



**ESTUDIO COMPARATIVO DE OSTEOGENESIS CON XENOIMPLANTES DE
HUESO DESMINERALIZADO, EN POLVO Y EN BLOQUE,
EN CRANEOS TREPANADOS DE RATAS**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales
de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario y Zootecnista
por

GUADALUPE HILDA JANDETE DIAZ

Asesores: M. V. Z. Alfredo Cortés Arcos
M. V. Z. Rafael Colín Flores

México, D. F.

1993



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	<u>PÁGINA</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
MATERIAL Y MÉTODOS	9
RESULTADOS	12
DISCUSIÓN	16
LITERATURA CITADA	20
FIGURAS	22
CUADROS	33

RESUMEN

JANDETE DÍAZ, GUADALUPE HILDA. Estudio comparativo de osteogénesis con xenoinplantantes de hueso desmineralizado, en polvo y en bloque, en cráneos trepanados de ratas. (Bajo la dirección de: Alfredo Cortés Arcos y Rafael Colín Flores).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el tiempo de osteoinducción de xenoinplantantes desmineralizados en polvo y en bloque, Se utilizó hueso desmineralizado de escápula de gato en polvo y en bloque como implante para el hueso parietal derecho en cráneos trepanados de ratas, realizándose una trepanación, del hueso parietal derecho, de 5mm. de diámetro en 36 ratas, las cuales fueron divididas en 3 grupos de 12 ratas cada uno. Al grupo "A" le fue puesto un implante de polvo de hueso desmineralizado; al grupo "B" se le implantó hueso desmineralizado en bloque y al grupo "C" le quedó libre la trepanación. La osteoinducción fue valorada en el transcurso de 12 semanas. Cada semana fue sacrificada una rata de cada grupo. Se disecó el cráneo y se tomaron radiografías. Los cráneos se colocaron en formalina amortiguada al 10% y Ph 7.4. Posteriormente, fueron descalcificados para realizar los cortes histológicos. Las técnicas histoquímicas utilizadas fueron Hematoxilina eosina. Masson y Azul de Toluidina. Los cambios registrados señalan que los implantes tuvieron una buena aceptación y se produjo una osteogénesis favorable. En el grupo control no hubo crecimiento de hueso. Al comparar entre sí a los dos grupos experimentales, polvo y bloque, se encontró que

existe diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.01$) de implante en polvo para producir osteoinducción en menor tiempo, que para el implante en bloque.

INTRODUCCION

El sistema esquelético de los vertebrados puede presentar defectos, ya sean congénitos, adquiridos o como resultado de una reparación defectuosa. A pesar de la gran propiedad que tiene el hueso de regenerarse, ésta puede ser incompleta y requerir de un relleno extra (2,3,5)

El primer trasplante de hueso que se tiene registrado fue un xenoinjerto de perro en el cráneo de un soldado ruso. Casos aislados de autoinjertos en cráneo se han registrado que datan del siglo XIX, pero no fue sino hasta principios de este siglo que el injerto de hueso se convirtió en una técnica establecida (16,22).

Los primeros estudios de los mecanismos de trasplante de hueso se remontan a Ollier que consideraba que el injerto de hueso morfa, mientras que los osteoblastos, capaces de sobrevivir en el periostio interno, eran responsables de la formación de nuevo hueso. Por otro lado, MacEwen insistía en que el periostio no era "la madre del hueso", que sólo era una membrana limitante y que el crecimiento de hueso se producía por los osteoblastos trasplantados. Barth utilizó injertos autógenos en defectos de cráneos de perro y concluyó que tanto los injertos frescos como los que recibían un tratamiento eran igualmente efectivos. Su tesis era que la totalidad de hueso trasplantado, incluyendo médula y periostio, las células mueren y el hueso se convierte en una estructura pasiva que se va reemplazando por crecimiento osteogénico del tejido adyacente. A este proceso le llamó: "schleinchender ersatz" (sustitución por conducción) u osteoconducción (16, 20).

Axhausen estaba de acuerdo que el periostio puede sobrevivir y ser base de osteogénesis, pero también hizo notar que hay reabsorción del injerto y que ocurre mientras el tejido osteoblástico crece desde el hueso viviente adyacente. La sobrevivencia del osteocito puede ser demostrada en la superficie de un injerto cortical fresco y en especial en injertos de hueso poroso, estas células pueden producir nuevo hueso lo cual se le llama "injertos osteogénicos". Hay un tercer mecanismo para reparación de huesos que es la "osteoinducción"; el implante estimula las células locales del huésped a transformarse en osteoblastos, los cuales a su vez producen nuevo hueso (9,12,14,16,20).

Los injertos o implantes pueden ser obtenidos a partir de injerto autógeno del mismo individuo, isogénico de individuos idénticos genéticamente, alógeno de la misma especie o xenogénico de diferente especie. La terminología empleada en los trasplantes de hueso se ha complicado debido a los distintos tipos histológicos empleados. La diferencia básica entre injertos e implantes estriba en que el término injerto implica la transferencia de tejido vivo y fresco que no ha tenido ningún tratamiento con lo cual sus células son viables. En contraste con implante que debe ser aplicado a hueso no vivo, preservado por desecamiento, congelamiento o por liofilización pudiendo ser un material no biológico como las prótesis de cerámica o metal (1, 16, 20).

