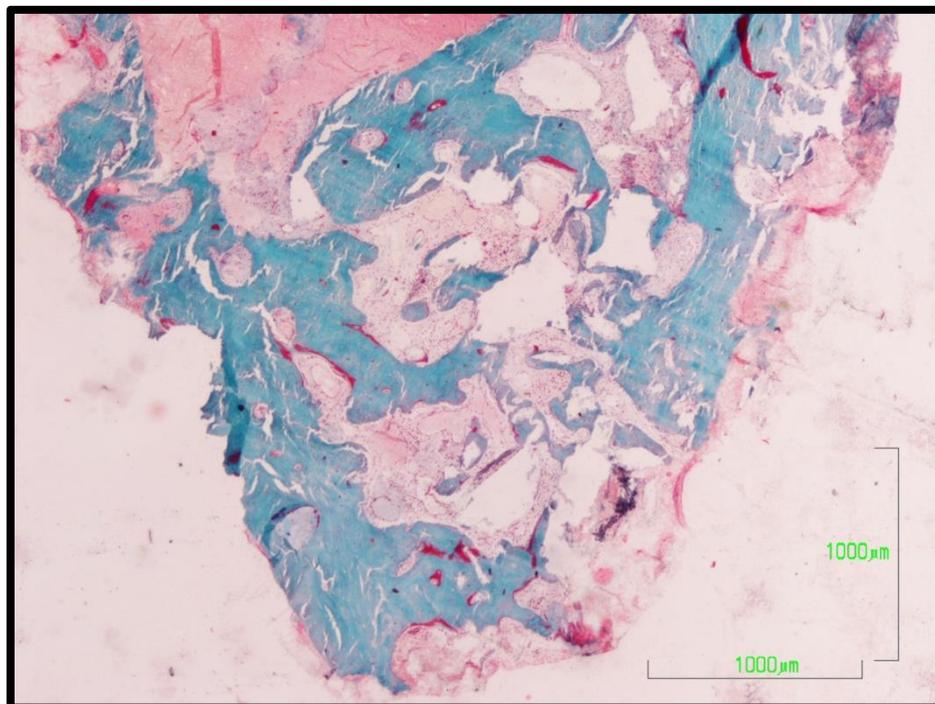


Fig.152. Tricrómico de Goldner. Panorámica 2x. Restos de material osteointegrado y no osteointegrado, rodeados por tejido conectivo vascularizado. La superficie del material en contacto con tejido blando presenta células multinucleadas.

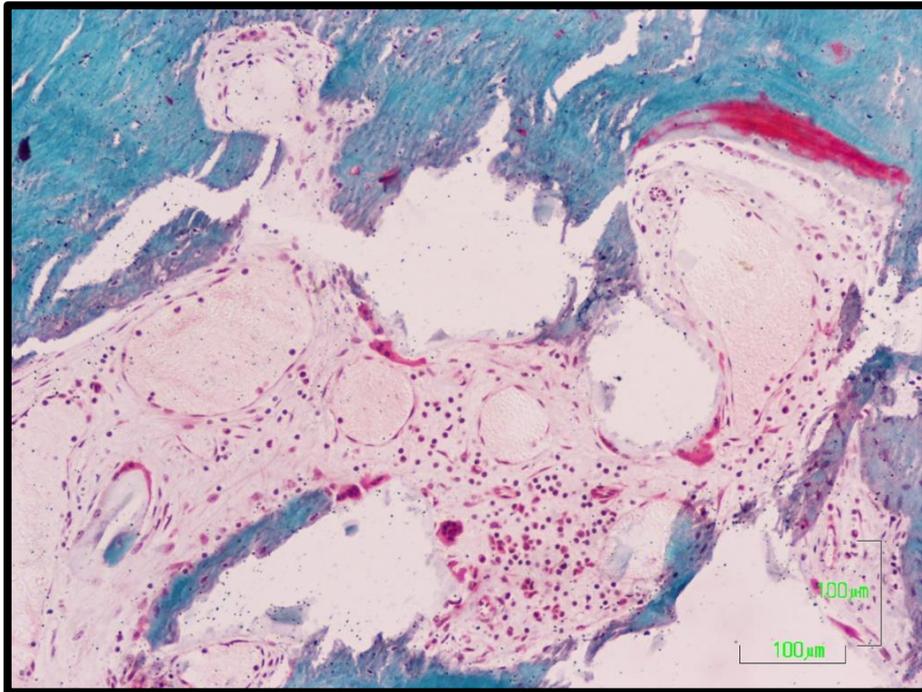


Fig.153. Tricrómico de Goldner. 10x. Material osteointegrado, con células multinucleadas sobre su superficie no rodeada por hueso. Médula: desarrollo de tejido conectivo vascularizado y focos inflamatorios.

### 5.1- Análisis de resultados histológicos.

Observando los datos histológicos obtenidos podemos determinar que tanto el grupo control, como el grupo experimental han presentado gran invasión de tejido conectivo oral.

No obstante y a pesar de este hecho, analizando los valores osteointegradores e histomorfométricos obtenidos, podemos determinar que Sil-Oss® es eficaz en la regeneración del tejido óseo.

En un gran número de casos el material Sil-Oss® se ha osteointegrado con el tejido óseo adyacente, permitiendo la formación de un andamio temporal que favorece la invasión y atracción de células osteoformadoras.

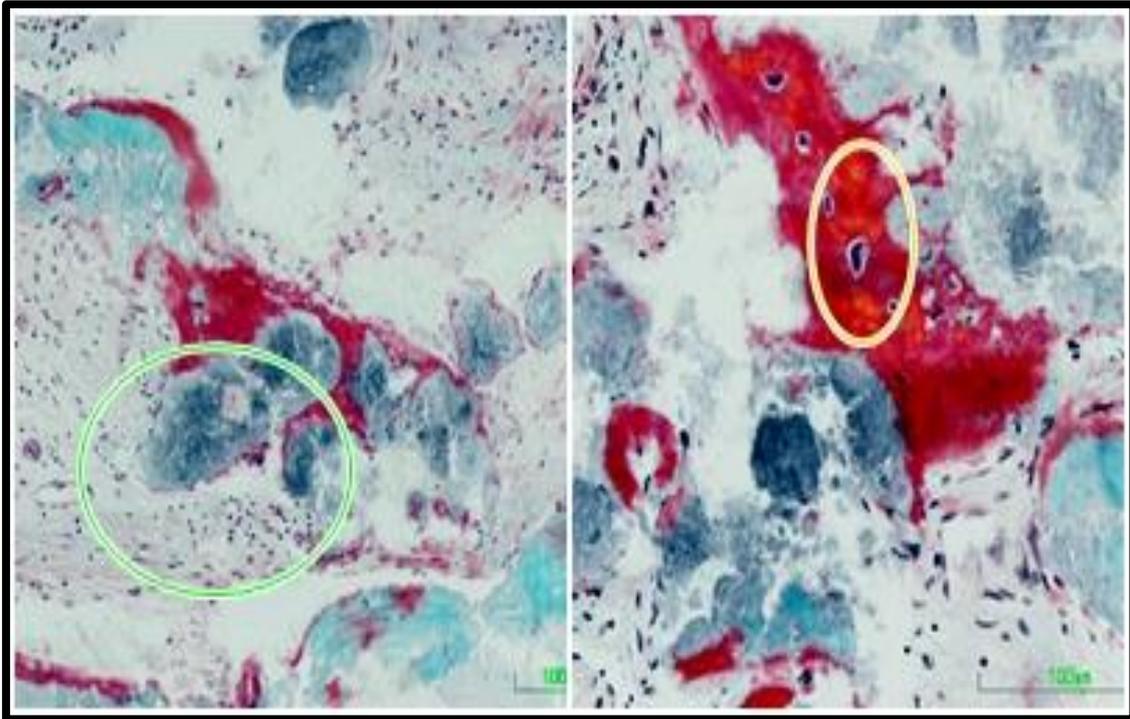


Fig.154. Imagen histológica de partícula de Sil-Oss® osteointegrada.

En esta imagen (Figura 154) puede observarse la integración de los gránulos de Sil-Oss® con el hueso adyacente, tal y como muestra el círculo verde. A mayor aumento se observa sustancia osteoide en cuya matriz ósea puede determinarse la presencia de células osteoblásticas (círculo amarillo).

Se puede observar la presencia de un depósito de matriz orgánica ósea sobre las partículas de Sil-Oss® osteointegrada. Existiendo celularidad en la matriz.

El potencial neoformador de Sil-Oss® se pone de manifiesto en esta muestra donde puede observarse la formación de una espícula ósea de nueva formación. Existiendo gruesos frentes osteoides formadores de hueso (Figura 155).

Este material osteointegrado en hueso primario presenta osteocitos inmaduros, y zonas de hueso no mineralizadas.

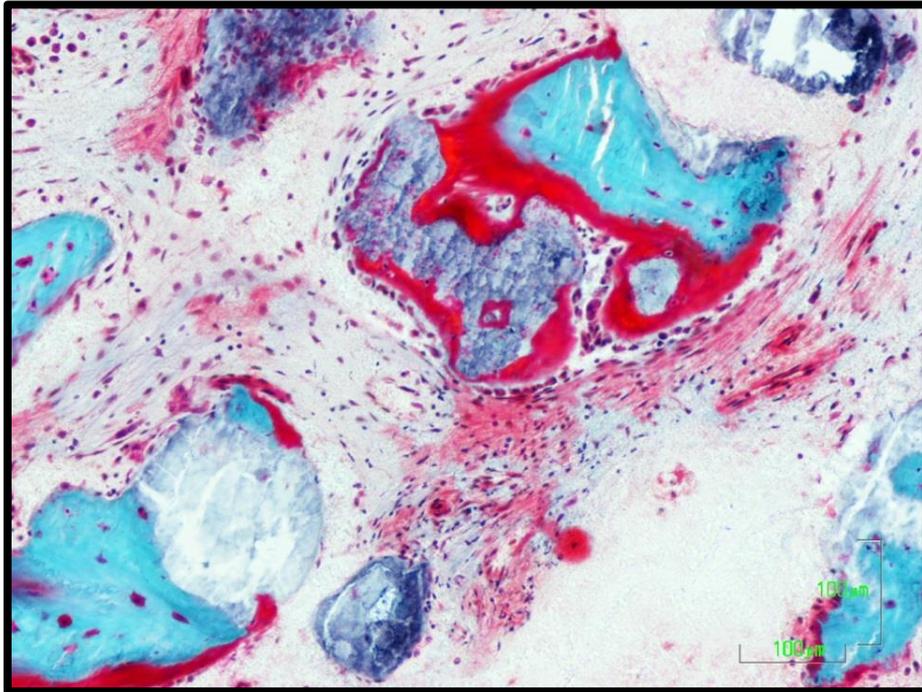


Fig.155. Espícula ósea neoformada a partir de Sil-Oss®.

Se observan muestras en las que existen restos de material que presentan centros de osificación. Advirtiéndose fenómenos de invasión celular ósea, áreas de nueva formación ósea, y frentes osteoblásticos con osteoide sobre la superficie del material.

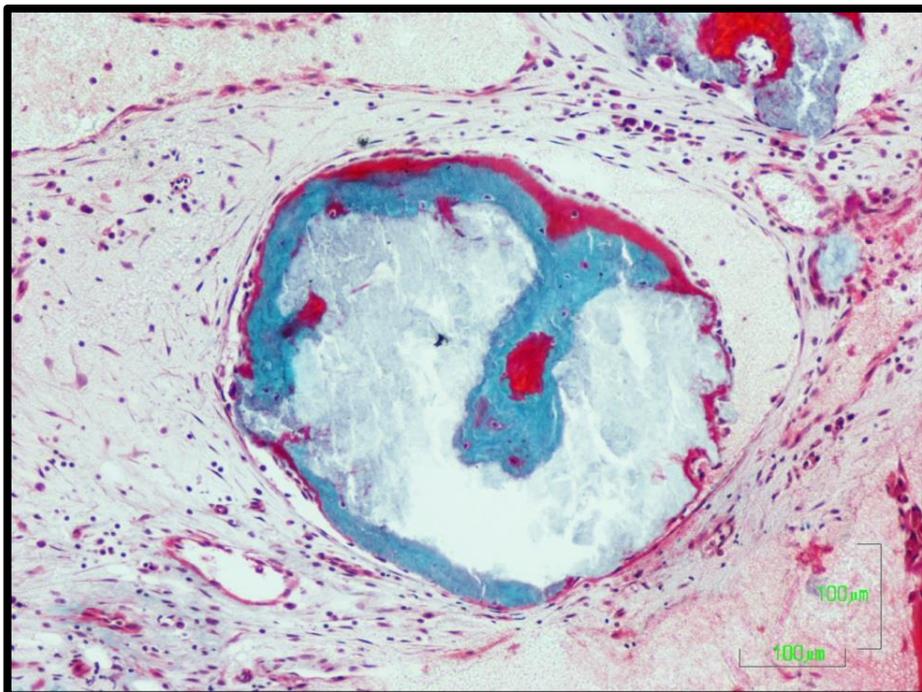


Fig.156. Depósito de matriz ósea sobre gránulo de Sil-Oss®.

Además determinados restos de Sil-Oss® están rodeados por trabéculas óseas deficientes de mineralización lo que corrobora su potencial osteoformador (Figura 157).

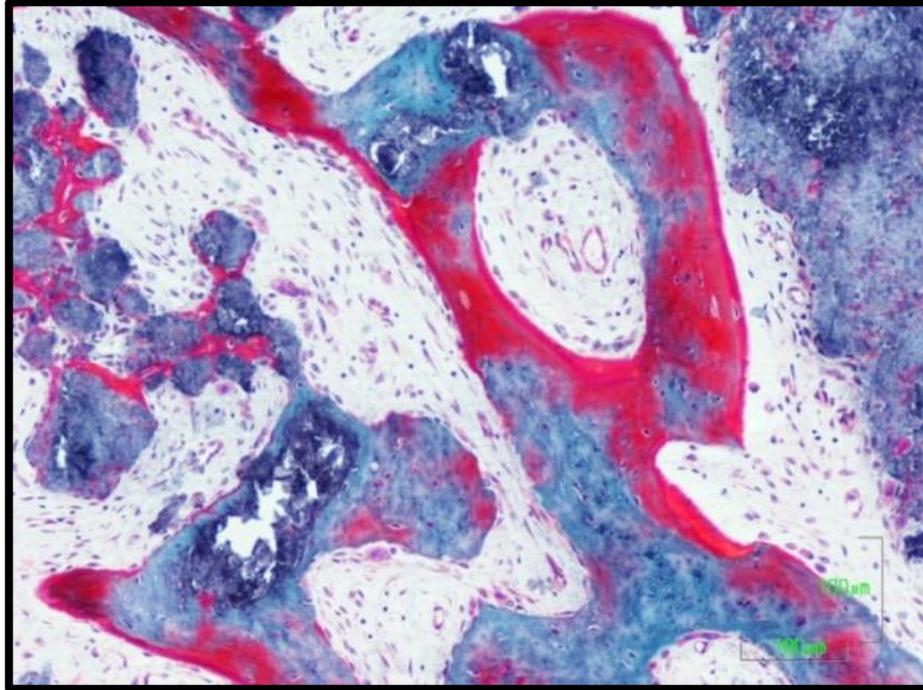


Fig.157. Trabécula con deficiencia de mineralización y material osteointegrado.

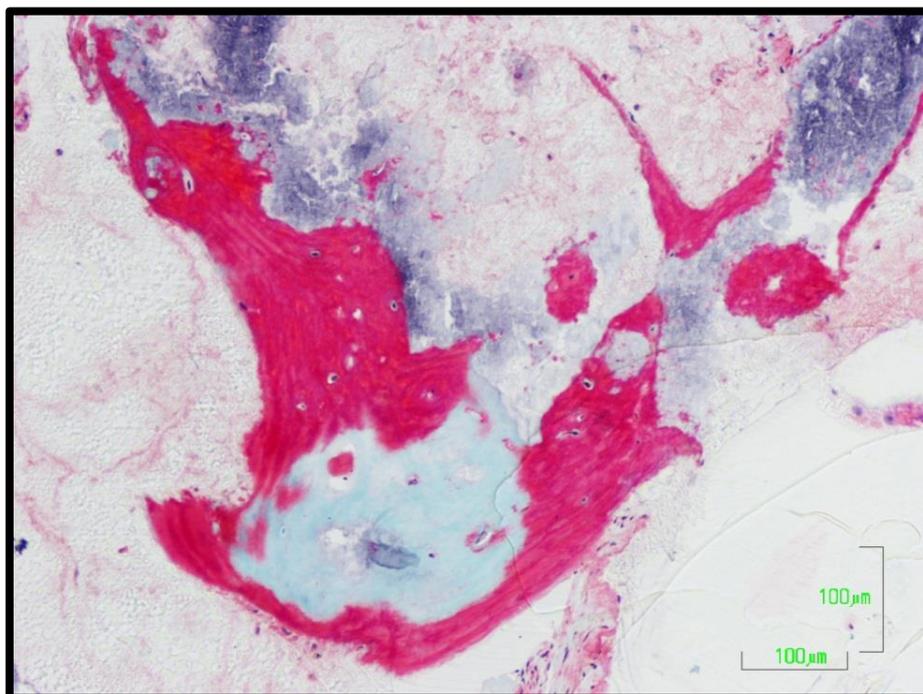


Fig.158. Matriz orgánica ósea alrededor el material. Zona de hueso neoformado.

En cuanto a la atracción osteoblástica del material, Sil-Oss®, mostró mayor poder osteoinductivo, con la formación de frentes osteoblasticos de osificación a nivel inter e intragranular (Figura 159).

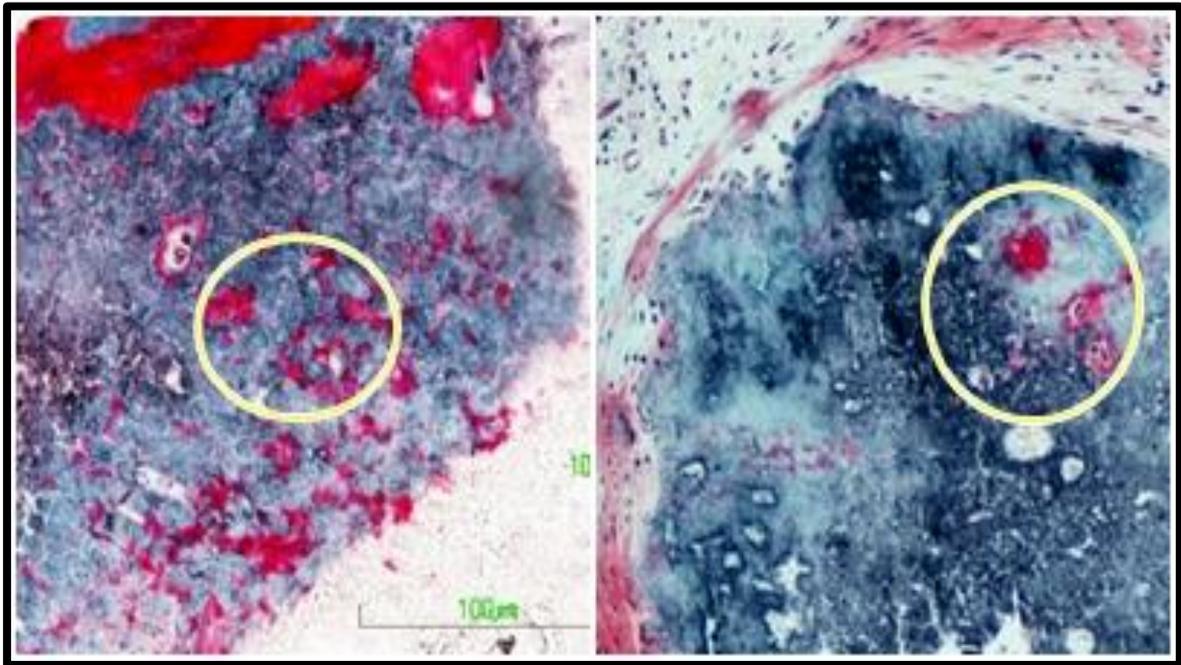


Fig.159. Colonización celular en interior de gránulo de Sil-Oss®.

Este hecho confirma la eficacia del material Sil-Oss® como material osteoinductivo, ya que en algunos casos, a pesar de no presentar osteointegración promueve la atracción y proliferación osteoblástica en el interior del material.

También en alguna de las muestras se observa grupos de osteoclastos sobre la superficie de Sil-Oss® (Figura 160), evidenciando la reabsorción dual que presenta este material, por una lado la propia disolución de sus componentes en contacto con el medio biológico, y la acción de las células resorptivas sobre los propios gránulos de Sil-Oss®.

