

01484

1

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
E INVESTIGACIÓN

## TESIS

OSTEORREGENERACIÓN: COAGULITE Vs HIDROXIAPATITA Vs  
COAGULITE-HIDROXIAPATITA EN LESIONES MAXILARES DE RATAS,  
CON TOMOGRAFÍA AXIAL-COMPUTARIZADA Y MICROSCOPIA  
ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Que presenta la alumna :

M. en O. MARCELA ALEJANDRA AGUILAR CUEVAS

Para obtener el grado de :

291 126

Doctora en Odontología

Directora de Tesis. DRA. MARGARITA V. GARCÍA GARDUÑO

Marzo 2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## MANUSCRITO DE TESIS

Cualquier tesis no publicada que avale el grado de Doctorado y depositada en la Biblioteca de la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Odontología, queda abierta para inspección, y sólo podrá ser usada con la debida autorización del autor. Las referencias bibliográficas pueden ser tomadas, pero ser copiadas sólo con el permiso del autor, y el crédito se dá posteriormente a la escritura y publicación del trabajo.

La Biblioteca que presta esta tesis debe asegurarse de recoger la firma de cada persona que la utilice.

Esta tesis ha sido utilizada por las siguientes personas que firman y aceptan las restricciones señaladas:

**Nombre:**

**Dirección:**

**Fecha:**

_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

OSTEORREGENERACIÓN: COAGULITE Vs HIDROXIAPATITA Vs  
COAGULITE-HIDROXIAPATITA EN LESIONES MAXILARES DE RATAS,  
CON TOMOGRAFÍA AXIAL-COMPUTARIZADA Y MICROSCOPIA  
ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Asesores:

Patólogo Clínico Juan Manuel Junco Carrera.

\_\_\_\_\_

M.C. Silvia Antuna Bizarro.

\_\_\_\_\_

Hematóloga Bárbara Novelo Garza.

\_\_\_\_\_

Mtro. Enrique Sampedro Carrillo.

\_\_\_\_\_

Radiólogo Jesús Torán Sierra.

\_\_\_\_\_

Subdirector Médico Carlos E. Abrego Ayala.

\_\_\_\_\_

Cirujano Ortopedista Roberto Vega Zapata.

\_\_\_\_\_

Directora de Tesis: Dra. Margarita V. García Garduño.

\_\_\_\_\_

## Reconocimientos

Quiero de manera muy especial ofrecer este sencillo reconocimiento a mi Comité Tutorial integrado por: el Dr. R. Luis García Aranda, el Dr. Manuel Saavedra García y en especial a la Dra. Margarita V. García Garduño por su apoyo académico en el desarrollo del trabajo de investigación; así como por su enseñanza, dedicación y empeño en el perfeccionamiento de este trabajo de Tesis.

A mi Jurado: Dr. Federico Humberto Barceló Santana, Dr. José Reyes Gasga, Dra. Margarita V. García Garduño, Dra. María Maricela Garcés Ortiz, Dra. Ma. Cristina Piña Barba, Dr. Luis Alberto Gaitán Cepeda y al Dr. Juan Carlos Hernández Guerrero, que con sus conocimientos y experiencia enriquecieron este trabajo de Tesis.

A mis Asesores: Patólogo clínico Juan Manuel Junco Carrera, M.C. Silvia Antuna Bizarro, Hematóloga Bárbara Novelo Garza y al Mtro. Enrique Sampedro Carrillo, por su enseñanza, consejos, ayuda y cooperación, que hicieron posible la realización de esta investigación.

Así mismo, al Subdirector Médico Carlos E. Ábrego Ayala y al Jefe de enseñanza Roberto Vega Zapata del Hospital de Urgencias Traumatológicas del I.M.S.S., por su apoyo en la planeación y desarrollo de este trabajo. Al Radiólogo Jesús Torán Sierra, del Hospital General Regional N° 1 “Gabriel Mancera” que con sus consejos y cooperación en el empleo de la Tomografía Axial Computarizada, fue posible la realización de este estudio. A la valiosa cooperación de la Histotecnóloga Guadalupe Yescas Díaz. A la Matemática Margarita Jiménez Villarruel, de la

Unidad de Informática del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del I.M.S.S., por sus atinados consejos para efectuar el análisis estadístico. Al Médico Veterinario Zootecnista Julio González y al Sr. Juan Manuel Trejo, responsables del cuidado de los animales de experimentación en el Bioterio, de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, FO, UNAM. A la Facultad de Odontología, al Departamento de Biología y Fisiología Tisular de la Facultad de Medicina y a la Dirección General de Becas de Posgrado.

Y muy especialmente al Dr. José Antonio Vela Capdevila, Director de la Facultad de Odontología, de la Universidad Nacional Autónoma de México, que apoyó este trabajo de investigación.

A mi esposo por su paciencia, apoyo y colaboración en las revisiones del escrito que me permitieron desarrollarlo con esmero.

Con todo mi amor a mis hijos Karla, Octavio y Alejandro que son mi mejor estímulo para superarme día con día.

Con todo el cariño y reconocimiento a mis padres que con su ejemplo de disciplina, dedicación, tolerancia y consejos me motivaron a seguir con mis estudios de Doctorado.

A todas aquéllas personas que de alguna manera me brindaron su apoyo para la realización de esta investigación



# ÍNDICE

Título	
Resumen en Inglés	
Resumen en español	
1. Introducción	1
2. Antecedentes	6
2.1 Osteorregeneración	6
2.1.1 Hueso. Relación entre estructuras y superficies	6
2.1.2 Células óseas	11
2.1.3 Superficies de resorción ósea	14
2.1.4 Medio ambiente celular	15
2.2 Biomateriales	17
2.2.1 Tipos de implantes para osteorregeneración	18
2.2.1.1 Autógenos	19
Adhesivos celulares	19
Coagulite	22
2.2.1.2 Hueso alogénico, heterólogo o aloimplante	23
2.2.1.3 Hidroxiapatitas HA(s) para implantes óseos	26
2.2.2 Instrumentos empleados para evaluar la osteorregeneración	30
2.2.2.1 Tomografía axial computarizada (TAC)	30
2.2.2.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB)	31
2.2.2.3 Microscopía fotónica	32
3. Planteamiento del problema	34
4. Justificación	34
5. Hipótesis	36
6. Objetivos	37

6.1	General	37
6.2	Específicos	37
7.	Material y métodos	38
7.1	Preparación de los biomateriales	40
7.2	Cirugía	42
7.3	Incisiones	42
7.4	Perforaciones para implantes	42
7.5	TAC, preparaciones para	43
7.6	MEB, preparaciones para	45
7.7	Microscopía Fotónica	47
7.8	Métodos para el análisis estadístico	48
8.	Resultados	49
8.1	TAC, resultados de	49
8.2	MEB, resultados de	56
8.3	Hallazgos histológicos por microscopía fotónica	63
9.	Discusión	69
	Comentarios	74
	Conclusiones	75
	Referencias	76
Anexos		
	Curriculum Vitae	80
	Publicaciones	83

## Summary

The purpose of this study was to evaluate the bone regeneration of provoked maxillary injuries in *Wistar* rats, accelerating the process by the implantation of simple and combined Biomaterials. Coagulite, Hidroxyapatite (HA), Coagulite-HA were implanted in six healthy *Wistar* rats, all male twenty four weeks old. The following procedures were done in accordance of standard bioethics regulations for animal experimentation.

The rats were under anesthesia with Zolazepam and Tiletamin (0.4 mL). Surgical approach with the Semi-Newman technique making four perforations with 2 mm carbide rounded drill: two on the right side and two in the left side. Afterwards the biomaterials were implanted in each cavity: A (Coagulite) in zygomatic maxillary joint of right side; B (Ha) between the 1st and 2nd right molars; C (Coagulite-HA) in the zygomatic maxillary joint of the left side and D (Control) between the 1st and 2nd left molars. These injuries were analyzed using computer axial tomography (CAT), scanning electronic microscopy (MEB) and histological analysis.

For the density values obtained at 3, 6, 9 and 12 weeks of biomaterial implantation, the analysis of varianza (ANOVA) showed significant statistical difference with a  $p < 0.018$ . In surface analysis (filling of the cavities) at 3, 6, 9, 12 and 15 weeks the Kruskal Wallis test was utilized, this demonstrated also a significant statistical difference with a  $p < 0.03$ . Hystological analysis showed that the Coagulite had the best morphological differentiation process in the microstructures of the tissue.

The use of the MEB and the histological analysis allowed us to conclude that Coagulite is more efficient than HA or the Coagulite-HA compound in the process of bone regeneration of maxillary injuries in *Wistar* rats. The CAT is a good alternative for evaluation of bone regeneration in vivo.

**Key Words:** bone regeneration, cellular adhesives, hidroxyapatite, *Wistar* rats maxilla, computer axial tomography, scanning electronic microscopy, hystological analysis

## Resumen

El propósito de este estudio fue evaluar la osteorregeneración de lesiones provocadas en maxilares de ratas *Wistar*, acelerando el proceso por medio de biomateriales simples y combinados. Coagulite vs Hidroxiapatita vs Coagulite-hidroxiapatita fueron implantados en seis ratas *Wistar* sanas, machos, de 24 semanas de edad y se realizaron los siguientes procedimientos según las normas de bioética en animales de experimentación.

Las ratas fueron anestesiadas con Zolazepam y Tiletamina (0.4mL), abordaje quirúrgico con la técnica Semineyman y realizándose cuatro perforaciones: dos del lado derecho y dos del izquierdo, con fresa redonda de carburo de 2mm de diámetro. Posteriormente se implantaron los biomateriales en cada una de las perforaciones. A (Coagulite) maxilar derecho en la unión cigomática-maxilar; B (Hidroxiapatita), entre el primer y segundo molares derechos, la tercera perforación C (Coagulite-hidroxiapatita) en la unión cigomática-maxilar izquierda y D (Control) entre el primero y segundo molares izquierdos. Estas lesiones fueron analizadas por tomografía axial computarizada, microscopía electrónica de barrido y análisis histológico.

Para los valores densitométricos obtenidos a las 3, 6, 9 y 12 semanas de implantados los biomateriales, el análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencia estadística significativa con una  $p < 0.018$ . En el análisis de superficie (lleno de las cavidades), a 3, 6, 9, 12 y 15 semanas se utilizó la prueba de Kruskal Wallis, esta mostró una diferencia estadística significativa con una  $p < 0.03$ . El análisis histológico mostró que el Coagulite tiene el mejor proceso de morfodiferenciación de las microestructuras en la ingeniería tisular.

Se concluye que el Coagulite es más eficaz en la osteorregeneración que la Hidroxiapatita y que el Coagulite-hidroxiapatita de lesiones maxilares en ratas *Wistar* y que la tomografía axial computarizada es una alternativa para evaluar osteorregeneración *in vivo*.

**Palabras clave:** osteorregeneración, adhesivos celulares, hidroxiapatita, maxilares de ratas *Wistar*, tomografía axial-computarizada, microscopía electrónica de barrido y análisis histológico.

# 1. INTRODUCCIÓN.

Uno de los grandes problemas con los que se enfrenta la Cirugía Endodóntica, Periodontal, Maxilofacial y la Traumatología es el de lograr la osteorregeneración de defectos óseos.

En Endodoncia, la terapia convencional que no logra el éxito del tratamiento, incluye causas iatrogénicas que involucran: perforaciones, instrumentos fracturados, formación de escalones y la persistencia de síntomas dolorosos entre otros, que requieren de intervención quirúrgica periapical, debido a la destrucción ósea ocasionada por éstas<sup>1</sup>.

Mucho se ha escrito en los últimos años acerca de la periodontitis apical y osteólisis provocadas por perforaciones iatrogénicas que son fracasos en la terapia de conductos. Esto involucra la inflamación del tejido circundante a la perforación, citotoxicidad del material de reparación y deficiente sellado del mismo, siendo un problema terapéutico para el clínico<sup>2-5</sup>.

Se han utilizado numerosos materiales para la reconstrucción de los defectos óseos, tales como fosfato tricálcico, cerámicas, ionómeros de vidrio, titanio e hidroxiapatita entre otros; este último, es un mineral natural con composición similar a la del mineral óseo, siendo uno de los aspectos más importantes considerado para el desarrollo de biomateriales, ya que tiene las características del tejido a sustituir<sup>6</sup>.

El problema de regeneración ósea se resuelve en la actualidad gracias a biomateriales que permiten reparar defectos óseos. Los campos científicos en los que se investiga son: Endoprótesis, Osteosíntesis y Biomateriales<sup>7</sup>.

El término biomaterial se emplea para designar materiales extraños al receptor, de origen natural o artificial, los cuales son implantados en un organismo viviente para restaurar la morfología y/o funciones de tejidos u órganos alterados por trauma, malformaciones o enfermedades degenerativas. Su característica principal es que deben funcionar bajo ciertas condiciones biológicas. Se diferencian de los fármacos en que su principal objetivo terapéutico no es por un efecto químico en el organismo y en general no necesitan ser metabolizados. La biocompatibilidad ha sido definida como el estado de coexistencia mutua entre un biomaterial y el ambiente fisiológico, de modo tal que ninguno tenga un efecto indeseable por la existencia del otro<sup>8,9</sup>.

El comportamiento funcional de un biomaterial se conoce como biofuncionalidad y describe el comportamiento del material implantado en el organismo, lo que depende entre otros factores de: forma, uso, fatiga, fractura, fijación, reacciones tisulares, corrosión y sobrecarga entre otros. La forma es un factor importante tanto en biocompatibilidad como en biofuncionalidad. Un material en forma de polvo produce efectos completamente diferentes a los que produce el mismo material en forma de un sólido compacto<sup>9</sup>.

Las propiedades deseables de los materiales para sellado de defectos óseos incluyen: capacidad selladora, resistencia a la corrosión, no reabsorbibles, biocompatibilidad tisular, facilidad de manipulación, que logren inducir osteogénesis y cementogénesis, accesibles para su uso y no costosos<sup>5</sup>.

En Odontología existen diferentes causas por las que se requiere de cirugía periapical. Uno de los problemas críticos en todas éstas es la necesidad de provocar un defecto óseo al preexistente, para reparar el área lesionada. En el sellado de perforaciones dentales se han usado diferentes materiales como: la amalgama, gutapercha, cavit cementos de policarboxilato, resinas compuestas, hidróxido de calcio, fosfato tricálcico, hidroxiapatita, y óxido de zinc con eugenol entre otros; en su evaluación histológica, no cumplen con todos los criterios para una reparación ideal; es decir, que logren la formación ósea, homeostásis y remodelación<sup>6,10,11</sup>.

Los selladores para perforaciones con óxido de zinc y eugenol son generalmente descritos en la literatura como de relativa toxicidad al tejido periapical. Otros autores, señalan que la respuesta tisular del óxido de zinc y eugenol es más aceptable que la amalgama<sup>11-13</sup>.

Después de tratamiento endodóntico se provoca un defecto óseo para evidenciar la lesión y sellar la perforación, es necesario reparar el defecto "iatrogénico" mediante un material que logre osteorregeneración. La importancia de contar con un biomaterial que acelere el proceso de regeneración ósea, ha dado lugar a numerosas investigaciones<sup>11-16</sup>.

La renovación o reparación de tejido óseo perdido es conocida como osteorregeneración y se logra eficazmente gracias al empleo de biomateriales que producen osteoinducción, osteoconducción y osteogénesis<sup>17</sup>.

La hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , ha sido empleada como osteoconductor en el proceso de regeneración ósea, usualmente en la forma de gránulos porosos de diferentes tamaños. La hidroxiapatita utilizada como implante en defectos óseos periodontales, mostró aposición ósea directa y se observó parcial ó totalmente cubierta dentro de hueso. El tamaño de la partícula y su forma fueron reportados como de influencia significativa en la respuesta inflamatoria y en la formación ósea<sup>18</sup>.

En la Universidad de Virginia se ha probado desde 1985 el sellador de fibrina en más de 3000 pacientes en una variedad de aplicaciones quirúrgicas, que constituyen el 5% de todas las operaciones cada año. Se ha utilizado en pacientes hemofílicos que se someten a extracciones dentales incluyendo a pacientes con inhibidores. En cirugía ortopédica, el sellador de fibrina se ha usado en la fijación de implantes, fijación de fracturas, inducción ósea (en combinación con otros factores de crecimiento), reparación de tendones, defectos articulares y para incrementar el crecimiento fibroblástico<sup>19</sup>.

La colágena juega un rol importante en la reorganización tisular. Gould y colaboradores señalan que la matriz de colágena dentinaria es un posible implante “universal” en periodoncia<sup>20</sup>.

Algunos de los selladores registrados son: Inmuno (Austria), Behring (Alemania) y CRTS-Lille (Francia). Se ha demostrado que la inhibición de la expresión de las integrinas está involucrada en el descenso de adhesión osteoblástica a la matriz extracelular ósea<sup>21,22,23</sup>.

Basados en estos resultados Ambriz y colaboradores (1990) desarrollaron en el Banco Central de Sangre (Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México) un hemostático local al cual se denominó



Coagulite, constituido por crioprecipitados (fibrinógeno y FXIII), trombina y ácido aminocaproico, para formación de coágulo *in situ* como adhesivo quirúrgico<sup>23</sup>.

Se eligieron ratas *Wistar* para este modelo experimental, porque ofrece las ventajas de bajo costo de mantenimiento y del conocimiento que se tiene de sus reacciones osteorregeneradoras<sup>24</sup>.

El objetivo de este trabajo es evaluar la osteorregeneración en lesiones maxilares de ratas *Wistar* bajo la influencia de Coagulite o Hidroxiapatita o Coagulite-Hidroxiapatita, a través de análisis densitométrico, análisis de superficie y por análisis histológico como estándar de oro\* con la finalidad de establecer la respuesta tisular de los biomateriales antes mencionados.

\* En medicina se considera “estándar de oro” al índice de comparación ideal para medir un fenómeno.

## **2. ANTECEDENTES.**

Esta sección tiene el propósito de ofrecer una descripción de las estructuras, células y medio ambiente celular del hueso maxilar. Dentro de este contexto, correlacionar los procesos fisiológicos y los obtenidos por diferentes biomateriales empleados como implantes para osteorregeneración e integrar estos conceptos con el empleo de instrumentos para su medición.

### **2.1 OSTEORREGENERACIÓN.**

#### **2.1.1 Hueso maxilar. Relación entre estructuras y superficies**

El hueso, el cemento, la dentina y el esmalte se hallan asociados con el funcionamiento de los dientes. Los tejidos periapicales están compuestos por cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. Estas estructuras se originan por el saco dentario durante la vida embriológica y se comunican con la pulpa a través del agujero apical y de los conductos laterales. La vaina es una extensión bilaminar que prolifera en dirección apical, separando la papila dental (futura pulpa), del folículo ó saco dental (ligamento periodontal). El cemento cubre la parte interna apical y las superficies que recubren la raíz dentaria, éste es alimentado esencialmente por difusión desde el ligamento periodontal <sup>15,26</sup>.

El desarrollo de las raíces dentarias humanas y de primates, resulta de la dentinogénesis y cementogénesis; las cuales son embriológicamente dependientes de la proliferación apical de las

células de Hertwig's (HERS). Estas células degeneran subsecuentemente o migran alrededor de la superficie radicular dentro del folículo dental<sup>15</sup>.