Algunas limitantes de los injertos de hueso son evidentes ya que se requiere de una cirugía para obtenerlos, pudiendo producir consecuencias serias para el receptor y/o el donador y son muy pocas las ocasiones en que se puede obtener un isoinjerto. En los injertos alógenos y xenogénicos no descalcificados pueden producir rechazo inmunológico, este

es responsable de la eliminación de las células osteogénicas que sobreviven en los injertos de hueso. Esto se debe a la Presencia de substancia calcificada intercelular que provoca una reacción local y un medio desfavorable para la osteogénesis. El concepto de formar bancos de material alogénico y xenogénico se inició, tanto para evitar la herida del donador y el rechazo inmunológico así como para lograr un suministro ilimitado de hueso (1,4,8,9,16,21).

Senn fue el primero en utilizar implantes de hueso desmineralizado de tibia de buey, tratada con ácido clorhídrico diluido y yodoformo como antiséptico, para reparar defectos del cráneo en perros y defectos de tibia producidos por osteomielitis en pacientes humanos. Algunos autores han demostrado que la matriz de hueso descalcificada cura defectos craneanos en animales, en menor tiempo que el hueso no descalcificado y que el implante de matriz de hueso triturado y desmineralizado produce mayor formación de hueso nuevo que el no desmineralizado (2,11,16,22).

Plemister tenía interés en la fisiología de los huesos y especialmente en la osificación espontánea e indujo a Huggins a estudiar la osteogénesis. Posteriormente, Huggins utilizó hueso demineralizado como matriz inductora. En el presente siglo, las investigaciones sobre osteoinducción incluyen informes de: Huggins, 1931; Levander, 1964, Urist, 1965; Reddi, 1977; Mulliken, 1980; Glowacki, 1981; entre otros (7,16,22).

Los implantes de materiales biológicos o biocompatibles favorecen la formación de hueso, aportan un armazón que se involucra en un proceso prolongado de revascularización, esencial para la resorción y reemplazo

por nuevo hueso, proporcionando las condiciones esenciales para la osteoconducción, pero no así para la osteoinducción (1, 7, 8, 9).

Huggins y colaboradores informan que implantes alogénicos y xenogénicos de hueso al desmineralizarse liberan proteínas que producen la osteogénesis inducida (1,7,8,9,10).

Urist demostró que la matriz de hueso orgánica, descalcificada con ácido clorhídrico, induce osteogénesis intramuscular en conejo, rata, ratón y cuyo, al igual que la dentina descalcificada y en conjunto con Huggins utilizaron esta modalidad en un estudio de fosfatada alcalina para monitorear la osteoinducción. Cuando se coloca polvo de hueso desmineralizado en la capa subcutáneo de la región torácica de rata, células mesénquimales migran hacia las partículas del polvo de hueso. Estas células locales se transforman en condroblastos al quinto día. Para el décimo día el cartílago ectópico empieza a mineralizarse por hueso y médula hematopoyética. La incorporación de fierro indica la formación de las primeras colonias de células de médula en el 12° día (10,16).

Los implantes alogénicos de hueso demineralizado, en bloque o en polvo han sido utilizados con éxito en mandíbulas y en defectos de huesos largos con pérdida de hueso improtante, en rata, por Kaban, Glowacki, Mulliken y Einhorn. (6,13)

Un copolimero de polilacto-poliglicol, biodegradable se combinó con hueso alogénico desmineralizado, seco y congelado, y se implantaron en defectos de 15 mm. de diámetro en cráneos de 26 conejos Nueva Zelanda. Los

implantes así tratados mostraron un volumen significativamente mayor de hueso trabecular que los que no tuvieron implantes. A las 8 semanas, 3 de los defectos de 15 mm. de diámetro con implante mostraron evidencia de un puente óseo completo (17).

Los trasplantes xenogénicos y alogénicos de matriz de hueso y dientes deshidratados, desmineralizados y en polvo, fueron tolerados en tres especies de roedores rata, ratón y cuyo. Los fibroblastos de rata resultan ser los más susceptibles de transformación (10,11).

La dentina desmineralizada cuando se utilizó de una especie a otra diferente no produjo abscesos, la desmineralización permite obtener el factor de transformación de las fibroblastos en cartílago y hueso y el trasplante se vuelve tolerante en especies diferentes. Se evaluaron diferentes tamaños de partículas y se encontró que las partículas más pequeñas inducen a más hueso que las de mayor tamaño, pero éstas no deben ser menores de 200 micras ya que a menor tamaño se destruyen las proteínas no colágenas (10,11,16).

Estudios histomorfométricos mostraron que el polvo desmineralizado casi no se reabsorbe, y se amalgama con el hueso inducido, en contraste con el polvo de hueso no desmineralizado que se reabsorbe muy rápido por células mono y multinucleadas. El hueso desmineralizado puede ser pulverizado con una lima y tamizado a 450 micras aproximadamente, puesto en solución salina y esta pasta puede ser utilizada para llenar irregularidades o aberturas (16).

La trepanación craneana es modelo estandar para las investigaciones experimentales en la regeneración ósea (14).

Teniendo en cuenta, que los injertos e implantes actualmente utilizados presentan limitantes, se presenta una alternativa más, para la reparación de defectos óseos, lo cual justificó la realización de este trabajo.