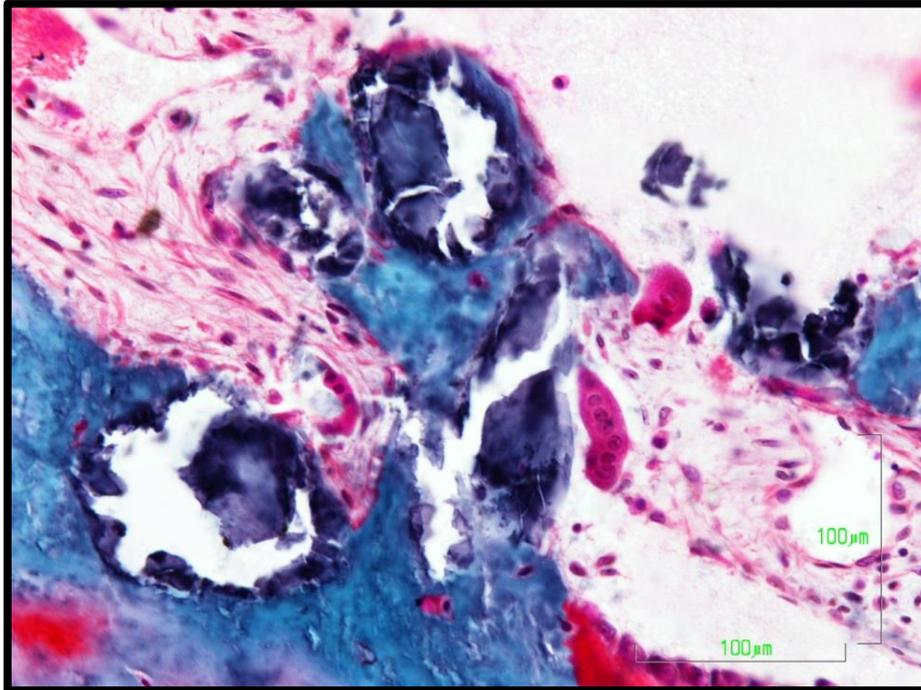


Fig.160. Osteoclastos sobre superficie de gránulo de Sil-Oss® osteointegrado.

Podemos determinar por lo tanto que Sil-Oss® es un material histológicamente eficiente para la formación de neohueso a partir de los gránulos implantados.

Esto se debe a que Sil-Oss® :

- Presenta osteointegración de sus gránulos con el tejido óseo circundante.
- Forma un andamiaje temporal eficaz para las células formadoras de hueso, permitiendo su colonización.
- Tiene carácter osteoinductivo, ya que en gran número de muestras existen frente osteoblásticos.
- La porosidad intergranular e intragranular del material confiere un medio óptimo para la proliferación de los osteoblastos, formando centros de osificación dentro del propio material.
- Es biológicamente destruido por las células osteoclasticas, lo que evidencia su reabsorción dual.

## 6. - EVALUACIÓN CLÍNICA DEL HUESO REGENERADO

A continuación se presentan las observaciones clínicas obtenidas acerca del hueso regenerado y biopsiado en la segunda fase del tratamiento quirúrgico de la semana 26. En ese momento se procede a la colocación del implante BTI® conexión interna.

Código Diente	Implante (medidas)	Observaciones
1-RMM25	5,0x10	Hueso tipo 2
2-DMM15	4,25x11,5	Hueso tipo 2
3-IGM24	4,25x11,5	Hueso tipo 2
4-EMB14	5,0x8,5	Ninguna incidencia
5-JPD24	No	Cresta estrecha
6-LRM15	4,0x10	Ninguna incidencia
7-GSM14	4,0x11,5	Dehiscencia vestibular de 3x8mm.
8-JCS24	4,0x11,5	Ninguna incidencia
9-JHM25	4,5x11,5	Ninguna incidencia
10-EGA25	4,0x11,6	Ninguna incidencia
11-JVS15	5,0x11,5	Ninguna incidencia
11-JVS24	4,0x10	Ninguna incidencia
12-MZS25	4,0x10	Ninguna incidencia
13-EHL24	4,0x11,5	Dehiscencia vestibular 5x4mm.
14-IFA14	4,25x10	Ninguna incidencia
15-NMP15	4,25x11,5	Dehiscencia vestibular de 6x4mm y palatina de 6x3mm. Materia superficial.
16-DRG25	4,0x10	Ninguna incidencia
17-RRL24	4,25x11,5	Dehiscencia vestibular de 10mm
18-CRG25	4,25x11,5	Ninguna incidencia

Código Diente	Implante (medidas)	Observaciones
19-MIP25	4,25x10	3mm de material superficial
20-JGS25	x	No asiste a la cita.
21-CBL24	3,75x11,5	Ninguna incidencia
22-SMH24	4,25x11,5	Ninguna incidencia
22-SMH14	5,0x10	Ninguna incidencia
23-JRV14	4,25x13	Ninguna incidencia
23-JRV25	4,25x11,5	Ninguna incidencia
24-CIP25	4,0x11,5	Material superficial
25-FSH25	4,0x11,5	Ninguna incidencia
26-AGP14	4,25x11,5	Conservación de septo. Defecto mesial.
27-MJL14	4,00x13	Material superficial
28-CMC25	4,25x11,5	Ninguna incidencia
29-MSJ14.15	x	Fuera del estudio. Metotrexato.
29-MSJ25	x	
30-ACA14	x	No acude a la cita
31-JGR15	4,0x11,5	Ninguna incidencia
31-JGR24	4,0x11,5	Ninguna incidencia
32-MRB24	4,00x13	Ninguna incidencia
33-SBG14	4,50x13	Ha conservado septo. 3,1: 1,3-1,6 (M-D distancia entre dientes) 3,2 Fenestración vestibular: a 3mm (ranura profundidad 8mm, M-D: 4mm)

Tabla 23. Observaciones clínicas del hueso regenerado e implantes colocados.

En este momento del estudio, un total de 4 pacientes abandonan en el estudio, bien por no acudir a la cita, o por presentar algún criterio de exclusión directa.

### 6.1 - Seguimiento clínico a las 52 semanas

De los 28 pacientes que continuaron en el estudio, y que se les colocó el implante; sólo asisten un total de 15 pacientes, que se recogen en la siguiente tabla (Tabla 24):

Paciente (referencia)	Diente	Material regenerador	Implante
1-RMM	25	Bio-Oss®	5,0x10,0 mm
2-DMM	15	Bio-Oss®	4,25x11,5 mm
3-IGM	24	Sil-Oss®	4,25x11,5 mm
4-NMP	15	Sil-Oss®	4,25x11,5 mm
5-AGP	14	Sil-Oss®	4,25x11,5 mm
6-SBG	14	Bio-Oss®	4,50x13 mm
7-EHL	24	Bio-Oss®	4,0x11,5 mm
8-CIP	25	Sil-Oss®	4,0x11,5 mm
9-EGA	25	Bio-Oss®	4,0x11,5 mm
10-CMC	25	Bio-Oss®	4,25x11 mm
11-SMH	25 / 14	Bio-Oss® / Sil-Oss®	4,25x11,5 mm / 5x10 mm
12-MIP	25	Sil-Oss®	4,25x10 mm
13-RRL	24	Bio-Oss®	4,25x11,5 mm
14-MJL	14	Sil-Oss®	4,0x13,0 mm
15-DRG	25	Sil-Oss®	4,0x10 mm

Tabla 24. Registro de pacientes que acuden a la visita de seguimiento a las 52 semanas.

En dicha cita, se realiza una ortopantomografía con el fin de observar la osteointegración del implante, así como cualquier tipo de patología asociada a la colocación del mismo y al proceso regenerativo anterior. Además se procede a realizar la segunda fase quirúrgica y toma de medidas. Posteriormente se colocan pilares de cicatrización, que favorezcan el conformado del tejido gingival.

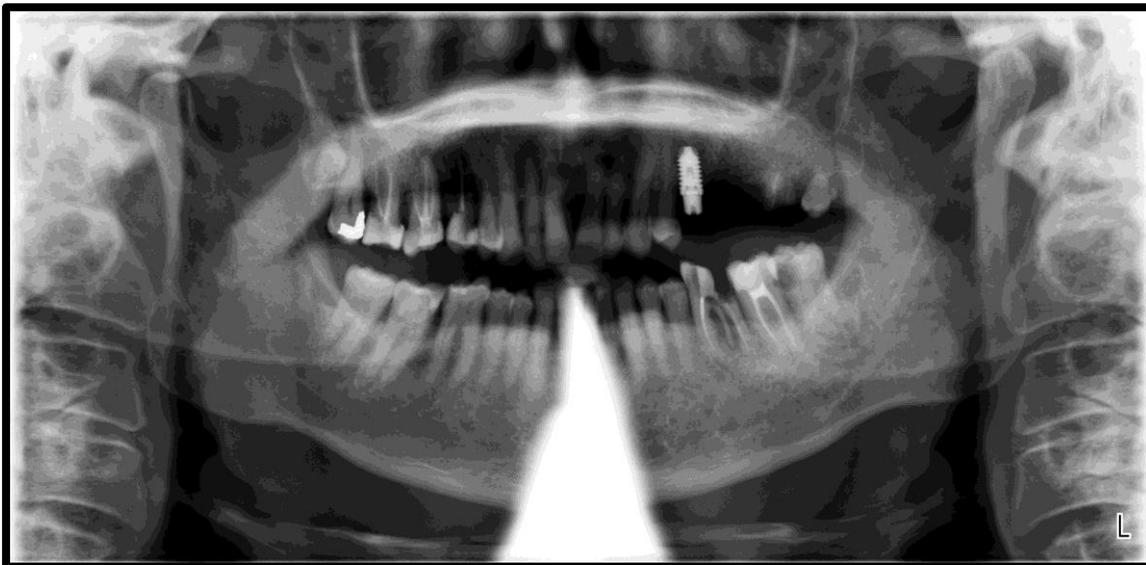


Fig.161. Ortopantomografía RMM25.



Fig.162. Ortopantomografía DMM15.

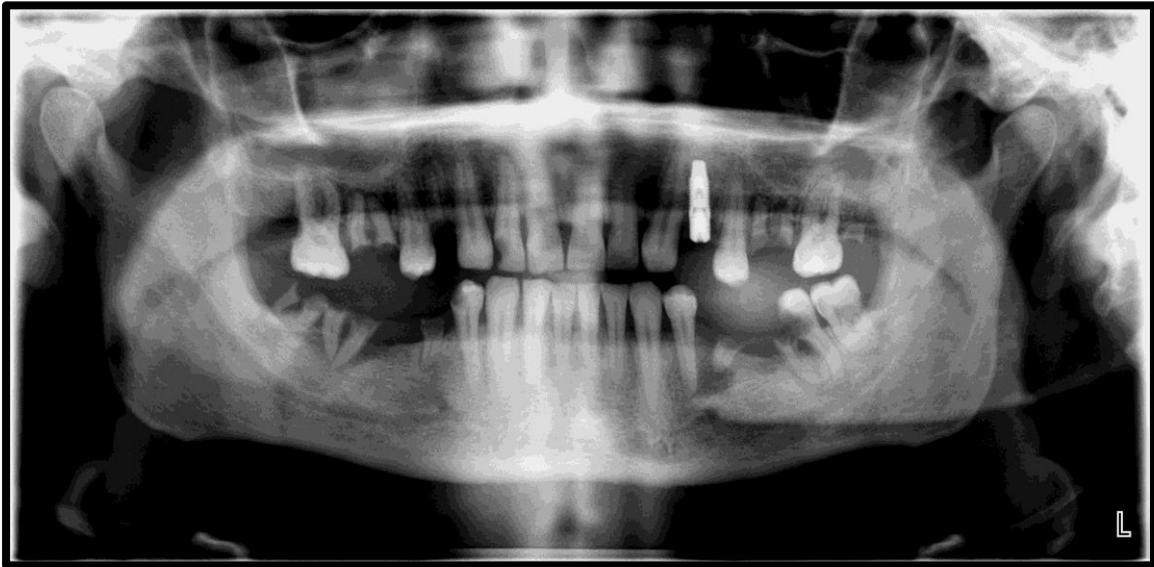


Fig.163. Ortopantomografía IGM24.



Fig.164. Ortopantomografía NMP15.

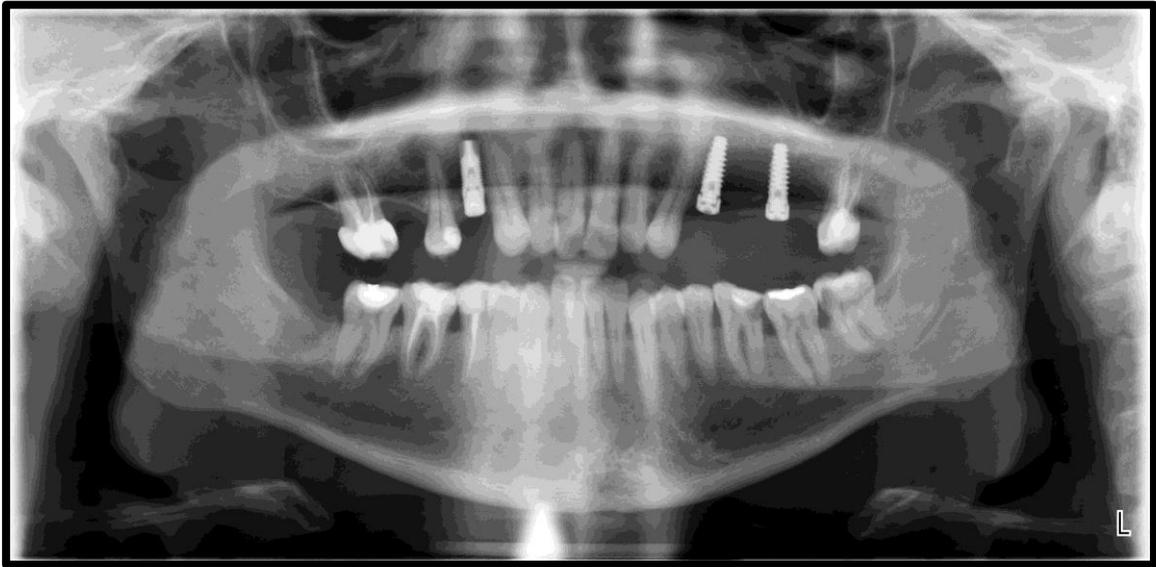


Fig.165. Ortopantomografía AGP14.



Fig.166. Ortopantomografía SBG14.

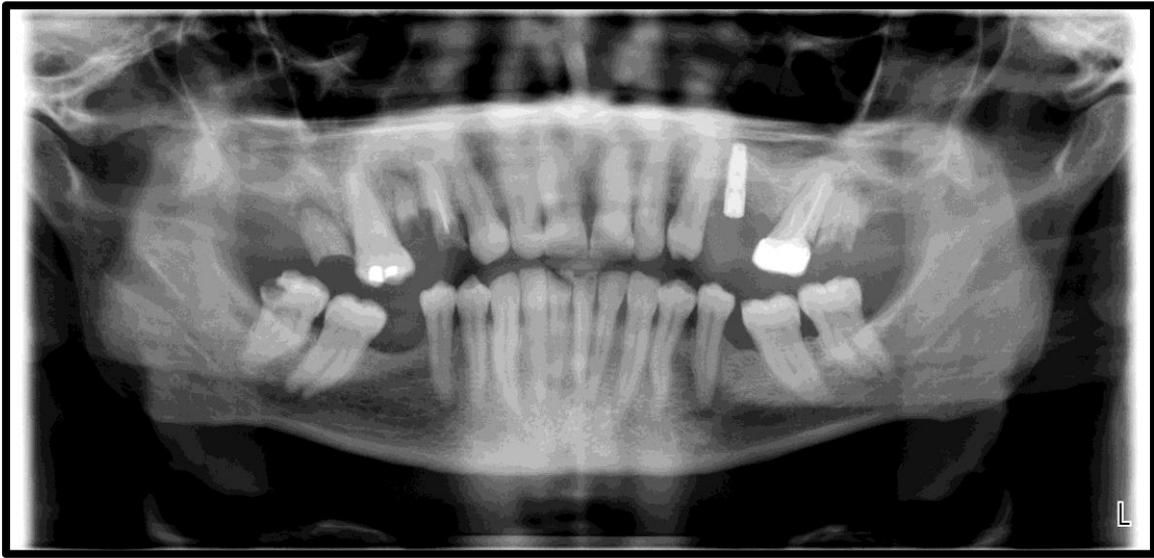


Fig.167. Ortopantomografía EHL24.



Fig.168. Ortopantomografía CIP25.



Fig.169. Ortopantomografía EGA25.

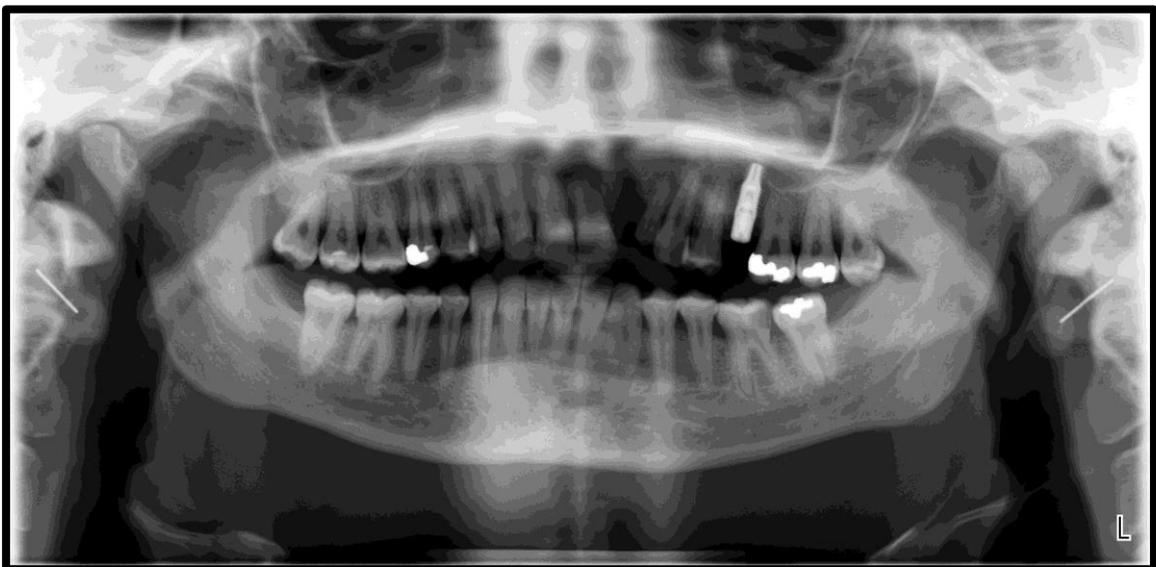


Fig.170. Ortopantomografía CMC25.



Fig.171. Ortopantomografía SMH1425

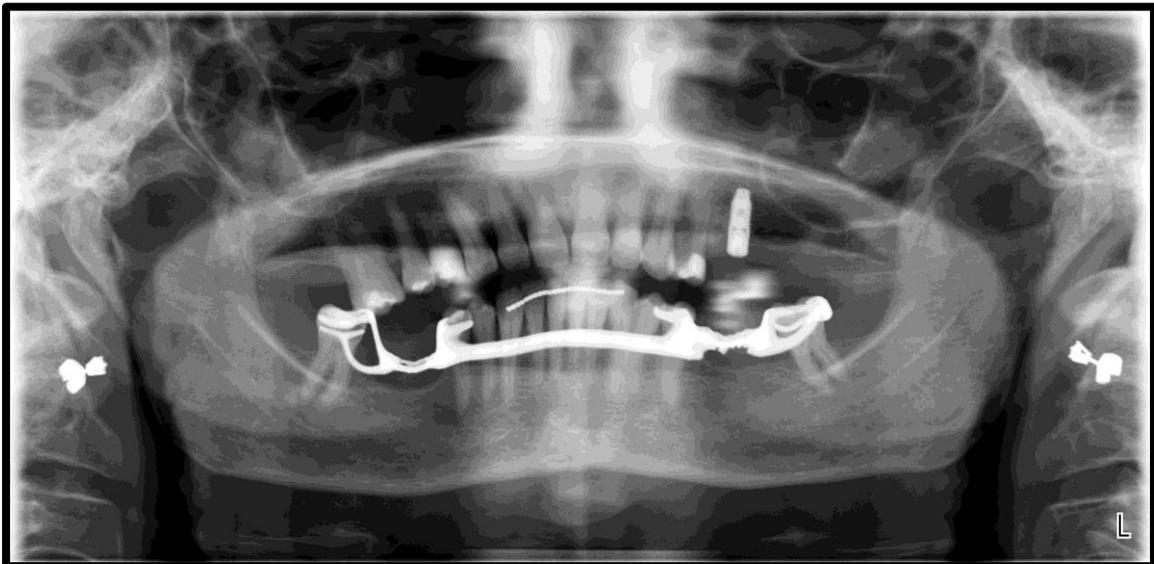


Fig.172. Ortopantomografía MIP25.

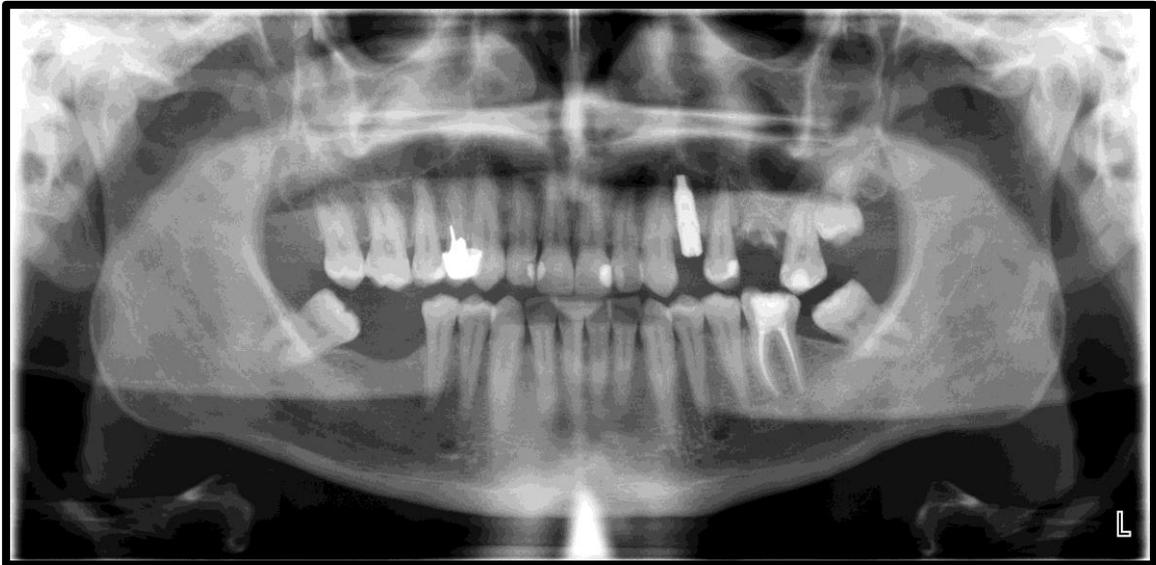


Fig.173. Ortopantomografía RRL24.