Las células epiteliales o de Malassez, que permanecen dentro de los límites de la membrana periodontal que rodea al diente, pueden observarse histológicamente a cualquier edad después de formadas las raíces. La vaina radicular se separa de la raíz y esto hace que los tejidos conectivos mesenquimatosos del saco dental, depositen cemento en la superficie externa de la dentina. Una vez depositado, el cemento incluye las fibras colágenas de la membrana periodontal y quedan firmemente ancladas en el cemento calcificado. El tercio superior de la longitud total de la raíz es acelular, el resto contiene cementocitos en su matriz. El cemento y el hueso aumentan en cantidad por adición a la superficie y, a medida que se forma la raíz, se desarrolla la membrana periodontal y se llena el espacio entre ésta y el hueso alveolar<sup>15</sup>.

La membrana periodontal está formada por haces gruesos de fibras colágenas dispuestas en forma de ligamentos. Tiene la función de suspensión ó amortiguador al impacto masticatorio, además de las funciones de cementogénesis y osteogénesis. Las células de la membrana periodontal tienen la capacidad de producir fibras colágenas y matriz orgánica de hueso y de cemento<sup>15</sup> (Fig. 1 y 2).

Las células asociadas con el cemento son los cementoblastos y los cementocitos. Cuando éstos están activos son células redondas, con citoplasma basófilo, lo que es índice de la existencia de un retículo endoplásmico rugoso. En los cementoblastos en reposo se observan con núcleo picnótico y escaso citoplasma. Como el cemento es avascular, los cementocitos dependen de la difusión desde el ligamento para el aporte de nutrientes. El cemento acelular tiene fibras extrínsecas, que son haces de

fibras del ligamento incluidas dentro del cemento. El cemento celular posee fibras intrínsecas, formadas como resultado de la actividad cementoblástica (fibras de Sharpey)<sup>26</sup>.



Fig. 1 Micrografía que muestra la estructura dentaria, ósea y el ligamento periodontal del maxilar de ratona *Wistar* (control).



Fig. 2 Micrografía del ligamento periodontal a mayor aumento.

El ligamento periodontal es un tejido conectivo, donde la célula principal es el fibroblasto. El fibroblasto es una célula grande con extenso citoplasma asociado a síntesis y secreción de proteínas. Se alinean en dirección a los haces de fibras y se encargan de la remodelación del colágeno. Las células epiteliales del ligamento periodontal son remanentes de la vaina epitelial de Hertwig. Se les reconoce con la tinción de hematoxilina-eosina por sus núcleos densos (restos epiteliales de Malassez). Las células mesenquimáticas indiferenciadas del ligamento son localizadas a los lados de los vasos sanguíneos. La superficie ósea del ligamento está tapizada por osteoblastos y los cementoblastos se alinean sobre la superficie de la raíz dentaria<sup>26</sup>.

La irrigación del ligamento proviene de las arterias dentarias; estas, siguen un curso intraóseo y ascienden como arterias intra-alveolares. La inervación es llevada a cabo por los nervios maxilar superior o dentario. El hueso que rodea el alvéolo es hueso fascicular<sup>26</sup>.

La sustancia fundamental es un componente que ocupa el espacio entre células y fibras, tiene gran contenido de agua y carece de estructuras a nivel macromolecular. Con el microscopio óptico se observa de aspecto amorfo, cuando se emplea la tinción de hematoxilina-eosina se pierde al ser extraída durante la fijación y la deshidratación del tejido. Solo se observa el espacio ocupado por ésta y se hacen evidentes las células y fibras. Se compone de proteoglucanos y ácido hialurónico y su importancia radica en que permite la difusión de oxígeno y nutrientes entre la microvasculatura y los tejidos adyacentes. A la presión por volumen o turgencia se debe la capacidad de resistencia a la compresión sin inhibir la flexibilidad.<sup>27</sup>

El hueso, cemento y dentina, son tejidos conectivos especializados cuyo colágeno tiene un papel importante en el mantenimiento de su estructura. La formación de tejido conectivo duro se resume como la producción celular de una matriz orgánica capaz de aceptar material de tipo mineral, con actividad de la enzima fosfatasa alcalina y vascularización como requisitos esenciales<sup>26</sup>. *“El hueso es un tejido conectivo mineralizado especializado que contiene un 33% de matriz orgánica, la cual incluye a un 28% de colágeno de tipo I. El restante 5% de la matriz orgánica es proteína no colágena, incluyendo osteonectina, osteocalcina, proteína morfogénica del hueso, proteoglicano óseo y sialoproteína ósea. La matriz orgánica está impregnadaa por una hidroxapatita pobremente cristalizada y deficitaria en calcio  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  que constituye el 67% restante”* \*.

\*Ten Cate Histología Oral. Desarrollo, estructura y función Cap. 8, 2da. Edición, Edit. Médica Panamericana S.A. Buenos Aires 1986.

Las laminillas concéntricas conforman gran parte del hueso compacto y forman la unidad metabólica llamada osteón. El osteón es un cilindro de hueso, generalmente orientado a lo largo del eje mayor. En el centro de cada osteón se encuentra el conducto de Havers, que está recubierto por una sola capa de osteoblastos que cubren la superficie y, dentro de cada conducto se aloja un capilar. Los conductos de Havers adyacentes se hallan interconectados por los conductos de Volkmann, los cuales; al igual que los de Havers, contienen vasos sanguíneos creando una red vascular a través del hueso compacto. Este es rodeado de una membrana de tejido conectivo osteogénico (formadora de células óseas), llamada periostio<sup>26</sup> (Fig. 3).

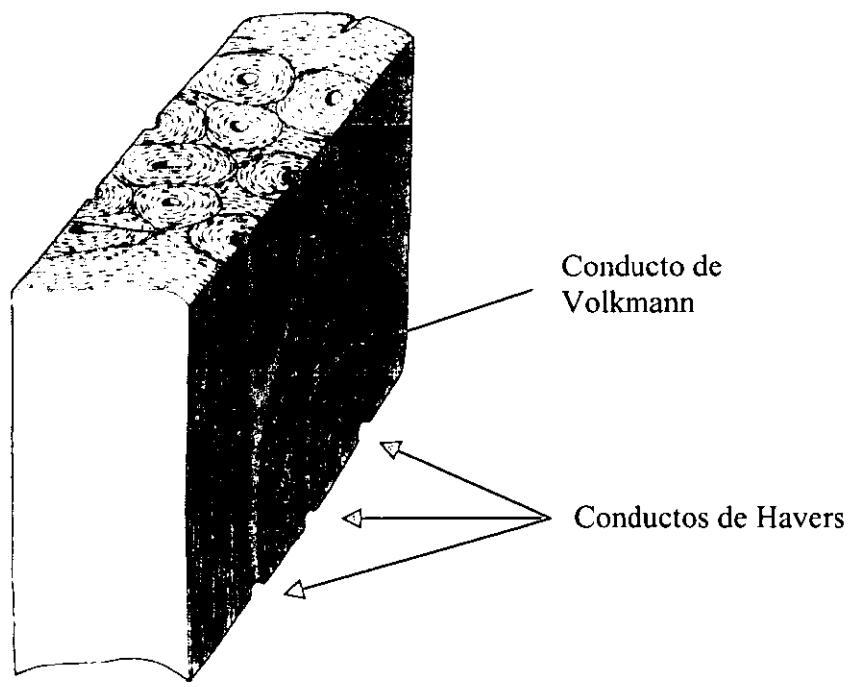


Fig 3. Imagen que muestra los conductos de Havers y de Volkmann en hueso compacto. Tomada del libro de Histología , Ross/Romrell/Kaye 1999:151.

El hueso está constituido por largas cadenas de proteínas, fundamentalmente de colágeno, reforzadas por depósito mineral (Hidroxiapatita). La estructura molecular y fibrosa del colágeno es descrita como cilindros concéntricos de capas sucesivas de colágeno, interconectados tridimensionalmente alrededor

de vasos sanguíneos. Longitudinalmente a los canales ocupados por los vasos sanguíneos, existen pequeños espacios donde se alojan las células hematopoyéticas y millares de canales. El colágeno a su vez contiene multitud de microcristales de hidroxiapatita. El balance de compuestos inorgánicos y orgánicos varía según el tipo de hueso, la edad del individuo y el sexo<sup>17</sup>.

El componente mineral de hidroxiapatita ósea, se encuentra en una composición nominal de  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  y una relación molar de Ca/P de 1.71. Las propiedades físicas y mecánicas del hueso, dependen de la distribución molecular, microestructural y macroscópica de sus componentes. La relación entre la fase mineral y el colágeno es controlada por tensiones mecánicas (efectos de potencial de flujo). Cuando se aplica algún injerto para restaurar un defecto, se inician un conjunto de mecanismos naturales de formación de hueso que tienden a restaurar la lesión: a) osteogénesis es la transferencia de células productoras de hueso hacia la zona afectada, b) osteoinducción, a la estimulación de células del mesénquima para provocar su diferenciación en células osteogénicas e iniciar la producción ósea y c), osteoconducción que es la sustitución progresiva y crecimiento del frente de hueso<sup>17</sup>.

### **2.1.2 Células óseas.**

El hueso contiene distintas células que son las responsables de la formación, reabsorción y, mantenimiento del mismo. Se describen cuatro tipos de células óseas: 1) La célula osteoprogenitora, célula que antecede al osteoblasto y está localizada en la superficie interna o externa de los huesos. Las células periósticas son las que forman la capa interna del periostio y las endósticas las que revisten a las

cavidades medulares (conductos de Havers y los de Volkman); el osteoblasto, célula que secreta la matriz extracelular del hueso y es la responsable de la mineralización del tejido óseo; 3) el osteocito, cuando se ha rodeado de matriz extracelular del hueso y mantiene la estructura del hueso estable y 4) el osteoclasto, que reabsorbe hueso.

Después de su formación, los osteocitos pierden la mayor parte de su maquinaria sintetizadora de matriz ósea y reducen su tamaño. Durante su vida, los osteocitos reabsorben lentamente la matriz inmediatamente circundante, formando lagunas. Las extensiones estrechas de estas lagunas osteocíticas, forman canales cerrados o canalículos que alojan prolongaciones radiantes de los osteocitos. La matriz orgánica siempre consta de la proteína colágeno, asociada con cantidades y tipos variables de otras moléculas tales como: glucosaminoglicanos, glucoproteínas y glucolípidos<sup>27</sup>.

Los osteoclastos son células multinucleadas que ocupan fosas redondeadas llamadas lagunas de Howship. El citoplasma de los osteoclastos muy jóvenes es ligeramente basófilo; el osteoclasto típico tiene citoplasma acidófilo y esta acidofilia aumenta cuando la célula envejece. Los osteoclastos tienen en la superficie que exponen al hueso un borde estriado o en cepillo. Se han descrito gránulos específicos en su citoplasma con las características del lisosoma. Los osteoclastos ejercen actividades enzimáticas, incluyendo la digestión de la colágena del hueso sobre la superficie de contacto; el pH ácido explicaría la disolución del mineral, y las enzimas de los lisosomas la desintegración de la colágena<sup>27</sup>.

El proceso por el cual se forman los huesos de la bóveda craneal se le denomina osificación intramembranosa. Las zonas donde se desarrollan los huesos craneales, están ocupados primero por mesénquima; en éste aparecen algunas fibras y la osificación comienza cuando células mesenquimatosas se diferencian para constituir osteoblastos; células pequeñas y gruesas, con



citoplasma abundante y basófilo. Los núcleos de los osteoblastos pueden observarse excéntricamente y los lugares donde aparecen cúmulos de éstos reciben el nombre de centros de osificación<sup>27</sup>.

*“Donde los osteoblastos proliferan y se diferencian más fácilmente; aparecen prolongaciones radiales de hueso neoformado, que se extienden hacia fuera a partir del primer esbozo óseo reciben el nombre de espículas”*\*. Las espículas bien desarrolladas reciben el nombre de trabéculas (trabs= viga). El hueso constituido por un andamio de trabéculas se le llama hueso esponjoso. El hueso inicial que se forma por osificación intramembranosa es de tipo no maduro. Se considera maduro al hueso que ha formado redes de hueso esponjoso. *“Cuando en lugar de los espacios llega a predominar la sustancia ósea, se dice que el hueso es compacto o denso”*\* (Fig. 4).

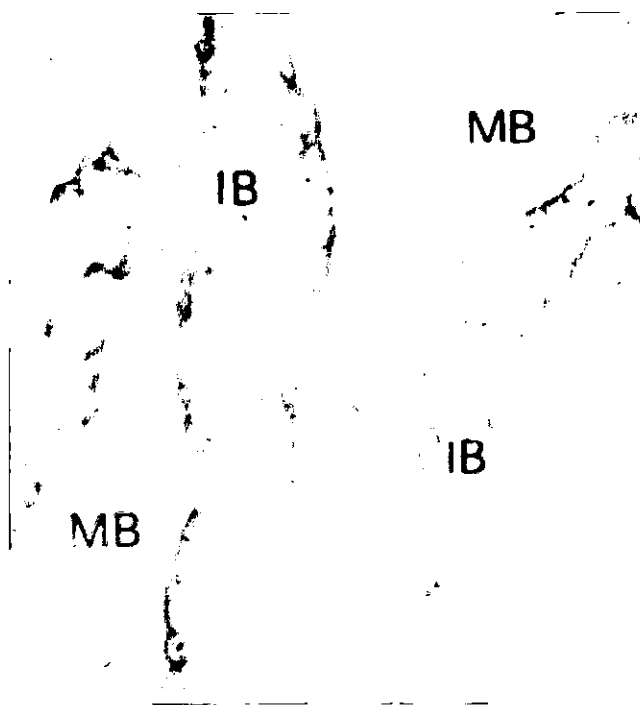


Fig. 4 Imagen que muestra hueso inmaduro (IB) y maduro (MB) en corte de hueso descalcificado. Tomada del libro de Histología, Ross/Romrell/Kaye 1999:152.

\*Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histología. Texto y Atlas Color, 3ra. Edición, Edit. Med. Pan. 1999:148,153-160.

### 2.1.3 Superficies de resorción ósea

Las superficies de resorción ósea en una trabécula no están cubiertas de osteoblastos. En éstas, se encuentran células de dos tipos: 1) células osteógenas inactivas que tienen núcleos alargados y parecen rodear la trabécula; y 2) células multinucleadas (osteoclastos). Suelen observarse adición y resorción en diferentes lugares a lo largo de una misma superficie. Las superficies óseas en reposo están recubiertas por células alargadas, con núcleos ovoides y citoplasma que se extiende hacia los extremos de los núcleos hasta el citoplasma de la célula vecina. Su citoplasma no es basófilo; se vuelve así en el inicio de la síntesis de proteína cuando se necesita de formación ósea<sup>27</sup>.

La resorción osteoclástica y la síntesis osteoblástica constituyen la unidad de remodelación ósea. En esta unidad se presenta un cono perforante; también llamado conducto de resorción y un cono de cierre. El primero tiene osteoclastos (derivados de monocitos sanguíneos) activos que perforan un canal de 200 µm de diámetro. Este canal, futuro sistema de Havers, se estrechará con láminas depositadas por osteoblastos al comenzar la síntesis de matriz orgánica. Este proceso de formación de nuevas osteonas recibe el nombre de remodelación interna<sup>27</sup>.

El hueso tiene entre otras, dos funciones importantes: 1) la de brindar soporte, y 2) la de servir como reservorio de calcio. La resorción ósea ocurre en conexión con el hueso que sirve para cada una de estas funciones. Durante el período de crecimiento para conservar el esqueleto, el hueso se remodela constantemente para servir de sostén. El remodelado del hueso se efectúa por la formación de hueso nuevo sobre superficies de hueso preexistente y la resorción de tales superficies<sup>27</sup>.

También el sistema endocrino tiene efectos sobre el hueso, así la hormona paratiroidea actúa aumentando la concentración de calcio en la sangre. Si el calcio de la sangre disminuye por debajo de valores normales, la glándula paratiroides inmediatamente es estimulada para que secrete más hormona. Por esta retroalimentación negativa se conserva la concentración de calcio en sangre dentro de límites estrechos. El hueso sirve como amortiguador para el calcio de la sangre en este aspecto: el hueso de nueva formación que se encuentra cerca de los capilares es más o menos lábil, si aparecen condiciones de necesidad de calcio en sangre, el calcio puede ser extraído sin que el hueso sufra lesión. La capacidad de la hormona tiroidea (tejido parafolicular) puede causar una transformación de las células osteógenas del hueso en osteoclastos; esto puede demostrarse dando a un animal una dosis elevada de hormona paratiroidea. La calcitonina es una hormona tiroidea que inhibe el efecto de la hormona paratiroidea sobre las células osteógenas. Disminuye la concentración de calcio de la sangre cuando se encuentra excedida<sup>27</sup>.

#### **2. 1. 4 Medio ambiente celular**

Las zonas del cuerpo que tienen capacidad de reconstituir porciones perdidas se llaman campos morfogenéticos. En las regiones del mesénquima bien vascularizado, las células formadoras de hueso (osteoblastos) elaboran fibras de colágena junto a moléculas matriciales mucopolisacáridas. Los osteoblastos unen a estos filamentos y continúan elaborando fibras hasta encontrarse invaginados. Estas propiedades de la matriz y la enzima fosfatasa alcalina junto a cristales de fosfatos de calcio bajo la forma de hidroxapatita, endurecen la matriz de las células del hueso (osteocitos) y se conserva una red

de comunicaciones entre las células en las diferentes capas para recibir de capilares cercanos nutrimentos y oxígeno<sup>15-17, 29</sup>.

**Estos fenómenos muestran la relación de propiedades y características biológicas en los tejidos, proporcionando información suficiente que permitirán establecer las características precisas y necesarias de implantes ideales en la osteorregeneración<sup>16</sup>.**

Todas las señales se originan por interacción de la célula con sustancias disueltas en su ambiente. Las células responden a contactos que hacen con objetos insolubles en su ambiente, incluyendo los sustratos no celulares y las superficies de otras células. En estos sitios algunas proteínas de membrana se agrupan y actúan como puentes entre el objeto extracelular y elementos específicos del citoesqueleto en la superficie interna de la membrana plasmática<sup>28</sup>. *“La interacción entre el dominio extracelular de una integrina con un ligando extracelular, como una molécula de fibronectina de la matriz extracelular, genera señales en la célula que pueden conducir a la liberación de  $Ca^{2+}$  al interior del citoplasma, a incremento de la síntesis de segundos mensajeros de inositol, a incremento del grado de fosforilación de tirosina de las proteínas celulares y cambios en las expresión de genes”*\*.

La cinasa de adherencia focal, proteína tirosincinasa que actúa como efector en las respuestas mediadas por integrina que requiere de reorganización del citoesqueleto, lo que afectaría el curso del desarrollo y conductas celulares. Se considera también como efector que desencadena la agregación de plaquetas, los elementos no nucleados de la sangre encargados del cierre de las heridas en los vasos sanguíneos. La emisión de señales puede afectar aspectos de la estructura y funciones celulares<sup>28</sup>.

\*Karp Gerald. Biología celular y molecular. Cap. 15, McGraw-Hill Interamericana, Méx. 1998.

## 2.2 BIOMATERIALES.

En el desarrollo de materiales biocompatibles, el estudio de su naturaleza y características del tejido a sustituir es uno de los aspectos más importantes<sup>16</sup>.