HIPOTESIS: El xenoinplante de hueso desmineralizado en polvo induce osteogénesis en menor tiempo que el xenoinplante en bloque de hueso desmineralizado.

OBJETIVO: Determinar la diferencia en el tiempo de osteoinducción, utilizando polvo y bloque de hueso desmineralizado, en el organismo receptor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico:

Se utilizaron 36 ratas machos, adultos de la cepa Sprague Dawley, de 3 a 4 meses de edad con peso promedio de 400 gr. Fueron divididos en 3 grupos de 12 ratas cada uno. A y B grupos experimentales y C testigo. La muestra fue tomada en forma aleatoria de un grupo asignado.

Tratamiento de los implantes:

La desmineralización se realizó en huesos de escápulas de gatos, previamente limpiados y tratados para tal efecto, utilizando soluciones ácidas (19).

Los implantes fueron lavados con agua bidestilada y posteriormente secados al medio ambiente.

Los bloques, en forma de rodaja, de 5mm. de diámetro fueron obtenidos por medio de una perforadora manual. El polvo de hueso se obtuvo con una lima de acero y fueron colocados en recipientes estériles y al momento de utilizarlos, se trataron con penicilina G procaína y sódica, diluida en solución salina fisiológica a razón de 50,000 U.I. El instrumental utilizado fue previamente esterilizado en autoclave.

Procedimiento Quirúrgico:

Todas las ratas se anestesiaron con Droperidol a razón de

0.025 mg./100 gr. de peso corporal por vía intramuscular y ketamina a razón de 5 mg./100 gr. de peso corporal, vía intramuscular.

Se les rasuró la región parietal derecha, realizándose la asepsia correspondiente en la zona quirúrgica se incidió piel, aponeurosis, músculo y periostio. Se hizo una trepanación de 5 mm. de diámetro en el hueso parietal derecho, con un taladro con sierra de anillo, removiendo el hueso con una pinza gubia.

Posoperatorio:

Los planos anatómicos fueron cerrados con dexón y seda 4/0. Se les administró penicilina G. procaínica y penicilina G. sódica por vía intramuscular en dosis única a razón de 50,000 U.I. por rata y dimetil pirazolona sulfoxilada como analgésico a razón de 2 mg./100 gr. de peso corporal, vía oral por rata, diluidos en el agua de bebida.

Las ratas se mantuvieron en condiciones de bioterio con alimento y agua "ad-libitu" y cuidados posoperatorios de acuerdo al reglamento para el cuidado de los animales de la F.M.V.Z.

Procedimiento por grupo:

Al grupo "A" se le implantó polvo de hueso desmineralizado de escápula de gato, en el orificio de la trepanación de 5 mm. de diámetro.

Al grupo "B" se le implantó una rodaja de hueso desmineralizado de escápula de gato de manera que cubriera el orificio de trepanación.

Al grupo "C" se le tomó como testigo y se le dejó libre el orificio de

la trepanación.

Semanalmente fue sacrificada una rata de cada grupo, con una sobredosis de anestesia, utilizando Pentobarbital sódico por vía intramuscular, fueron decapitadas y se disecaron los planos anatómicos para exponer el cráneo, evaluándose macroscópicamente el grado de regeneración ósea logrado.

Estudios realizados:

Se realizó un estudio radiológico en los tres grupos.

Los cráneos fueron enviados para su estudio histopatológico en formalina amortiguada al 10% con un (ph 7.4). Se procedió a descalcificarlos y posteriormente se realizó la técnica habitual de inclusión en parafina para efectuar los cortes a 4 micras de grosor, utilizando las técnicas histoquímicas de Hematoxilina-eosina, Masson y Azul de toluidina (15).

Se llevó a cabo un estudio estadístico de los dos grupos, por medio de Análisis de varianza en bloque, con un programa estadístico para computadora llamado Number Cruncher (23).

RESULTADOS

En los cortes histológicos que se realizaron de los tres grupos, se obtuvieron los siguientes datos.

Los hallazgos más representativos que se observaron en los cortes histológicos, fueron la presencia de metaplasia cartilaginosa, mineralización, actividad osteoclástica y periostio así como metaplasia ósea (ver cuadro 1).

Comparación de los grupos experimentales.

La presencia de metaplasia cartilaginosa fue observada en diferentes grados en el grupo "B" excepto en la 8a. semana. Para el grupo "A" sólo se manifestó en las semanas 11a. y 12a. En ambos se observaron diferentes grados de mineralización aumentando su intensidad a partir de las séptima semana, igualmente, en los dos grupos se apreció gran actividad osteoclástica en las 2 primeras semanas, aumentando en la séptima semana en el grupo "B". El periostio se encontró con gran proliferación especialmente en el grupo "B". Al igual que la metaplasia ósea que fue observada con mayor frecuencia en el grupo "B".