Fig.174. Ortopantomografía MJLH14

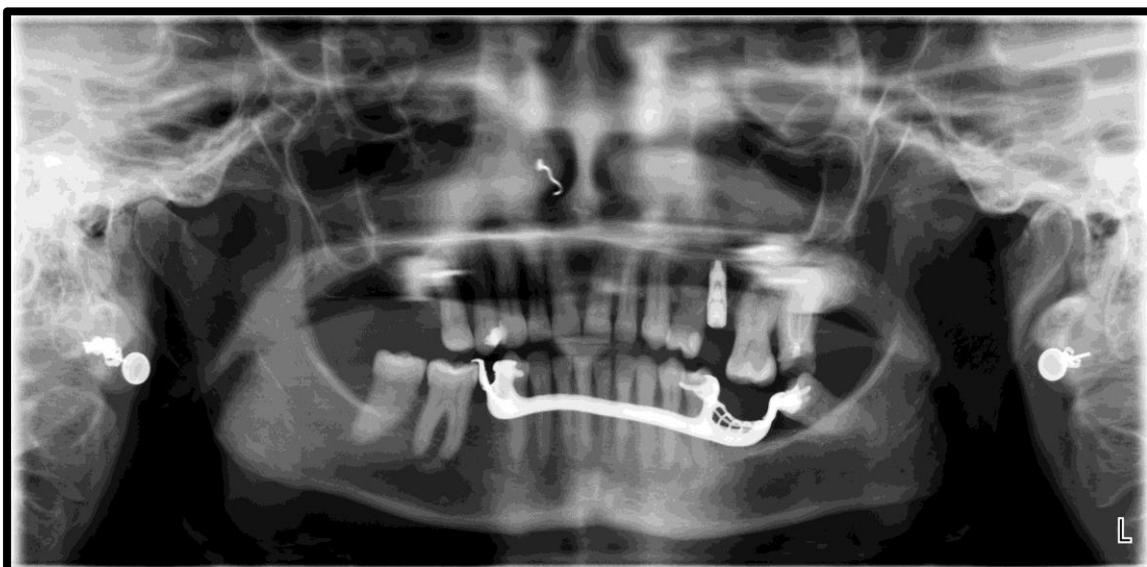


Fig.175. Ortopantomografía DRG25.

Individualizando los alveolos revisados a las 52 semanas obtenemos un total de 16 muestras. De las cuales 8 alveolos han sido regenerados con Bio-Oss®, y 8 con Sil-Oss®, no advirtiéndose ninguna diferencia significativa en cuanto a la estabilidad del implante.

## 6.2 - Seguimiento clínico a las 56 semanas

Transcurrido el tiempo necesario tras la realización de la segunda fase quirúrgica y toma de medidas para la rehabilitación del paciente, se procede a la colocación de una prótesis fija atornillada sobre el implante.

Se omite la realización de ortopantomografía por la exposición reciente de los pacientes en la semana 52.

En esta fase se realiza inspección visual del implante y áreas adyacentes con el objetivo de asegurar la estabilidad del implante y la salud de los tejidos que rodean al mismo, realizándose las fotografías clínicas oportunas:



Fig.176. RMM25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.177. DMM15. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.178. IGM24. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.179. NMP14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.

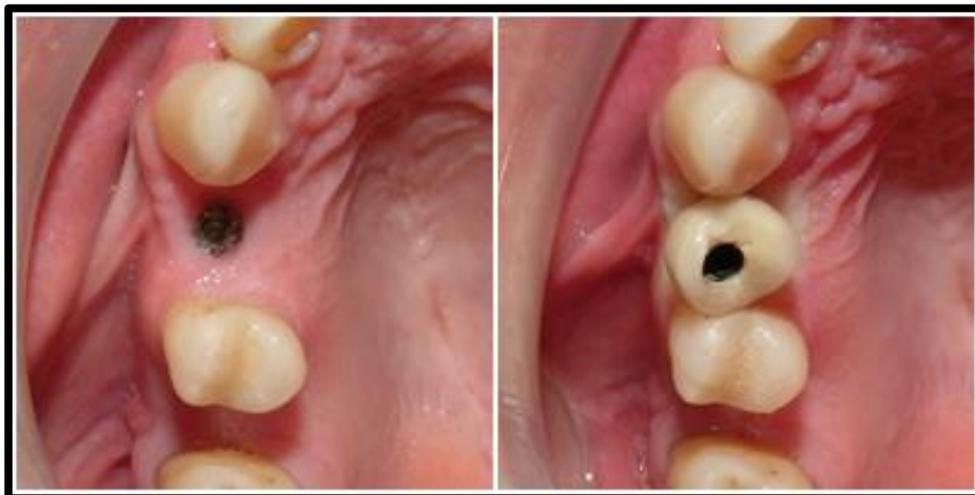


Fig.180. AGP14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.181. SBG14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.182. EHL24. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.183. CIP25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.184. EGA25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.185. CMC25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.186. SMH15. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.187. SMH25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.188. MIP25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.189. RRL25. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.190. MJLH14. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.



Fig.191. DRG215. Pilar de cicatrización y prótesis sobre implante.

### 6.3 - Seguimiento a los 24 meses

Se realiza un último llamamiento transcurridos 24 meses tras la extracción dental con el fin de revisar clínicamente , y realizar una ortopantomografía a los pacientes que acuden a esta cita.

Se realiza llamamiento de todos aquellos pacientes a los que se le tomó biopsia, y se le colocó implante en la semana 26 del estudio. De los 28 pacientes, tan sólo acuden a la cita un total de 8 pacientes.



Fig.192. Ortopantomografía 24 meses. EMB14.



Fig.193. Ortopantomografía 24 meses. FSH25.



Fig.194. Ortopantomografía 24 meses. JHM25.



Fig.195. Ortopantomografía 24 meses. CMC25.

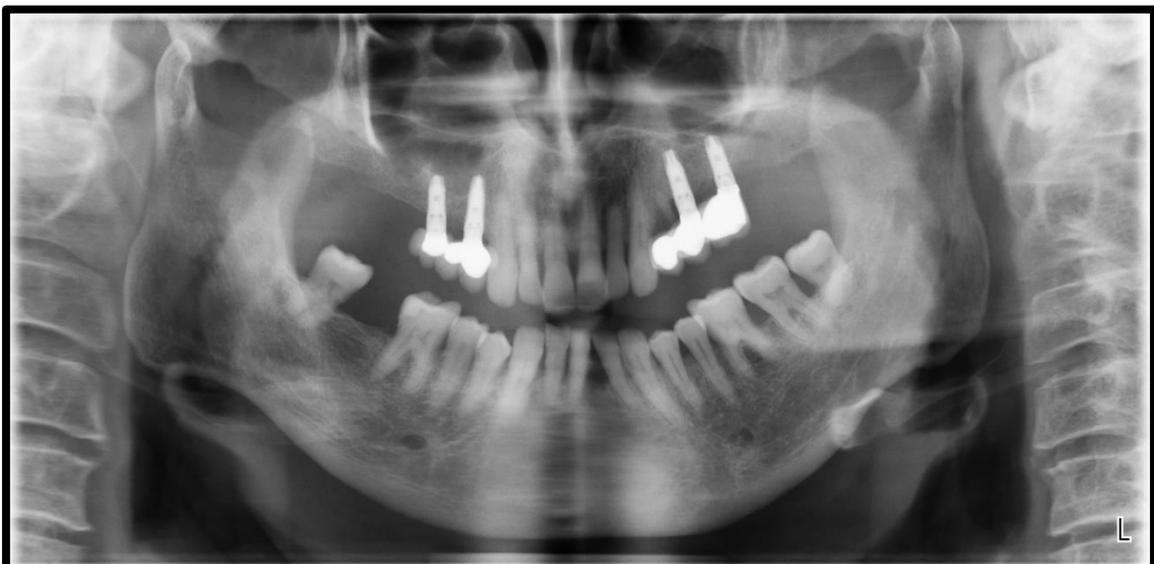


Fig.196. Ortopantomografía 24 meses. JRV1425.

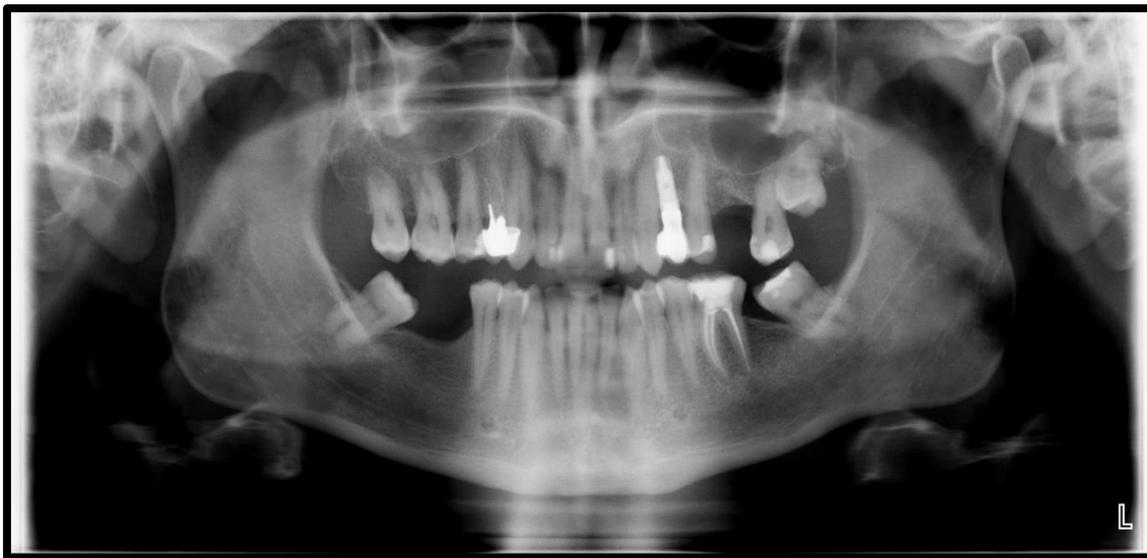


Fig.197. Ortopantomografía 24 meses. RRL24.



Fig.198. Ortopantomografía 24 meses. SMH1524.



Fig.199. Ortopantomografía 24 meses. MZ25.

Los pacientes que acuden a esta cita se recogen en la siguiente tabla (Tabla 25):

Código Paciente	Edad(años)	Sexo	CódigoDiente	Tratamiento
4-EMB	34	Hombre	4-EMB-14	Sil-Oss®
9-JHM	32	Hombre	9-JHM-25	Sil-Oss®
12-MZS	29	Mujer	12-MZS-25	Sil-Oss®
17-RRL	40	Hombre	17-RRL-24	Bio-Oss®
22-SMH	34	Hombre	22-SMH-25	Bio-Oss®
			22-SMH-14	Sil-Oss®
23-JRV	49	Hombre	23-JRV-14	Bio-Oss®
			23-JRV-25	Sil-Oss®
25-FSH	67	Mujer	25-FSH-25	Bio-Oss®
28-CMC	30	Mujer	28-CMC-25	Bio-Oss®

Tabla 25. Pacientes que acuden al seguimiento tras 24 meses.

A pesar de que la población de estudio se ha reducido considerablemente, sorprendentemente si individualizamos los alveolos regenerados, obtenemos un total de 5 alveolos que fueron regenerados con Bio-Oss® y 5 alveolos regenerados con Sil-Oss®.

Clínicamente no se advierten diferencias en la estabilidad primaria del implante, ni en la reducción de la inserción ósea. Se puede ratificar por tanto la eficacia de Sil-Oss® como nuevo material regenerador.

No obstante y a pesar de los buenos resultados clínicos se realizan radiografías periapicales con paralelizador a fin de valorar con mayor definición el lecho óseo regenerado.

A continuación, se realiza una comparativa de la ortopantomografía de las 52 semanas vs la radiografía periapical a los 24 meses.

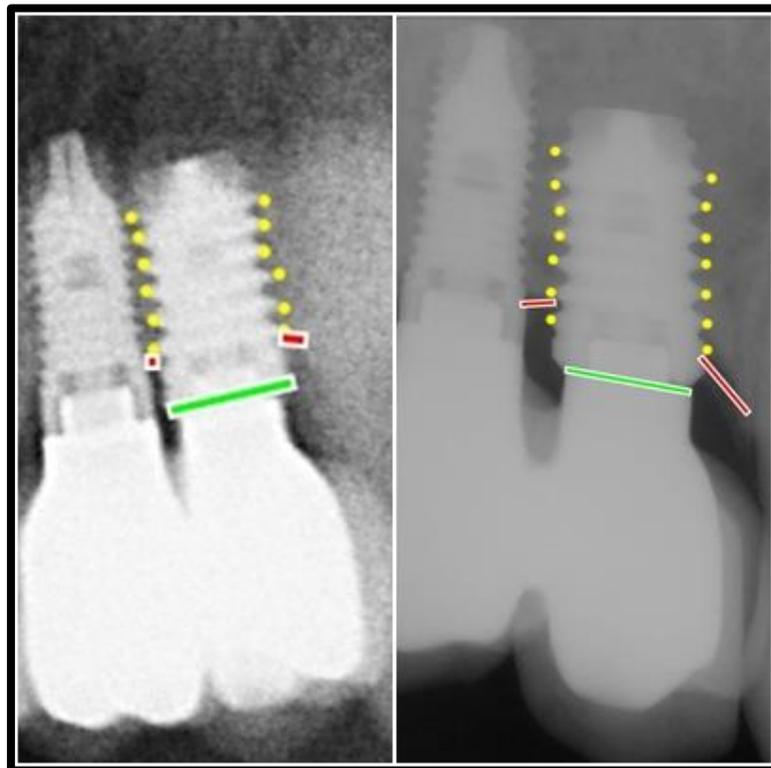


Fig.200. EMB14. Sil-Oss®: mismo nivel óseo.

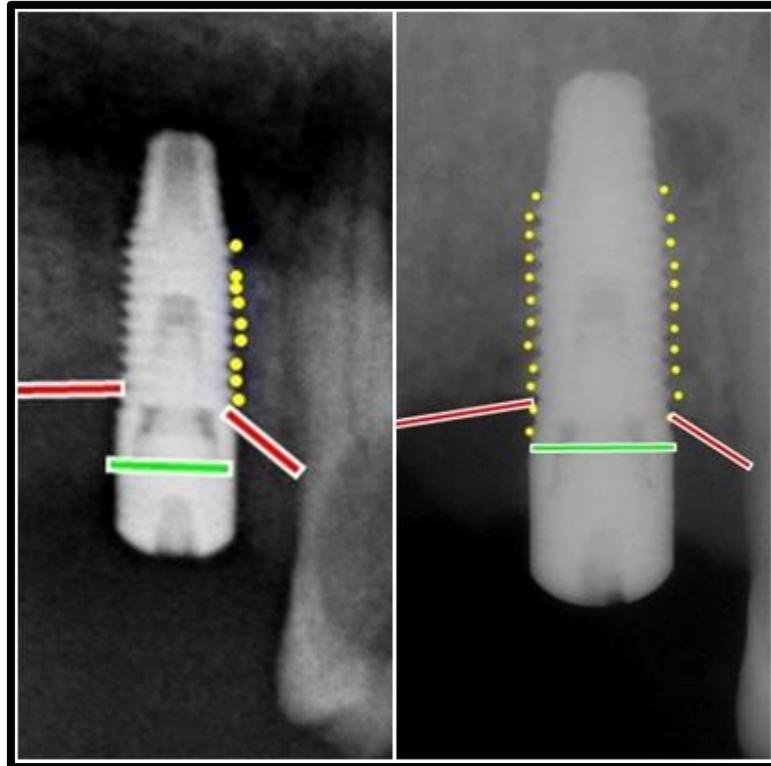


Fig.201. JHM25. Sil-Oss®: mismo nivel óseo.

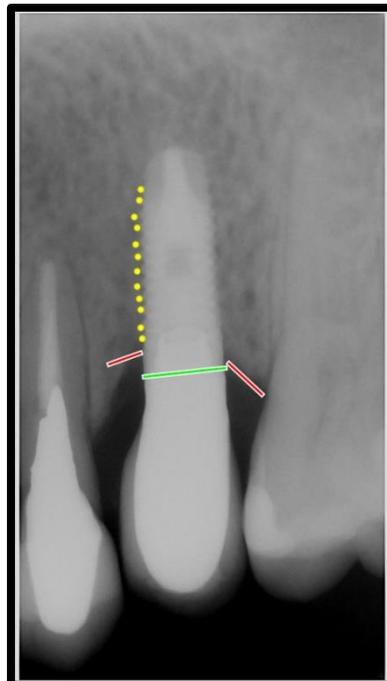


Fig.202. MZH25. Sil-Oss®: buen nivel óseo. No acudío a las 52 semanas.  
No tenemos ortopantomografía de 52 semanas. Se rehabilitó fuera.

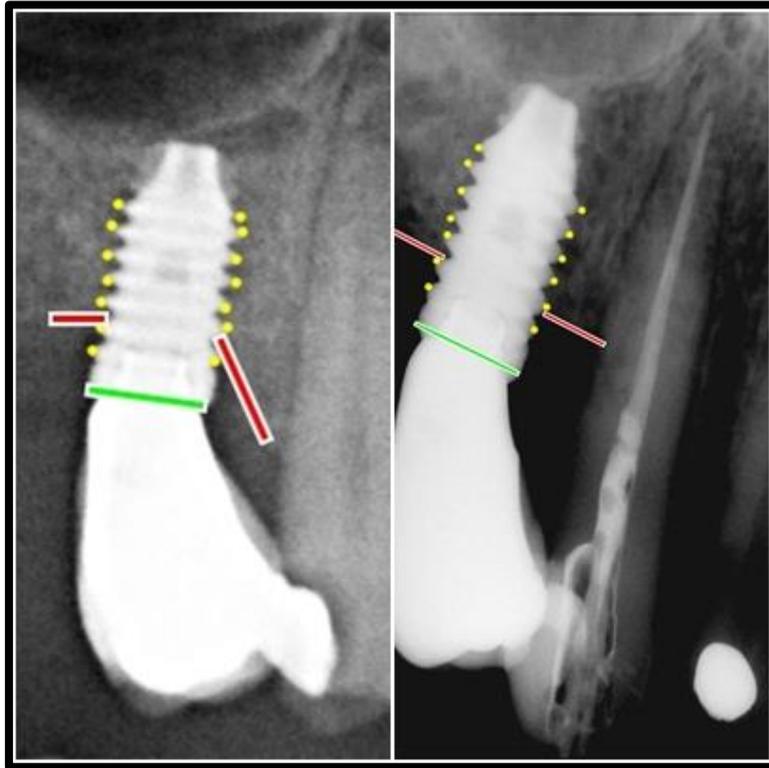


Fig.203. SMH14. Sil-Oss®: aumento vertical mesial.

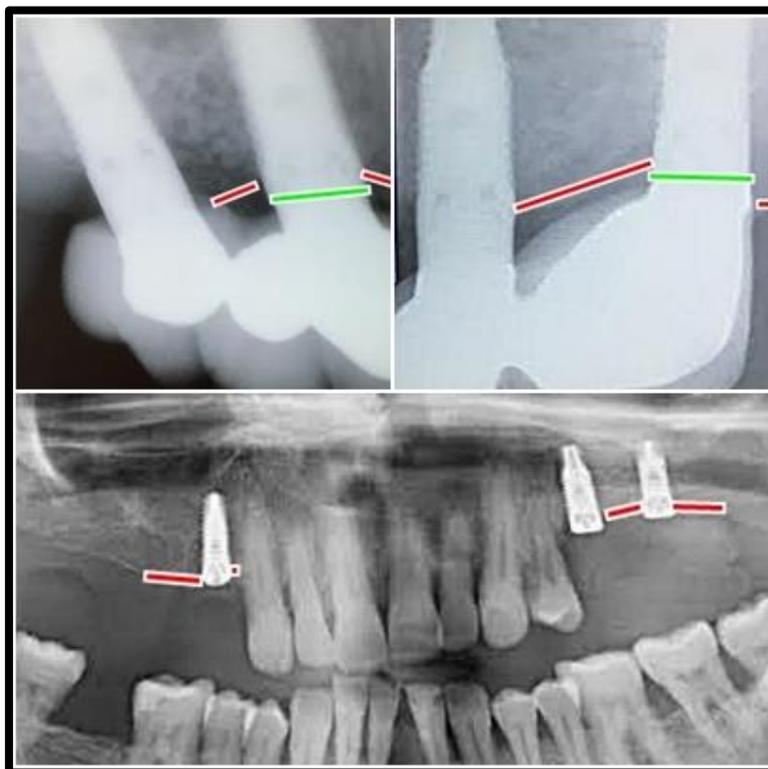


Fig. 204. JRV 14 Bio-Oss® vs 25 Sil-Oss®. Mismo nivel óseo. No acudió a las 52 semanas. Ortopantomografía cedida por externo donde se rehabilitó.