Hoy en día la biocompatibilidad no sólo se define como ausencia de reacciones tóxicas, sino como el control permanente de las influencias recíprocas entre el organismo y el implante. Hay dos aspectos fundamentales de biocompatibilidad: 1) los efectos sobre el material, y 2) los efectos sobre los tejidos. De modo que la biocompatibilidad de los materiales metálicos está controlada por la interacción electro-química que resulta de la liberación de los iones metálicos o, en algunos casos, de partículas insolubles en el tejido, y la toxicidad de estas sustancias liberadas. Similarmente, la biocompatibilidad de los polímeros, al menos en el contexto de la respuesta de tejido suave, está en gran medida controlada por la forma en la cual los fluidos fisiológicos que rodean al material, extraen monómeros residuales, aditivos y productos de degradación<sup>29,30,31</sup>.

Las cerámicas son mezclas de no metales que incluyen sílices, silicatos, óxidos metálicos, carburos entre otros. Los materiales cerámicos son alternativos para implantes con características para lograrlo. Se han usado para implantes dentales y son de fácil fabricación<sup>31</sup>.

## **2.2.1 Tipos de implantes para osteorregeneración.**

En el desarrollo de nuevos materiales para implantes se ha tenido en cuenta algunos factores: un implante debe ser capaz de soportar carga cuando sea necesario, debe ser osteoactivo; es decir, debe estimular la formación de hueso. La osteoactividad se manifiesta en el carácter osteoinductor y/o osteoconductor del implante. Y finalmente, no debe causar molestias o dolor, fracturas, sangrado en exceso, respuesta a cuerpo extraño, deformación ó transmisión de enfermedades<sup>17,30-32</sup>.

Existen tres clases de materiales óseos para implantes dentales basados según su actividad:

1) Autógeno, material orgánico formador de hueso con propiedades de osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción; 2) aloinjerto, hueso desmineralizado y congelado, osteoinductivo y osteoconductor, que puede ser cortical ó trabecular; y 3) sintéticos o naturales como la hidroxiapatita y el fosfato tricálcico, que varían en tamaño y se consideran osteoconductores<sup>17</sup>.

Pueden ser clasificados dentro de tres grupos basados en la porosidad del producto (densos, macroporos y microporos). Y además, en materiales aloplásticos (cristalinos o amorfos). Estos materiales tienen diferentes propiedades y, por lo tanto, diferentes indicaciones.

Las indicaciones de substitutos óseos son tema de discusiones; así como su aplicación específica en implantes dentales<sup>17, 24, 31, 32</sup>.

### **2.2.1.1 Autógenos.**

Los implantes autógenos son aquellos que se obtienen del propio individuo. En un defecto óseo, el hueso autólogo empleado es el de tejidos catalogados como de primer orden; éste es obtenido de la porción esponjosa del hueso ilíaco que es considerado como el hueso de más alto potencial osteogénico. En los huesos considerados de segundo orden son ejemplos el tarso, la tibia y el fémur entre otros. El injerto óseo es considerado el pionero de los implantes. Entre las ventajas del autoinjerto se encuentra su biocompatibilidad intrínseca. Sobre las experiencias adquiridas con este material se han desarrollado otros como los metálicos, polímeros naturales, sintéticos, cerámicas, vidrios biológicos y muchos más empleados en dispositivos médicos<sup>17</sup>.

El conocimiento de la reacción del tejido circundante al implante ha sido de utilidad como indicador en las posibilidades de fijación de los implantes y son orientadores en el desarrollo de nuevos materiales. Son un factor decisivo las investigaciones preclínicas, tanto *in vitro* como en modelos animales, para asegurar y avalar el uso clínico posterior; además de esclarecer la interacción del tejido vivo y el implante<sup>32, 33</sup>.

### **Adhesivos celulares.**

Gracias al avance de las metodologías bioquímicas e inmunológicas, es factible realizar descripciones precisas de la distribución y tipo de matriz extracelular en tejidos y órganos. La matriz extracelular es un componente primordial de todos los sistemas de desarrollo, y existen pruebas de que es la mediadora de importantes interacciones entre las células en los períodos críticos de desarrollo. Las

migraciones celulares dependen en gran medida de la naturaleza del sustrato a través del cual se desplazan las células, e investigaciones diversas mencionan la importancia de la fibronectina como una de las determinantes de su comportamiento migratorio<sup>32</sup>.

Las fibronectinas son glicoproteínas de alto peso molecular encontradas en las superficies celulares, fluidos sanguíneos (especialmente en plasma), tejido conectivo suave y muchas membranas basales. Intervienen en gran variedad de procesos biológicos, incluyendo adhesión celular, transformación oncogénica, fagocitosis y hemostasia. Al menos dos tipos de fibronectina son conocidos: unas llamadas plasmáticas y otras celulares; ambas formas contienen subunidades de un peso molecular >200,000 y son similares a la composición de los aminoácidos<sup>34, 35</sup>.

La fibronectina pertenece a la familia de las integrinas<sup>36</sup>. Las integrinas son moléculas heterodiméricas formadas por una cadena alfa y una beta. Las cadenas alfa y beta pueden formar muchas combinaciones diferentes (>20), produciendo integrinas que unen a varias moléculas adhesivas célula-célula y célula-matriz. Contribuyen a la reparación fibroblástica y citodiferenciación, actuando como una interfase orgánica entre los cristales y las células, capaz de influenciar su movimiento y función. Las glicoproteínas adhesivas en la matriz ósea son de importancia práctica para la adhesión celular, proliferación, migración, diferenciación y regulación del metabolismo óseo<sup>37-38</sup>.

Varias regiones en la estructura molecular de fibronectina son conocidas por unir a otras moléculas, tales como la fibrina, heparina y gelatina. Estos sitios de unión contribuyen a interacciones de fibronectina con componentes de la matriz extracelular<sup>39</sup>.



El incremento progresivo de síntesis de fibronectina resultó en la producción de matriz fibrosa, en investigación realizada por Becker y colaboradores<sup>42</sup>.

Se ha concluido en varios estudios que la respuesta a fibronectina de células promueve regeneración potencial del ligamento periodontal<sup>36, 38</sup>. Otros estudios mencionan la aplicación del sellador de fibrina autólogo en hemostasia y en una serie de procedimientos quirúrgicos pulmonares y cardiacos con excelentes resultados clínicos<sup>22, 41, 42</sup>.

En un estudio de Choi y colaboradores, los patrones de expresión de las proteínas relacionadas al hueso, fueron reguladas de una manera temporal durante etapas de desarrollo sucesivas que incluyen: proliferación (días 4 a 10), formación/maduración de la matriz ósea (días 10 a 16) y, etapas de mineralización (días 16 a 30). Durante el período de proliferación, la expresión de la célula-genes relacionados con el ciclo fue alto en histona H3 y H4 y, proteínas ribosomales S6. Durante la formación/maduración de la matriz ósea, la expresión de colágeno tipo I y biosíntesis; así como las expresiones TGF-beta 1 y osteonectina fueron altas y máximas alrededor del día 16. Durante este período de maduración se encontró que los patrones de expresión de las proteínas de la matriz ósea fueron de dos tipos: uno, es el patrón de expresión de colágeno tipo I y TGF-beta 1, las cuales fueron más altos en el período de maduración que en los de proliferación y mineralización<sup>30</sup>. La Fibronectina y osteonectina fueron más altas en los períodos de maduración y mineralización que en el período de proliferación<sup>43</sup>.

## **Coagulite.**

Con el desarrollo de la fracción de Cohn y un método de crioprecipitación de fibrinógeno, se proporcionó un adhesivo con altas concentraciones de fibrinógeno. Inicialmente fue utilizado en los procedimientos quirúrgicos de trasplantes cutáneos, neurocirugía, cirugía microvascular y para reparación de defectos óseos. El objetivo de las fibrinas adhesivas, es imitar la última fase de la coagulación sanguínea. Pueden ser obtenidas de crioprecipitados alogénicos o autólogos. El Coagulite es un adhesivo celular que está constituido por crioprecipitados (Fibrinógeno, FXIII), trombina y ácido aminocapróico<sup>23</sup>.

El sellante de fibrina es un producto complejo derivado del plasma, el cual es usado como adhesivo tisular biodegradable. El coágulo de fibrina consolidado y adherido al sitio de colocación actúa como un fluido tirante, capaz de sostener tejidos o materiales en una configuración requerida, mientras muestra hemostasia y propiedades de regeneración. En Europa, Japón y Canadá están certificados los selladores de fibrina. Estos, promueven la angiogénesis (formación de vasos sanguíneos nuevos), crecimiento local y de tejido; razones por las que son recomendados por muchos cirujanos como selladores ideales. Riesgos hipotéticos de transmisión de agentes infecciosos, incluyendo los causados por encefalitis spongiforme bovina han sido mencionados<sup>21, 23</sup>.

Se ha demostrado que la malla de fibrina tiene afinidad por ciertos factores celulares y plasmáticos; atrae fibroblastos, favorece la hemostasia *in situ* y la reparación de heridas. Los crioprecipitados pueden ser obtenidos de manera autóloga para evitar la transmisión de enfermedades por transfusión, fácil disponibilidad y bajo costo<sup>23</sup>.

Progresos significativos en las propiedades del sellador de fibrina han sido alcanzados con la implementación de métodos industriales de fracción de plasma, lo que ha permitido el desarrollo de preparaciones concentradas de fibrinógeno usados para generar fibrina. Muchos de los actualmente estandarizados congelados, son ricos en fibrinógeno (>80 g/L) y factor XIII (>10 IU/mL) ellos; son solubilizados en presencia de un agente antifibrinolítico (usualmente aprotinina a 3000 KIU/ml o menos) y son entonces mezclados con trombina (300-1,000 NIH U/mL) en la presencia de  $\text{CaCl}_2$  (aproximadamente 40-60 mM), los cuales son inyectados desde dos jeringas dentro del sitio de la operación<sup>21</sup>.

### **2.2.1.2 Hueso alogénico, heterólogo o aloimplante.**

El hueso alogénico es descrito en la literatura como hueso para implante que se obtiene de otro individuo. Tiene baja capacidad osteogénica, es rápidamente reabsorbido, con elevada respuesta inmunológica, y presenta revascularización pobre del injerto. Para la conservación de este hueso se emplean técnicas de congelación ó congelación-secado del hueso antes de su uso; éstas, alteran las propiedades físicas del material, disminuyendo su capacidad de generar hueso nuevo. Las condiciones de esterilidad que requieren períodos largos de tiempo es el gran problema del hueso de banco. La posibilidad de contaminación viral del material del injerto, la posible transmisión de virus vivos y enfermedades hacia el sitio receptor, son algunas desventajas de este tipo de implantes<sup>17</sup>.

El autoinjerto es la solución a los problemas de rechazo. La desventaja del autoinjerto óseo en odontología sería una cirugía adicional sobre el propio paciente; riesgo innecesario de anestesia

general, cuando los procedimientos dentales de rutina no ponen en peligro la vida del mismo. Podría ser incluyente en pacientes politraumatizados donde una intervención maxilofacial fuera inevitable<sup>17</sup>.

La estructura y funcionamiento de sistemas biológicos, resultan complejos para preparar materiales sintéticos que reproduzcan de forma exacta el tejido vivo; sin embargo, se ha logrado producir biomateriales de morfología y composición química similar a la del hueso. Por lo que resulta muy importante examinar algunas particularidades de la naturaleza y funcionamiento del tejido óseo y dental humano<sup>8, 10, 18</sup>.

Los tejidos de hueso y cartílago contienen diferentes factores polipeptídicos (factores de crecimiento), los cuales participan en el desarrollo y crecimiento óseo. Paralelamente entre la osificación embrionaria endocondral, formación de callosidades, sustancia intercelular y estudios en los que se involucra la reparación de fracturas; los científicos han fomentado la búsqueda de mecanismos comunes fundamentales de estos procesos<sup>24</sup>.

En 1967 Urist y colaboradores definieron el principio de inducción ósea. A partir de entonces numerosos estudios de investigación se han enfocado a descubrir cuál o cuáles son los factores que inician la osteoinducción. En 1971 descubrieron un conglomerado de proteínas no colágenas de la matriz ósea que tienen la capacidad de actuar sobre las células mesenquimales indiferenciadas y transformarlas en osteoblastos capaces de formar hueso; a este grupo de proteínas se le denominó proteína morfogenética ósea (Bone Morphogenetic Protein: BMP)<sup>17, 24</sup>.

Las proteínas no colágenas (BMPs) se obtienen desmineralizando matriz de huesos o dientes de especies como conejos, ratas, cobayos (Guineas pig), ratones, entre otras, con 0.5 NHCL a temperatura ambiente por 3 horas. El polvo de la matriz se extrae con etanol y se esteriliza en agua saturada con fenol por 30 minutos. La matriz esterilizada puede ser lavada en etanol al 70%, congelada en nitrógeno líquido, deshidratada en etanol un día a 37°C y por último, se estandariza el tamaño de la partícula<sup>32</sup>.

Factores polipeptídicos pertenecientes a la superfamilia TGF-beta llamadas BMPs, son de fundamental importancia en formación ósea e interacción epitelial-mesenquimatosa dentro de embriogénesis temprana, involucrada en procesos de osteoinducción<sup>24, 39, 44</sup>.

García de Lucas y colaboradores demostraron que la BMP combinada con Hidroxiapatita, ha permitido observar una respuesta osteoconductiva del biomaterial, mejorando la inducción ósea mediada por la BMP<sup>24</sup>.

Materiales osteoinductivos han sido sujetos a investigaciones básicas en implantología clínica. Células osteoblásticas de cráneo de ratón aisladas en el laboratorio después de 21 días de cultivo, formaron una capa delgada de fácil manipulación que fue implantada en el tejido muscular de ratón. La Colágena tipo I, Osteocalcina (BGP) y fosfatasa alcalina fueron identificadas en microscopio electrónico inmunohistoquímico. Los hallazgos histológicos mostraron un efecto osteoinductivo del material implantado. Estos resultados sugieren la posibilidad de producir material osteoinductivo por cultivo de células osteoblásticas *in vitro*<sup>45</sup>.

### **2.2.1.3 Hidroxiapatitas HA(s) para implantes óseos.**

Las diferentes formas sintéticas de HA son química y cristalográficamente similares (estructura hexagonal), aunque no idénticas a la HA natural del hueso. La formación de enlaces internos entre la neoformación ósea y la HA, constituye una ventaja de empleo como sustituto óseo. Se ha observado en algunas investigaciones que durante las primeras horas post-implantación se produce ligera inflamación. Varias células incluyendo macrófagos, fagocitan los residuos celulares y se forma posteriormente una capa química de apatita de apariencia indistinguible de la apatita biológica. Los osteoblastos migran hacia el borde del defecto óseo, depositando osteoide sobre la superficie de la HA. La revascularización se lleva a cabo a expensas del calcio y fosfato en el sitio de implantación; entonces, el defecto es restaurado y remodelado disminuyendo el área de osteoides entre el nuevo hueso y las partículas de HA<sup>17</sup>.

Las apatitas biológicas difieren de la HA pura en composición, tamaño del cristal y en morfología. La relación molar de la HA es de 1.67 para HA pura y de 1.62 a 1.64 para esmalte humano y dentina. Para el hueso la relación molar es de 1.71; y esta se incrementa con la edad<sup>30</sup>.

Las HA(s) por análisis químico y biológico pueden ser clasificadas en: a) apatita carbonatada (CO<sub>3</sub>-AP) o b), fluoruro carbonatada (F, CO<sub>3</sub>)-A. Los elementos de concentración menor en la HA de carbonato, magnesio y flúor se cree son los responsables de la estabilidad o inestabilidad de las HA(s) biológicas.

El carbonato  $\text{CO}_3$ , es el constituyente menor de las apatitas biológicas. En el esmalte humano la concentración de  $\text{CO}_3$  es menor (cerca del 3.5% de su peso) y mayor en la dentina y el hueso. En los sistemas sintéticos, la transformación de un tipo de fosfato de calcio a otro y eventualmente en apatita ocurre quizá por un proceso de precipitación y disolución. En el caso de las apatitas biológicas, su disolución en ácidos buffers podría depender de su composición<sup>30</sup>.

Las HA(s) sintéticas se preparan por precipitación en diferentes soluciones y concentraciones adecuadas de elementos:  $\text{CO}_3$ , F, Mg, Sr, Cl. Las propiedades de disolución de estas apatitas son de interés en relación a la desmineralización y remineralización de procesos asociados a la caries dental. La HA sintética usada es un prototipo de apatita del esmalte, donde son precipitados y sintetizados sus componentes a altas temperaturas. Las hidroxiapatitas sintéticas se pueden preparar por diferentes métodos: precipitación bajo constantes cambios de condiciones en composición, hidrólisis y por métodos hidrotérmicos. La cristalinidad de la apatita precipitada se incrementa con el aumento en temperatura de preparación ( $80^\circ$  a  $100^\circ\text{C}$ )<sup>30</sup>.

### **Tipos de hidroxiapatitas para implantes de uso dental:**

Hidroxiapatita cerámica. Se prepara por precipitación bajo condiciones básicas y sintetizada por precipitación de  $950^\circ$  a  $1100^\circ\text{C}$ . Estas cerámicas pueden ser preparadas en forma densa o formas porosas. Los cristales de la HA cerámica son más largos que los de esmalte precipitado<sup>30</sup>.

Hidroxiapatita coralina. Es preparada por conversión hidrotermal de coral (aragonite) en presencia de solución de fosfato de amonio. La conversión resulta en la formación de  $\text{CO}_3$ -apatite<sup>30</sup>.

Hidroxiapatita reabsorbible. Hidroxiapatita con deficiencia de calcio La preparación del producto comercial no es conocida. Puede ser preparada por precipitación o método de hidrólisis<sup>30</sup>.

Hidroxiapatita natural. Obtenida de bancos de hueso humano congelados (Aloimplante)<sup>30</sup>.

García y colaboradores mencionan que se ha estudiado la degradación y reabsorción de la HA *in vitro* e *in vivo*, refieren que la mayoría de las cerámicas, incluyendo la HA, son biodegradables en diferentes proporciones. Se menciona que son frágiles como prótesis de tejidos duros, pero tienen aceptable conducción ósea y biocompatibilidad cuando se emplean como relleno de defectos o como suplemento de injertos<sup>24</sup>.

Uno de los biomateriales porosos de HA, la replaminaforma se obtiene de corales marinos (exoesqueletos de las familias *Porites* y *Gonioporas*), sometidos a intercambio hidrotérmico para transformar el carbonato de calcio en HA. El material así obtenido de estructura porosa y tridimensionalmente conectado (parecido al hueso esponjoso), es de diámetros que van de 230 a 600  $\mu\text{m}$  (*Goniopora*) y de 200  $\mu\text{m}$  (*Porites*). Las Hidroxiapatitas sintéticas  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6$  y  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , en una relación molar Ca/P 1.67, obtenidas de corales marinos son muy similares al hueso no solo en macrocomponentes sino también de microelementos (Tabla 1)<sup>17</sup>.



Tabla 1

Composición química de los materiales de implantes óseos: análisis de elementos por espectroscopia\*

Elemento	HA	HA	Denjina	HA
% en peso				
Calcio	25,6	36,1	35	39,3
Fósforo	12,3	17,3	17,1	18,7
Magnesio	0,39	0,5	1,2	0,14
Carbonato	4,0	3,0	4,0	< 2
Sodio	0,6	0,2	0,2	0,12
Potasio	0,3	0,3	0,07	< 0,05
Hierro	0,017	0,0025	-	0,0017
Cobre	0,0048	0,01	-	0,0008
Plomo	0,015	0,037 (diente)	0,037 (diente)	0,0027
Manganeso	0,0022	D	D	0,0005
Estaño	0,00005	D	D	ND
Aluminio	0,0005	D	D	0,001
Estroncio	0,0002	D	D	ND
Boro	0,014	D	D	ND
Cloruro	0,10	0,3	0,03	ND
Fluoruro	0,31	0,16	0,017	ND
Azufre	-	0,1	0,2	ND
Silicio	D	0,003	-	0,001
Níquel	D	D	D	0,0002
Zinc	D	0,016	0,018	0,0037

D= Se detecta por espectrografía de emisión.