Grupo "A" implante en polvo

Los hallazgos histopatológicos más relevantes fueron:

En la segunda semana se observó la presencia de osteoblastos, fibroblastos, osteocitos, fibras de colágena, células mesenquimatosas y actividad de médula ósea; así como tejido óseo laminar y hueso compacto (ver figuras 1 y 2), mientras que en la sexta semana, en el sitio de unión del implante se apreció gran cantidad de osteoclastos y células multinucleadas adyacentes a vasos sanguíneos, así como trabéculas sin mineralizar y linfocitos con actividad inflamatoria (ver figuras 3 y 4); en la novena semana se observó presencia de osteoblastos y trabéculas con formación de tejido óseo. Para la doceava semana se apreció gran cantidad de tejido mesenquimatoso trabecular y condroblastos en el sitio de unión del implante, así como diferentes etapas de mineralización en tejido óseo laminar con actividad de médula ósea (ver figura 5). Durante las 3a. 4a., y 6a. se presentó reacción inflamatoria por linfocitos y células plasmáticas, así como núcleos picnóticos.

Grupo "B" implante en bloque

En la segunda semana hubo presencia de fibras de colágena, fibroblastos y angioblastos con condrocitos irregulares en desarreglo e hipertrofiados, en la placa de crecimiento con tejido fibroso y trabéculas de tejido mesenquimatoso con presencia de osteoblastos y metaplasia cartilaginosa en el sitio de unión del implante (ver figuras 6 y 7). Mientras que en la sexta semana se observó presencia de fibroblastos, osteoblastos y trabéculas de tejido mesenquimatoso. Durante la novena semana se observó la presencia de trabéculas óseas y reacción inflamatoria por células mononucleares y linfocitos (ver figura 8). Para la onceava y doceava semanas, se presentó tejido óseo laminar con tejido mesenquimal (ver figura 9).

En las semanas 3a., 4a. y 5a. se presentó reacción inflamatoria con presencia de linfocitos y células plasmáticas. En la octava semana el implante no se integró al receptor.

Grupo "C" testigo

El defecto de trepanación no cerró observándose en la séptima semana una ligera presencia de tejido fibroso periférico y una moderada, actividad osteoclástica y de mineralización: en las otras semanas no fue observado ningún cambio.

Se llevó a cabo un estudio estadístico de los grupos experimentales, por medio de análisis de varianza en bloque con un programa para computadora llamado Number Cruncher, obteniendo como resultado, que al comparar entre sí a los dos grupos, existe una diferencia estadística significativa ($P < 0.01$) en el implante en polvo para producir osteoinducción en menor tiempo que el implante en bloque.

DISCUSION

Existe la necesidad de un sistema de reemplazo para grandes volúmenes de hueso, ya sea para aumentar contornos y volúmenes o para reemplazar hueso en defectos óseos. Los tratamientos óseos actualmente más utilizados son: injerto autólogo fresco, implante alogénico congelado y liofilizado e hidroxiapatita. Cada tratamiento restaura los defectos óseos en menor o mayor grado, sin embargo, existen muchas desventajas para cada modalidad lo que justificó la búsqueda de una alternativa más eficiente (16,17,18).

El injerto óseo autólogo fresco requiere para su obtención un procedimiento quirúrgico adicional, incrementando el tiempo de la cirugía y pudiendo causar problemas al sujeto. Existe un límite en la cantidad de hueso disponible, el injerto puede ser reabsorbido, requiriendo su reemplazo (1,2,3,6,7).

El implante óseo alogénico congelado es causa de rechazo, persistiendo reacción celular a cuerpo extraño causando respuesta en nódulos regionales y producción de anticuerpos citotóxicos, se retrasa la revascularización y hay reabsorción ósea, no lográndose la unión del implante. En el implante óseo alogénico liofilizado hay retraso en la aceptación del implante, formación de callo reducida, revascularización retardada y reabsorción completa del implante. El implante de hidroxiapatita puede abrirse y ser expulsado en partículas el implante. Se han reportado casos de no unión del implante, la hidroxiapatita sirve como una plataforma pasiva dando soporte para la osteoconducción, pero no produce osteoinducción (3,6,7,10,11,16).

Los tratamientos recientes, que se están utilizando, son implantes alogénicos y xenogénicos de hueso desmineralizado en bloque y en polvo. Al desmineralizarse, se liberan proteínas no colágenas, que se encontraban dentro de la matriz mineralizada las cuales producen la osteogénesis inducida (16). El implante desmineralizado en bloque induce una osteogénesis lenta y poco sincrónica y la osificación sólo ocurre en la superficie del implante, con una inducción interna más lenta que el implante en polvo de hueso desmineralizado, el cual produce, en menor tiempo, osteogénesis así como osteoinducción completa tanto en la superficie como en la parte interna del implante (6,10,13,14,16,17,18).

El xenoinplante de hueso desmineralizado en polvo fue capaz de producir osteoinducción en menor tiempo, que el xenoinplante de hueso desmineralizado en rodaja, teniendo una mejor aceptación e integración por el receptor.

Los fragmentos grandes desmineralizados no inducen a una rápida y sincrónica osteogénesis y la osificación sólo ocurre en la superficie implantada con la inducción interna más lenta (16).

De lo anterior se desprende que la utilización de xenoinplantos de hueso desmineralizado en polvo, parece ofrecer una optimización en el proceso de inducción, en defectos con pérdida de hueso importante, utilizando materiales biocompatibles, que sirvan como plataforma cuando la pérdida de hueso sea considerable, ya que la matriz pulverizada da mayor superficie, pero no da soporte mecánico, muy frecuentemente requeridos en los procedimientos de reconstrucción ósea.