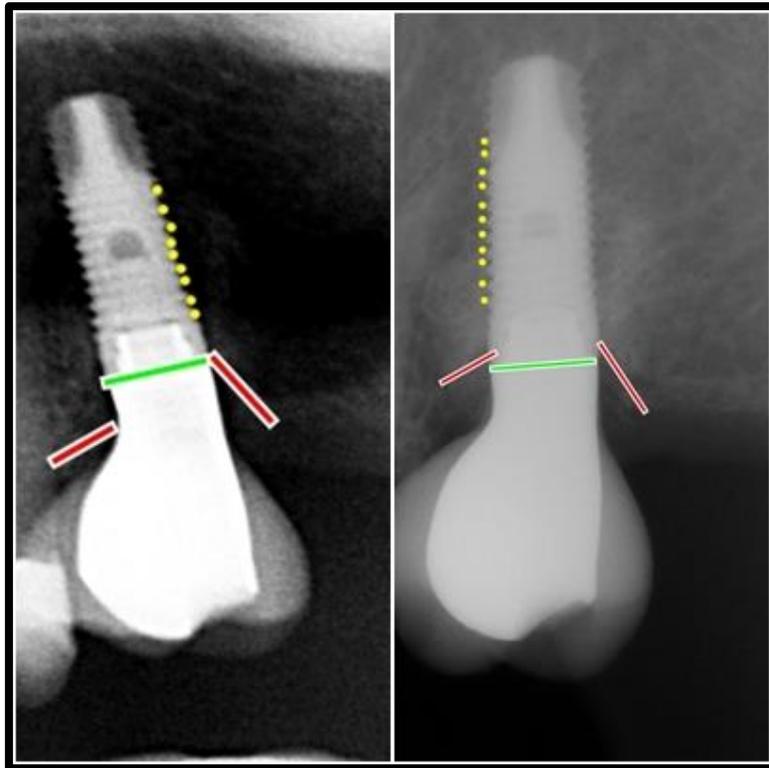


Fig.205. FSH25 Bio-Oss®: pérdida ósea mesial.



Fig.206. CMC25. Bio-Oss®: pérdida ósea mesial.

A la inspección clínica realizada a los 24 meses no se muestran diferencias significativas entre los implantes ubicados en lechos regenerados con Bio-Oss® y Sil-Oss,® en cuanto a la estabilidad primaria de los mismos.

Radiográficamente el nivel óseo es similar en ambos periodos de tiempo, no obstante existe algún caso de pérdida ósea mesial en los implantes que fueron ubicados en lechos regenerados con Bio-Oss®, pudiéndose deber al material, a la técnica quirúrgica empleada o las fuerzas mecánicas ejercidas por la prótesis.

Por lo tanto, no existen evidencias clínicas ni radiográficas de fracaso en los casos evaluados; por lo que ambos materiales transcurridos 24 meses tras la regeneración permiten el buen funcionamiento del implante.

Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# VI. Discusión



En este capítulo se discutirán los resultados encontrados en esta tesis, cuyo objetivo es demostrar la seguridad y eficacia del nuevo biomaterial de regeneración ósea Sil-Oss®, el cual es totalmente reabsorbible y presenta mayor capacidad osteoconductora y osteoinductora que los biomateriales actualmente existentes en el mercado, incorporando en su diseño conocimientos previos y otros de reciente creación. Ya que en la actualidad no existe en el mercado ningún biomaterial que se le asemeje, por lo que puede constituir un aporte innovador y revolucionario al sector de los materiales de regeneración ósea para aplicaciones dentales y maxilofaciales.

Los elementos novedosos del nuevo material de regeneración ósea propuesto, esencialmente son:

1. Los átomos de calcio del retículo cristalino de la monetita constituyente de la matriz están parcialmente sustituidos por átomos de magnesio, estroncio o zinc, para aprovechar la capacidad estimulante y/o aceleradora de los mecanismos de regeneración ósea atribuida a estos elementos.
2. Contiene pseudo-wollastonita (meta-silicato de calcio,  $\alpha$ -CaSiO<sub>3</sub>) y gel de sílice (Si(OH)<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>, ambos capaces de liberar especies iónicas de silicio al medio a las que se reconoce la capacidad de actuar a nivel molecular y genético que estimulan la osteogénesis.
3. Contiene hidroxiapatita deficiente en calcio de baja cristalinidad similar a la “apatita biológica” para modular la biodegradabilidad y osteointegración.

En contraste con los materiales actualmente disponibles y sus limitaciones, el producto presentado está diseñado para tener los siguientes elementos diferenciadores que lo hacen cualitativamente superior:

- Su conformación ocurre mediante una reacción de cementación de tipo ácido-base, los procesos de su fabricación tienen lugar a baja temperatura (120 °C).
- Posee elevada porosidad.
- Es bioactivo y osteoconductor.
- Sus productos de disolución no son citotóxicos.
- Es completamente biodegradable, y su degradación transcurre a una tasa similar a la del crecimiento de nuevo hueso.
- Libera al medio circundante especies iónicas de calcio, fósforo y silicio en concentraciones capaces de ejercer un efecto osteoinductor.
- Su composición es totalmente novedosa y diseñada especialmente para desempeñar las funciones deseadas.

En el sector de la regeneración ósea en cirugía odontológica y máxilo-facial la opción preferida es el empleo de hueso autógeno debido a la ausencia de respuesta autoinmune, el aporte de elementos osteogénicos, la biodegradabilidad y rápida osteointegración del implante. Sin embargo, la necesidad de una intervención quirúrgica secundaria, el incremento del coste hospitalario, la limitación de la cantidad disponible y el riesgo de infección y dolor post-operatorio asociado a la intervención secundaria hacen, en muchas ocasiones, esta opción inviable (Precheur HV, 2007).

Como alternativa al injerto autólogo se dispone comercialmente de una variada gama de biomateriales, tanto totalmente sintéticos, como de origen natural, posteriormente purificados, desproteinizados, desmineralizados, y/o esterilizados (Hutmacher DW, 2007; Chen Q, 2008; Porter JR, 2009).

A día de hoy, los investigadores buscan presentar un nuevo biomaterial regenerativo que cumpla y supere las características de osteoconducción, osteogénica, osteoinducción y reabsorción, de los materiales existentes en el mercado, como es el material empleado como control en este trabajo, Bio-Oss® (Schmitt CM, 2012).

Este biomaterial Bio-Oss<sup>®</sup>, como se ha mencionado en la introducción; es en la actualidad ampliamente utilizado en el campo de la cirugía bucal. Estructuralmente el Bio-Oss<sup>®</sup> se asemeja en su composición a la matriz ósea humana, y es este hecho el que ha diversificado su aceptación a nivel mundial. Si bien la capacidad de promover la formación de hueso nuevo a partir de la inserción del material, ha sido ampliamente rebatida a lo largo de las últimas décadas.

Aunque el producto ha demostrado ser apto para la reconstrucción ósea de los defectos periodontales, el empleo como material verdaderamente regenerativo de alveolos post-extracción parece ser a día de hoy el principal caballo de batalla de este biomaterial.

Su escasa osteoinducción y reabsorción determina la necesidad de encontrar un producto que se asemeje a la biología natural ósea, ya que a lo largo del tiempo este material apenas ha sido sustituido por hueso nuevo.

Por otro lado, el biomaterial propuesto a valorar Sil-Oss<sup>®</sup>, como hemos explicado anteriormente está principalmente constituido por monetita (hidrógenofosfato de calcio,  $\text{CaHPO}_4$ ). La monetita, y su dihidrato la brushita ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), han sido propuestos como constituyentes de diversos biomateriales de reparación ósea. El interés en la monetita (algo menos biodegradable que la brushita) está motivado por su mayor velocidad de biodegradación y osteointegración en condiciones fisiológicas en comparación con los fosfatos de calcio convencionalmente usados como materiales de implante (hidroxiapatita,  $\beta$ -fosfato tricálcico o sus mezclas).

Torres y cols, estudiando la regeneración de defectos óseos tratados con hueso autólogo y monetita, observaron que no existen diferencias significativas en el grado de tejido óseo de nueva formación entre ambos injertos. Este hecho pone de manifiesto el potencial regenerador de los materiales a base de monetita como una alternativa segura y eficaz a los injertos autólogos tradicionales (Torres J, 2015).

Cama y cols., determinaron que las células osteoblásticas formadas gracias a los cementos de monetita presentaban mayores niveles de osteocalcina, lo cual muestra una mayor actividad osteoblástica in vivo y un mayor nivel de mineralización de la matriz ósea del tejido óseo en formación (Cama G, 2014).

Los tiempos de degradación de los cementos de brushita y monetita han sido ampliamente estudiados, y se ha demostrado, que cuando estos se encuentran en suero salino su tiempo de degradación es menor que en el resto de sustancias en las que estos cementos han sido expuestos (agua y tampón fosfato) (Ajaxon I, 2015).

Además la modificación de las propiedades mecánicas y los tiempos de fraguado de estos cementos han sido ampliamente estudiadas a fin de conseguir un cemento ideal, que combine su excelente comportamiento biológico con estas características. La combinación de nanotubos de carbono de superficie modificada a los cementos de monetita reduce el tiempo de fraguado y mejora la resistencia a la compresión cuando ha solidificado (Boroujeni NM, 2013).

La adición a los cementos basados en monetita de p-quitosano al 5% mejora las propiedades mecánicas y los tiempos de fraguado de los mismos, permitiendo una mayor manipulación y durabilidad (Boroujeni NM, 2014)

Existen estudios recientes que advierten de la posibilidad de incorporar a la composición inicial de los cemento de fosfato de calcio y brushita, parabenos que actúen como antibacterianos incorporados en la fase de pasta de los cementos óseos, con el objeto de suprimir la terapia antimicrobiana complementaria (Perni S, 2015).

En el desarrollo de estos tipos de cemento se propone la creación de un tipo de cemento óseo que combine la monetita con partículas nanométricas de sílice, ya que mejoran las propiedades mecánicas de los mismos, como la resistencia a la compresión y mayor solidez estructural.

Desde el punto de vista biológico esta combinación mejora la bioactividad de las células, promoviendo un correcto proceso regenerador de los defectos óseos (Zhou H, 2014).

Adentrándonos aún más en la composición característica y propia de Sil-Oss<sup>®</sup>, cabe destacar que este material ha sido diseñado para liberar especies iónicas al medio biológico que estimulen y favorezcan el proceso de regeneración ósea; actuando como un andamiaje temporal que apoya el crecimiento óseo.

Sil-Oss<sup>®</sup> combina monetita parcialmente sustituida por Zn en un 57%, hidroxiapatita en un 25%, fosfato de calcio amorfo en un 11% y gel de sílice hidratado en un 7%.

Como elemento novedoso en su composición cabe destacar la sustitución parcial del 4% de los átomos de Ca por Zn en la red cristalina de la monetita.

Sil-Oss<sup>®</sup> presenta una homogénea e íntima distribución de sus diferentes componentes de tamaño nanométrico. Esta característica microestructural es esencial en la interacción del material con los organismos celulares óseo; facilitando la resorción del biomaterial por disolución del mismo y por la actividad de los osteoclastos y macrófagos.

Además de la composición y la morfología que presenta el material, Sil-Oss<sup>®</sup> tiene otras características relevantes que contribuyen al rendimiento biológico de un material de regeneración, tales como la alta porosidad interconectada, el área de superficie específica y la rugosidad de la superficie.

La porosidad desempeña un papel crucial en la regeneración ósea ya que mejora la osteogénesis. Los espacios intergranulares proporcionan una macroporosidad interconectada de aproximadamente 200 micras que permiten una mejor osteoconducción, vascularización, y formación de hueso nuevo alrededor del gránulo.

Hay que tener en cuenta que la porosidad que presenta un material va a determinar en gran medida la osteointegración del mismo. En este sentido, hay que destacar dos tipos de porosidad presentes en los biomateriales; la porosidad intergranular y a porosidad intragranular.

La porosidad intergranular está presente en la mayoría de los materiales regenerativos comercializados; se trata de los espacios libres existentes entre los gránulos del material, permitiendo un intercambio de fluidos y mayor superficie de contacto de sustancias con el material. Además permite la circulación de las células circundantes, permitiendo una interacción directa con el material (Lu JX, 1999).

Por ejemplo, Bio-Oss® posee una porosidad intergranular de un 75% - 80%, ocupando así solo el 20 a 25% del volumen total del sitio donde se coloca, dejando así gran parte del volumen disponible para la formación y remodelación ósea (Artzi Z, 2000).

De tal forma que, sus macroporos y microporos son de tamaño similar al hueso cortical, y facilitan el crecimiento de las células (Piatelli M, 1999).

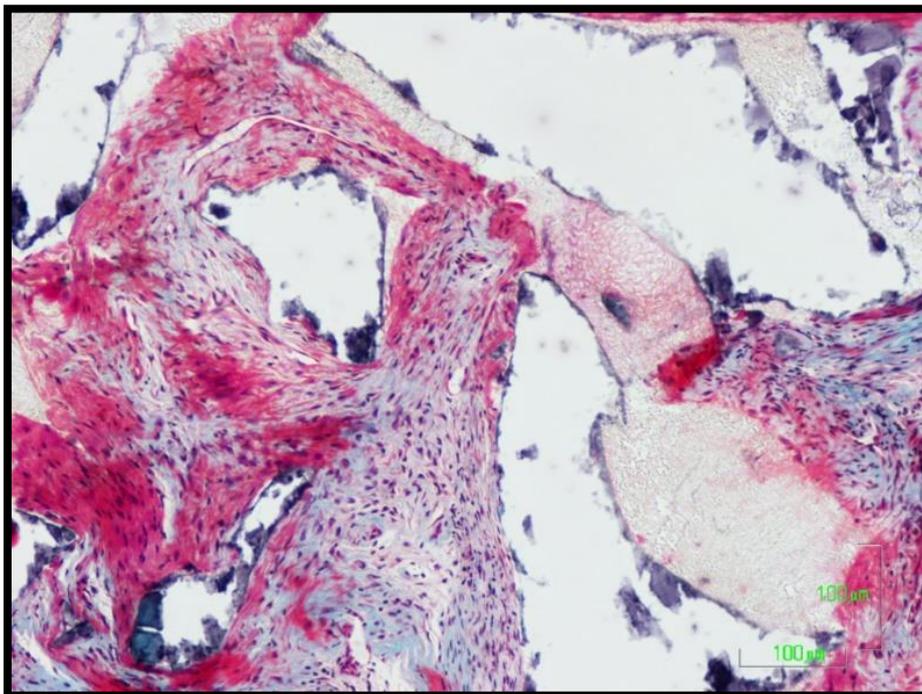


Fig.207. Porosidad en partículas de Bio-Oss®.

Como muestra la imagen (Figura 207) los gránulos de Bio-Oss®, presentan una porosidad intergranular, evidenciando la inexistencia de poros internos en la partícula del material. Si bien, este material puede osteointegrarse y estimular la creación de hueso nuevo actuando el propio material como andamiaje.

En el caso de Sil-Oss®, además de presentar una porosidad intergranular, presenta una porosidad intragranular, es decir, el propio grano tiene poros, de tal forma que entre ellos forman un sistema complejo de interconexiones que permiten el intercambio y movimiento de sustancias y células en el propio núcleo del grano. Este hecho permite la formación de vasos sanguíneos en el interior del material y permite que se lleve a cabo el proceso osteoregenerativo de una forma más completa que en aquellos materiales que sólo presentan una porosidad intergranular (Eriksen EF, 2007).

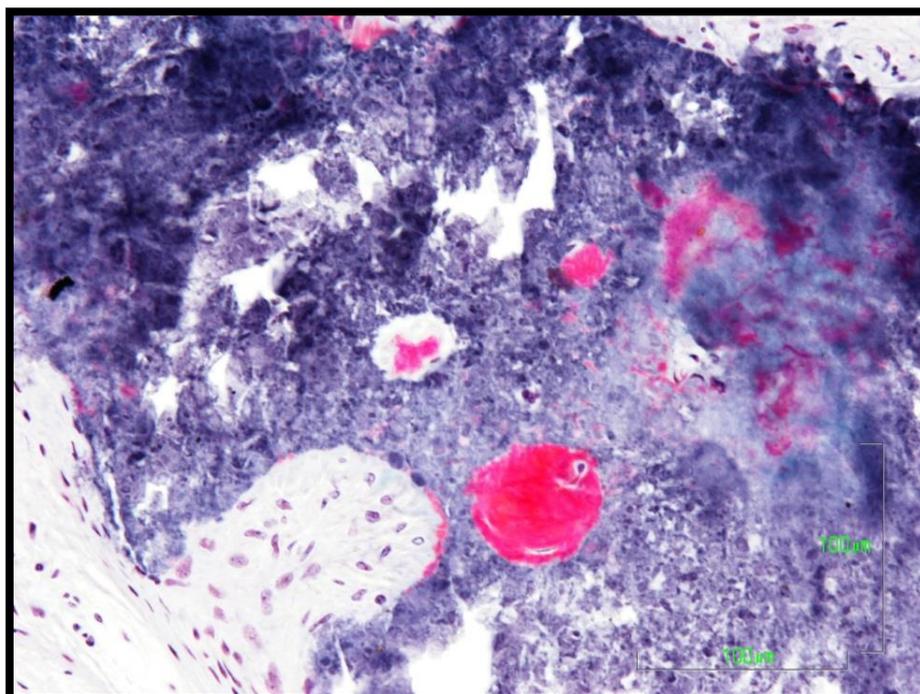


Fig.208. Porosidad de partícula de Sil-Oss®.

Observando esta imagen (Figura 208), que correspondiente a una partícula de Sil-Oss® se puede determinar la importancia de la porosidad intragranular del material. La presencia de poros en el interior de los gránulos de los materiales permiten la colonización celular y la formación de centros de osificación, tal y como muestra la fotografía.

En el año 2010, Tamimi y cols, compararon el comportamiento osteoindutivo dependiente de la porosidad de un material a base de monetita y un material a base de hidroxiapatita bovina, presentando el material a base de monetita gránulos más porosos, con mayor área superficial específica y mayor porosidad intragranular, poniendo de manifiesto su buen comportamiento biológico, sus propiedades osteoconductoras y características osteoinductoras (Tamimi F, 2010).

La porosidad de los materiales viene determinada por el proceso de fabricación. En el caso del material de control Bio-Oss® se realiza a altas temperaturas; provocando un proceso de calcinación el cual promueve la ceramización de los cristales de hidroxiapatita.

La cristalización de estos cristales, dota al material de una rigidez y dureza extrema, hasta el punto que le confiere cierta inalterabilidad a lo largo del tiempo; aumentando su tiempo de reabsorción.

Al contrario que Bio-Oss®, los materiales compuestos de brushita o monetita necesitan bajas temperaturas en su proceso de fabricación, ya que los fosfatos presentan un proceso de descomposición térmica a altas temperaturas (Moseke C, 2012).

Sil-Oss® en su proceso de fabricación emplea bajas temperaturas con el fin de conseguir una porosidad ideal para la colonización de las células osteoblásticas en el núcleo del material.

De este modo, el grado de osteoconducción de un biomaterial regenerativo va a estar influenciado por el tamaño de las interconexiones existentes entre los poros, y no por el tamaño del propio poro en sí mismo (Chang B, 2000).

Esta diferencia en cuanto a la porosidad de los materiales estudiados en este trabajo se pone de manifiesto en los resultados obtenidos en el análisis histológico de las muestras; donde los gránulos de Sil-Oss® presentan en su interior centros de osificación y células que permiten la formación de hueso nuevo.

Sil-Oss® presenta una alta porosidad intragranular, con presencia de macroporos, mesoporos, microporos y nanoporos. Esta variabilidad de tamaño de poros es muy importante para la difusión de nutrientes y la liberación de productos de la disolución del material (Ca, P, Si, Zn) (Karageorgio, 2005).

Los macroporos facilitan la colonización celular y la vascularización en el interior del material. Por otro lado, la microporosidad permite la adhesión celular, migración celular y la osteointegración.

Los micro y nanoporos juegan un papel importante en el potencial osteoinductivo de los materiales (Barradas AM, 2011).

La alta porosidad del material, su rugosidad superficial y el tamaño nanométrico de sus componentes dan como resultado un área de superficie específica que es hasta 40 veces más alta que las reportadas para la monetita y brushita. Esta gran superficie contribuye de forma significativa en la inducción del hueso, provocando una mayor absorción de proteínas, un mayor intercambio de iones y una mayor interacción con las células (Padilla S, 2015).

También la rugosidad que presenta el gránulo de Sil-Oss® mejora la adherencia, la proliferación y la diferenciación de las células formadoras de hueso dependientes de anclaje.

En cuanto a la disolución o resorción del material, tiene lugar por tres procesos que se solapan. El más rápido de ellos corresponde con la disolución de las fases más solubles como es el gel de sílice dihidratado, explicando un mayor aumento de los niveles de Si, Ca, P y Zn. Un segundo proceso correspondería a la disolución de la hidroxiapatita y del fosfato de calcio amorfo, proporcionando un aumento de Ca adicional y P a los medios circundantes. Un tercer proceso implicaría la precipitación de hidroxiapatita y fosfato de calcio similar, provocando la liberación de Ca que contiene Zn y P en una proporción mayor que el propio medio de disolución (Padilla S, 2015).

En este sentido, uno de los componentes de Sil-Oss® que lo diferencia del resto de materiales compuestos por monetita, es la adicción de gel de sílice a su composición. El sílice en el campo de la regeneración ósea ha planteado diferentes combinaciones con el propósito de incorporar al poder reabsortivo y osteformador de la monetita, la característica esencial del sílice, la precipitación de la hidroxiapatita ósea sobre el material base.

El sílice es un elemento esencial en los procesos metabólicos asociados al crecimiento y a la calcificación del tejido óseo (Jugdaohsingh R, 2007).

Sil-Oss® contiene gel de sílice amorfo, que según la literatura favorece la precipitación local de apatita en la superficie de los materiales que lo contienen, favoreciendo la unión e integración con el hueso vecino (Damen JJ, 1992)

Geffers y cols, presentan una combinación de materiales que mezcla cemento de brushita y sílice, produciendo un material compuesto que presenta una capacidad de proliferación celular ósea muy alta, además de un correcto comportamiento biológico (Geffers M, 2015).