ND= No se detecta por espectrografía de emisión u otros métodos.

\*=Biochemist's Handbook. Ed. Cyril Long. 1961, pág. 717.

\*\*= Benque E.P. et al, Journal de Parodontologie, Vol. 5 N° 2, 89, 1986.

Tabla que se encuentra en el trabajo titulado: Materiales bioactivos para implantes óseos. Características y aplicaciones. González SR, Guerra LGJ. Pág. 20 CENIC. La Habana, Cuba. 1993.

## **2.2.2 Instrumentos empleados para evaluar osteorregeneración.**

Una rama de la Ingeniería Biomédica que prueba y evalúa materiales aplicados a la Medicina, es la ciencia de los Biomateriales. Estudia la interacción de los mismos con los tejidos y sus cambios en estructuras y propiedades. La completa descripción de la superficie es la clave de un número de elementos primarios relacionados en composición, en su distribución y energías. Las técnicas de análisis de las superficies son creadas en las áreas de la microelectrónica, catálisis, adhesión y desgaste. Algunos métodos han sido desarrollados específicamente para caracterización de superficies<sup>17, 30, 31</sup>.

### **2.2.2.1 Tomografía axial computarizada (TAC).**

La tomografía permite una visión de la modificación estructural o morfológica que la investigación supone, está dada por las variaciones de posición, forma, tamaño, contornos o estructura de una porción orgánica. Estas modificaciones de la transparencia o densidad de los elementos normales de la economía, se muestran en valores densitométricos. La imagen obtenida por TAC, muestra la realidad anatómica en volumen, a través de las variables de absorción que las alteraciones de forma y estructura imprimen al haz de rayos X.

La primera idea del uso de la tomografía fue de Hounsfield en 1967, iniciando los primeros ensayos clínicos en 1970. En abril del 1972 en el Instituto Británico de Radiología, expuso sus primeros trabajos. En diciembre de 1973, el British Journal of Radiology publicó tres artículos (Descripción del sistema, por el propio Hounsfield; Aplicación clínica de Ambrose y; Consideraciones acerca de la dosis radiante de Perry y Bridges)<sup>46</sup>.

El estudio por TAC consiste en combinar un movimiento del haz de rayos X alrededor del organismo en un plano transversal; con la determinación de medidas cuantitativas del haz resultante al atravesar ese organismo en múltiples incidencias y la representación morfológica obtenida por los diferentes valores de absorción de cada estructura en cada incidencia de rayos X (imagen tomodensitométrica). Esta imagen morfológica se obtiene gracias al ordenador en gama de grises (o en color), que puede ser cuantificada en densitometrías<sup>46</sup>.

La medición de densidad de la radiación saliente después de explorada la estructura, se basa técnicamente en la absorción de los diferentes elementos sufrida por el haz de rayos X. Para plasmar en cifras este resultado se han diseñado escalas, fijando en el extremo superior (+1000) el coeficiente de absorción de hueso denso. En el centro (0), el del agua; y en el inferior (-1000), el del aire. Entre estos extremos se sitúa el resto de los tejidos. Diez de estas unidades representan un cambio de absorción de 1% con respecto al agua. Este tipo de unidades se llama en la actualidad Unidades Hounsfield (U.H.). Las densidades extremas están determinadas por el hueso y el aire. La densidad 0 corresponde al agua, aumentando de 10 en 10 U.H., para los líquidos densos (sangre, etc.)<sup>46</sup>.

#### **2.2.2.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB).**

La MEB nos facilita un microanálisis por pérdida de energía de los electrones. Cuando el haz de electrones (con un diámetro  $D > 1\text{nm}$ ) impacta la muestra, se generan varios tipos de señales. Los electrones retrodispersados que provienen de una región a  $0.5\ \mu\text{m}$  por debajo de la superficie. La resolución que se logra con electrones secundarios es mayor. En análisis de superficies se utilizan

electrones secundarios para formar las imágenes. En la metodología científica donde se estudian estructuras, es necesario hacer modelos del sólido, estudiar y calcular su imagen teóricamente y compararla con la imagen experimental. El MEB opera frecuentemente con resoluciones en el orden de 100 Å. El concepto de resolución está relacionado con la capacidad de un instrumento para discernir entre dos objetos separados a una distancia de la realidad. Es de 0.6 de la longitud de onda (Ernest Abbe, 1878) y en el microscopio electrónico depende del voltaje de aceleración<sup>47</sup>.

### **2.2.2.3 Microscopía fotónica.**

Es uno de los primeros equipos usados para el análisis de la superficie de un biomaterial. Capaz de examinar superficies homogéneas y heterogéneas, textura, defectos e imperfecciones, así como limpieza y esterilidad del material, propiedad muy importante debido a las graves consecuencias que puede conllevar el no examinar. Muy útil para analizar la histología y las respuestas celulares a los diferentes implantes, utilizando técnicas de tinción especiales<sup>28, 47</sup>.

El microscopio óptico es un sistema de lentes, que presenta un condensador debajo de la platina para concentrar los rayos de luz dispersos que proceden de una fuente, e iluminar con un pequeño cono de luz con intensidad suficiente para observar la muestra luego de la amplificación. Los rayos de luz enfocados son recolectados por la lente objetivo. Existen dos grupos de rayos de luz que penetran a esta lente: los modificados por la muestra y los que proceden de la lente del condensador. La imagen formada por la lente objetivo se procesa por un sistema de lentes, la lente ocular, que forma una imagen virtual amplificada. Un tercer sistema de lentes localizado frente al ojo, emplea la imagen virtual para

generar una imagen real sobre la retina. La distancia relativa entre la muestra y la lente objetivo cambia para enfocar la imagen final sobre el plano de la retina al girar el botón de ajuste<sup>28</sup>.

La calidad óptica de una lente objetivo se mide por el grado de discriminación o resolución de los detalles finos de una muestra. Definiendo resolución como la capacidad para ver dos puntos en el campo visual como dos diferentes entidades<sup>28</sup>.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la actualidad los biomateriales utilizados para la regeneración de defectos óseos no cumplen con todos los requisitos para ser considerados como sustitutos ideales en osteorregeneración. Y si para la osteorregeneración es necesario un biomaterial que tenga las características estructurales y/o fisiológicas del tejido a sustituir, entonces: ¿Será posible que utilizando un biomaterial adhesivo celular, como lo es el Coagulite, se induzca la osteorregeneración más eficazmente?

### **4. JUSTIFICACIÓN**

La pérdida ósea ocasionada por lesiones periapicales iatrogénicas ha sido reportada como una de las principales causas de fracaso en Endodoncia. Ingle reportó que las perforaciones ocuparon el segundo sitio de fracaso en la terapia de conductos, contabilizando 9.6% de todos los casos no satisfactorios<sup>5</sup>.

Diferentes procedimientos quirúrgicos han sido sugeridos tales como: trasplantes, reimplantes, radisectomías, implantes y apicectomías, para evitar la pérdida de órganos dentarios después de perforaciones, pero éstos han mostrado ciertos grados conflictivos de éxito. Uno de los problemas críticos es la necesidad de evidenciar las lesiones provocando defectos óseos quirúrgicos y la importancia de emplear biomateriales que logren la regeneración ósea de manera eficaz<sup>1,5-7</sup>.

Estudios adicionales empleando adhesivos celulares permitirán que fenómenos citológicos y moleculares en el microambiente logren activar los mecanismos precisos necesarios para

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la actualidad los biomateriales utilizados para la regeneración de defectos óseos no cumplen con todos los requisitos para ser considerados como sustitutos ideales en osteorregeneración. Y si para la osteorregeneración es necesario un biomaterial que tenga las características estructurales y/o fisiológicas del tejido a sustituir, entonces: ¿Será posible que utilizando un biomaterial adhesivo celular, como lo es el Coagulite, se induzca la osteorregeneración más eficazmente?

### **4. JUSTIFICACIÓN**

La pérdida ósea ocasionada por lesiones periapicales iatrogénicas ha sido reportada como una de las principales causas de fracaso en Endodoncia. Ingle reportó que las perforaciones ocuparon el segundo sitio de fracaso en la terapia de conductos, contabilizando 9.6% de todos los casos no satisfactorios<sup>5</sup>.

Diferentes procedimientos quirúrgicos han sido sugeridos tales como: trasplantes, reimplantes, radisectomías, implantes y apicectomías, para evitar la pérdida de órganos dentarios después de perforaciones, pero éstos han mostrado ciertos grados conflictivos de éxito. Uno de los problemas críticos es la necesidad de evidenciar las lesiones provocando defectos óseos quirúrgicos y la importancia de emplear biomateriales que logren la regeneración ósea de manera eficaz <sup>1,5-7</sup>.

Estudios adicionales empleando adhesivos celulares permitirán que fenómenos citológicos y moleculares en el microambiente logren activar los mecanismos precisos necesarios para

osteorregeneración logrando la rehabilitación de la zona dañada más rápidamente, evitando así la pérdida de los órganos dentarios involucrados.

El empleo de biomateriales obtenidos de forma autóloga, como el Coagulite, permitirá disminuir costos quirúrgicos y apoyará el trabajo de ortopedistas, cirujanos maxilofaciales, endodoncistas y periodoncistas entre otros; evitando la pérdida de función y la disminución en la calidad de vida de los pacientes.



## 5. HIPÓTESIS.

\*Ha1. El Coagulite es el biomaterial más eficaz en la osteorregeneración de lesiones quirúrgicas maxilares, comparado con la Hidroxiapatita y la combinación de ésta con Coagulite.

\*\*Ha2. La Hidroxiapatita es el biomaterial más eficaz en la osteorregeneración de lesiones quirúrgicas maxilares, comparado con el Coagulite y la combinación de éste con Hidroxiapatita.

\*\*\*Ha3. La combinación Coagulite-Hidroxiapatita es el biomaterial más eficaz en la osteorregeneración de lesiones quirúrgicas maxilares, comparado con el Coagulite y que la Hidroxiapatita.

\*\*\*\*Ho. El Coagulite es el biomaterial igual de eficaz en la osteorregeneración de lesiones quirúrgicas maxilares, que la Hidroxiapatita, y que el Coagulite-Hidroxiapatita.<sup>a</sup>

---

\* Ha1. = Hipótesis de trabajo. \*\*Ha2. = Hipótesis alterna 2. \*\*\* Ha 3. = Hipótesis alterna 3. \*\*\*\*Ho. = Hipótesis nula.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. General.

El objetivo del presente trabajo es el cuantificar y comparar la osteorregeneración bajo la influencia de Coagulite, Hidroxiapatita y Coagulite-hidroxiapatita entre sí y contra un control, colocados en lesiones maxilares de ratas *Wistar*; y observar cuál de ellos logró osteorregeneración más eficazmente a 3, 6, 9, 12 y 15 semanas postimplantación. Para su estudio se utilizó la tomografía axial computarizada (TAC), el análisis de superficie con microscopía electrónica de barrido (MEB) y análisis histológico por microscopía fotónica.

### 6.2. Específicos.

Se evaluó la osteorregeneración obtenida por los biomateriales implantados en las cavidades experimentales con las siguientes técnicas:

**1.- TAC:** Se cuantificó densitométricamente la osteorregeneración lograda por los diferentes biomateriales implantados en las cavidades experimentales y la cavidad control, mostrando las diferencias en densidad de éstos y el control a 3, 6, 9 y 12 semanas.

**2.- MEB:** Se evaluó mediante un proceso analítico de jerarquías el llenado óseo de las cavidades experimentales con una tabla prediseñada específicamente para este estudio. Se comparó por análisis de superficies la ocupación ósea de las cavidades. Estas evaluaciones fueron realizadas a 3, 6, 9, 12 y 15 semanas postimplante.

**3.- Hallazgos histológicos mediante microscopía fotónica:** Se determinaron las reacciones tisulares de los biomateriales implantados, con técnicas histológicas de cortes de 4 a 6  $\mu\text{m}$  aproximadamente, teñidas con hematoxilina-eosina y obtenidas de maxilares a 3, 6, 12 y 15 semanas, para establecer la biofuncionalidad de éstos.

## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

En esta investigación experimental prospectiva se utilizaron ratas *Wistar*, siguiendo la normatividad para investigación científica en animales de experimentación, Título séptimo, Capítulo único de los artículos 121 al 126 del Reglamento de la Ley General de Salud, Secretaría de Salud. Se emplearon tres instrumentos de medición para evaluar la osteorregeneración (variable dependiente), posterior a la implantación de Coagulite, Hidroxiapatita, Coagulite-hidroxiapatita y el control (variables independientes) en cavidades maxilares. El diseño experimental permitió estructurar las mismas condiciones al implantar los biomateriales a comparar en el mismo individuo, así como la respuesta de la cavidad control (sin tratamiento). Las cavidades experimentales fueron preparadas por un solo especialista. Los instrumentos para medir la osteorregeneración fueron seleccionados tratando de obtener información relevante en cuanto a estructuras (TAC), morfodiferenciación o llenado de cavidades (MEB) y analizando histológicamente la respuesta fisiológica a los biomateriales en el medio ambiente celular.

Se emplearon seis ratas *Wistar*, de 350g de peso, sanas, machos y de 24 semanas de edad. Las ratas *Wistar* aceptadas de acuerdo a los criterios de inclusión, fueron aleatorizadas de acuerdo a la tabla Million Random Digits with 100 000 normal desviates. Los criterios de exclusión fueron aquéllos en los que no se presentara algún criterio de inclusión y los de eliminación fueron establecidos para las ratas que durante las fases experimentales enfermaran o los maxilares sufrieran algún traumatismo en la zona de los implantes.

Para el proceso experimental las cavidades fueron designadas de la siguiente forma:

Grupo 1: Cuatro cavidades experimentales realizadas en maxilar de la rata asignada con la clave MI para implantar en el maxilar derecho: A, Coagulite (Co) y en B, Hidroxiapatita (HA). En el maxilar

izquierdo: C, Coagulite-hidroxiapatita (Co-HA) y en D, sin tratamiento (control). Rata señalada para sacrificio a las tres semanas post-implantes.

Grupo 2: Cuatro cavidades experimentales realizadas en el maxilar de la rata marcada con M4, para implantar en el maxilar derecho: A, Co; en B, HA. En el maxilar izquierdo: C, Co-HA y en D, sin tratamiento. Sacrificada a las seis semanas post-implantes.

Grupo 3: Cuatro cavidades experimentales realizadas en el maxilar de la rata designada como M6, para implantar en el maxilar derecho: A, Co; en B, HA. En el maxilar izquierdo: en C, Co-HA y en D, cavidad sin tratamiento. Rata sacrificada a las nueve semanas post-implantes.

Grupo 4: Cuatro cavidades experimentales realizadas en el maxilar de la rata señalada con la clave M2 para implantar en el maxilar derecho: A, Co y en B, HA. En el maxilar izquierdo: C, Co-HA y en D, sin tratamiento. Sacrificada a las doce semanas post-implantes.

Grupo 5: Cuatro cavidades experimentales preparadas en el maxilar de la rata M3, para implantes en el maxilar derecho: A, Co y en B, HA. En el maxilar izquierdo: en C, Co-HA y en D, cavidad sin tratamiento. Rata sacrificada a las quince semanas post-implantes.

Grupo 6: Cuatro cavidades experimentales realizadas en el maxilar de la rata marcada con la clave M5. Se le implantaron de igual forma en A, Co; en B, HA; en C, Co-HA y en D, sin tratamiento. Animal experimental señalado como sustituto en cualquier fase experimental, con la finalidad de evitar la pérdida de información si alguno de los otros animales experimentales tuviese que ser eliminado.

## 7.1 Preparación de los biomateriales:

A) La Hidroxiapatita (sintética Suiza en forma de gránulos porosos Cerrox 80), fue cortada con hoja de bisturí #15, de forma que cumpliera con las dimensiones para las cavidades señaladas como B y C; es decir, formando gránulos homogéneos de 2 x 2 mm empleando un estereomicroscopio. Posteriormente, los gránulos fueron sometidos a proceso de limpieza con acetona en un agitador penetron, para eliminar las partículas que fueran indeseables para el experimento (Fig. 5).

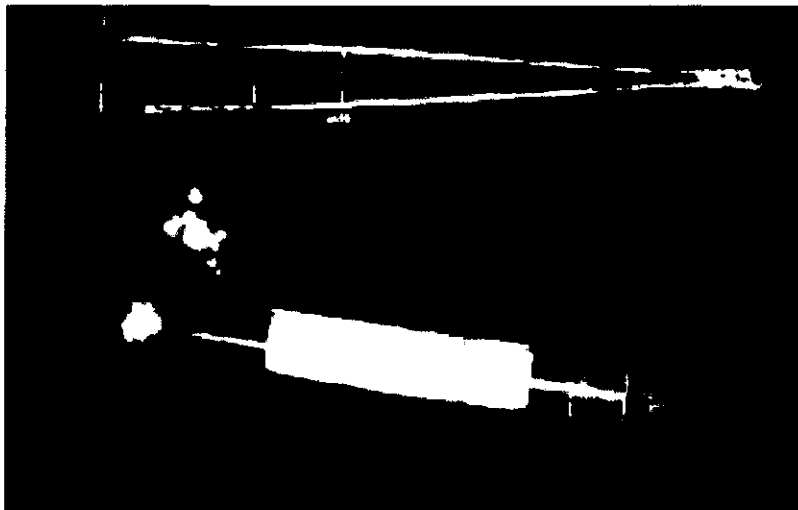


Fig. 5 Fotografía que muestra un tubo que contiene los gránulos Cerrox 80<sup>®</sup> y el porta-amalgamas de Messing empleado para llevar los gránulos a las cavidades.

B) Para la preparación de Coagulite: Se utilizan dos jeringas de 5mL, en una se mezclan los crioprecipitados (plasma fresco congelado grupo AB<sup>48</sup>, por el método de congelación y descongelación rápida) 5 mL, con 3 mL (750 mg) de ácido aminocapróico (frasco de 5 gramos) y 50 U de trombina disuelta en 2 mL de solución salina. Se aplicó de la mezcla de crioprecipitados 0.2 mL y de la trombina 0.1 mL (Coagulite Fig. 6) con jeringas de 1mL, dentro de las perforaciones designadas para este biomaterial (A). El contenido de ambas jeringas se vertió simultáneamente sobre la cavidad maxilar<sup>23</sup>.



Fig. 6 Fotografía que muestra los crioprecipitados A, la trombina B, y las jeringas de 1 mL (tipo insulina) para llevar los biomateriales a las cavidades experimentales señaladas para este biomaterial C.

## **7.2 Cirugía:**

Siguiendo las conductas en un quirófano de asepsia y antisepsia, se procedió a la colocación ordenada de los instrumentos previamente esterilizados; así como a la colocación de los campos quirúrgicos sobre la mesa de cirugía.