El implante en rodaja en la 8a. semana no se integró al receptor produciendo rechazo, esto pudo deberse a una contaminación séptica, ya que los implantes no fueron esterilizados debido a que las técnicas comúnmente utilizadas en la esterilización de hueso disminuye el potencial osteoinductivo del implante, la irradiación en dosis mayores de 2 millones de rads inhiben la inducción se sugiere la esterilización con óxido de etileno.

La presencia de los eventos en la séptima semana en el grupo testigo probablemente se debieron a que quedaron restos de periostio en el receptor.

El estudio radiológico que se realizó no fue representativo ($P > 0.05$) esto se debió que no se utilizó la técnica adecuada, ya que es difícil detectar la osificación dentro de un implante radiotranslúcido, con las técnicas convencionales.

El modelo ideal de experimentación se debe realizar en perros ya que tiene un índice de actividad metabólica (MAI) de 1.56 muy cercano a la del humano, en comparación con el de la rata que es de 5.15 de (MAI) (18).

Se pueden aprovechar ventajas del polvo de hueso desmineralizado, tales como que no se tiene que extraer hueso de un donador, económico no causa rechazo, de fácil adquisición y obtención, uso ilimitado y casi no se reabsorbe y se amalgama con el hueso inducido. Los injertos convencionales de hueso pueden ser reabsorbidos lo cual puede ocasionar que la corrección esquelética sea incompleta y que se requiera de otra cirugía para

trasplantar un nuevo injerto.

Es necesario realizar más estudios de este tipo para ampliar el campo del conocimiento en la osteoinducción y con ello ofrecer alternativas en la terapéutica quirúrgica de las fracturas.

Este estudio constituye el primero de su tipo publicado en México en Medicina Veterinaria.

LITERATURA CITADA

1. Bojrab, J.M.: Medicina y Cirugía en Especies pequeñas. Cfa. Editorial Continental, S.A. de C.V. México, 1988.
2. Bolander, M.E. and Balian, G.: The use of demineralized bone matrix in the repair of segmental defects. J. of Bone and Joint Surg. 68: 1264-1274 (1986).
3. Burchardt, H.: The biology of bone graft repair. Clin. Orthop. and Rel. Res. 174: 28-35 (1983).
4. Carlyle, J. T. y Duncan, H. R.: Veterinary Pathology. 4a. ed. Lea y Febiger Philadelphia, 1983.
5. Casaubon, M. T. y Trigo, F. J.: Reparación: Inmunopatología. Patología General Veterinaria. 2a. ed. U.N.A.M. F.M.V.Z., Div. del Sistema de Universidad Abierta. México, 1987.
6. Einhorn, T.A., Lane, J.M., Burstein, A.J., Kopman C.R. and Vigorita, V.J.: The healing of segmental bone defects induced by demineralized bone matrix. J. of bone and Joint Surg. 66: 274-279 (1984).
7. Glowacki, J., Alltobelli, D. and Mulliken, J.B.: Fate of mineralized and demineralized osseous implants in cranial defects. Calcif. Tissue Int. 33: 71-76 (1981).
8. Grau, H. y Walter, P.: Histología y Anatomía Microscópica Comaprada de los Mamíferos Domésticos. 1a. ed. Editorial Labor, España, (1975).
9. Ham. A.W.: Tratado de Histología. 6a. ed. Editorial Interamericana, S.A., México, 1975.
10. Huggins, Ch., Wiseman, S. and Reddi, A.H.: Transformation of fibroblasts by allogenic and xenogenic transplante of desmineralized tooth and bone. J. Exp. Med. 132: 1250-1258 (1970).
11. Hulth, A., Johnell, O. and Henricson A.: The implantation of demineralized fracture matrix yields more new bone formation than does intact matrix. Clin. Orthop. and Rel. Res. 234: 235-239 (1988).
12. Junqueira, L. C. y Carneiro, J.: Histología Básica. 1a. ed. Editorial Salvat Editores, S.A., España, 1973.
13. Kaban, L. B. and Glowacki, J.: induced osteogénesis in the repair of experimental manibular defects in rats. J. Dent. Res. 60: 1356-1361 (1981).
14. Lindholm, T.C., Lindholm, T.S., Alitalo, I. and Urist, M.R.: Bovine bone morphogenetic protein (bBMP) induced repair of Skull trephine defects in sheep. Clin. Orthop. and Rel. Res. 227: 265-268 (1988).

15. Luna, L.: Methods for Staining Tissues. Editorial. Armed Forces Institute of Histopathology. 1a. ed. Washington, 1968.
16. Mulliken, J.B., Kaban, L. B. and Glowacki, J.: Induced osteogenesis the biological principle and clinical applications. J. of Surg. Res. 37: 487-496 (1984).
17. Nilsson, O.S., Urist, M.R., Dwsen, E.G., Schmalzried, T.P., and Finerman, G.A.M.: Bone repair induced by bone morphogenetic protein in ulnar defects in dogs. The Jour. of Bone and Joint Surg. 68 B: 635-642 (1986).
18. Sato K., and Urist M.R.: Induced regeneration of calvaria by bone morphogenetic protein (BMP) in dogs. Clin. Orthop. 197: 205-269, (1986).
19. Sheehan, H.: Theory and Practice of Histotechnology. 6a. ed. Mosby, U.S.A.: 1980.
20. Slatter, D.H.: Textbook of Small Animal Surgery. Vol. II. W.B. Saunders Company, USA, 1985.
21. Tizard, I. R.: Inmunología Veterianria. 2a. ed. Nueva Editorial Interamericana. México, 1984.
22. Urist, M.R., Lietze, A., Misutani, H., Takagi, K., Triffit, J. T., Amstutz, J., Delange, R., Termine, J. and Finerman, G. A. M.: A bovine low molecular weight bone morphogenetic protein (BMP) fraction. Clin. Orthop. and Rel. Res., 162: 219-232. (1982).
23. Wayne, W.D.: Bioestadística. 4a. ed. Límusa, México, 1983.