Como hemos mencionado anteriormente, uno de los factores esenciales para determinar el correcto comportamiento biológico de un biomaterial regenerativo es el tiempo de reabsorción del mismo, siendo sustituido por tejido óseo de nueva formación.

Existe una gran discusión respecto a la degradación del Bio-Oss®, encontrándose estudios que relatan un rápido reemplazo por hueso nuevo y en otros en los que existe un escaso o nulo reemplazo (Shao S, 2015; Marino FT, 2007).

Recientemente Shao y cols, han llevado a cabo un estudio de regeneración ósea alveolar en perros, donde se pretendía demostrar la eficacia de Bio-Oss® en esta situación clínica (Shao S, 2015).

En el estudio realiza la extracción de premolares inferiores, los cuales son rellenados inmediatamente con Bio-Oss®, dejando la hemiarcada contralateral como control. Al cabo de 3 meses se procede a la toma de biopsia y a la eutanasia del 50% de los ejemplares. El resto de ejemplares son eutanasiados a los 6 meses con el objeto de tener dos referencias temporales. Analizados los resultados histológicos obtenidos:

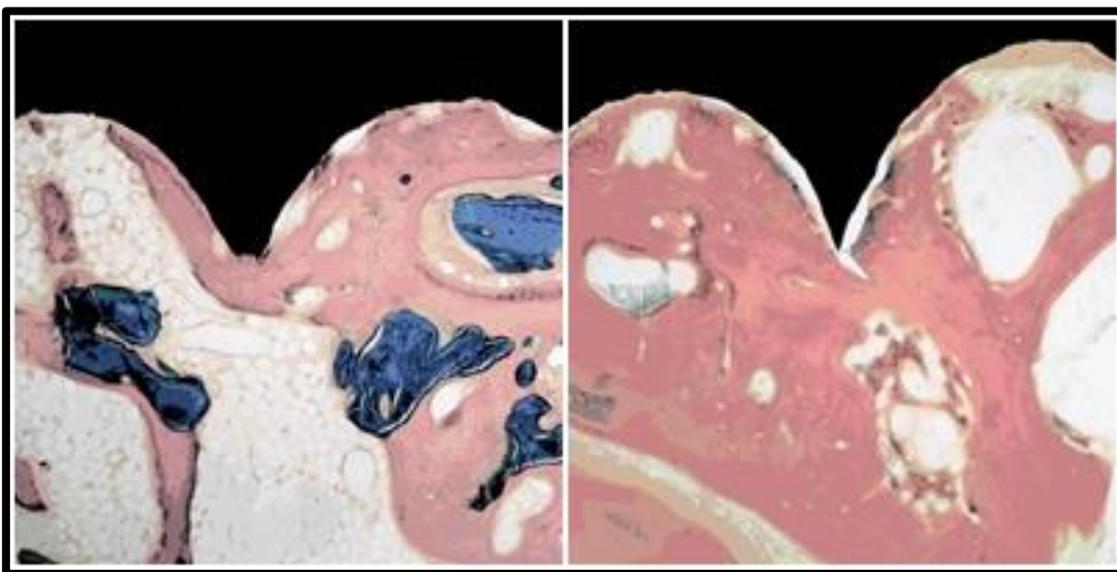


Fig.209. Histología 3 vs 6 meses tras la implantación de Bio-Oss® (Shao S, 2015).

A los tres meses se muestra gran contenido de hueso de nueva formación (rosa), entre el cual se encuentran restos de Bio-Oss® (Azul). Sin embargo a los 6 meses de la implantación del injerto, el hueso presenta un mayor nivel de maduración y apenas existen restos del material regenerativo. Concluyendo que la incorporación de Bio-Oss® en los alveolos postextracción, induce la remodelación ósea y permite el mantenimiento del volumen del reborde alveolar de forma excepcional (Shao S, 2015).

Por otro lado, estudios histológicos realizados a los seis meses después de colocar el injerto óseo muestran que las partículas de Bio-Oss® ocupan un 25% a un 30% del área de las muestras obtenidas y un 34% a un 40% de ellas estaban en contacto con hueso (Taylor J, 2010).

Esta escasa reabsorción de Bio-Oss®, se ha puesto de manifiesto en procedimientos de elevación de seno maxilar, donde al cabo de 10 años de su implantación se podían detectar gránulos de este biomaterial (Sartoni S, 2003).

En este sentido, Marino y cols, prepararon matrices de monetita, llevando a cabo una reacción de fraguado de  $\beta$ -fosfato tricálcico y el dihidrógeno fosfato de calcio, con una solución acuosa de ácido glicólico dando lugar a brushita que se deshidrata a monetita cuando es esterilizada en el autoclave. Los gránulos de monetita resultantes fueron evaluados en un ensayo clínico llevado a cabo en la Universidad Complutense de Madrid, donde se utiliza Bio-Oss® como material control (Marino FT, 2007).

Al cabo de tres meses de la implantación del material de regeneración, se toma una muestra del hueso de nueva formación para la realización del estudio histológico. Los resultados obtenidos demostraron que la tasa de regeneración lograda en el caso de la monetita era muy superior al material regenerador de control Bio-Oss®, tal y como se muestra en la siguiente imagen.

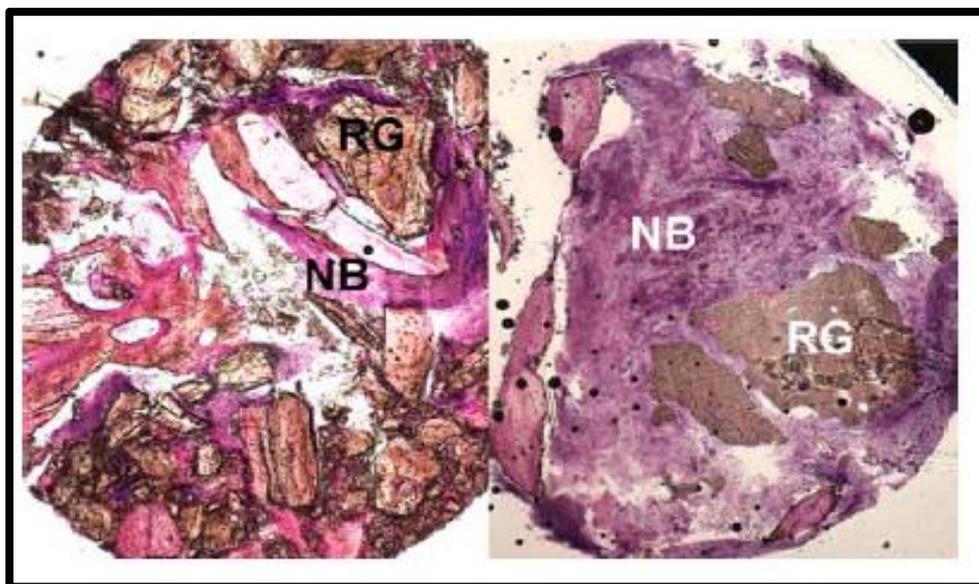


Fig.210. Derecha: material a base de monetita. Izquierda: material control: Bio-Oss®.  
NB: hueso neoformado. RG: material regenerador residual (Marino FT, 2007).

Como demuestra la siguiente gráfica, el material a base de monetita, indujo mayor cantidad de hueso neoformado (60% vs 35%), y se reabsorbió más rápidamente (25% vs 35% de material remanente), que el material de control Bio-Oss®.

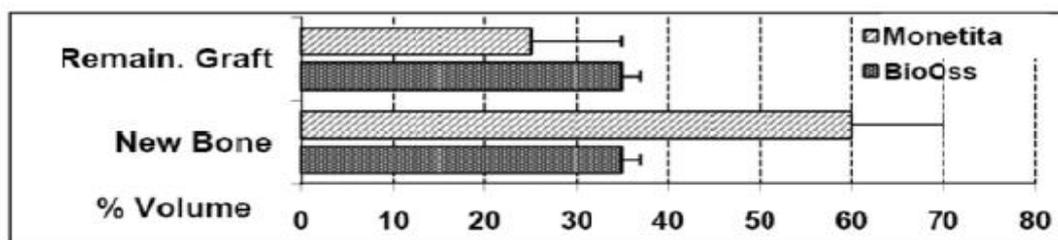


Fig.211. Gráfica de resultados cuantitativos en cuanto a la tasa de hueso nuevo formado, y reabsorción entre ambos materiales (Marino FT, 2007).

Tamimi y cols, compararon el comportamiento de un biomaterial compuesto por gránulos de brushita y  $\beta$ -TCP, con gránulos de Bio-Oss® implantados en cilindros de titanio en defectos óseos realizados en calota de conejos. Este material a estudio es similar en cuanto a composición que Sil-Oss®; ya que presenta brushita (en vez de monetita) y  $\beta$ -TCP (en vez de HA).

El material formado por brushita y  $\beta$ -TCP presentó mayor reabsorción *in vivo* y un aumento de la neoformación ósea en comparación con Bio-Oss®; coincidiendo con los resultados obtenidos en este trabajo (Tamimi F, 2006).

Si extrapolamos nuestros resultados, podemos observar un comportamiento similar en el caso de los alveolos regenerados con Sil-Oss®, que al ser monetita su principal componente presenta un proceso similar al demostrado por Marino en 2007; al compararlo con el comportamiento regenerativo de Bio-Oss®.

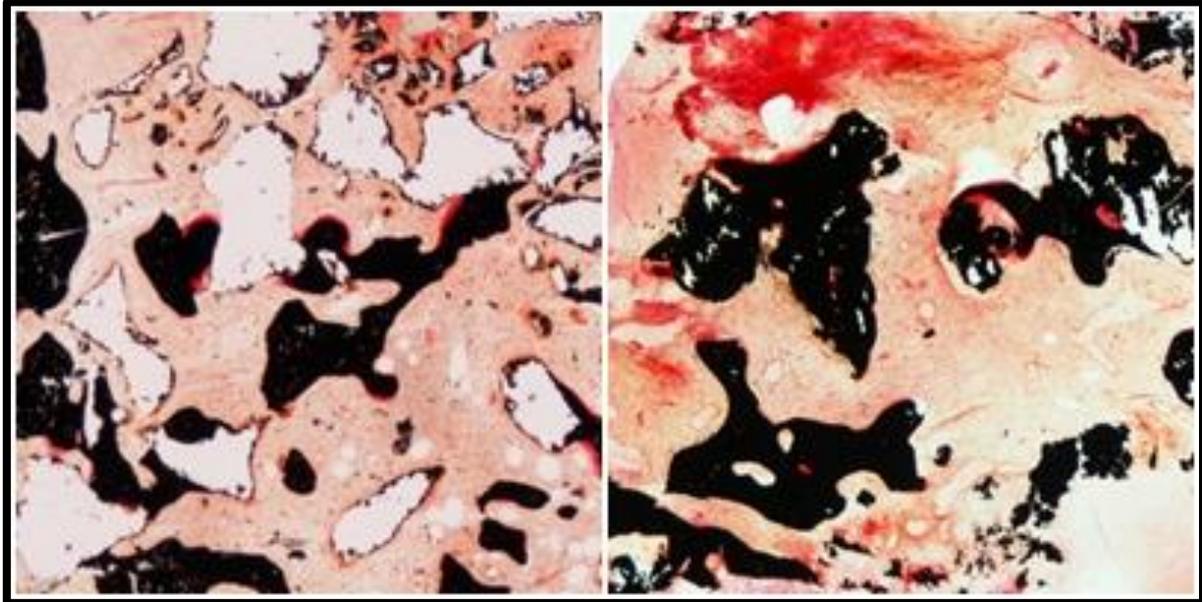


Fig.212. Comparativa de muestras a nivel de reabsorción.

Si comparamos ambas imágenes histológicas, observamos que la imagen de la izquierda (muestra de Bio-Oss®) pueden observarse restos de los gránulos del material. Sin embargo, la imagen de la derecha (muestra de Sil-Oss®) presenta un patrón mucho más uniforme, pasando inadvertido al presencia de algún tipo de gránulo.

Este comportamiento biológico pone de manifiesto que el material Bio-Oss®, se podría clasificar como un biomaterial que corrige los defectos óseo rellenando la cavidad del defecto, pero en ningún caso sustituyéndose completamente por hueso de nueva formación.

Este defecto de reabsorción es indeseable, ya que la presencia de material regenerativo residual va a comprometer la capacidad osteointegradora del propio material, y va a dificultar el proceso de remodelado óseo que se intenta conseguir (Duda M, 2004).

Padilla y cols en 2015, evaluando *in vitro* Sil-Oss® concluyeron que tras 16 semanas de la implantación, los gránulos del material aparecieron fragmentados y reducidos en tamaño; resultado de la colonización celular y la presencia de hueso nuevo (Padilla S, 2015).

Por este motivo, y en base a los resultados histológicos obtenidos en el presente trabajo, podríamos determinar que Sil-Oss® es un material apto para la regeneración ósea por su comportamiento *in vivo* en el medio biológico. Presenta un tiempo de integración ósea muy superior a la media del material más utilizado en el ámbito biomédico actual, y es totalmente sustituido en un corto periodo de tiempo por tejido óseo de nueva formación.

Otro de los factores a discutir en este trabajo es la eficacia en cuanto al mantenimiento del volumen de la cresta alveolar, este parámetro supone uno de los mayores problemas clínicos a los que el cirujano oral se debe enfrentar. Muchos han sido los materiales y técnicas propuestas para lograr el mantenimiento de este volumen y reducir al máximo la pérdida ósea.

A día de hoy se siguen comparando distintos materiales regeneradores con el objetivo de encontrar aquel biomaterial regenerador que permita un aumento y mantenimiento del reborde alveolar de una forma eficaz y duradera en el tiempo.

Investigadores rusos llevaron a cabo un estudio comparativo de distintos materiales y membranas asociadas, para determinar cuál de estas combinaciones presentaban mayores nivel regenerativos y volumétricos, donde conformaron tres grupos a estudiar: Bio-Oss Collagen® con la membrana Bio-Gide®, Osteodent-M® con la membrana Collost®, y BIOPLAST-dent® con la membrana BIOPLAST-dent-MK®. El resultado de esta comparativa demostró que el material y membrana que mejor cumplían estos objetivos regenerativos y volumétricos es Bio-Oss® junto a la membrana Bio-Gide® (Mikhaïlovskii AA, 2014).

Clásicamente se ha empleado Bio-Oss® ven la preservación de volumen alveolar con el fin de mantener un área de hueso remanente óptima para posterior colocación de implantes dentales. El uso de Bio-Oss® ha demostrado ser eficaz en numerosos estudio clínicos donde este material era comparado con el comportamiento natural del propio alveolo tras realizarse la exodoncia.

Un estudio llevado a cabo en perros por Araujo y cols, compararon alveolos rellenos con Bio-Oss® y alveolos que no habían sido rellenos, observándose que estos últimos tuvieron una resorción mucho mayor que los que se trataron con Bio-Oss®, de tal forma que el material actuó como un soporte evitando la reducción del nivel óseo (Araujo M, 2009).

Un estudio similar a este trabajo realizado por Schulz y cols., comparó el grado de pérdida de volumen que presentaban los alveolos a estudiar, tras la realización de la exodoncia comparando un total de 20 alveolos postextracción. Dividiendo el número total de alveolos a la mitad, obteniendo 10 alveolos que fueron tratados con hueso autólogo y otros 10 alveolos que fueron tratados con biomaterial Bio-Oss®; posteriormente ambos grupos fueron recubiertos por una membrana de colágeno reabsorbible.

Se realizaron las medidas del reborde alveolar en el momento de la inserción del injerto, a los 4 y 6 meses.

Por lo que Schulz y cols., determinaron que no existían diferencias significativas entre el empleo de Bio-Oss® y hueso autógeno en el mantenimiento de volumen del reborde alveolar, presentándose en ambos casos una reducción considerable que no se pudo evitar. La reabsorción en el caso del hueso autólogo fue mayor que en los alveolos tratados con Bio-Oss® tanto a los 4 como a los 6 meses (Schulz MC, 2015).

Zhan y cols., examinaron radiográficamente las modificaciones producidas en los alveolos postextracción en cuanto a cambios dimensionales tras la extracción de molares periodontalmente comprometidos.

El estudio advierte que existe mayor mantenimiento del volumen cuando los alveolos exodonciados son tratados con Bio-Oss® y posteriormente recubiertos por una membrana reabsorbible Bio-Gide®, en comparación con los alveolos vacíos que se emplearon como control.

En cuanto a la anchura en el caso del grupo de Bio-Oss® aumento de 3,40 a 5,80mm, mientras que en los alveolos de control este aumento se vio reducido a 1,45 a 2,90 mm.

Por lo tanto este estudio demostró que la combinación de Bio-Oss® y Bio-Gide® permite un aumento de la altura y anchura de la cresta alveolar tras la exodoncia, en comparación con los alveolos vacíos (Zhan YL, 2015).

De este modo, podemos determinar que Sil-Oss® junto a una membrana de colágeno, resulta una combinación clínica efectiva y eficiente para el mantenimiento del volumen óseo alveolar en los alveolos postextracción, del mismo modo que lo es la combinación de Bio-Oss® y Bio-Gide®, descrita por Mikhaïlovskiï (Mikhaïlovskiï AA, 2014).

Teniendo en cuenta todos estos estudios realizados acerca de la capacidad volumétrica de los materiales regenerativos, los resultados de las medidas intraoperatorias obtenidos en este trabajo presentan a Sil-Oss® como un material que permite la preservación del volumen óseo del mismo modo que lo hace Bio-Oss®; añadiendo a esta característica clínica todas las ventajas regenerativas y biológicas ya descritas que presenta Sil-Oss®.

No obstante, aún siendo similar el comportamiento clínico en cuanto al mantenimiento de volumen, es cierto que las características biológicas que presenta el material de estudio Sil-Oss® son superiores con respecto a Bio-Oss®.

La capacidad osteoinductiva de Sil-Oss®, asociada a la liberación de átomos de Si, Zn y Mg, y la reabsorción del material, favorecen el proceso neoformativo por lo que teniendo en cuenta su comportamiento biológico el empleo de Sil-Oss® en el tratamiento de alveolos post-extracción siempre será superior a Bio-Oss®; ya que permite el *restituto ad integrum* del alveolo.



Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss®  
en la regeneración de alveolos post-extracción.  
Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# VII. Conclusiones



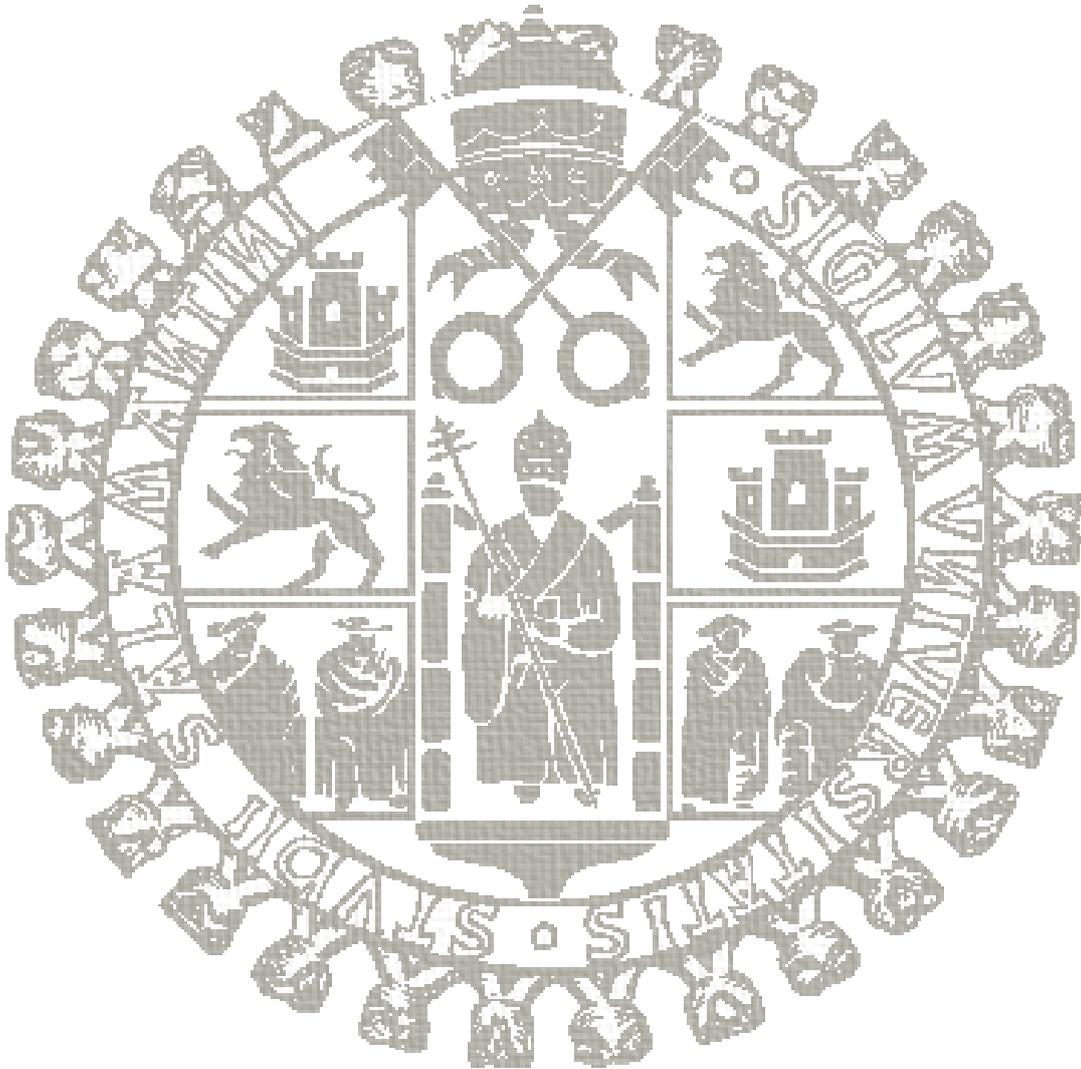
En relación a los resultados obtenidos en nuestro estudio sobre la seguridad y eficacia de Sil-Oss® en la regeneración de alveolos post-extracción, concluimos que:

1. Sil-Oss® es un material seguro que no presenta reacciones adversas graves. Los efectos adversos registrados son similares al resto de los materiales regenerativos del mercado. El dolor e inflamación presentados están directamente relacionados con la técnica quirúrgica empleada.
2. Sil-Oss® permite el mantenimiento del volumen óseo crestal cuando es injertado en alveolos post-extracción, a pesar de ser un material reabsorbible. Experimentando reducciones de altura y anchura similares a los biomateriales regenerativos clásicos.
3. Sil-Oss® es un material eficaz en la regeneración ósea de alveolos post-extracción, ya que induce la formación de tejido óseo a partir de sus gránulos, y presenta una actividad biológica similar al hueso remodelándose a lo largo de toda su estructura, gracias a su poder reabsortivo.
4. Radiográficamente Sil-Oss® presenta una densidad similar al hueso; ratificándose la capacidad de reabsorción del material, no advirtiéndose interfase alguna entre el hueso y el injerto.
5. Clínicamente los alveolos regenerados con Sil-Oss® permiten una adecuada colocación de implantes dentales, siendo un lecho excelente para lograr la estabilidad primaria del mismo.