Las ratas se anestesiaron con Zolazepam y Tiletamina (50mg/mL), que de acuerdo a su peso la dosis total fue de 0.4mL. Se aplicó dosis anestésica intramuscular en el muslo de la pata trasera con jeringa de 1mL.

## **7.3 Incisiones:**

Se incidieron los maxilares con mango para bisturí #3 y hoja de bisturí del # 15 sobre el borde gingival desde el segundo hacia el primer molar, extendiendo colgajo vertical con incisión firme gingival hasta pliegue mucobucal. La elevación del colgajo mucoperióstico se inició en el componente vertical, desprendiendo con elevador de periostio. El colgajo se sujetó con retractor mead No. 1 (SS White), procurando no lesionar los tejidos.

## **7.4 Perforaciones para implantes óseos:**

Con una fresa redonda de carburo #.2 (Union Broach) e irrigando con solución fisiológica, se realizaron cuatro cavidades de 2 mm de diámetro por 2 mm de profundidad cada una, para implantar los biomateriales objeto de esta investigación. Se realizaron 4 perforaciones con una pieza de mano calibrada a 4444 Rpm (dos perforaciones en maxilar derecho y dos en maxilar izquierdo; con una separación de 1cm entre cada una de ellas). La primera perforación (A), se localizó entre la unión cigomático-maxilar y el primer molar derechos, implantando el biomaterial Co; la segunda (B), entre el primero y segundo molares del mismo maxilar, implantando la HA; la tercera perforación (C), en la

unión cigomático-maxilar izquierda, para implantar la mezcla Co-HA y la cuarta (D) control, entre el primero y segundo molares del mismo maxilar, sin tratamiento y todas ellas a 2 mm del borde gingival. Una vez implantados los biomateriales se reubicó el colgajo con gasa estéril y ligera presión. Se observó posterior a la cirugía que los animales no se limitaron en la ingesta alimenticia.

### 7.5 Tomografía Computarizada TAC:

Para estandarizar las lecturas, se realizó un estudio piloto, se colocaron las ratas en el tomógrafo (Shimadzu SCT 5000 T, Fig. 7) en posición abdominal hacia el sillón, extendiendo las patas delanteras y traseras; la computadora del tomógrafo permitió establecer las dimensiones de las lecturas ( $2\text{mm}^3$ ) y los niveles de corte (Fig. 8) en las densitometrías obtenidas de los maxilares a través de la computadora (2mm).



Fig. 7 Fotografía del Tomógrafo Shimadzu SCT 5000T.

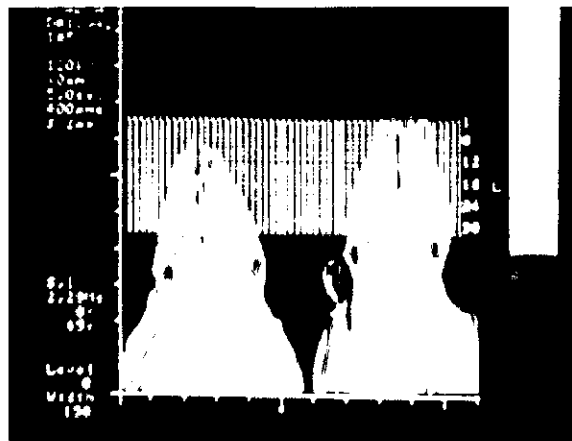


Fig. 8 Imagen que muestra la calibración para realizar los cortes axiales imaginarios en las lecturas densitométricas.

En la tomografía tradicional, la fuente de rayos X y la película radiográfica se mueven durante la exposición y sólo el plano que comprende el área de interés permanece focalizado difuminándose los otros que son los que proporcionan la borrosidad al conjunto. En cambio en la tomografía axial



computarizada se combina un movimiento del haz de rayos X alrededor de las zonas de interés, en un plano transversal al mismo tiempo, con la determinación de medidas cuantitativas del haz resultante de atravesar este sitio en múltiples incidencias; estas medidas, que expresan la absorción de los rayos X por las distintas estructuras atravesadas, permiten al ordenador, reconstruir una imagen.

Y para los defectos óseos, se obtuvieron, en sucesivos barridos, a diferentes niveles, diversos cortes, con la finalidad de reconstruir la realidad anatómica. Se seleccionó este instrumento de medición porque presenta las siguientes ventajas: a) mayor discriminación de densidades radiológicas (mayor diferenciación de estructuras), b) posibilidad de medir de forma numérica, c) capacidad de resolución geométrica (1,5 mm en corte de 1,0mm), d) se evita la superposición de imágenes o efectos de sustracción, e) información tridimensional, f) indiferencia frente a gas, obesidad y hueso, inconvenientes para otras técnicas, g) mayor agudeza diagnóstica (en función de los factores anteriores), h) constancia de la imagen obtenida en diversas pruebas efectuadas en el mismo sitio de análisis, i) fácil de reproducir, indiferencia respecto de la habilidad del operador, j) simplicidad y comodidad, k) buena tolerancia, sin riesgo y sin efectos colaterales y l) contribución al ahorro de otras exploraciones.

Las imágenes obtenidas por el tomógrafo, muestran la zona de lectura con el cursor (con un punto) y del lado izquierdo marca la densitometría obtenida por cada lectura en unidades houndsfield. En el ángulo inferior derecho señala el nivel de corte axial para localización de las estructuras ó lesiones que se pretenden analizar. En el estudio piloto se obtuvo un “valor de referencia” de 750 a 850 U.H. en las lecturas densitométricas de maxilares en estado de normalidad ósea.

A tres semanas de realizar los implantes, la rata que por designación fue señalada con la clave MI; se anestesió para examen con TAC. Se obtuvieron las cuatro lecturas densitométricas de las lesiones para este estudio: A, B, C y D, registrándolas para este control. Posteriormente fue sacrificada utilizando cloroformo de acuerdo a las normas internacionales de bioética en animales de experimentación. Inmediatamente después de ser sacrificada, se realizó disección de maxilar y se colocó en formol al 10% para su procesamiento y observación en MEB. El mismo procedimiento fue realizado para las ratas con las claves M4, M6 y M2.

### **7.6 Microscopía electrónica de barrido MEB.**

Se extrajeron los maxilares y se fijaron en formalina, fueron lavados con agua desionizada dos veces (colocados por 20 minutos en un agitador Penetron) y se procedió a la deshidratación: a) en alcoholes etílicos en forma gradual y ascendente hasta llegar a 100%; de diez en diez con tiempo de 20 minutos por cada concentración; b) se llevaron los maxilares a desecación a punto crítico en un aparato de marca Samndri-780<sup>a</sup>, llegando a 31°C, ya que la misma pieza sería tratada de forma reversible para estudio histológico; y c) se recubrieron los maxilares con oro en un ION SPUTTER JFC-1100 (película de oro uniforme de 2nm aproximadamente). Las observaciones se realizaron en un microscopio electrónico de barrido (Jeol JM560 40x con filamento de Tungsteno) (Fig. 9).



Fig. 9 Imagen que muestra el Microscopio electrónico de barrido que se empleó para este estudio (Jeol JM560 40x).

El análisis de superficies sirvió para identificar si hubo morfodiferenciación y osteorregeneración en zonas internas ó adyacentes a las cavidades (lleno de los defectos). Se capturó la información en la hoja diseñada para esta investigación. Se estableció que de acuerdo a la osteorregeneración de las cavidades se designaran los siguientes valores: cavidad vacía, marcaría un valor 0; cavidad con  $\frac{1}{4}$  de tejido óseo obtendría el valor de 1; cavidad con  $\frac{1}{2}$  de ocupación ósea sería señalada con el valor 2; cavidad con  $\frac{1}{3}$  de osteorregeneración en la cavidad marcaría un valor de 3 y, finalmente la cavidad con un lleno completo de tejido óseo obtendría el valor de 4.

El proceso analítico en el desarrollo del método para evaluar los resultados por MEB fue un proceso analítico de jerarquías que permitió explorar la complejidad de la decisión honesta y sin una simplificación exagerada para expresar los juicios de acuerdo a la característica, para que finalmente se lograra una solución clara y rigurosa de ésta, de acuerdo a la magnitud. En este sentido el experto aceptó la respuesta porque esta completamente basado en su experiencia.

La escala que se utilizó incluyó los siguientes elementos:

- a) Un método bien definido para extraer los juicios expresados con valores.
- b) Una escala fundamental que asoció los juicios expresados con valores.
- c) Una forma de derivar una escala.
- d) Un método que permitió comparar a los biomateriales a través de valores, con respecto al objetivo o meta (osteorregeneración).

### **7.7 Método de preparación histológica para observación en microscopía fotónica.**

Una vez analizados por MEB, los maxilares M1 (a 3 semanas de sacrificio), M4 (a seis semanas), M6 (a 9 semanas), el M2 (a 12 semanas de sacrificio) y el M3 (a 15 semanas de sacrificio), fueron procesados para rehidratar el material de estudio (Antuna Bizarro y Molina 2000, en prensa); la siguiente fase experimental empleada fue la técnica histológica convencional. Previa descalcificación con ácido nítrico al 5%, se colocaron en solución saturada de hiposulfito de sodio para neutralizar la descalcificación y finalmente se dejaron en formol al 10%. Se procedió a la deshidratación en alcohol al 80% (1 hora), alcohol del 96% (en tres pasos de 1 hora cada uno), alcohol etílico absoluto (2 pasos de 1 hora cada uno), alcohol-xilol (1 hora), xilol (dos pasos de 1 hora cada uno) e impregnación de parafina (2 pasos de 1 hora cada uno). La temperatura de la parafina fue de 58°C Todo el proceso se realizó en un Histoquinette. Se realizaron cortes histológicos y tinción con hematoxilina-eosina.

La morfodiferenciación por presencia ó ausencia de líneas de segmentación, osteoblastos y el nivel de maduración ósea en muestras teñidas con hematoxilina eosina, fueron evaluados con un fotomicroscopio (Olimpus 3HDF). Se realizaron 250 cortes por cavidad para análisis histológico sólo de los marcados con las claves M1, M4, M2 y M3.

Al maxilar M3 se le realizaron cortes transversales y fue señalado como control, con la finalidad de verificar los niveles de corte en las cavidades experimentales.

### **7.8 Métodos para el análisis estadístico.**

El método para el análisis estadístico de los datos obtenidos por TAC fue el análisis de varianza (ANOVA). Los grupos a comparar en diferentes eventos permitió que este análisis mostrara las diferencias de las desviaciones estándar cuadráticas que podrían ser enmarcadas dentro de una curva normal de comportamiento de acuerdo al cambio en densidad mostrado por los biomateriales en las diferentes semanas. En esta prueba se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Usa tamaño de la muestra de la media armónica.

Para evaluar la eficacia de los biomateriales postimplantados a 3, 6, 9, 12 y 15 semanas con MEB, se utilizó la prueba de Kruskal Wallis.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Tomografía axial computarizada.

Las densitometrías obtenidas mostraron que a las 3 semanas el biomaterial que alcanzó el valor densitométrico más alto fue la combinación Coagulite-hidroxiapatita (C), con 903 U.H (Fig. 10); el siguiente valor más alto fue el alcanzado por la Hidroxiapatita (B), 667 U.H. (Fig. 10); después el Coagulite (A), 489 U.H. y por último el Control (D), 228 U.H. (Fig. 11).

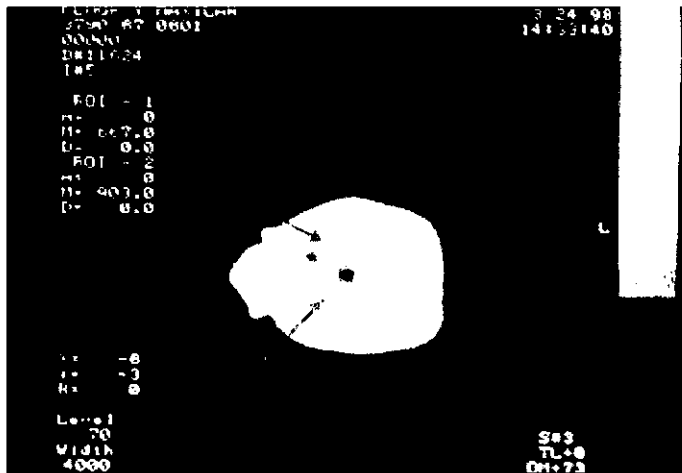


Fig. 10

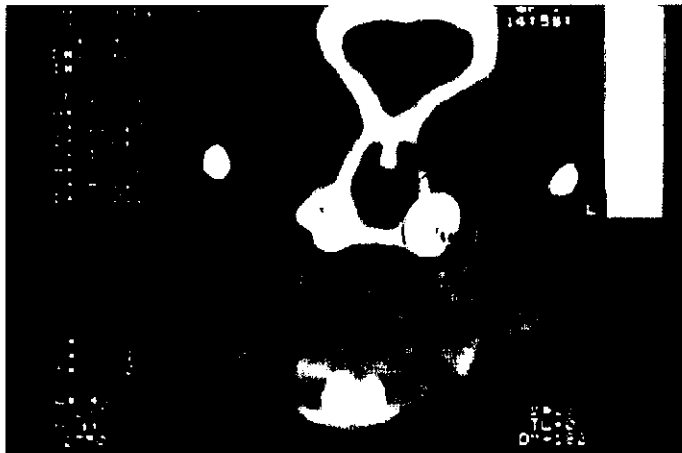


Fig. 11

Figs. 10 y 11 Imagen superior de TAC, que muestra la densidad obtenida del maxilar M1 en la cavidad B y C (flechas). El punto a investigar se marcó sobre la lesión con el cursor, activándose en la computadora el registro densitométrico; para B, se obtuvo el valor de 667 U.H. y para C, el de 903 U.H. La imagen inferior muestra como se localizaron las zonas de implantes, permitiendo obtener la densitometría del lugar exacto. Densidad obtenida de la cavidad control (D) en el espécimen señalado como M1 (elipse).

A las seis semanas, el biomaterial con la densitometría más elevada fue el Coagulite-hidroxiapatita (C), 900 U.H.; el siguiente fue la Hidroxiapatita (B), 841 U.H.(Fig.12); después el Coagulite (A), 537 U.H. y finalmente el Control (D) con 346 U.H.

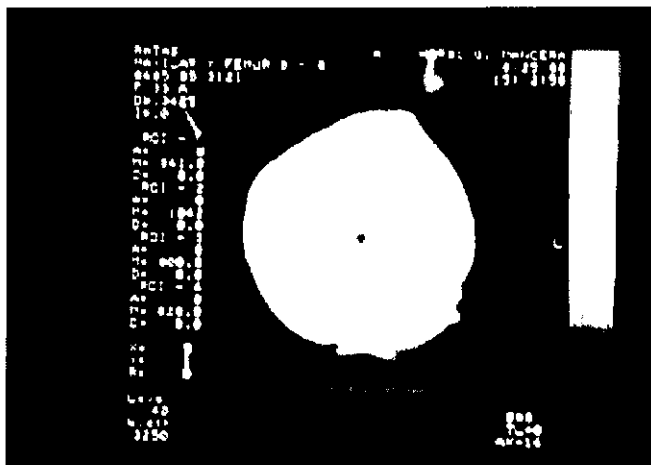


Fig. 12 Imagen de TAC que muestra la densidad del maxilar M4 en la cavidad B (flecha)

A las 9 semanas el biomaterial con la densitometría más alta fue la mezcla de Coagulite-hidroxiapatita con 930 U.H, después la Hidroxiapatita con 858 U.H.; el Caogulite con 675 U.H. y finalmente el control con 484 U.H (Fig.13).



Fig. 13 Imagen de TAC que muestra la densidad del M6 en la cavidad D (flecha). La zona a medir se marcó con el cursor, y la computadora se programó para medir 2mm de diámetro de densidad existente en el punto señalado (círculo).

A las doce semanas el valor densitométrico más elevado fue obtenido en la Hidroxiapatita (B), 1048 U.H. (Fig. 14); el siguiente fue la mezcla Coagulite-Hidroxiapatita (C), con 844 U.H.; le siguió el Coagulite (A), 831 U.H (Fig. 15) y por último el grupo Control con 853 U.H.

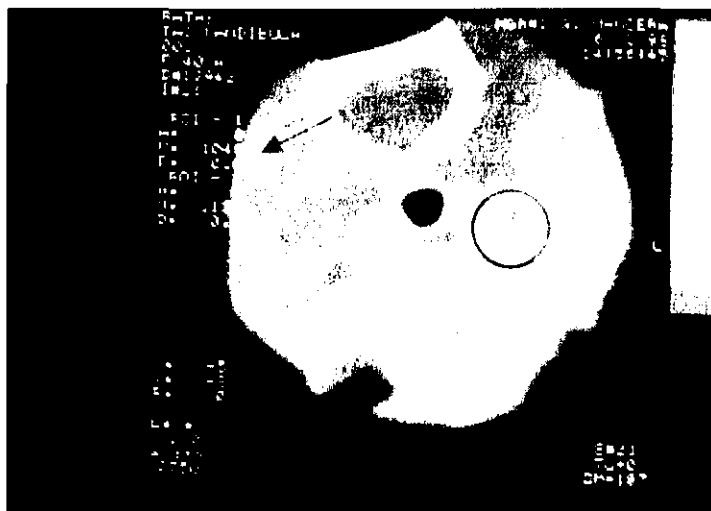


Fig. 14 Imagen de TAC que muestra la densidad obtenida del maxilar M2 en la cavidad B (flecha). Zona señalada con el círculo, corresponde a la cavidad experimental.

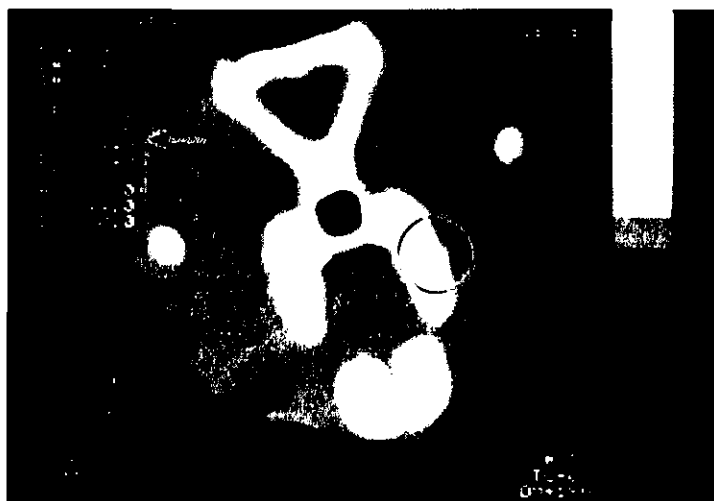


Fig. 15 Imagen de TAC que muestra la densidad obtenida de M2 en la cavidad A (flecha). El círculo señala la cavidad experimental para análisis densitométrico.



En la tabla observamos que el valor densitométrico más parecido a los "valores de referencia" (en los maxilares de ratas *Wistar* 750-850 U.H.) es alcanzado desde las tres semanas por la combinación Coagulite-Hidroxiapatita (C), 903 U. H. También fue alcanzado a las seis semanas por la Hidroxiapatita (B), 841 U. H.

**TABLA 2. Densitometrías obtenidas por Tomografía Axial computarizada.**

<b>Sem.</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
	<b>U.H.</b>	<b>U.H.</b>	<b>U.H.</b>	<b>U.H.</b>
<b>3</b>	<b>489</b>	<b>667</b>	<b>903</b>	<b>228</b>
<b>6</b>	<b>537</b>	<b>841</b>	<b>900</b>	<b>346</b>
<b>9</b>	<b>675</b>	<b>858</b>	<b>930</b>	<b>484</b>
<b>12</b>	<b>831</b>	<b>1048</b>	<b>844</b>	<b>853</b>

Sem. = semanas.