I N D I C E D E F I G U R A S

- FIG. 1.** Microfotografía de un corte histológico donde puede apreciarse tejido óseo laminar con osteocitos (flecha) y actividad de médula ósea (punta de flecha), polvo de hueso 2a semana Azul de toluidina 16 X.
- FIG. 2.** Microfotografía donde se observan algunos condrocitos y osteoblastos, así como también fibras de colágena en la zona de unión del implante (flecha) polvo de hueso 2a semana Masson 20X.
- FIG. 3.** Microfotografía donde se observa presencia de actividad osteoclástica, (flecha) tejido sin mineralizar, adyacente a vasos sanguíneos, polvo de hueso 6a semana Masson 40X.
- FIG. 4.** Microfotografía donde se observa actividad inflamatoria por linfocitos, (flecha) así como gran cantidad de osteoclastos, (punta de flecha) en el sitio de unión del implante, polvo de hueso 6a semana Masson 16X.
- FIG. 5.** Microfotografía de un corte histológico donde puede apreciarse diferentes etapas de mineralización, en tejido óseo laminar, (punta de flecha) con actividad medular ósea, (flecha) polvo de hueso 12a. semana Masson 16X.
- FIG. 6.** Microfotografía donde se observa metaplasia cartilaginosa en el sitio de unión del implante (flecha) , rodaja de hueso 2a. semana azul de toluidina 40X.

FIG.7. Microfotografía donde se observan algunos condrocitos irregulares con osteogénesis en el sitio del implante (flecha), rodaja de hueso 9a. semana. Azul de toluidina 40X.

FIG.8. Microfotografía donde se observa trabécula ósea con reacción inflamatoria células linfocíticas, (flecha) rodaja de hueso 9a. semana Masson 40X.

FIG.9. Microfotografía donde se observa tejido óseo laminar, (flecha) con tejido mesenquimal, rodaja de hueso lla. semana Hematoxilina eosina 20X.

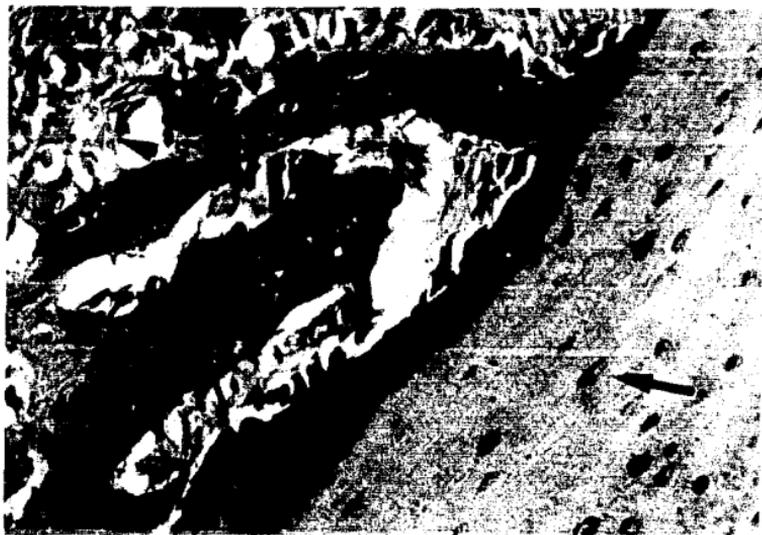


FIG. 1 Microfotografía de un corte histológico donde puede apreciarse tejido óseo laminar con osteocitos (flecha) y actividad de médula ósea (punta de flecha) polvo de hueso 2a. semana. Azul de toluidina 46X.



FIG. 2 Microfotografía donde se observan algunos condrocitos y osteoblastos, así como también fibras de colágena en la zona de unión del implante (flecha) polvo de hueso 2a. semana. Masson 20X.