Tesis Doctoral

D. Javier Flores Fraile



**“Seguridad y eficacia del nuevo biomaterial Sil-Oss® en la regeneración de alveolos post-extracción. Ensayo clínico randomizado comparativo”.**

# VIII. Referencias



Aarden EM, Burger EH, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem.* 1994;55:287-99.

Aguirre LA, Rodríguez MJ, Aguirre JM. Maxillary sinus lift with intraoral autologous bone and B-tricalcium phosphate: histological and histomorphometric clinical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12:E532-6.

Aimetti M, Romano F, Griga FB, Godio L. Clinical and histologic healing of human extraction sockets filled with calcium sulfate. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009; 24(5): 902-909.

Ajaxon I, Öhman C, Persson C. Long-Term *In Vitro* Degradation of a High-Strength Brushite Cement in Water, PBS, and Serum Solution. *BioMed Research International.* 2015;2015:575079.

Alkhraisat MH, Rueda C, Jerez LB, Tamimi Marino F, Torres J, Gbureck U, Lopez Cabarcos E. Effect of silica gel on the cohesion, properties and biological performance of brushite cement. *Acta Biomater.* 2010; 6 (1):257-65.

Alkhraisat MH, Rueda C, Marino FT, Torres J, Jerez LB, Gbureck U, Cabarcos EL. The effect of hyaluronic acid on brushite cement cohesion. *Acta Biomater.* 2009; 5(8): 3150-6.

Allegrini S Jr, Koenig B Jr, Allegrini MR, Yoshimoto M, Gedrange T, Fanghaenel J, Lipski M. Alveolar ridge sockets preservation with bone grafting-review. *Ann Acad Med Stetin.* 2008; 54:70-81.

Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 1969; 27:309-18.

Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc. (1939).* 1960;61: 32- 44.

Araujo M, Linder E, Lindhe J. Effect of a xenograft on early bone formation in extraction sockets: an experimental study in dog. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20(1): 1-6.

Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: Histomorphometric evaluations at 9 months. *J Periodontol.* 2000; 71(6):1015-1023

Ashman A. Ridge preservation: important buzzwords in dentistry. *Gen Dent.* 2000; 48(3):304-312.

Atwood DA. Postextraction changes in adult mandible as illustrated by microradiographs of midsagittal sections and serial cephalometric roentgenograms. *J Prosthet Dent*. 1963; 13(5): 810-824.

Atwood DA. Reduction of residual ridges: a major oral disease entity. *J Prosthet Dent*. 1971; 26:266-79

Atwood DA, Coy WA. Clinical, cephalometric, and densitometric study of reduction of residual ridges. *J Prosthet Dent*. 1971; 26(3): 280-95.

Balamurugan A, Michel J, Fauré J, Benhayoune H, Wortham L, Sockalingum G, Banchet V, Bouthors S, Laurent-Maquin D, Balossier G. Synthesis and Structural Analysis of Sol gel Derived Stoichiometric Monophasic Hydroxyapatite. *Ceramics-Silikáty*. 2006; 50 (1): 27-31.

Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. Primer on the metabolic bone disorder of mineral metabolism. *Raven Press*. 1993; 3-9.

Barrère F, Blitterswijk C, Groot K. Bone regeneration: molecular and cellular interactions with calcium phosphate ceramics. *Int J Nanomedicine*. 2006; 1:317- 32.

Bascones A. Periodoncia clínica e implantología oral. 2ªed. Avances. Madrid; 2001:655-65.

Bashoor-Zadeh M, Baroud G, Bohner M. Simulation of the in vivo resorption rate of beta-tricalcium phosphate bone graft substitutes implanted in a sheep model. *Biomaterials*. 2011; 32:6362-73.

Bauer TW, Smith ST. Bioactive materials in orthopaedic surgery: overview and regulatory considerations. *Clin Orthop*, 2002; 395:11-22.

Becker W, Dahlin C, Lekholm U, Bergstrom C, Van Steenberghe D, Higuchi k, Becker BE. Five-year evaluation of implants placed at extraction and with dehiscences and fenestration defects augmented with ePTFE membranes: results from a prospective multicenter study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 1999; 1(1): 27-32.

Becker W. Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. *J Periodontol*. 2003;33:26-35.

Benito JC, Puig AG. *La repuesta inmunitaria en el transplante de aloinjertos óseos*. *Inmunologia*. 2000; 19(4): 148.

Bennett CN, Longo KA, Wright WS, Suva LJ, Lane TF, Hankenson KD, MacDougald OA. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005.1;102:3324-9.

Bielby R, Jones E, Mc Gonagle D. The role of mesenchymal stem cells in maintenance and repair of bone. *Injury*. 2007;38(1):S26-32.

Bohner M, Theiss F, Apelt D, Hirsiger W, Houriet R, Rizzoli G, Gnos E, Frei C, Auer JA, von Rechenberg B. Compositional changes of a dicalcium phosphate dihydrate cement after implantation in sheep. *Biomaterials*. 2003;24(20):3463-74.

Bonewald LF. Osteocytes as multifunctional cells. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2006; 6(4): 331.

Born R, Ehrlich H, Bazhenov V, Shapkin N. Investigation of nanoorganized biomaterials of marine origin. *J Arabjc*. 2010;3:27-32.

Boroujeni NM, Zhou H, Luchini TJ, Bhaduri SB. Development of monetite/phosphorylated chitosan composite bone cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2014;102(2):260-6.

Boroujeni NM, Zhou H, Luchini TJ, Bhaduri SB. Development of multi-walled carbon nanotubes reinforced monetite bionanocomposite cements for orthopedic applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013;33(7):4323-30.

Boskey AL. Noncollagenous matrix proteins and their role in mineralization. *Bone and Mineral*. 1989;6:111-23.

Bostrom M, Boskey A, Kaufman J, Einhorn TA. Form and Function of Bone. *Orthopaedic Basic Science, Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System*. eds.

Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR. American Academy of Orthopaedic Surgeons, 320-369, 2000.

Bozal C. Biología del Osteocito. *Actualiz Osteología*. 2006; 2(1):19.

Brownfield LA, Weltman RL. Ridge Preservation with or without an osteoinductive allograft: A clinical, radiographic, micro-computed tomography, and histologic study evaluating dimensional changes and new bone formation of the alveolar ridge. *J Periodontol*. 2012; 83:581-589.

Budavari S, O'Neil MJ, Smith A, Heckelman PE, Kinneary JF. Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, 12th edn. 1996. Chapman & Hall, 1741 pp.

Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R: Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization. *Instr Course Lect*. 1996;45:371-86.

Burchardt H: The biology of bone graft repair. *Clin Orthop*. 1983;174:28-42.

- Burr DB, Robling AG, Turner CH. Effects of Biomechanical Stress on Bones in Animals. *Bone*. 2002 ;30(5):781-6.
- Cama G, Gharibi B, Knowles JC, Romeed S, DiSilvio L, Deb S. Structural changes and biological responsiveness of an injectable and mouldable monetite bone graft generated by a facile synthetic method. *J R Soc Interface*. 2014;11(101):20140727.
- Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Klokkevold PR, Kenney EB, Dimitrijevic B, Nedic M, Jancovic S, Orsini M. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000; 90(5):581-586.
- Camargo PM, Lekovic V, Carnio J, Kenney EB. Alveolar bone preservation following tooth extraction: a perspective of clinical trials utilizing osseous grafting and guided bone regeneration. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2004; 16(1): 9-18.
- Campana V, Milano G, Pagano E, Barba M, Cicione C, Salonna G, Lattanzi W, Logroscino G. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. *J Mater Sci Mater Med*. 2014. 25(10), 2445–2461.
- Canalis E, Economides AN, Gazzero E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocr Rev*. 2003;24:218-35.
- Carlisle, E. Silicon: a requirement in bone formation independent of vitamin D1. *Calcif Tissue Int*. 1981;33(1):27-34.
- Carlisle EM. Silicon: a possible factor in bone calcification. *Science*. 1970;167(3916):279-80.
- Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. *Clin Oral Implants Res*. 2003; 14: 137-43.
- Carmagnola D, Berglundh T, Lindhe J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss with bone tissue. *J Clin Periodontol*. 2002; 29: 377-383.
- Cavalcanti SC1, Pereira CL, Mazzonetto R, de Moraes M, Moreira RW. Histological and histomorphometric analyses of calcium phosphate cement in rabbit calvaria. *J Craniomaxillofac Surg*. 2008;36(6):354-9.
- Chambers TJ, Fuller K. Bone cells predispose bone surfaces to resorption by exposure of mineral to osteoclastic contact. *J Cell Sci*. 1985; 76:155-65.
- Chang B-S, Lee, gt, inits, C.K, fnm, et al. Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations. *Biomaterials*. 2000;21(12):1291-8.

Chavassieux P, Meunier P. Histologie et cytologie de l'os normal Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris-France), Appareil locomoteur 2003; 14- 002-A-10, 6 p.

Chen Q, Roether JA, Boccaccini AR. Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials Topics. Tissue Engineering. 2008.Ch. 3,Vol. 4. Eds.

Chernousova S, Epple M. Bioactive bone substitution materials. *Adv Biomater Devices Med.* 2014;1: 74-87.

Chow LC, Markovic M, Takagi SA. Dual constant–composition titration system as an in vitro resorption model for comparing dissolution rates of calcium phosphate biomaterials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2003;65(2):245-51.

Civitelli R. Cell-cell communication in the osteoblast/osteocyte lineage. *Arch Biochem Biophys.* 2008;473:188-92.

Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:131-9.

Clarke H, Garimella R, Tague SE. The role of matrix vesicles in growth plate development and biomineralization. *Front Biosci.* 2005;10:822.

Clément J. Desarrollo y caracterización de un material compuesto totalmente biodegradable para aplicaciones quirúrgicas. PhD Thesis 2001; Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metallúrgica. Universitat Barcelona Politècnica de Catalunya.

Crespi R, Capparè P, Gherlone E. Magnesium-Enriched Hydroxyapatite Compared to Calcium Sulfate in the Healing of Human Extraction Sockets: Radiographic and Histomorphometric Evaluation at 3 Months. *J Periodontol.* 2009;80(2):210-8.

Daculsi G. Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials.* 1998;19:1473-8.

Damen JJ, Ten Cate JM. Silica-induced precipitation of calcium phosphate in the presence of inhibitors of hydroxyapatite formation. *J Dent Res.* 1992;71(3):453-7.

Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Aust Dent J.* 2008;53:11-21.

Day RM. Bioactive glass stimulates the secretion of angiogenic growth factors and angiogenesis *in vitro*. *Tissue Eng.* 2005;11(5-6):768-77.

De Aza PN, De Aza AH, De Aza S. Crystalline Bioceramic Materials. Boletín de la sociedad española de cerámica y vidrio. 2005;44(3):135-45.

De Coster P, Browaeys H, De Bruyn H. Healing of Extraction Sockets Filled with BoneCeramic (R) Prior to Implant Placement: Preliminary Histological Findings. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011 ;13(1):34-45

Delloye C, Cnockaert N, Cornu O: Bone substitutes in 2003: an overview. *Acta Orthop Belg*. 2003 69:1-8.

Döri F, Huszár T, Nikolidakis D, Tihanyi D, Horváth A, Arweiler NB, Gera I, Sculean A. Effect of platelet-rich plasma on the healing of intrabony defects treated with beta tricalcium phosphate and expanded polytetrafluoroethylene membranes. *J Periodontol*. 2008;79:660-9.

Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates. *J Mater Sci*. 2007;42:1061-1095.

Doty SB. Morphological evidence of gap junctions between bone cells. *Calcif Tissue Int*. 1981;33:509-12.

Driessens FCM, Planell JA, Boltong MG, Khairoun I, Ginebra MP. Osteotransductive bone cements. *Proc Instn Mech Engrs*. 1998;212:427-435.

Dubok VA. Bioceramics - Yesterday, today, tomorrow. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. 2000;39(7-8):381-394.

Duda M, Pajak J. The issue of bioresorption of the Bio-Oss xenogeneic bone substitute in bone defects. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med*. 2004;59(1):269-77.

Dunstan E, Ladon D, Whittingham-Jones P, Carrington R, Briggs TW. Chromosomal aberrations in the peripheral blood of patients with metal-on-metal hip bearings. *J Bone Joint Surg Am*. 2008;90(3):517-22.

Duplomb L, Dagouassat M, Jourdon P, Heymann D. Concise Review: Embryonic Stem Cells: A New Tool to Study Osteoblast and Osteoclast Differentiation. *Stem Cells*. 2007;25(3):544-52.

Elves MW, Pratt LM. The pattern of new bone formation in isografts of bone. *Acta Orthop Scand* 1975;46:549-57.

Eriksen EF, Eghbali-Fatourehchi GZ, Khosla S. Remodeling and vascular spaces in bone. *J Bone Miner Res*. 2007;22(1):1-6.

Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: A Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006;21:696-710.

Estrada C, Paz AC, López LE. Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas. *Rev EIA*. 2006; 5:93-100.

Fattah H. Wollastonite: New aspects promie growth. *Industrial Minerals*. 1994;11:21-43.

Fawcett DW, Bloom. Tratado de histología. McGraw-Hill Interamericana 12ª Edición. Madrid, 1995;188-239.

Feng B, Jinkang Z, Zhen W, Jianxi L, Jiang C, Jian L, Guolin M, Xin D. The effect of pore size on tissue ingrowth and neovascularization in porous bioceramics of controlled architecture in vivo. *Biomed Mater*. 2011;6:015007.

Fernandes PG, Novaes AB Jr, de Queiroz AC, de Souza SL, Taba M Jr, Palioto DB, Grisi MF. Ridge Preservation With Acellular Dermal Matrix and Anorganic Bone Matrix Cell-Binding Peptide P-15 After Tooth Extraction in Humans. *J Periodontol*. 2011;82(1):72-9.

Fernández de Retana P: Osteointegración del homoinjerto óseo triturado en los defectos cavitarios. Estudio experimental en conejos. PhD Thesis 1993; Departament de Cirurgia i Especialitats Quirúrgiques. Universitat de Barcelona.

Fernández-Tresguerres I, Alobera MA, Canto M, Blanco L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea I. Histología y fisiología del tejido óseo. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;11:471-51.

Fernández-Tresguerres I, Alobera MA, Canto M, Blanco L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;11:151-7.

Ferrus J, Cecchinato D, Pjetursson EB, Lang NP, Sanz M, Lindhe J. Factors influencing ridge alterations following immediate implant placement into extraction sockets. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(1):22-9.

Filho OP, La Torre GP, Hench LL. Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5. *J Biomed Mater Res A*. 1996;30(4):509-14.

Finkemeier CG. Bone-grafting and bone- graft substitutes. *J Bone Joint Surg*. 2002;84:454-64.

Fischer J, Kolk A, Wolfart S, Pautke C, Warnke PH, Plank C, Smeets R. Future of local bone regeneration - Protein versus gene therapy. *J Craniomaxillofac Surg*. 2011;39:54-64.

Flautre B, Delecourt C, Blary MC, Van Landuyt P, Lemaitre J, Hardouin P. Volume effect on biological properties of a calcium phosphate hydraulic cement: experimental study in sheep. *Bone*. 1999; 25(2): 35-39.

Foitzik C, Staus H. Le Fort I Osteotomy in atrophied maxilla and bone regeneration with pure-phase beta-tricalcium phosphate and PRP. *Implant Dent*. 2003;12:132-9.

- Franco J, Souto A, Rey P, Guitián F, Martínez-Ínsua A. Procesamiento ceámico de B-TCP para la fabricación de piezas implantables. *Bol Soc Esp Ceram V*. 2006;45:265-70.
- Franz-Odendaal TA1, Hall BK, Witten PE. Buried Alive: How Osteoblasts Become Osteocytes. *Dev Dyn*. 2006;235(1):176-90.
- Friedlaender GE. Bone grafts: The basic science rationale of clinical applications. *J Bone Joint Surg*. 1987;69 A:786-90.
- Froum SJ, Weinberg MA, Tarnow D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. *J Periodontol*. 1998;69(6):698-709.
- Fujita R, Yokoyama A, Nodasaka Y, Kohgo T, Kawasaki T. Ultrastructure of ceramic- bone interface using hydroxiapatite and beta-tricalcium phosphate ceramic and replacement mechanism of beta-tricalcium phosphate in bone. *Tissue & Cell*. 2003;35:427-40.
- Gaasbeek RD, Toonen HG, van Heerwaarden RJ, Buma P. Mechanism of bone incorporation of B-TCP bone substitute in open wedge tibial osteotomy in patients. *Biomaterials*. 2005;26:6713-9.
- Garbuz DS, Masri BA, Czitrom AA. Biology of allografting. *Orthop Clin North Am*. 1998;29:199-20.
- Gaur T, Lengner CJ, Hovhannisyan H, Bhat RA, Bodine PV, Komm BS, Javed A, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Lian JB. Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression. *J Biol Chem*. 2005;280(39):33132-40.
- Geffers M, Barralet JE, Groll J, Gbureck U. Dual-setting brushite-silica gel cements. *Acta Biomater*. 2015;11:467-76.
- Geneser F. Histología; sobre bases moleculares. Panamericana. 3ª Edición. 2000;263-297.
- Ghanaati S, Barbeck M, Orth C, Willershausen I, Thimm BW, Hoffmann C, Rasic A, Sader RA, Unger RE, Peters F, Kirkpatrick CJ. Influence of beta-tricalcium phosphate granule size and morphology on tissue reaction in vivo. *Acta Biomater*. 2010;6:4476-87.
- Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005;36(3):20-7.
- Ginebra MP, Driessens FCM, Planell JA: Effect of the particle size on the micro and nanostructural features of a calcium phosphate cement: a kinetic analysis. *Biomaterials*. 2004;25:3453-62.

Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop*. 1987;225:7-16.

Goodship AE, Lanyon LE, McFie F. Functional adaptation of bone to increased stress. An experimental study. *J Bone Joint Surg Am*. 1979;61:539-546.

Gorustovich AA, Roether JA, Boccaccini AR. Effect of bioactive glasses on angiogenesis: a review of *in vitro* and *in vivo* evidences. *Tissue Eng Part B Rev*. 2010;16(2):199-207.

Goyenvalle E, Gauthier O, Bouler JM, Le Nihouannen JC, Daculsi G, Aguado E. Intérêts et Limites des Céramiques Phosphocalciques en Chirurgie Orthopédique Vétérinaire. *Revue Méd. Vét*. 2000; 151(4): 291-302.

Grases F, Ramis M, Costa-Bauza A. Effects of phytate and pyrophosphate on brushite and hydroxyapatite crystallization. Comparison with the action of other polyphosphates. *Urological Research*. 2000; 28(2): 136-140.

Greenspan DC. Bioactive ceramic implant materials. *Science*. 1999;4:389-93.

Grover LM, Knowles JC, Fleming GJ, Barralet JE. In vitro aging of brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*. 2003; 24(23): 4133-41.

Guangpeng L, Yun Z, Bo L, Jian S, Wuyin L, Lei C. Bone regeneration in a canine cranial model using allogeneic adipose derived stem cells and coral scaffold. *Biomaterials*. 2013; 34: 2655-64.

Hahn E, Sonis S, Gallagher G, Atwood D. Preservation of alveolar ridge with hydroxyapatite-collagen implants in rats. *J Prosthet Dent*. 1988;60:729-734

Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontol*. 2008;47:172- 92.

Hämmerle CH, Araújo MG, Simion M. Evidence-based knowledge on the biology and treatment of extraction sockets. *Clin Oral Implants Res*. 2012;23( 5):80-2

Hamza S, Slimanea N, Azarib, Z, Pluinageb G. Structural and mechanical properties of the coral and nacre and the potentiality of their use as bone substitutes. *Applied Surface Science*. 2013;264:485-91.

Hench LL, Polak JM. Third-Generation Biomedical Materials. *Science (Washington)*. 2002;295(5557): 1014-1017.

Hench LL: Bioceramics. *J Am Ceram Soc*. 1998;81:1705-28.