U. H. = unidades Hounsfield, se estableció la lectura 0 como Medida basal.

"valores de referencia" = 750 a 850 U.H.

Los materiales simples (Coagulite e Hidroxiapatita); así como la mezcla (Coagulite-hidroxiapatita), muestran densitometrías mayores a las obtenidas por el Control a las 3, 6 y 9 semanas.

El biomaterial (Coagulite-hidroxiapatita), mantiene niveles por arriba de los "valores de referencia" desde las 3 semanas hasta las 12 semanas. La Hidroxiapatita a partir de la sexta semana (ver tabla 3).

**TABLA 3**

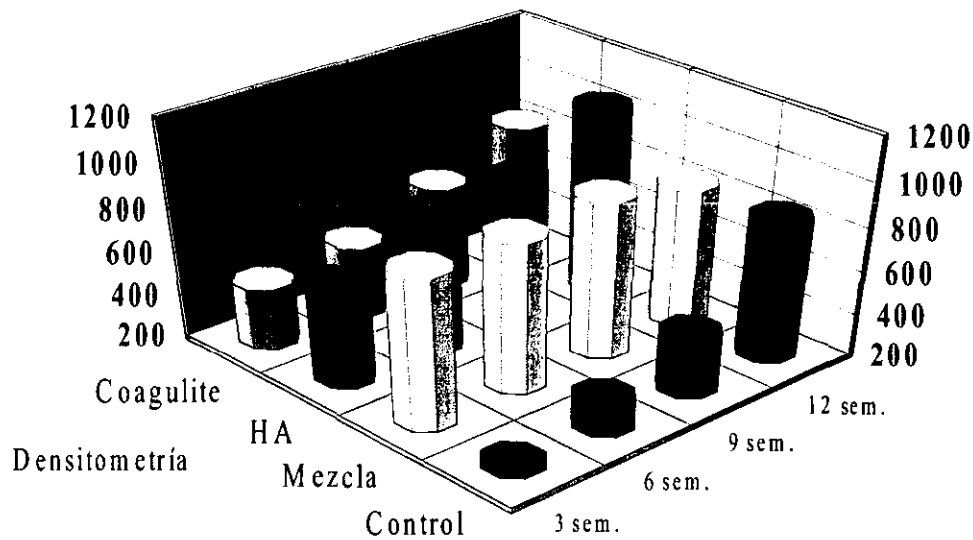
<b>Proceso general de la fase experimental.</b>						
<b>Rata</b>	<b>Semanas</b>	<b>Maxilar</b>	<b>Implantación</b>	<b>TAC</b>	<b>MEB</b>	<b>A.H.</b>
<b>M1</b>	<b>3</b>	<b>Derecho</b>	A	489	1	<b>Cortes Axiales 10 y 11</b>
			B	667	1	
		<b>Izquierdo</b>	C	903	2	
			D	228	0	
<b>M4</b>	<b>6</b>	<b>Derecho</b>	A	537	2	
			B	841	1	
		<b>Izquierdo</b>	C	858	4	
			D	1048	2	
<b>M6</b>	<b>9</b>	<b>Derecho</b>	A	675	4	
			B	858	3	
		<b>Izquierdo</b>	C	930	4	
			D	484	2	
<b>M2</b>	<b>12</b>	<b>Derecho</b>	A	831	4	
			B	1048	4	
		<b>Izquierdo</b>	C	844	4	
			D	853	2	
<b>M3</b>	<b>15</b>	<b>Derecho</b>	A	Control	4	<b>Control Cortes Transversales</b>
			B	Control	4	
		<b>Izquierdo</b>	C	Control	4	
			D	Control	3	
<b>A=Coagulite                      B=Hidroxiapatita                      C=Co-HA.                      D=Control</b>						
<b>TAC=Valores densitométricos en unidades Hounsfield</b> <b>MEB=Valores obtenidos en llenado de los defectos</b> <b>A. H. = Cortes histológicos para biofuncionalidad.</b>						

Tabla que muestra los procesos de: a), selección de maxilares para evaluación de las cavidades experimentales realizadas en las ratas señaladas con las claves M1, M4, M6, M2 y M3, a 3, 6, 9, 12 y 15 semanas respectivamente; b), las diferentes claves para ubicar los resultados de cada biomaterial y c), los tres instrumentos de medición de cada uno de ellos

El análisis de varianza (ANOVA), con 3 grados de libertad, muestra una diferencia estadísticamente significativa entre los biomateriales con una  $p < 0.018$  (Gráfica 1). Se aplicó la Postprueba Tukey, que describe donde están las diferencias, tomando como variable dependiente la densitometría. La mezcla presentó la mejor diferencia comparada con el control, en un intervalo de confianza del 95% y con una significancia de  $p < 0.025$ , tomando en cuenta que la diferencia entre las medias es significativa al nivel  $p < 0.05$ . Le sigue en significancia la HA con una  $p < .045$ .

## Densidad ósea por tomografía axial computarizada en maxilares de ratas Wistar

Diferencia estadística entre materiales de  $p < 0.018$



\*\*Valores de referencia": 750 - 850 U. H.

Gráfica 1. Muestra el comportamiento densitométrico de los biomateriales a las diferentes semanas. Eje Y, corresponde a las tomodensitometrías obtenidas, el eje de la X, los biomateriales a comparar y el de la Z, el tiempo de las diferentes mediciones, con lectura basal de 0.

## 8.2 Microscopía electrónica de barrido.

El análisis de superficies logrado con microscopía electrónica de barrido MEB mostró los siguientes resultados:

La cavidad experimental M1C (Coagulite-hidroxiapatita), analizada a las 3 semanas por MEB, obtuvo osteorregeneración con un valor de 2, en las marcadas con A (Coagulite, Co), B (Hidroxiapatita, HA) ocupación ósea con un valor 1 y el control (sin tratamiento) obtuvo un valor de 0.

La cavidad experimental marcada con la clave M4C (Co-HA) observada a las seis semanas para MEB (Fig. 16), mostró osificación completa de la cavidad mientras que; la M4A (Co) y M4D (control), obtuvieron un puntaje de 2; es decir, la mitad de la cavidad ocupada por hueso a las mismas semanas; mientras que la HA obtuvo una ocupación ósea con puntaje de 1.

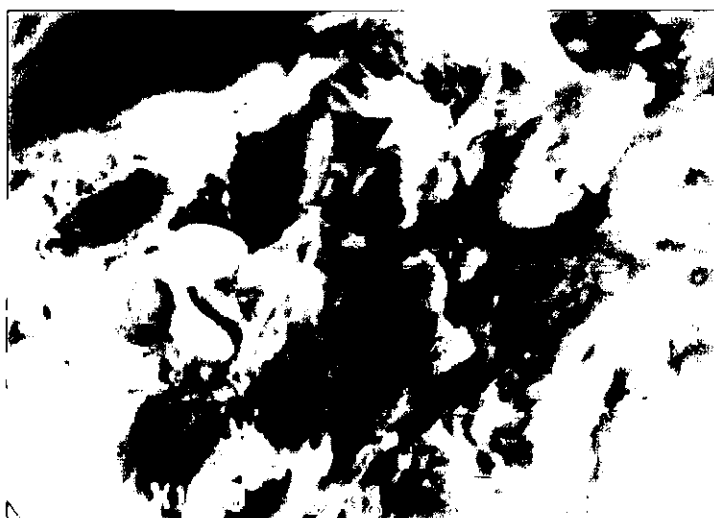


Fig. 16 Micrografía que muestra tejido fibroso dentro de la cavidad marcada con M4C. (Flechas).

Las cavidades M6A (Co) y M6C (Co-HA) a las 9 semanas (Figs. 17 y 18) se observaron totalmente osteorregeneradas, con un puntaje de 4. La M6B (HA) ocupó las  $\frac{3}{4}$  partes de la cavidad con hueso, obteniendo un puntaje señalado para este efecto de 3 y; la M6D (control) un  $\frac{1}{2}$  en la ocupación ósea de la cavidad para una puntuación de 2.

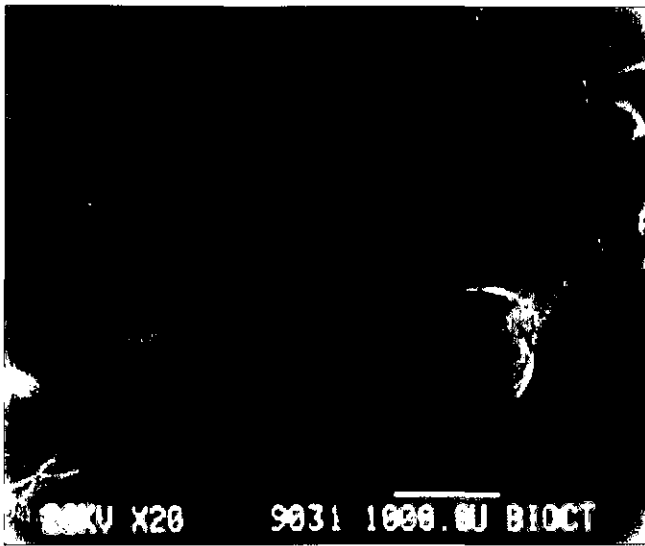


Fig. 17 Micrografía que muestra la cavidad M6 tratada con Coagulite, completamente cubierta (círculo).



Fig. 18 Micrografía que muestra la cavidad M6 tratada con la mezcla Co-HA. Regeneración que sobrepasa los niveles superficiales del hueso. (círculo).

Las cavidades experimentales evaluadas a las doce semanas: M2A (Fig. 19), M2B y M2C (Fig.20), marcaron un puntaje de 4; es decir, totalmente osteorregeneradas. El control M2D, con un valor 2.



Fig. 19 Micrografía que muestra la ocupación ósea de la cavidad experimental M2, tratada con Coagulite (ELIPSE).

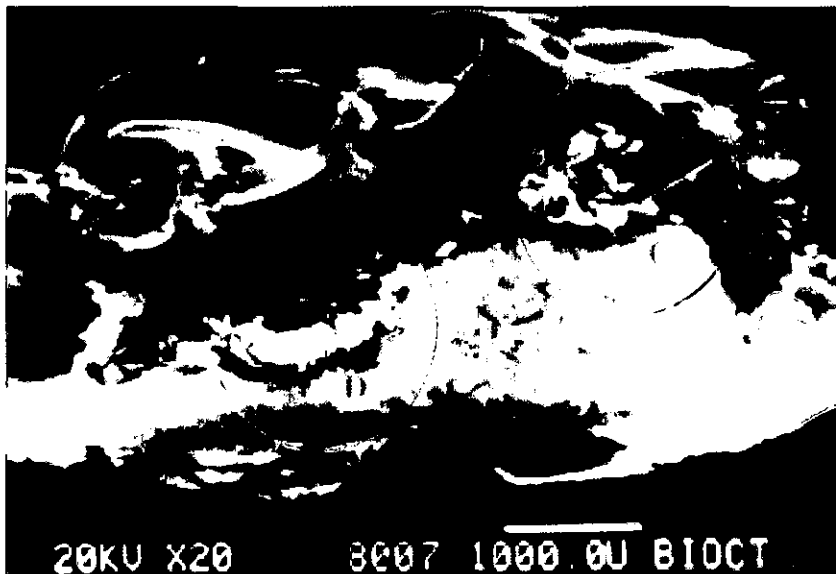


Fig. 20 Micrografía que muestra tratamiento. Se observa la diferencia en la ocupación ósea de las lesiones a las doce semanas las cavidades experimentales C, tratada con la mezcla (Co-HA) y D sin.tratamiento.

Las cavidades experimentales evaluadas a las 15 semanas: M3A, M3B y M3C, obtuvieron un valor 4, y el control un valor de 3, en la ocupación ósea (ver hoja de captura de datos).

El biomaterial que mejor puntaje obtuvo para osteorregeneración en este análisis, fue el logrado por la mezcla (Co-HA). En segundo lugar el Coagulite, el tercero la hidroxiapatita y por último el control.





Sin embargo, el análisis de superficie muestra también que el Coagulite tiene la mejor imagen de semejanza a la normalidad ósea que la mezcla (ver Figs. 19 y 20).

La prueba Kruskal-Wallis mostró diferencia estadística significativa con 3 grados de libertad y la variable de agrupación: semanas. Se obtuvo una  $p < 0.039$ .







**OSTEORREGENERACIÓN: COAGULITE VS HIDROXIAPATITA  
VS COAGULITE HIDROXIAPATITA  
HOJA DE CAPTURA DE DATOS  
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO  
2000**





**R(3)**

M1A	M1B	M1C	M1D
			





**R(6)**

M4A	M4B	M4C	M4D
			





**R(9)**

M6A	M6B	M6C	M6D
			

**R(12)**

M2A	M2B	M2C	M2D
			

**R(15)**

M3A	M3B	M3C	M3D
			

 = 0   
  = 1   
  = 2   
  = 3   
  = 4

Valores predeterminados de acuerdo a la ocupación ósea. Cavity vacía, marcó un valor 0; cavity con 1/4 de tejido óseo obtuvo el valor de 1; cavity con 1/2 de ocupación fue señalado con el valor de 2; cavity con 3/4 de lleno en cavity marcó un valor de 3 y, finalmente, la cavity con ocupación ósea total obtuvo el valor de 4.

Analizando 80 imágenes obtenidas por MEB para este estudio, las más representativas de los cambios en los procesos de osteorregeneración y los inherentes a su medición son:

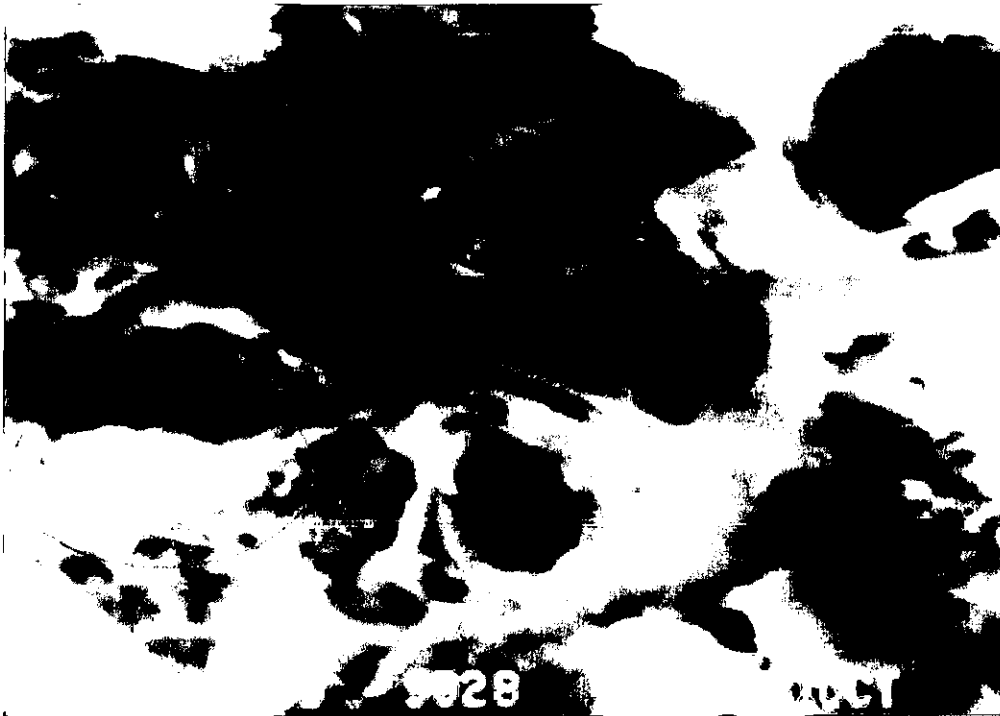


Fig. 21 Micrografía que muestra un acercamiento del contenido en la cavidad experimental marcada con la clave M6C. Se observa trabeculado óseo, que sugiere actividad fibroblástica (elipse) en zona fibrosa.

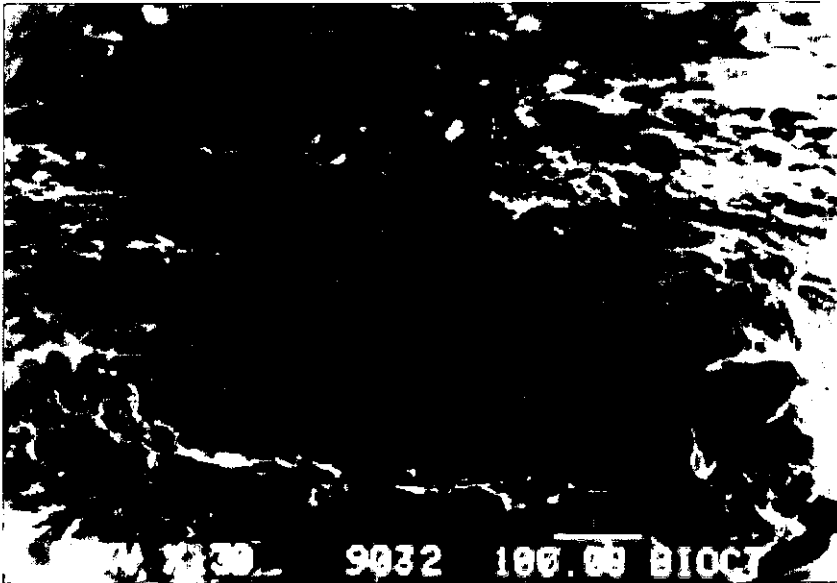


Fig. 22 Micrografía que muestra acercamiento de la cavidad M6, tratada con Coagulite. Muestra el entrecruzamiento de fibras y vasos atravesando la misma (Flechas).

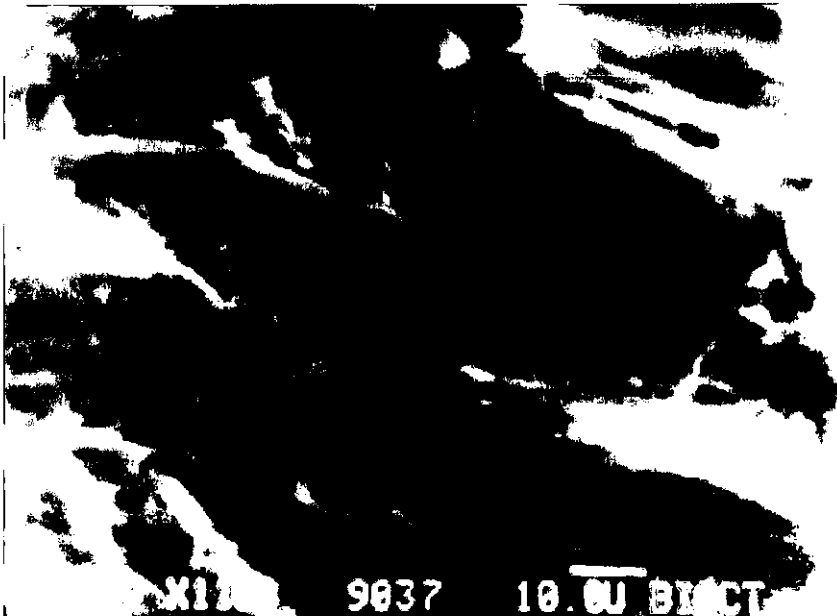


Fig. 23 Micrografía que muestra acercamiento de la cavidad experimental M3, tratada con la mezcla Co-HA. Se observan fibras de mediano y grueso calibre (flechas).