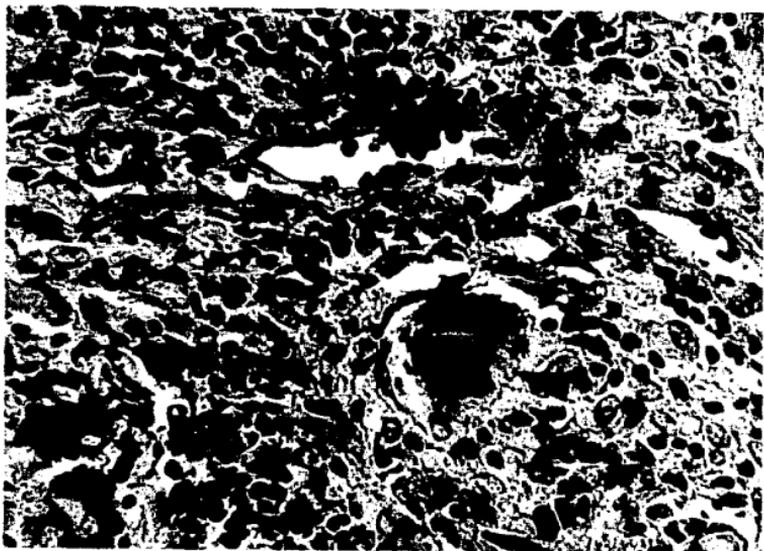


FIG. 3 Microfotografía donde se observa presencia de actividad osteoclástica (flecha) tejido sin mineralizar, adyacente a vasos sanguíneos, polvo de hueso 6a. semana Masson 40X.

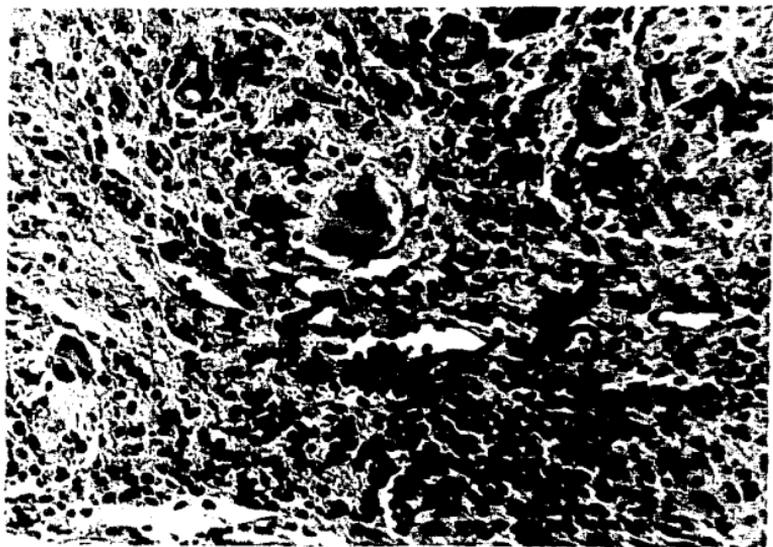


FIG. 4 Microfotografía donde se observa actividad inflamatoria por linfocitos (flecha) así como gran cantidad de osteoclastos (punta de flecha) en el sitio de unión del implante, polvo de hueso 6a. semana Masson 16X.



FIG. 5 Microfotografía de un corte histológico, donde pueden apreciarse diferentes etapas de mineralización, en tejido óseo laminar, (punta de flecha) con actividad medular ósea, (flecha) polvo de hueso 12a. semana Masson 16X.

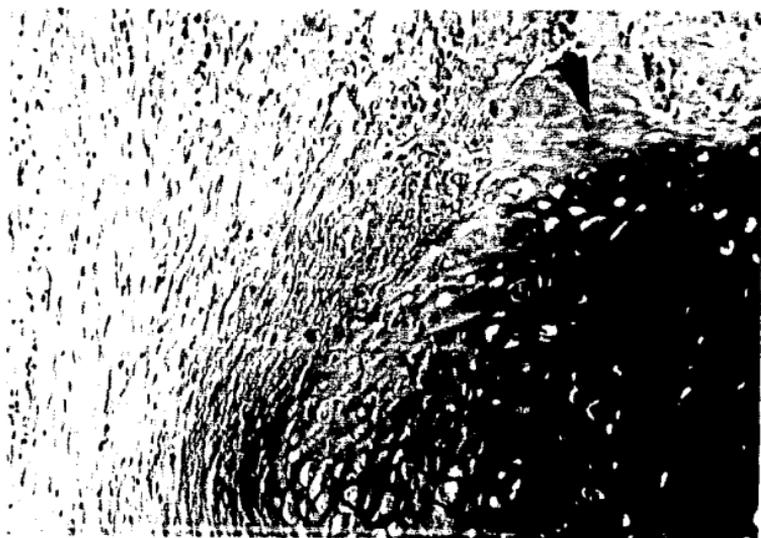


FIG. 6 Microfotografía donde se observa metaplasia cartilaginosa en el sitio de unión del implante (flecha) rodaja de hueso 2a. semana. Azul de toluidina 40X.

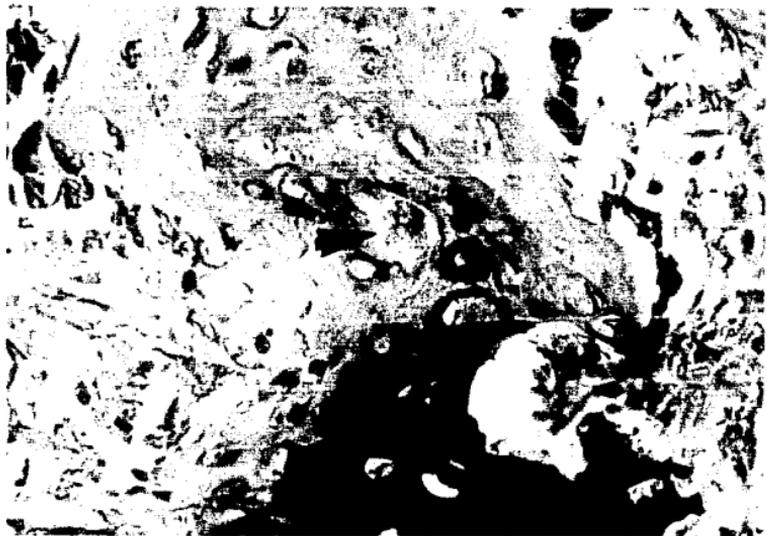


FIG. 7 Microfotografía donde se observan algunos condrocitos irregulares con osteogénesis en el sitio del implante (flecha) rodaja en hueso 2a. semana. Azul de Toluidina 40X.