- Hench LL, Splinter RJ, Allen WC, Greenlee TK. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res A*. 1971;5(6):117-41.
- Henriksen K, Neutsky-Wulff AV, Bonewald LF, Karsdal MA. Local communication on and within bone controls bone remodeling. *Bone*. 2009;44:1026-33.
- Hert J. Growth of the epiphyseal plate in circumference. *Acta Anat*. 1972;82:420-436.
- Hinoi E, Takarada T, Yoneda Y. Glutamate signaling system in bone. *J Pharmacol Sci*. 2004; 94(3): 215-220.
- Hollinger JO, Brekke J, Gruskin E, Lee D. Role of bone substitutes. *Clin Orthop*. 1996;324:55-65.
- Hoppe A, Güldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011;32(11):2757-74.
- Horch HH, Sader R, Pautke C, Neff A, Deppe H, Kolk A. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2006;35:708-13.
- Hsu YH, Turner IG, Miles AW. Mechanical characterization of dense calcium phosphate bioceramics with interconnected porosity. *J Mater Sci Mater Med*. 2007;18:2319-29.
- Hunter GK, Hauschka PV, Poole AR, Rosenberg LC, Goldberg HA. Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue proteins. *Biochem J*. 1996;317:59-64.
- Hutmacher DW, Schantz JT, Lam CX, Tan KC, Lim TC. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007;1(4):245–260
- Ikenaga M, Hardouin P, Lemaitre J, Andrianjatovo H, Flautre B. Biomechanical characterization of a biodegradable calcium phosphate hydraulic cement: a comparison with porous biphasic calcium phosphate ceramics. *J Biomed Mater Res*. 1998;40(1):139-144.
- Jahangiri L, Devlin H, Ting K, Nishimura I. Current perspectives in residual ridge remodeling and its clinical implications: a review. *J Prosthet Dent*. 1998;80:224-37.
- Januário AL, Duarte WR, Barriviera M, Mesti JC, Araújo MG, Lindhe J. Dimension of the facial bone wall in the anterior maxilla: a cone-beam computed tomography study. *Clin Oral Implants Res*. 2011;22(10):1168-71

Jee WS, Frost HM. Adaptations du squelette pendant la croissance. *Triangle*. 1993;33:85-97.

Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjørting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE. Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(1):55-66.

Ji C Ahn JG. Clinical experience of the brushite calcium phosphate cement for the repair and augmentation of surgically induced cranial defects following the pterional craniotomy. *J Korean Neurosurg Soc*. 2010;47(3):180-4.

Johansson B, Grepe A, Wannfors K, Hirsch JM. A clinical study of changes in the volume of bone grafts in the atrophic maxilla. *Dentomaxillofac Radiol*. 2001;30(3):157-61.

Johnson K. A study of the dimensional changes occurring in the maxilla following closed face immediate denture treatment. *Aust Dent J*. 1969;14:370-6.

Johnson, K. A study of the dimensional changes occurring in the maxilla following tooth Extraction. *Aust Dent J*. 1969;14(4):241-4.

Jugdaohsingh R, Tucker KL, Qiao N, Cupples LA, Kiel DP, Powell JJ. Dietary silicon intake is positively associated with bone mineral density in men and premenopausal women of the Framingham Offspring cohort. *J Bone Miner Res*. 2004;19(2):297-307

Julien M, Khoshniat S, Lacreusette A, Gatius M, Bozec A, Wagner EF, Wittrant Y, Masson M, Weiss P, Beck L, Magne D, Guicheux J. Phosphate-dependent regulation of MGP in osteoblasts: role of ERK1/2 and Fra-1. *J Bone Miner Res*. 2009;24(11):1856-68.

Kalk VW, Raghoobar GM, Jansma J, Boering G. Morbidity from iliac crest bone harvesting. *J Oral Maxillofac Surgery*. 1996;54:1424-9.

Kao ST, Scott DD. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofacial Surg Clin Am*. 2007;19:513-521.

Khan Y, Yaszemski MJ, Mikos AG, Laurencin CT. Tissue engineering of bone: material and matrix considerations. *J Bone Joint Surg Am*. 2008;90 Suppl 1:36-42.

Kenny SM, Buggy M. Bone cements and fillers: A review. *J Mater Sci Mater Med*. 2003;14:923-38.

Kim MH, Bae YJ, Choi Mk, Chung YS. Silicon Supplementation Improves the Bone Mineral Density of Calcium-Deficient Ovariectomized Rats by Reducing Bone Resorption. *Biol Trace Elem Res*. 2009;128:239-247

Kogianni G, Noble BS. The biology of osteocytes. *Curr Osteoporos Rep*. 2007;5:81-6.

Kokubo T, Ito S, Sakay S, Yamamuro T. Formation of High Strength Bioactive Glass-Ceramic in the System MgO-CaO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. *J Mater Sci Mater Med*.1986;21:536-40.

Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*. 2006; 27: 2907-2915.

LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop* .2002;395:81-98.

Le Guéhennec L, Layrolle P, Daculsi G. A review of bioceramics and fibrin sealant. *Eur Cell Mater*. 2004;8:1-10.

Lekovic V, Kenney EB, Weinlander M, Han T, Klokkevold P, Nedic M, Orsini M. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. *J Periodontol*. 1997;68:563-70.

Lekowic V, Camargo PM, Klokkevold P, Weinlender M, Kenney EB, Dimitrijevic B, Nedic M. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *J Periodontol*. 1998;69:1044- 1049.

Lemaitre J, Mirtchi A, Mortier A. Calcium phosphate cements for medical use: state of the art and perspectives of development. *Silicate Industriels*. 1987; 10: 141-146.

Leu A, Leach JK. Proangiogenic potential of a collagen/bioactive glass substrate. *Pharm Res*. 2008 ;25(5):1222-9.

Linovitz RJ, Peppers TA. Use of an advanced formulation of btricalcium phosphate as a bone extender in interbody lumbar fusion. *Orthopedics*. 2002;25(5):585-9.

Liu X, Ding C, Chu PK. Mechanism of apatite formation on wollastonite coatings in simulated body fluids. *Biomaterials*. 2004; 25(10)1755-1761.

López MC, Amaral R, Bussadori S. Proteolisis enzimática del colágeno dentinario. *Odontoestomatología*. 2010; 12(14): 35-44.

Low KL, Tan SH, Zein SHS, Roether JA, Mouriño V, Boccaccini AR. Calcium phosphate-based composites as injectable bone substitute materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;94(1):273-86.

Lu JX, Flautre B, Anselme K, Hardouin P, Gallur A, Descamps M, et al. Role of interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo. *J Mater Sci Mater Med*. 1999;10(2):111-120.

Mackie EJ. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003;35:1301-5.

Maeno S, Niki Y, Matsumoto H, Morioka H, Yatabe T, Funayama A, Toyama Y, Taguchi T, Tanaka J. The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture. *Biomaterials*. 2005;26(23): 4847-4855.

Mainard D, Zanardo D, Galois L, Delagoutte JP. Principes généraux et classification des substituts de l'os. *Rev Chir Orthop*. 1997;84:52-56.

Malloy KM, Hilibrand AS. Autograft versus allograft in degenerative cervical disease. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;(394):27-38.

Mardas N, Chadha V, Donos N. Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute or a bovine-derived xenograft: a randomized, controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(7):688-98.

Marie PJ. Structure, organization and healing of bone. In: Cruss RL ed. The musculoskeletal system. *Churchill livingstone*. 1982:109-162.

Marie PJ. The calcium-sensing receptor in bone cells: a potential therapeutic target in Osteoporosis. *Bone*. 2010;46(3):571-6.

Marino FT, Torres J, Tresguerres I, Jerez LB, Cabarcos EL. Vertical bone augmentation with granulated brushite cement set in glycolic acid. *J Biomed Mater Res A*. 2007; 81:93.

Mariñoso ML, Serrano S. Biología del Hueso. *Clin Invest Gin Obst*. 1999;26:13-21.

Martin RB. Toward a unifying theory of bone remodeling. *Bone*. 2000;26:1-6.

McAllister BS, Haghghat K. Bone augmentation techniques. *J Periodontol*. 2007;78:377-96.

Mc Ewen W. Observation concerning transplantation of bone. Illustrated by a case of inter-human osseous transplantation, where by over two-thirds of the shaft of the humerus was restored. *Proc Roy Soc London*. 1881; 32: 232-47.

Mendes SC, De Bruijn JD, Bakker K et al. Human bone marrow stromal cells for bone tissue engineering: in Vitro in vivo characterization. *Bone engineering*. 2000;190-195,442-446.

Mikhaïlovskiï AA, Kulakov AA, Korolev VM, Vinnichenko Olu. Clinical and radiological study on tissue regeneration after alveolar bone augmentation with various osteoplastic materials and membranes. *Stomatologija (Mosk)*. 2014;93(4):37-40.

Minsk L. Bone replacement grafts for periodontal regeneration. *Compend Contin Educ Dent*. 2005;26:676-680.

Mirtchi AA, Lemaitre J, Terao N. Calcium phosphate cements: study of the beta-tricalcium phosphate–monocalcium phosphate system. *Biomaterials*. 1989; 10(7): 475–80.

Mohan BG, Suresh Babu S, Varma HK, John A. In vitro evaluation of bioactive strontium-based ceramic with rabbit adipose-derived stem cells for bone tissue regeneration. *J Mater Sci Mater Med*. 2013;24(12):2831-44.

Momma F, Nakazawa T, Amagasa M. Repair and regeneration of vertebral body after antero-lateral partial vertebrectomy using betatricalcium phosphate. *Neurol Med Chir*. 2008;48:337-42.

Monjo M, Rubert M, Wohlfahrt JC, Rønold HJ, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. In vivo performance of absorbable collagen sponges with rosuvastatin in critical-size cortical bone defects. *Acta Biomater*. 2010;6:1405-12.

Morrison S., Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature*. 2006; 441:1068.

Moseke C, Bayer C, Vorndran E, Barralet JE, Groll J, Gbureck U. Low temperature fabrication of spherical brushite granules by cement paste emulsion. *J Mater Sci Mater Med*. 2012;23(11):2631-7.

Mundy GR. Bone Resorbing Cells. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, Second Edition*. Favus MJ, ed. Nueva York: Raven Press. 1993;25-32.

Nakahama K. Cellular communications in bone homeostasis and repair. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67:4001-9.

Neiva RF, Tsao YP, Eber R, Shotwell J, Billy E, Wang HL. Effects of a putty-form hydroxyapatite matrix combined with the synthetic cell-binding peptide P-15 on alveolar ridge preservation. *J Periodontol*. 2008;79(2):291-9

Nielsen FH, Poellot R. Dietary silicon affects bone turnover differently in ovariectomized and sham-operated growing rats. *J Trace Elem Exp Med*. 2004; 17(3): 137-149.

Nilsson M, Fernandez E, Sarda S, Lidgren L, Planell JA. Characterization of anovel calcium phosphate/sulphate bone cement. *J Biomed Mater Res*. 2002;61(4):600-7.

Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Radespiel-Tröger M, Kloss F, Neukam FW. Morbidity of harvesting of chin grafts: a prospective study. *Clin Oral Implants Res*. 2001;12:495-502.

Nkenke E, Radespiel-Tröger M, Wiltfang J, Schultze-Mosgau S, Winkler G, Neukam FW. Morbidity of harvesting of retromolar bone grafts: a prospective study. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13:514-21.

Nkenke E, Weisbach V, Winckler E, Kessler P, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J, Neukam FW. Morbidity of harvesting of bone grafts from the iliac crest for preprosthetic augmentation procedures: a prospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33:157-63.

Norton MR, Wilson J. Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002;17:249-57.

O'Brien TP, Hinrichs JE, Schaffer EM. The prevention of localized ridge deformities using guided tissue regeneration. *J Periodontol.* 1994;65(1):17-24.

Ogose A, Hotta H, Kawashima H, Tokunaga K, Endo N, Umezu H. Histological examination of beta-tricalcium phosphate graft in human femur. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater.* 2002;63:601-4.

Ogose A, Hotta H, Kawashima H, Kondo N, Gu W, Kamura T, Endo N. Comparison of hydroxiapatite and beta tricalcium phosphate as bone substitutes after excision of bone tumors. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater.* 2005;72B:94-101.

Ogose A, Kondo N, Umezu H, Hotta T, Kawashima H, Tokunaga K, Ito T, Kudo N, Hoshino M, Gu W, Endo N. Histological assessment in grafts of highly purified beta- tricalcium phosphate (OSferion®) in human bones. *Biomater.* 2006;27:1542-9.

Okazaki Y, Gotoh E. Comparison of Metal Release from Various Metallic Biomaterials in vitro. *Biomaterials.* 2005;26(1):11-21.

Okuda T, Ioku K, Yonezawa I, Minagi H, Kawachi G, Gonda Y, Murayama H, Shibata Y, Minami S, Kamihira S, Kurosawa H, Ikeda T. The effect of the microstructure of beta-tricalcium phosphate on the metabolism of subsequently formed bone tissue. *Biomater.* 2007;28:2612-21.

Olszta MJ, Cheng X, Jee SS, Kumar R, Kim Y, Kaufman MJ, Douglas E, Gower LB. Bone Structure and Formation: A New Perspective," *Materials Science & Engineering R.* 2007;58(3):77-116.

Ono D, Jimbo R, Kawachi G, Ioku K, Ikeda T, Sawase T. Lateral bone augmentation with newly developed beta-tricalcium phosphate block: an experimental study in the rabbit mandible. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22:1366-1371.

Orimo H. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in Health and disease. *J Nippon Med Sch.* 2010;77 (1): 4.

Ortega AJJ, Saldago SNC. Preprosthetic surgery: preservation of the alveolar process using retained tooth roots. *Pract Odontol.* 1991;12:13-15.

- Padilla S, Garcia de Castro A, Garzón-Gutiérrez A, Benito L, Enciso S, Canillas M, Carrodegua RG. Novel Nanostructured Zn-substituted Monetite Based Biomaterial for Bone Regeneration. *J Nanomed Nanotechnol*. 2015; 6: 325.
- Parfitt AM. Misconceptions: epiphyseal fusion causes cessation of growth. *Bone*. 2002 ;30(2):337-9.
- Passutti N, Delécrin J, Daculsi G. Experimental data regarding macroporous biphasic calcium phosphate ceramics. *Eur J Orthop Sur Traumatol*.1997;7:79-84.
- Pasteris JD, Wopenka B, Valsami-Jones E. Bone and Tooth Mineralization: Why Apatite. *Elements*. 2008;4: 97-104.
- Patel N, Best SM, Bonfield W, Gibson IR, Hing KA, Damien E, Revell PA. A comparative study on the in vivo behavior of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules. *J Mater Sci: Mater Med*. 2002;3:1199-1206.
- Perni S, Thenault V, Abdo P, Margulis K, Magdassi S, Prokopovich P. Antimicrobial activity of bone cements embedded with organic nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:6317-6329.
- Piatelli M, Favero G. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: A histologic long-term report of 20 cases in human. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999; 14 (6): 835-840
- Pietrokovski J. The bony residual ridge in man. *J Prosthet Dent*. 1975;34(4):456-62.
- Porter JR, Ruckh TT, Popat KC. Bone Tissue Engineering: A Review in Bone Biomimetics and Drug Delivery Strategies. *Biotechnol Prog*. 2009;25(6):1539-60.
- Portier E, Noailly J, Ito K. Directing bone marrow-derived stromal cell function with mechanics. *J Biomech*. 2010;43(5):807-17.
- Precheur HV. Bone Graft Materials. *Dent Clin N Am*. 2007;3:729-746.
- Proubasta I, Gil J, Planell JA. Fundamentos de Biomecánica y Biomateriales. 1999; Madrid: Ed. Ergon.
- Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem*. 2010;285:25103-8.
- Reffitt DM, Ogston N, Jugdaohsingh R, Cheung HF, Evans BA, Thompson RP, Powell JJ, Hampson GN. Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone*. 2003;32(2):127-35.

Rho JY, Spearing LK, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical Engineering & Physics*. 1998; 20:92.

Rizzoli R. Atlas of Postmenopausal Osteoporosis. 2010, 3th ed.

Rosen V, Thies RS. The BMP proteins in bone formation and repair. *Trends Genet*. 1992; 8(3): 97-102.

Sadat-Shojai M, Khorasani MT, DinpanahKhoshdargi E, Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomater*. 2013; 9(8):7591–7621.

Santoro F, Maiorana C. Impiego dei biomateriali in chirurgia implantare. *Atti I<sup>o</sup> Congr. Inter. Soc Ital Ing Tessut; Milan*. 1997; 7.

Sarahrudi K, Mousavi M, Grossschmidt K, Sela N, König F, Vécsei V, Aharinejad S. Combination of anorganic bovine-derived hydroxyapatite with binding peptide does not enhance bone healing in a critical-size defect in a rabbit model. *J Orthop Res*. 2008;26:759-63.

Sarmiento C, Luklinska ZB, Brown L, Anseau M, De Aza PN, De Aza S, et al. In vitro behavior of osteoblastic cells cultured in the presence of pseudowollastonite ceramic. *J Biomed Mater Res A*. 2004;69A(2):351-8

Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(3):369-72.

Sastre R, De Aza S, San Román J. Biomateriales. *Ed* 2004.

Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J, Neukam FW, Rupprecht S, Thorwarth M. Changes of mineralization of free autogenous bone grafts used for sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17:673-8.

Schmitt CM, Doering H, Schmidt T, Lutz R, Neukam FW, Schlegel KA. Histological results after maxillary sinus augmentation with Straumann® BoneCeramic, Bio-Oss®, Puros®, and autologous bone. A randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2013;24(5):576-85.

Schnettler R, Stahl JP, Alt V, Pavlidis T, Dingeldein E. Calcium phosphate-based bone substitutes. *Eur J Trauma*. 2004;30:219-29.

Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: A clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2003;23(4):313-23.

Schulz MC, Kallweit MB, Kallweit S, Koch R, Lauer G, Mai R, Hoffmann T. Autogenous bone and a bovine bone substitute for ridge preservation - preliminary clinical and histologic findings. *Aust Dent J*. 2015;26.

Sethi A, Kaus T. Maxillary ridge expansion with simultaneous implant placement: 5- year results of an ongoing clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15:491-9.

Shao S, Li B, Xue HM, Huang HY, Liu GL. Effects of alveolar ridge preservation on delayed implant osseointegration. *Int J Clin Exp Med*. 2015, 8(7), 10773–10778.

Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair the role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater*. 2008;15:53-76.

Shegarfi H, Reikeras O. Review article: bone transplantation and immune response. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2009;17:206-11.

Simões R, Carolina C, Verna C, Teixeira R. Cellular and molecular aspects of bone remodeling. *Femina*. 2006; 35(5):279-283.

Smolka W, Eggenberger N, Carollo V, Ozdoba C, Iizuka T. Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(2):149-55.

Soria J, Barcia J, Andrades J, Romero J, Monleón M, García J. Uso de biomateriales en medicina regenerativa, aspectos básicos y aplicaciones en el Sistema Nervioso. *Trauma*. 2008;20(1):15-22.

Stevens A, Lowe J. *Histología Humana. Harcourt-Brace*. 1998, 2 ed.

Stevenson S: Enhancement of fracture healing with autogenous and allogeneic bone grafts. *Clin Orthop Relat Res*. 1998; 355:239- 246.

Stevenson S: Biology of bone grafts. *Orthop Clin North Am*. 1999;30:543-52.

Takagi S, Chow LC, Ishikawa K. Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements. *Biomaterials*. 1998; 19:1593-1599.

Takahashi K. Effect of new bone substitute materials consisting of collagen and tricalcium phosphate. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2009;50:1-11.

Tamimi F, Sheikh Z, Barralet J. Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite. *Acta Biomater*. 2012;8(2):474-87.

Tamimi F, Torres J, Bassett D, Barralet J, Cabarcos EL. Resorption of monetite granules in alveolar bone defects in human patients. *Biomaterials*. 2010;31(10):2762-9.

Tamimi F, Torres J, Lopez-Cabarcos E, Bassett DC, Habibovic P, Luceron E, Barralet JE. Minimally invasive maxillofacial vertical bone augmentation using brushite based cements. *Biomaterials*. 2009;30(2):208-16.

Tamimi F, Torres J, Tresguerres I, Clemente C, Lopez Cabarcos E, Blanco L. Bone augmentation in rabbit calvariae: comparative study between Bio-Oss and a novel beta-TCP/DCPD granulate. *J Clin Periodontol*. 2006; 33: 922-928.

Tan WL, Wong TL, Wong MC, Lang NP. A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2012;23(5):1-21

Taylor J, Cuff S. In Vitro osteoclast resorption substitute biomaterials used for implant site augmentation: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002;17: 321-330 .

Ten Cate AR. Histología oral. Desarrollo, estructura y función. 2A ed. *Médica Panamericana*. Buenos Aires. 1986:146-70.

Theiss F, Apelt D, Brand B, Kutter A, Zlinszky K, Bohner M, Matter S, Frei C, Auer JA, von Rechenberg B. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*. 2005; 26:4383-94.

Torres J, Tamimi I, Cabrejos-Azama J, Tresguerres I, Alkhraisat M, López-Cabarcos E, Hernández G, Tamimi F. Monetite granules versus particulate autologous bone in bone regeneration. *Ann Anat*. 2015;200:126-33.

Triplet RG, Schow SR, Laskin DM. Oral and maxillofacial surgery advances in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15:47-55.

Trisi P, Rao W, Rebaudi A, Fiore P. Histologic effect of pure-phase beta-tricalcium phosphate on bone regeneration in human artificial jawbone defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2003 ;23(1):69-77.

Uchida Y, Goto M, Katsuki T, Soejima Y. Measurement of maxillary sinus volume using computerized tomographic images. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998;13(6):811-8.

Väänänen HK, Zhao H, Mulari M, Hallen JM. The cell biology of Journal of osteoclast function. *Cell Science*. 2000;113:377-81.