### **8.3 Hallazgos histológicos por microscopía fotónica**

Argumentación histológica para osteorregeneración:

Después de analizar 150 cortes histológicos teñidos con Hematoxilina Eosina, de 4 a 6  $\mu\text{m}$  aproximadamente, de maxilares de ratas *Wistar* señalados para este estudio en M1, M4 y M2 (50 cortes por maxilar). Se designaron para evaluación los cortes histológicos marcados con los números 10 y 11 de cada lado, con la finalidad de estandarizar el nivel de las cavidades experimentales a comparar.

**La variable morfológica (tejido óseo):**

**El tratamiento en M1 con A-Coagulite (Co) condicionó los siguientes cambios:**

Se observó un espesor trabecular claro y líneas de segmentación que sugieren actividad osteoblástica, lo cual indica neoformación ósea.

**En M1 con B-Hidroxiapatita (HA):**

Se observó un patrón trabecular intermedio. Predomina más el hueso compacto que el trabecular; sin embargo, la compactación sugiere que no ha terminado la osteorregeneración.

**En M1 con C-Coagulite-hidroxiapatita (Co-HA):**

Se muestra el proceso de maduración ósea, en comparación al encontrado en M1B. Existen escasas líneas de segmentación.

**En M1D (sin tratamiento):**

Se observa que el espesor trabecular es más claro, presenta líneas de segmentación que sugieren actividad osteoblástica.

**En M4 con A (Co):**

Se observa la zona de la lesión previa a la reparación, el trabeculado óseo se muestra en estrato intermedio; además se observaron líneas de segmentación que sugieren actividad osteoblástica e hiperplasia del cemento radicular adyacente a zona de lesión (Figs. 24 y 25).

**En M4 con B (HA):**

Se observa el material calcificado pero no muestra que estimule osificación. Presencia de espículas óseas en desorganización y macrófagos.

**En M4 con C (Co-HA):**

Se observa calcificación. La zona de lesión se encuentra en fase de limpieza o de reabsorción, mostrando presencia de macrófagos.

**En M4 con D (sin tratamiento):**

Existe presencia de hueso trabecular de neoformación en estrato intermedio.

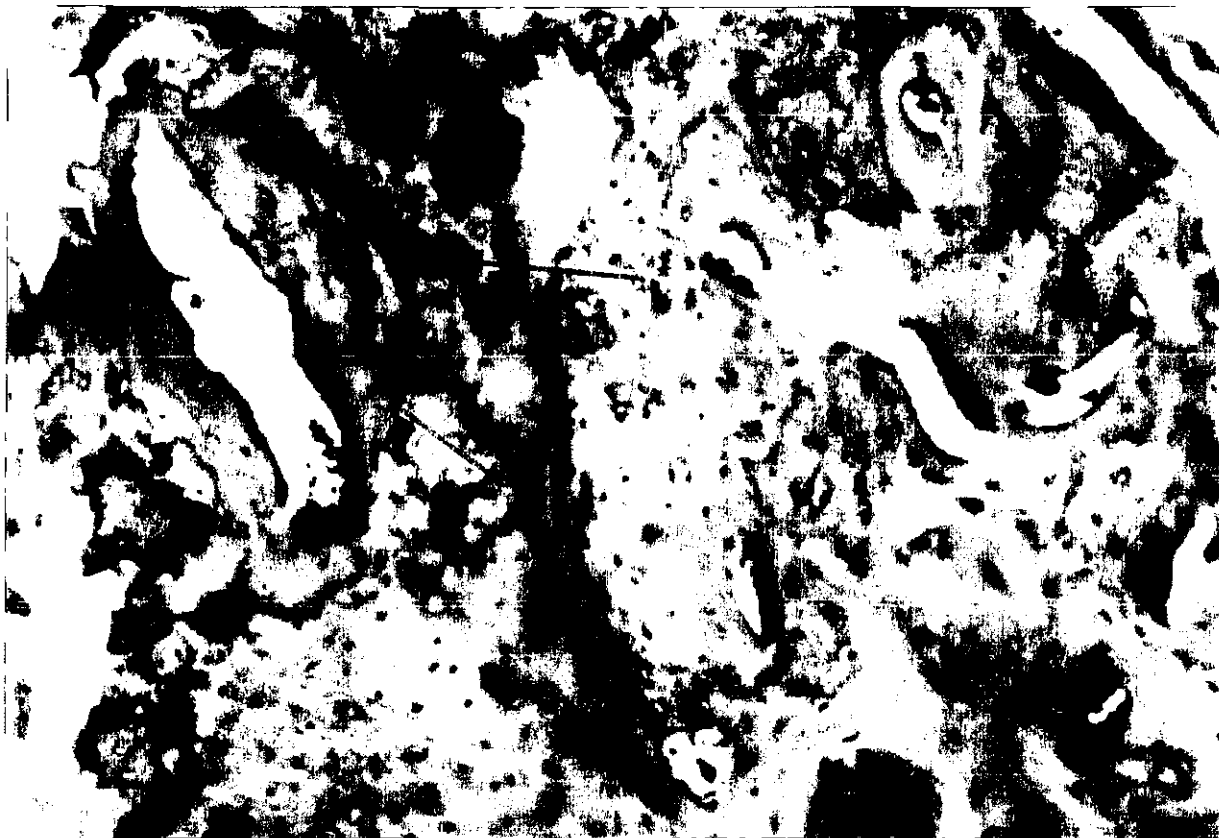


Fig. 24 Fotomicrografía que muestra el hueso de neoformación con bandas de cementación evidentes (flechas, HE aumento original 125x).



Fig. 25 Fotomicrografía en la que se observa raíz dentaria del maxilar M4 adyacente a la cavidad tratada por A con hiperplasia del cemento (círculo, HE aumento original 50x).

**En M2 con A (Co):**

Se observa que hay resorción de tejido óseo con producción activa de sangre, al inicio que podría hablar de procesos normales de (eosinofilia) que sugiere reparación ósea. Vasos con eritrocitos previamente constituídos, médula ósea normal hematopoyéticamente activa. Se muestra una buena reparación, tiene los elementos necesarios para nutrirse y regenerar tejido (Fig. 26).

**En M2 con B (HA):**

En la zona de lesión, se presenta con reacción a cuerpo extraño, células redondas (histiocitos) y células gigantes. Zona violácea que sugiere precipitación cálcica de tipo distrófico.

**En M2 con C (Co-HA):**

Se observa claramente la sustitución de tejido cicatrizal, reacción inflamatoria de tejido conectivo y neoformación vascular. Pérdida de vascularidad en algunas zonas causado posiblemente por empaquetamiento del material. Calcificación de tipo distrófico.

**En M2D (sin tratamiento):**

Se observa el hueso trabecular de neoformación en estrato intermedio.



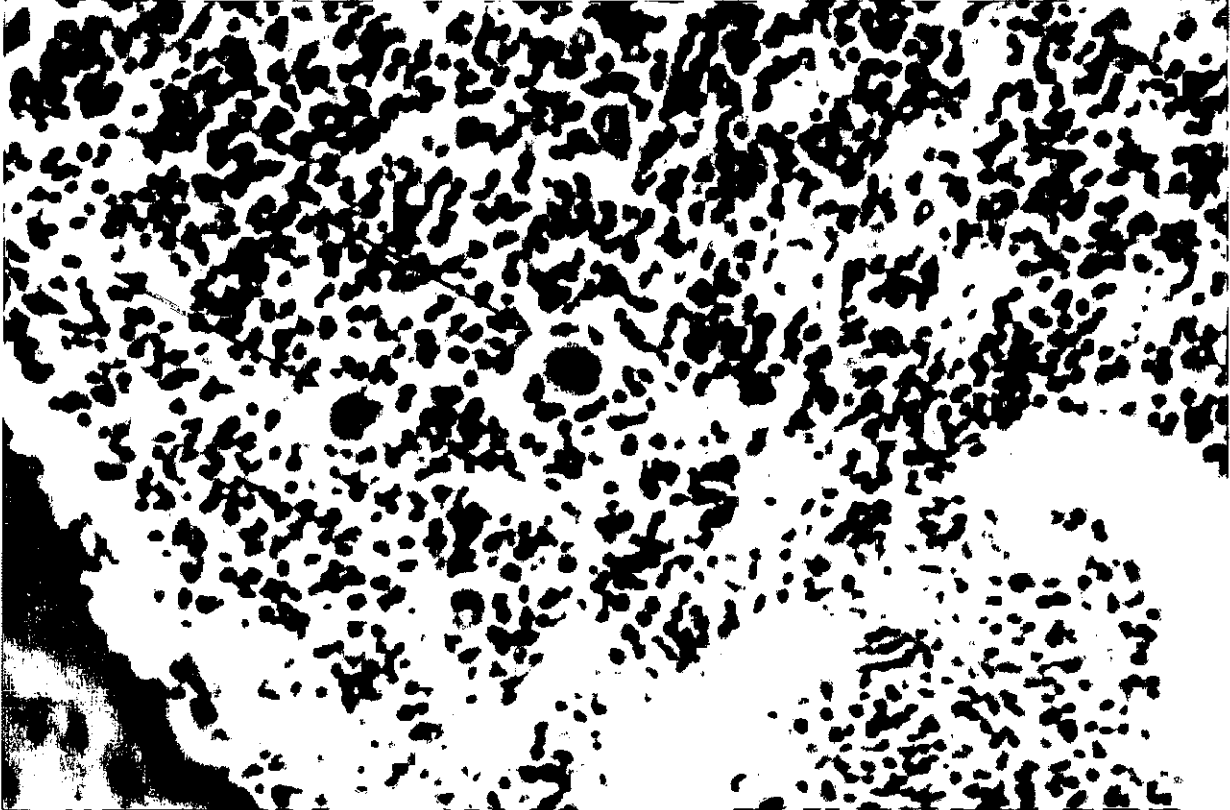


Fig. 26 Fotomicrografía en la que se observa médula ósea normal y hematopoyéticamente activa, en la cual se aprecian Megacariocitos maduros (flechas) y toda la gama de maduración eritroide y granulocitaria con presencia de linfocitos y células plasmáticas. (HE aumento original 250x).

## 9. DISCUSIÓN

Se encontró que existe diferencia estadística significativa en la osteorregeneración temprana entre los biomateriales comparados. Cada lesión fue evaluada por tres instrumentos de medición optimizando los recursos.

En esta investigación se mostró que el Coagulite es más eficaz en la osteorregeneración aún a pesar de que la mezcla y la Hidroxiapatita sola lograron los mejores resultados observados mediante la evaluación estructural con tomografía axial computarizada CAT. Esto fue corroborado en el análisis de superficie realizado con microscopía electrónica de barrido MEB, en donde se observan superficies osteorregeneradas más parecidas a maxilares en estado de normalidad ósea.

Se han realizado numerosas investigaciones tratando de encontrar el biomaterial ideal en la osteorregeneración temprana; sin embargo, aún existen muchos aspectos desconocidos en esta búsqueda<sup>32-35,49, 50</sup>. A la fecha ningún otro material adhesivo biológico ó sintético, como lo son los selladores de fibrina, han sido tan usados en los términos de compatibilidad tisular, no tóxico y de beneficios clínicos<sup>21</sup>.

Muchos investigadores han observado los beneficios clínicos de los selladores de fibrina pero estos estudios no han sido desarrollados bajo condiciones bien controladas<sup>23</sup>. Los adhesivos celulares (selladores de fibrina) a comparar, se han estudiado en pacientes con diferencia de edad, sexo y en condiciones patológicas de diferente magnitud. Por lo que es de gran utilidad el realizar investigación

en animales de experimentación para evidenciar el comportamiento de los biomateriales en condiciones similares. Esta investigación se estructuró de forma tal que las cavidades experimentales y el control presentaran las mismas características en su preparación. La colocación de los biomateriales en las cavidades óseas experimentales y el control (sin tratamiento), fueron realizadas en un mismo individuo evitando así los sesgos en las observaciones relacionados a inmunidad de cada sujeto y por lo tanto, sesgos en el análisis de las diferencias.

La reacción alérgica a la trombina bovina usada en la mayoría de los bancos de sangre para producir selladores de fibrina es otro riesgo asociado con su empleo. Estos incluyen anafilaxia, anticuerpos anormales del factor V, hipotensión y coagulopatías, entre otras. Utilizando trombina humana en lugar de trombina bovina se eliminarían estas reacciones adversas. El sellador de fibrina que fue aprobado recientemente por la FDA utiliza la trombina humana. Otros autores en 1997 reportaron en estudios in vitro usando baxtroxobin en lugar de trombina. El proceso requiere solo de un pequeño volumen de sangre del paciente y puede ser obtenido en 30 minutos. El sellador de fibrina ha sido probado en modelos animales heparinizados demostrando buenos efectos hemostáticos<sup>19</sup>.

Las similitudes en los procesos de osteorregeneración o formación de los tejidos duros prueban que la naturaleza ofrece muchas respuestas. Imitando estos fenómenos naturales, se comparó la eficacia en la osteorregeneración temprana del Coagulite, biomaterial que coloca en el defecto las sustancias necesarias que aceleran estos y logran hacer efectiva la ingeniería tisular.

Al igual que Gould y colaboradores, se observó en esta investigación que la colágena juega un rol importante en la reorganización tisular<sup>20</sup>. Se asume que existe una correlación entre el arreglo de

fibronectina y el porcentaje de células en la investigación de Grill y Cols<sup>49</sup>. En este estudio existieron diferencias entre los materiales, situando el mayor contenido celular donde se encontraron abundantes fibras. Se observó este fenómeno con mayor frecuencia en las cavidades en las que se colocó el Coagulite.

En el estudio realizado por Chandrasekhes S. y colaboradores (1996), refieren que la migración celular es un evento clave en la reparación, remodelación tisular y homeostásis cálcica. Reacción del estroma, células inflamatorias, elementos sanguíneos, trabeculado laminar frecuentemente cuboidal con citoplasma basófilo fue la forma representativa de un estado metabólico activo<sup>50</sup>. En este estudio, la mezcla de Co-HA mostró ser favorable en la osteoconducción ya que proporciona la estructura y favorece la comunicación entre las superficies vascularizadas, sirvió de soporte. Se observaron conglomerados celulares descansando sobre el trabeculado de la hidroxiapatita. En el análisis histológico con la tinción de hematoxilina-eosina se observó actividad metabólica alrededor de lagunas que sugieren actividad osteoblástica. Sin embargo, algunas zonas de los defectos tratados con la mezcla (Co-HA), presentaron precipitación cálcica de tipo distrófico con poca vascularización. Esto podría ser debido a la presión que la HA ejerció sobre el defecto óseo, o a la falta de comunicación existente entre los poros de los gránulos de HA que evitaron el aporte de nutrientes y oxígeno.

La migración celular es importante durante la fase de maduración y está asociado a la presencia de fibronectina, esto fue observado en el estudio de Schick y cols<sup>51</sup>. En este estudio se observó osteorregeneración temprana en las lesiones tratadas con Coagulite. Las fibras del biomaterial implantado lograron establecer el soporte y comunicación celular entre las superficies óseas después de

realizar el defecto óseo. Esto fue corroborado en el análisis de superficies observado en MEB, donde se muestran fibras de mediano y grueso calibre; así como, vasos sobre la superficie osteorregenerada. El análisis histológico mostró también la presencia de fibras en zonas osteorregeneradas y en algunas zonas adyacentes al cemento radicular. En cuatro de estas existen áreas que sugieren neoformación del cemento.

Al igual que Tholpady SS y colaboradores encontramos que el sellador de fibrina como biopolímero en la ingeniería tisular lo hacen ideal para reparto y fijación, porque es un componente circulante que se puede remover y purificar con gran facilidad sin ocasionar trauma. Es decir no ofrece peligro de reacción inmunológica. Puede ser utilizado como una herramienta en la ingeniería tisular, porque es capaz de preparar componentes para cultivos celulares en el sitio de la lesión con liberación lenta de factores de crecimiento que otros productos farmacéuticos. A nivel molecular, muchas propiedades del adhesivo de fibrina muestran que es osteogénico. Esto es razonable porque su función en el sitio de la herida es primariamente detener el sangrado, pero también es su capacidad de factores de crecimiento que lo hacen angiogénico y osteoinductivo al incrementar la vascularidad, situación benéfica en el sitio del defecto<sup>52</sup>.

El tamaño de los gránulos y la forma tienen una influencia significativa en la respuesta inflamatoria<sup>18</sup>. En este estudio los implantes de hidroxiapatita fueron gránulos Cerox 80, tomando en cuenta la estructura del hueso maxilar a tratar. Los implantes de HA estandarizados (2mm de diámetro) se sometieron a fase de limpieza para eliminar partículas indeseables del mismo material que podrían incrementar la respuesta inmune.

Los resultados obtenidos con F. García de Lucas y cols., mostraron que el uso de un osteoconductor y un polímero son más eficaces en la osteorregeneración, que el empleo de un polímero simple<sup>24</sup>. En este estudio la mezcla Coagulite-Hidroxiapatita logró los valores densitométricos más altos en osteorregeneración temprana. Desde las 3 semanas muestra valores por arriba de los “valores de referencia” (“valores de referencia”=valores densitométricos promedio de maxilares de ratas *Wistar* en condiciones normales).

En Microscopía electrónica de barrido MEB, el análisis de superficie mostró una masa ósea que sobresale de la superficie del maxilar. El Coagulite mostró con MEB la superficie osteorregenerada más parecida a la observada en condiciones normales.

Se emplearon crioprecipitados del grupo sanguíneo AB para evitar reacciones cruzadas en los animales de experimentación<sup>48</sup>.

Es importante señalar que la tomografía axial computarizada es una alternativa para evaluar osteorregeneración. No obstante, es necesario analizar con detalle los valores densitométricos que se obtienen; y así, no cometer errores en su interpretación. El control con otros estudios de gabinete, siempre serán de gran importancia para hacer diagnósticos diferenciales en los casos donde existan dudas del comportamiento densitométrico,.

## **COMENTARIOS.**

El curso actual en investigación de biomateriales para osteorregeneración se dirige a la producción de compuestos que presenten las propiedades del hueso autólogo, sobre matrices osteoconductoras que eliminen los traumas, molestias y riesgos causados por una cirugía complicada y sobre todo, el prescindir del autoinjerto óseo para el tratamiento y restauración de los defectos.

Esta investigación tendrá un impacto social muy favorable en defectos óseos que requieran cirugía maxilofacial, endodóntica, cirugía periodontal y en traumatología; ya que los resultados de ésta indican la posibilidad del empleo de un biomaterial que puede ser obtenido de forma totalmente autóloga (utilizando trombina humana en lugar de trombina bovina) y que de ser así, disminuirá costos y problemas de reacciones adversas ocasionados por otros biomateriales. Repercusiones en los campos de Endoprótesis y Osteosíntesis; así como en la ciencia de los Biomateriales.

## **CONCLUSIONES.**

El Coagulite mostró mejorar la osteorregeneración desde las 3 semanas, comparado con el control cuando fue analizado por TAC y por MEB. Y lo más importante, mostró obtener mejores resultados de semejanza a la normalidad que la Hidroxiapatita y el Coagulite-hidroxiapatita en los análisis de superficies realizadas por MEB y los obtenidos por el análisis histológico.