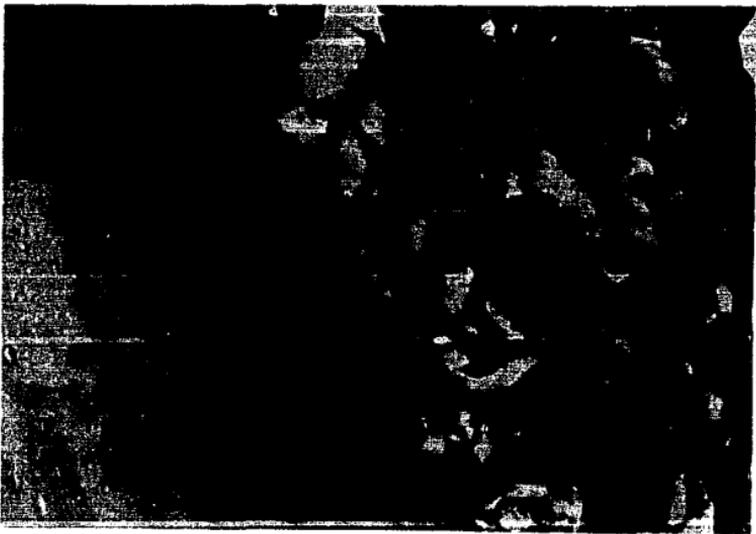


FIG. 9 Microfotografía donde se observa tejido óseo laminar (flecha) con tejido mesenquimal rodaja de hueso 11a. semana. Hematoxilina eosina 20X.

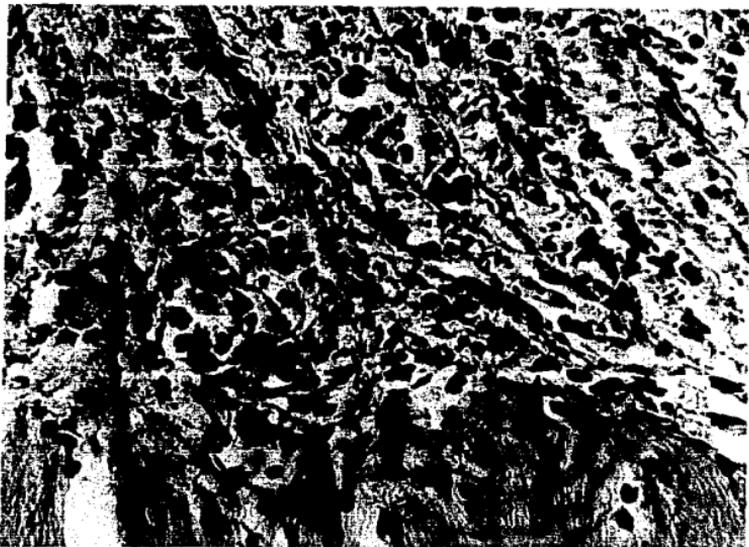


FIG. 8 Microfotografía donde se observa trabécula ósea, con reacción inflamatoria por células linfocíticas (flecha) rodaja de hueso 9a. semana. Masson 40X.

C U A D R O 1
HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DE LOS IMPLANTES Y DEL TESTIGO

SEM.	METAPLASIA CARTILAGINOSA			MINERALIZACION			ACTIVIDAD OSTEOCLASTICA			PERIOSTIO			METAPLASIA OSEA		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1a.	-	-	-	+	-	-	++	++	-	++	+++	-	-	++	-
2a.	-	++	-	-	+/-	-	+++	++	-	+++	+++	-	++	++	-
3a.	-	-	-	+/-	++	-	+/-	+/-	-	++	++	-	+	++	-
4a.	-	+	-	+	+/-	-	+/-	-	-	+	+++	-	+	++	-
5a.	-	+	-	+	+/-	-	+/-	+	-	+	++	-	+	+	-
6a.	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	++	-	+	+	-
7a.	-	-	-	++	++	++	-	+++	++	+/-	++	+	-	++	-
8a.	-	0	-	-	0	-	-	0	-	+	0	-	+	0	-
9a.	-	+	-	++	++	-	+/-	-	-	+	++	-	+	++	-
10a.	-	+	-	++	++	-	+	+/-	-	+	++	-	+	++	-
11a.	++	+	-	0	0	-	0	0	-	+/-	+/-	-	++	+	-
12a.	+	+	-	++	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
GRUPOS						I N T E N S I D A D									
(A)Polvo de hueso desmineralizado						(0) Sin determinar			(+-) Incipiente			(++) Moderada			
(B)Bloque de hueso desmineralizado						(-) Sin presencia			(+) Ligera			(+++) Marcada			
(C)Testigo															