Vaccaro AR. The role of the osteoconductive scaffold in synthetic bone graft. *Orthopedics*. 2002;25(5):571-578.

Van Landuyt P, Li F, Keustermans JP, Streydio JM, Delannay F, Munting E. The Influence of High Sintering Temperatures on the Mechanical Properties of Hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med*. 1995;6:8-13.

- Valerio P, Pereira MM, Goes AM, Leite MF. Effects of extracellular calcium concentration on the glutamate release by bioactive glass (BG60S) preincubated osteoblasts. *Biomed Mater.* 2009;4(4):045011
- Valle-Ortíz M, Crepo R, García GV, González CJ, Sanchez-Cruzado B, Martínez BT. Aloinjertos óseos. *Acta Ortopédica Castellano-Manchega.* 2000; 1 (1):59
- Vallet-Regí M, Munuera L. Biomateriales: Aquí y ahora. 2000; Ed. Dykinson.
- Vallet-Regí M, González-Calbet JM. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry.* 2004; 32: 1-31.
- Von Doernberg MC, von Rechenberg B, Bohner M, Grünenfelder S, van Lenthe GH, Müller R, Gasser B, Mathys R, Baroud G, Auer J. In vivo behavior of calcium phosphate scaffolds with four different pore sizes. *Biomater.* 2006;27:5186-98.
- Walsh WR, Vizesi F, Michael D, Auld J, Langdown A, Oliver R, Yu Y, Irie H, Bruce W. Beta-TCP bone graft substitutes in a bilateral rabbit tibial defect model. *Biomater.* 2008;29:266-71.
- Wang RZ, Cui FZ, Lu HB, Wen HB, Ma CL, Li HD. Synthesis of nanophase hydroxyapatite/collagen composite. *J Mater Sci Lett.* 1995;14(7):490-492.
- Ward KD, Klesges RC. A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. *Calcif Tissue Int.* 2001;68(5):259-70.
- Wiesen M, Kitzis R. Preservation of the alveolar ridge at implant sides. *Periodontol Clin Investig.* 1998;20:17-20.
- Williams DF. The Williams Dictionary of Biomaterials. *Liverpool University press.* 1999.
- Williams DF, Black J, Doherty PJ: Second consensus conference on definitions in biomaterials. In: Biomaterials Tissue Interfaces. Ed. by Doherty PJ, Williams RI, Williams DF, Lee AJC. 1992; Amsterdam: Elsevier. pp 525-33.
- Wilson J. Biocompatibility and tissue response to implants. *Anales de Química Internacional.* ed 93:15-16.
- Wood RA, Mealey BL. Histologic comparison of healing after tooth extraction with ridge preservation using mineralized versus demineralized freeze-dried bone allograft. *J Periodontol.* 2012;83(3):329-36
- Wozney JM, Rosen V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1998; 346: 26-37.

Xie J, Baumann MJ, McCabe LR. Osteoblasts respond to hydroxyapatite surfaces with immediate changes in gene expression. *J Biomed Mater Res A*. 2004;71(1):108-17.

Xue W, Liu X, Zheng X, Ding C. In vivo Evaluation of Plasma-Sprayed Wollastonite Coating. *Biomaterials*. 2005;26(17):3455-60.

Xynos ID, Edgar AJ, BATTERY LDK, Hench LL, Polak JM. Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass1 45S5 dissolution. *J Biomed Mater Res*. 2001;55:151-157.

Yamauchi K, Goda T, Takeuchi N, Einaga H, Tanabe T. Preparation of collagen/calcium phosphate multilayer sheet using enzymatic mineralization. *Biomaterials*. 2004;25(24):5481-5489.

Yamauchi K, Takahashi T, Funaki K, Hamada Y, Yamashita Y. Histological and histomorphometrical comparative study of beta-tricalcium phosphate block grafts and periosteal expansion osteogenesis for alveolar bone augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2010;39:1000-6.

Zafiroopoulos GG, Hoffmann O, Kasaj A, Willershausen B, Weiss O, Van Dyke TE. Treatment of intrabony defects using guided tissue regeneration and autogenous spongiosa alone or combined with hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate bone substitute or bovinederived xenograft. *J Periodontol*. 2007;78:2216-25.

Zhan YL, Hu WJ, Zhen M, Xu T, Lu RF. Radiographic evaluation of ridge preservation after molar tooth extraction: a controlled clinical trial. *Beijing Da Xue Xue Bao*. 2015;47(1):19-26.

Zhou H, Luchini TJ, Agarwal AK, Goel VK, Bhaduri SB. Development of monetite-nanosilica bone cement: a preliminary study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2014;102(8):1620-6.

Zijderveld SA, Zerbo IR, van der Bergh JPA, Schulten EAJM, ten Bruggenkate CM. Maxillary sinus floor augmentation using a betatricalcium phosphate (Cerasorb) alone compared to autogenous bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005;20:432-40.

PS/CR

440/13/EC

## AUTORIZACION DE INVESTIGACIONES CLINICAS

Visto el procedimiento iniciado por Azurebio S.L., como promotor de la investigación clínica "SIL-OSS AZ001 – REGENERACIÓN ÓSEA ALVEOLAR CON SIL-OSS®", nº expte. 440/13/EC, en solicitud de autorización de la misma.

Tramitado el procedimiento conforme a lo dispuesto en el Título VI de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común, y consideradas las disposiciones establecidas en el capítulo VIII del Real Decreto 1591/2009, por el que se regulan los productos sanitarios y el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios" y se aprueba su estatuto.

En su virtud, a propuesta del Departamento de Productos Sanitarios, y en el uso de las atribuciones que me están conferidas, he resuelto

**AUTORIZAR** la realización de la investigación clínica indicada en las condiciones y términos que figuran en el expediente, en los centros sanitarios siguientes:

- Clínica Odontológica de la Universidad de Salamanca

Contra esta resolución que agota la vía administrativa puede interponerse potestativamente recurso de reposición ante el Director de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el plazo de un mes, conforme a lo dispuesto en el artículo 116 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común, o interponerse recurso contencioso-administrativo ante el Juzgado Central de lo contencioso-administrativo de la Comunidad Autónoma de Madrid, en el plazo de dos meses a contar desde el día siguiente a la recepción de la presente notificación, conforme a lo dispuesto en la Ley reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa de 13 de julio de 1998, y sin perjuicio de cualquier otro recurso que pudiera interponerse.

Mediante este documento se Notifica a D. Arcadio García de Castro Andrews (Azurebio S.L.; C/ Ronda de Poniente 16, Bajo L; Tres Cantos; 28760 Madrid) la presente resolución, según lo exigido en el artículo 58.1 de la mencionada Ley 30/1992.

Madrid, 12 de julio de 2013

LA DIRECTORA DE LA AGENCIA ESPAÑOLA DE  
MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS



Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad  
agencia española de  
medicamentos y  
productos sanitarios

Belén Crespo Sánchez- Eznarriaga

CORREO ELECTRÓNICO / E-MAIL

psinvclinic@aemps.es

Página 1 de 1

C/ CAMPEZO, 1 – EDIFICIO 8  
28022 MADRID  
TEL. 91 822 52 70  
FAX: 91 822 52 89

EN CASO DE PROBLEMAS EN LA RECEPCIÓN, POR FAVOR LLAME A NUESTRAS OFICINAS.  
IF THIS FAX IS ILLEGIBLE OR INCOMPLETE, PLEASE CALL OUR OFFICES.



UNIVERSIDAD  
DE SALAMANCA

COMITÉ DE BIOÉTICA (CBE)

C/ Libreros 19, 2º ; 37008 Salamanca  
Tel . (34) 923 29 44 00 ext 1181  
e-mail: cbioetica@usal.es

REGISTRO UNICO  
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

SALIDA

006 Nº. 201300028953

26-07-13 13:24:26

El Comité de Bioética de la Universidad de Salamanca, en su reunión del día 24 de julio de 2013, ha considerado las circunstancias que concurren en el proyecto de investigación titulado "Regeneración ósea alveolar con Sil-Oss ®", que tiene como investigador principal al Dr. ANTONIO LÓPEZ-VALVERDE CENTENO.

A la vista de la documentación presentada, este Comité ha acordado **informar favorablemente** el proyecto de investigación, ya que cumple los requisitos éticos requeridos para su ejecución.

Y para que así conste lo firmo en Salamanca a 24 de julio de 2013

José Mª Díaz Mínguez  
Secretario del CBE



José Julián Calvo Andrés  
Presidente del CBE

## DICTAMEN DEL COMITÉ ETICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Don Ignacio Dávila González, Secretario del COMITÉ ETICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor para que se realice el ensayo clínico:

CÓDIGO: SIL-OSS AZ001,

CÓDIGO CEIC: 13/1002.

TITULADO: "Regeneración ósea alveolar con Sil-Oss® " y considera que:

El ensayo se plantea siguiendo los requisitos del Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero y las normas que lo desarrollan y su realización es pertinente.

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.

El seguro o la garantía financiera previstos son adecuados.

El procedimiento para obtener el Consentimiento Informado general del estudio, incluyendo la Hoja de Información para los sujetos, y el plan de reclutamiento de sujetos previstos son adecuados, así como las compensaciones previstas para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo.

La capacidad del investigador y sus colaboradores y las instalaciones y medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Este Comité acepta que dicho ensayo clínico sea realizado en el centro Hospital Universitario de Salamanca por el Dr. Antonio López Valverde Centeno como investigador principal.

En la reunión celebrada el día 25 de marzo de 2013, se decidió emitir el informe correspondiente al estudio de referencia.

La composición del CEIC del Hospital Universitario de Salamanca que evaluó el Estudio es la siguiente:

**Presidenta:**

Dra. D<sup>a</sup>. Concepción Ceballos Alonso. Directora Médico.

**Vicepresidente:**

Dr. D. Enrique de Álava Casado. Especialista Anatomía Patológica.

**Secretario:**

Dr. D. Ignacio Dávila González. Especialista Alergología.

**Vicesecretaria:**

Dra. D<sup>a</sup>. Silvia Jiménez Cabrera. Farmacia Hospitalaria.

**Vocales:**

Dr. D. Agustín del Cañizo Fernández Roldán. Especialista Otorrinolaringología.

Dra. D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Belén Vidriales Vicente. Especialista Hematología.

Dra. D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Teresa Martín Gómez. Especialista Oncología.

Dra. D<sup>a</sup>. Teresa Contreras Sanfeliciano. Especialista Laboratorio Análisis Clínicos.

Dr. D. Javier Cambra Mora. Farmacéutico de Área.

D. Adolfo Galán García. Director de Gestión y Especialistas Generales.

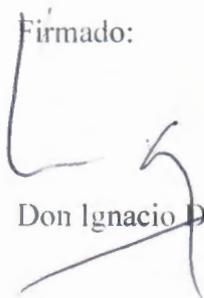
D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> del Carmen Sánchez García. Asesora Jurídica.

En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente – Real Decreto 223/2004 – para que la decisión del citado CEIC sea válida.

El CEIC del Hospital Universitario de Salamanca, tanto en su composición como en sus PNT, cumple con las normas de BPC

Lo que firmo en Salamanca a 25 de marzo de 2013

Firmado:



Don Ignacio Dávila González

**V.) CONFORMIDAD DE LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA PARA REALIZACIÓN DEL  
ENSAYO CLÍNICO "REGENERACIÓN ÓSEA ALVEOLAR CON SIL-OSS®"**

D<sup>a</sup> MARÍA ÁNGELES SERRANO GARCÍA

VICERRECTORA INVESTIGACIÓN, UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

vista la aprobación de:

- Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Salamanca (Comité de Ético de Referencia), y Comité de Bioética de la Universidad de Salamanca

**CERTIFICA**

Que ha analizado el protocolo de investigación clínica titulado "Regeneración Ósea Alveolar con Sil-Oss®", así como la documentación relacionada con el material de ensayo Sil-Oss® presentado por el promotor AZUREBIO S.L, cuyo representante es D. Arcadio García de Castro, para que sea realizada dicha investigación clínica en este centro. Se usará "Sil-Oss®" como producto experimental y el "Bio-Oss®" como producto comercial de referencia.

Dicha investigación será realizada por el Dr. Antonio López-Valverde Centeno como Investigador Principal.

Que la clínica cuenta con las condiciones humanas y materiales necesarias para la realización del ensayo clínico.

Que está de acuerdo con el contrato firmado entre la Universidad de Salamanca y el Promotor en el que se especifican todos los aspectos económicos de esta investigación clínica.

Que acepta la realización de dicha investigación clínica en la Clínica Odontológica de la Universidad de Salamanca.

Lo que firma en Salamanca, a 18 de Junio de 2013

Firmado: D<sup>a</sup> MARÍA ÁNGELES SERRANO GARCÍA



## **HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE**

### **Estudio clínico:**

#### **SIL-OSS AZ001 – REGENERACIÓN ÓSEA ALVEOLAR CON SIL-OSS®**

Usted es portador de un diente incurable por lo cual se le ha indicado extracción de la pieza afectada y posterior colocación de implante dental y rehabilitación protésica. Para lograr la osteointegración del implante dental es necesario contar con buen volumen de hueso y de buena calidad en el sitio donde se encontraba el diente extraído. Con este fin se emplean normalmente materiales de regeneración ósea, que se implantan en la cavidad alveolar inmediatamente después de la extracción dental y aceleran el proceso de regeneración ósea con el fin de acortar el período de espera hasta la colocación del implante dental.

Por esta razón usted está siendo invitado a participar voluntariamente como paciente en la Investigación Clínica “Regeneración ósea alveolar con Sil-Oss<sup>®</sup>” en la que se evaluará por primera vez el comportamiento de Sil-Oss<sup>®</sup> en humanos.

Sil-Oss<sup>®</sup> es un nuevo material sintético de regeneración ósea desarrollado por AzureBio S.L. (Madrid, España). Los resultados obtenidos en experimentos previos realizados en animales han revelado que es biocompatible y capaz de regenerar hueso en mayor cantidad y más rápido que algunos de los materiales similares que actualmente se emplean en regeneración ósea, incluyendo el material control que se utilizará en este estudio. Además, Sil-Oss<sup>®</sup> es reabsorbido y sustituido por nuevo hueso, a diferencia de algunos de los materiales habitualmente empleados, como por ejemplo el material usado como control.

El objetivo de la presente investigación es demostrar que Sil-Oss<sup>®</sup> es tan seguro y efectivo como el material comercial de control Bio-Oss<sup>®</sup> para la preservación del reborde alveolar post-extracción.

Bio-Oss<sup>®</sup> es un material de regeneración ósea comercial fabricado por Geistlich Pharma AG (Alemania) a partir de hueso bovino que se emplea ampliamente con éxito como material de regeneración ósea en diferentes procedimientos de cirugía dental desde hace varios años.

Su participación voluntaria en la investigación implica que:

- Recibirá el tratamiento antes descrito con uno de los dos materiales: Sil-Oss<sup>®</sup> o Bio-Oss<sup>®</sup>. La asignación del material que se empleará en su tratamiento será totalmente aleatoria y usted no conocerá, hasta después de concluir el estudio, cual ha sido el material de regeneración ósea que le ha sido implantado.
- Todo el tratamiento que reciba, incluida la intervención quirúrgica, el material de regeneración ósea, el implante y la prótesis será gratuito mientras permanezca en el estudio.
- Debe cumplir las instrucciones pre- y postoperatorias y asistir a todas las visitas de control y tratamiento que se le indiquen.

Las visitas previstas son las que siguen:

1. Presente visita de inclusión.
2. Realización de una tomografía (TAC).
3. Tratamiento quirúrgico.
4. Realización de un TAC.
5. Retirada de suturas y primera visita de seguimiento a los 8-10 días del tratamiento quirúrgico.
6. Seguimiento a las 3 semanas.
7. Seguimiento a las 6 semanas.
8. Seguimiento a las 12 semanas.
9. Realización de un TAC antes de la colocación del implante (semana 17-20)
10. Seguimiento a las 18-20 semanas y colocación del implante\*.
11. Retirada de suturas a los 8-10 días de la colocación del implante.
12. Colocación de la prótesis dental según criterio del odontólogo\*\*.
13. Seguimiento a largo plazo.

\* Durante la preparación de la cavidad ósea, necesaria para la colocación del implante, se tomará una muestra del hueso (biopsia) para su estudio histológico. En ningún caso este procedimiento implica una intervención adicional a la estrictamente necesaria para la colocación del implante.

\*\* La colocación de la prótesis dental y posterior seguimiento se realizará según procedimientos estándares.

- Aun cuando el tratamiento empleado en la investigación está bien establecido y el riesgo de eventos o episodios adversos asociados a los materiales de regeneración ósea es bajo cabe la posibilidad, tanto para el material comercial de referencia como para el material en investigación, que se produzcan efectos adversos.

Los posibles efectos adversos que pueden ocurrir incluyen:

- Dolor post-operatorio en el lugar del implante
  - Fiebre
  - Inflamación del lugar del implante
  - Edema en el lugar del implante
  - Supuración del lugar del implante
  - Falta de regeneración ósea del lugar del implante
  - fracaso del implante.
- En caso de manifestarse efectos adversos se le informará de su estado clínico y opciones de tratamiento, y recibirá el tratamiento indicado en los protocolos establecidos y de acuerdo al mejor criterio médico hasta su total curación, de modo totalmente gratuito. El Investigador Principal del estudio notificará al Representante del promotor del estudio en AzureBio S.L. de cualquier incidente, incluidos posibles efectos adversos. AzureBio S.L. lo notificará a su vez a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) según establecen las "Directrices sobre el sistema de vigilancia de productos sanitarios" de la propia AEMPS.
  - Existe un Seguro de Responsabilidad Civil emitido por W.R Berkley con número de póliza MXY130CKA326 que asumirá la correspondiente compensación económica en caso de daño o lesión por su participación en la investigación clínica.
  - Podrá retirarse del estudio en el momento que desee sin perjuicio para que esto afecte la relación médico-paciente ni la calidad de su tratamiento posterior.
  - Sus datos personales serán tratados de forma confidencial en todos los registros, informes y publicaciones que se generen durante y después de la investigación.

- Los resultados de sus evaluaciones clínicas, por TAC e histológicas serán utilizados únicamente para esta investigación clínica y no serán cedidos a terceros sin su consentimiento expreso.
- Recibirá una copia de esta hoja de información, así como del **Consentimiento Informado** para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

El Investigador Principal responsable de la investigación clínica es el **Dr. Antonio López-Valverde Centeno**, al que podrá contactar a través de la Clínica Odontológica de Salamanca sita en la Prolongación del Paseo de la Universidad de Coímbra S/N; 37007, Salamanca (Telf. 923294770) para cualquier aclaración referente a su participación en la investigación o en caso de cualquier urgencia relacionada al tratamiento recibido. También podrá contactar en cualquier momento con el representante del Promotor del estudio el **Dr. Arcadio García de Castro** (Telf. 626270557).

La empresa promotora de la investigación es **AzureBio S.L** (CIF. B85263960), sita en Ronda de Poniente 16, Bajo L, 28760, Madrid, Telf. 918031715.

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estudio clínico: **SIL-OSS AZ001 - REGENERACIÓN ÓSEA ALVEOLAR CON SIL-OSS®**

Yo \_\_\_\_\_

- He leído la **Hoja de Información al Paciente** que se me ha entregado y que se adjunta a este consentimiento.
- He tenido oportunidad de efectuar preguntas sobre el estudio.
- He recibido respuestas satisfactorias.
- He recibido suficiente información en relación con el estudio.
- He hablado con el Dr./Investigador: \_\_\_\_\_
- Comprendo que mi participación es voluntaria.
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
  - Cuando lo desee
  - Sin tener que dar explicaciones
  - Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos
- También he sido informado de forma clara, precisa y suficiente de los siguientes extremos que afectan a los datos personales que se contienen en este consentimiento y en la ficha o expediente que se abra para la investigación:
  - Estos datos serán tratados y custodiados con respeto a mi intimidad y a la vigente normativa de protección de datos.
  - Sobre estos datos me asisten los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición que podré ejercitar mediante solicitud ante el investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.
  - Estos datos no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.
  - Doy mi consentimiento sólo para la extracción necesaria en la investigación de la que se me ha informado y para que las datos resultante de las evaluaciones clínicas, radiológicas, así como de tejidos (biopsia) figuren exclusivamente en ella, sin posibilidad de compartir o ceder éstas, en todo o en parte, a ningún otro investigador, grupo o centro distinto del responsable de esta investigación o para cualquier otro fin.
- Declaro que he leído y conozco el contenido del presente documento, comprendo los compromisos que asumo y los acepto expresamente. Y, por ello, **firmo este Consentimiento Informado de forma voluntaria para manifestar MI DESEO DE PARTICIPAR en este estudio de INVESTIGACIÓN sobre LA REGENERACIÓN ÓSEA ALVEOLAR DE SIL-OSS®** hasta que decida lo contrario.
- Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos.
- Recibiré una copia de este consentimiento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO (continuación)**

Estudio clínico: **SIL-OSS AZ001 - REGENERACIÓN ÓSEA ALVEOLAR CON SIL-OSS®**

Nombre del paciente o sujeto colaborador: \_\_\_\_\_

DNI/Tarjeta de Residencia/Pasaporte: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Nombre del investigador: \_\_\_\_\_

DNI: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Investigador Principal: Antonio López Valverde

Clínica Odontológica de la Universidad de Salamanca

Dirección: Prolongación Paseo Universidad de Coímbra S/N; 37007 Salamanca, ESPAÑA

Teléfono: 923294770

e-mail: anlopezvalverde@gmail.com

Fax: 923294868

Representante del promotor: Arcadio García de Castro

AzureBio S.L

Ronda de Poniente 16, Bajo L, 28760, Madrid

Telf./Fax: 918031715

e-mail: agc@azurebio.com