El Coagulite-hidroxiapatita mostró los mejores resultados en la osteorregeneración temprana de lesiones maxilares de ratas Wistar que el Coagulite o la Hidroxiapatita en resultados obtenidos por TAC; sin embargo, en las observaciones por MEB muestra osteorregeneración anormal. La Hidroxiapatita logró el tercer sitio de eficacia en la osteorregeneración de este estudio.

La hipótesis de trabajo fue correcta; el Coagulite es más eficaz en la osteorregeneración de lesiones maxilares en ratas Wistar, que la Hidroxiapatita y el Coagulite-hidroxiapatita en esta población.



## REFERENCIAS

- 1.-King KT, Anderson RW, Pashley DH, et al. Longitudinal evaluation of endodontic retrofillings. *J Endod* 1990;16:307-10.
- 2.-Johannessen, AC. Esterase-positive inflammatory cells in human periapical lesions. *J Endod* 1986;12:284-8.
- 3.-Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod* 1993;19:76-8.
- 4.-Duggings D, Clay JR, Himel VT, Dean JW. A combined endodontic retrofill and periodontal guided tissue generation technique for the repair of molar endodontic furcation : report of a case. *Quintessence Int.* 1994;25:109-14.
- 5.-DeGrood ME, Oguntebi BR, Cunningham CJ, Pink R. A comparison of tissue reactions to Ketac-Fil and amalgam. *J Endod* 1995;21:65-9.
- 6.-Pitt FTR, Torabinejad M, McKendry DJ, Chan-Ui Hong, Kariyawasam SP. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral Surg Oral Medicine Oral Pathology* 1995;79:756-63.
- 7.-Merck Pharma \* Biomateriales. <http://www.merck.de/Pharma/Biomaterial.ES.html> – 11 Feb 97.
- 8.- Williams FD. Fundamental aspects of biocompatibility. Vol 1, CRC Press, Inc. 1991:3
- 9.- Barbosa HA. Biomaterial degradation: fundamental aspects and related clinical phenomena. Elsevier Science Publishers B V, 1991:1-11:
- 10.-Hardwell GR, England MC. Healing of furcation perforations in primate teeth after repair with decalcified freeze-dried bone : a longitudinal study. *J Endod* 1993;19:357-61.
- 11.-Briseño BM, Willershausen B. Root canal sealer cytotoxicity on human gingival fibroblast. I. zinc oxide-eugenol-based sealers. *J Endod* 1990;16:383-6.
- 12.-Ford TRP, Andreasen JO, Dorn SO, Kariyawasam SP. Effect of Super-EBA as a root end filling on healing after replantation. *J Endod* 1995;21:13-5.
- 13.- Dorn SO, Gartner AH. Retrograde filling materials: A retrospective succes-failure study of amalgam, EBA, and IRM. *J Endod* 1990;16:391-3.
- 14.-Haga CS, Stern PH. Responses of osteoblastic cells (UMR 106) exposed to elevated extracellular calcium. *J Endod* 1993;19:462-5.

- 15.-Harrison JW, Roda RS. Intermediate cementum. Development, structure, composition and potential functions. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 1995;79:624-33.
- 16.-Snyder WR, Hoover J, Khoury R, Farach-Carson MC. Effect of agents used in perforation repair on osteoblastic cells. *J Endod* 1997;23:158-61.
- 17.-González SR, Guerra LGJ. Materiales bioactivos para implantes óseos. Características y aplicaciones. CENIC. La Habana, Cuba. 1993.
- 18.-Higashi Tomie and Okamoto Hiroshi. Influence of particle size of hidroxiapatite as capping agent on cell proliferation of cultured fibroblasts. *J Endod* 1996;22:236-9.
- 19.- Mintz DP. Transfusion therapy: clinical principles and practice, American Association of Blood Banks 1999:199-212.
- 20.-Gould TR, Westbury L and Tillman J. Dentin matrix gelatin (DMG) as a posible "universal" grafting material in periodontics. *J Periodontol* 1982;53:22-5.
- 21.-Radosevich M, Goubran HA, Burnouf T. Fibrin Sealant: Scientific rationale, production methods, properties, current clinical use. *Vox Sang* 1997;72:133-43.
- 22.-Nagahara K, Mouuri K, Kanematsu N, Meenaghan MA. An in vitro evaluation of an osteoinductive implantable material produced by osteoblastic cells in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9:41-.
- 23.-Quintana S, Martínez M, Ambríz R, Collazo J, Domínguez V, Quintanar E, Rodríguez M, Arias A. Hemostasia Local en Hemofilia (Coagulite). Memorias del Simposio del Banco Central de Sangre, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS México. 1997:113-9.
- 24.-García de LF, De Pedro JA, López BA, San Román J, Cuadrado MA, Pérez-Caballer AJ, López-Durán L. Osteorregeneración inducida por biomateriales y BMP en defectos diafisarios. *Rev Ortop Traum* 1995;39:443-56.
- 25.-Fajardo GA, Yamamoto KL, Garduño EJ. Consistencia y validez de una medición en la investigación clínica pediátrica. Definición, evaluación y su interpretación. *Rev Hosp. Inf. Mex* 1991;48:367-81.
- 26.- Ten Cate. *Histología Oral. Desarrollo, estructura y función*, 2da edición, Edit. Médica Panamericana, Buenos Aires 1986:291-323.
- 27.- Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. *Histología. Texto y Atlas Color*, 3ra. Edición, Edit. Med. Pan. 1999:148,153-160 .
- 28.- Karp G. *Biología celular y molecular*. McGraw-Hill, Interamericana, Méx. 1998:646-713.

- 29.-Ratner DB, Hoffman SA, Schoen JF, Lemons EJ. Biomaterials Science an Introduction to materials in Medicine. Academic Press 1996:1-94.
- 30.- Brown WP, Constantz B. Hidroxyapatite and related materials. CRC Press, Inc. 1994:3-22.
- 31.-Baracaldo C, Padilla A, Santana W, Buitrago F. Biomateriales. Biomat.html en fuantitan.uanarino.edu.co –Explorador de Internet de Microsoft 1997.
- 32.- Urist MR, Strates BS. Bone Morphogenetic protein. J Dent Res 1971;50:1392-1406.
- 33.-Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant Dentistry. Implant Dent 1993;2:158-67.
- 34.-Seiffert D. Detection of Vitronectin in mineralized bone matrix. J Histochem Cytochem 1996;44:275-80.
- 35.-Brown LF, Lanir N, Mc Donagh J, Tognazzi K, Dvorak HF. Fibroblast migration in fibrin gel matrices Am J Pathol 1993;142:273-83.
- 36.-Caffesse RG, Kerry GJ, Chaves ES, et all. Clinical evaluation of the use of citric acid and autologous Fibronectin in periodontal surgery. J Periodontol 1988;59:565-70.
- 37.-Tziafas D, Panagiotakopoulos N, Komnenou A. Immunolocalization of fibronectin during the early response of dog dental pulp to demineralized dentine or calcium hydroxide- containing cement. Archs Oral Biol 1995;40:23-31.
- 38.- Trombelli L, Calcura G. Complete root coverage of denuded root surface using expanded polytetrafluoroethylene membrane in conjunction with tetracycline root conditioning and fibrin-fibronectin glue application: Case reports. Quintessence International 1993;24:847-52.
- 39.- Nogami H, Urist MR. Transmembrane bone matrix gelatin-induced differentiation of bone. Calif Tissue Res 1975;19:153-63.
- 40.- 26.-Becker W, Becker BE, Prichard JF, Caffesse R. A surgical and suturing method : Three case reports. J Periodontol 1987;58:819-26.
- 41.- Alving MJ, Weinstein MJ, Finlayson JS, Menitove JE, Fratantoni JC. Fibrin sealant: summary of conference on characteristics and clinical uses. Transfusion 1995;35:783-90.
- 42.-DePalma L, Criss VR, Luban NLC. The preparation of fibrinogen concentrate for use as fibrin glue by four methods. Transdusion 1993;33:717-9.

- 43.-Choi JY, Lee BH, Song KB, Park RW, Kim IS, Sohn KY, JO-JS, Ryoo HM. Expression patterns of bone-related proteins during osteoblastic differentiation in MC3t3-cells. *J.Cell Biochem* 1996;61:609-18.
- 44.-Kawakami T, Hiraoka BY, Kawait, Takei N, Hasegawa H, Eda Sh. Expression of transforming growth factor-beta peptide and its mRNA in chondrocytes in the early phase of BMP-induced heterotopic 'transchondroid bone formation' *Medical Science Research* 1999;27:419-21.
- 45.- Nagahara K, Mouuri K, Kanematsu N, Meenaghan MA. An in vitro evaluation of an osteoinductive implantable material produced by osteoblastic cells in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9:41-8.
- 46.- Lee JKT, Sagel SS, Stanley RV. *Computed body tomography with MRI correlation*, Second Edi Raven Press. New York 1989:12-49.
- 47.-Yacamán MJ, Reyes GJ. *Microscopía Electrónica. Una visión del microcosmos*. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Fondo de Cultura Económica. México. 1995:25-39.
- 48.-Bull RW. Animal Blood groups: and you thought people were complex or Doolittle's friends may not be your type. *American Association of Blood Banks technical workshop on veterinary transfusion Medicine* 1989:2-10.
- 49.- Grill V, Sandrucci MA, Basa M, Di Lenarda R, Dorigo E, Martelli AM, Bareggi R, Narducci P. The presence of implant materials influences fibronectin arrangement and cell growth in fibroblast cultures. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1996;72:87-94.
- 50.-Chandrosekhar S, Harvery AK. Modulation of PDGF mediated osteoblast chemotaxis by leukemia inhibitory factor (LIF). *J Cell Physiol* 1996;169:481-90.
- 51.-Schick PK, Wojenski CM, Bennetts VD and Ivanova T. The synthesis and localization of alternatively spliced fibronectin EIIIB in resting and thrombin-treated megakaryocytes. *Blood* 1996;87:1817-23.
- 52.- Tholpady, Sunil S, Schlosser BS, Rodney MD, Spotnitz WMD, Ogle RC, Lindsey WH. Repair of an Osseous facial critical -size defect using augmented fibrin sealant. *The American Laryngological, Rhinological & Otolological Society, Inc.* 1999;109(10):1585-8.

## **CURRICULUM VITAE**

Nombre: Marcela Alejandra Aguilar Cuevas.

Edad: 39 años.

Estado civil: casada.

Nacionalidad: mexicana.

Domicilio: Manzana 4 Grupo 43 casa # 1  
Unidad Hab. Santa Fé IMSS.  
C.P: 01170  
Tels: 5-516-15-57 y 5-276-31-06

RFC: e. mail: dentalma@prodigy.net.mx  
AUCM6107094S3

## **ESTUDIOS SUPERIORES**

1977-1979 Bachillerato  
Colegio de Ciencias y Humanidades  
Plantel Sur. Pedregal de San Angel.

1980-1983 Cirujano Dentista.  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
Facultad de Odontología

1992-1993 Especialidad en Endodoncia.  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Odontología  
División de estudios de Posgrado e Investigación

1995-1997 Maestría en Odontología.  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Odontología  
División de Estudios de Posgrado e Investigación

**BECADA EN MAESTRÍA**

Dirección general para Asuntos del Personal Académico. DGAPA

**Marzo 2001 -**

Doctorado en Odontología  
División de Estudios de Posgrado e Investigación  
Facultad de Odontología  
Universidad Nacional Autónoma de México.

**BECADA POR**

Dirección General de Estudios de Posgrado.

**Durante los estudios de Doctorado:****Cursos de actualización****Mayo de 1998**

XXIV Congreso Nacional de Ortopedia  
43° reunión anual.

**Abril de 1999**

Curso-Taller de "Introducción a la Estadística Médica" (20) horas.  
Coordinación de Vinculación a través del Programa Universitario de Investigación en Salud.  
Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

**Mayo de 1999**

Curso-taller "Introducción al Análisis Estadístico" (20 horas).  
Coordinación de Vinculación a través del Programa Universitario de Investigación en Salud.  
Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

## Participaciones como profesor

- Octubre-nov. de 1999      World Dental Congress, Mexico City. FDI
- Septiembre-enero 1998      Diplomado  
Investigación en Ciencias de la salud con tecnología Digital  
Profesor Adjunto  
Instituto de Investigación Científica.  
México, D.F.
- Mayo de 1998                XXIV Congreso Nacional de Ortopedia  
Diferentes tipos de diseños en Investigación, diseño  
estadístico (pruebas de hipótesis)  
Curso Transcongreso.  
World Trade Center, México, D:F.
- Agosto de 1998             I Seminario de Difusión de la Investigación para alumnos  
de especialización en Odontología.  
"Osteorregeneración. Coagulite vs Hidroxiapatita vs  
Coagulite-hidroxiapatita en lesiones maxilares de rata con  
tomografía axial computarizada y microscopía electrónica  
de barrido".
- Junio 1999                  Participación Académica en el XII Congreso Nacional de Posgrado e  
Investigación en Odontología.  
Oaxaca, Oaxaca.

## **Publicaciones.**

### **En Congresos.**

- Septiembre 1999 Como coautor del trabajo titulado "Relación Eritrocitos/Macrófagos en Membrana Post-Implantada de Politetrafluoroetileno en Defectos Oseos con Microscopía Electrónica de Barrido por Mapeo: Reporte de un caso. Presentado en Lima Perú en la III Reunión de la Academia Iberoamericana de Patología y Medicina Bucal.
- Octubre de 1999 Contribución como coautor del trabajo "Análisis Químico y Topográfico de membranas PTFE y gránulos de Bio-Glass por SEM". Presentado en la Isla de Margarita Venezuela, en el V Congreso Interamericano de Microscopía Electrónica.

### **Manual.**

- 1998 Capítulo 26, Sistema Digestivo I: boca, en el Manual titulado "La práctica histológica" de la Dra. Teresa I. Fortoul van der Goes de la Facultad de Medicina. Departamento de Biología Celular y Tisular.

### **Artículo**

- Julio 2000 Como autor principal del artículo "Osteorregeneración: Coagulite vs Hidroxiapatita vs Coagulite-hidroxiapatita en lesiones maxilares de ratas, con TAC Y MEB. Aceptado para publicación por la Revista Mexicana de Ortopedia y Traumatología.







S. V. M. E.



**CIASEM**  
**V INTERAMERICAN**  
**ELECTRON MICROSCOPY**  
**CONGRESS**  
**CERTIFICATE**

*This is to certify that the contribution:*

**ANALISIS QUÍMICO Y TOPOGRÁFICO DE MEMBRANAS PTFE Y GRÁNULOS DE  
BIO-GLASS POR SEM**

**García Garduño M, Aguilar Cuevas M, Junco Carrera J.M, Perfetti Pulgar J, Vargas Ulloa L.**

*has been presented in this Congress.*

*Dr. Alan Castellano*  
President

Isla de Margarita - Venezuela  
24 to 28 of October 1999

*Dr. Caribay Urbina de Navarro*  
General Secretary



## Certificate of Appreciation

Presented to

*J Perfetti\*, G M V García, J M Junco,  
U L Vargas, A H Díaz, C M Aguilar*

in recognition of an invaluable contribution  
to the Scientific Programme of the  
FDI Annual World Dental Congress  
Mexico City  
28 October – 1 November 1999

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J Monnot', written over a horizontal line.

*Dr Jacques Monnot*  
President  
FDI World Dental Federation

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'E Acuña', written over a horizontal line.

*Dr Ernesto Acuña*  
Chairman  
FDI Local Organising Committee



**REVISTA MEXICANA DE ORTOPEDIA Y TRAUMATOLOGIA**

Puebla 398-401 Col. Roma 06700 México, D. F.  
M E X I C O

Tel. (915) 553-4328  
211-0215

México D.F. a 3 de julio del 2000.

**DR. MARCELA ALEJANDRA AGUILAR CUEVAS.**

**El Comité Editorial de la Revista, acepta para publicación su artículo titulado:**

**OSTEORREGENERACIÓN: COAGULITE VS.  
HIDROXIAPATITA VS. COAGULITE-HIDROXIAPATITA EN  
LESIONES MAXILARES DE RATAS WISTAR CON TAC Y  
MEB**

Mismo que será ovaluado por el grupo de revisores comunicándole en que fecha y número de nuestra publicación se editará.

Agradeciendo su valiosa colaboración para la difusión de la ortopedia, esperamos seguir contando con sus próximos documentos.

**DR. ANTONIO REDON TAVERA**  
EDITOR



# Revista Mexicana de Ortopedia y Traumatología

Redacción y Administración

Vol. 34, No. 3 Mayo - Junio 2000

## INDICE

<b>Revisión. Método original de medición radiológica mediante la distancia intercondilo-retrotuberosa en pronosupinación. Resultados clínicos.</b> Dr. Raúl G. Aguado, Rafael Zayas y col. ....	221	<b>Artrorresectiva y osteotomía proximal de tibia tipo Nagel en el tratamiento del genu recurvatum</b> Dr. Fernando López-López y col. ....	226
<b>Artroscopia quirúrgica de la rodilla mexicana. Estudio epidemiológico.</b> Dr. Víctor M. Arredondo y col. ....	228	<b>Tratamiento artroscópico de la guarnición y rotura de la ligadura cruzada anterior.</b> Experimento animal del tratamiento de 40 rodillas. Dr. Gabriel Flores de la Haza y col. ....	230
<b>Lección de fijación cruzada anterior y su tratamiento quirúrgico mediante la técnica de andrés modificada con tornillos en posición con losa beta.</b> Dr. William Torres Gálvez y col. ....	230	<b>Osteotomía del condilo medial de la rodilla en pacientes jóvenes. Tratamiento mediante artroscopia y osteotomía tibial.</b> Dr. Francisco Alberto Vidal Portuget. ....	235
<b>Aumento congruencia del ligamento cruzado anterior mediante el uso de la técnica de andrés modificada con losa beta.</b> Dr. Juan Manuel de la Cruz y col. ....	233	<b>Fijación mínima permeable en fracturas de platillo tibial tipo A y B. Técnica.</b> Tratamiento mediante el uso de tornillos. Dr. Francisco Alberto Vidal Portuget y col. ....	237
<b>Resultados en la reconstrucción del ligamento cruzado anterior con el método modificado de andrés mediante el uso de la técnica de andrés modificada con losa beta.</b> Dr. M. Víctor de la Cruz y col. ....	238	<b>Resección del condilo medial de la rodilla en pacientes jóvenes. Tratamiento mediante artroscopia y osteotomía tibial.</b> Dr. Rafael Viquez y col. ....	252
<b>Tratamiento quirúrgico del ligamento cruzado anterior en jugadores de fútbol americano.</b> Dr. Carlos Martínez Cruz y col. ....	242	<b>Profilaxis de infección y osteomielitis en traumatología y patología quirúrgica de la rodilla.</b> Dr. José M. Aguado Zayas y col. ....	255
<b>Rehabilitación postoperatoria de los jugadores de fútbol americano por lesiones del ligamento cruzado anterior.</b> Dr. Carlos Martínez Cruz y col. ....	248	<b>Uso de tornillos permeables en rodilla y hombro.</b> Dr. Fernando López-López y col. ....	259
<b>Reparación de menisco (anteroexterno) mediante artroscopia.</b> Dr. Manuel Rodríguez-Castañeda y col. ....	252	<b>Tratamiento quirúrgico de las lesiones del menisco posterior.</b> Dr. Manuel Rodríguez-Castañeda y col. ....	261

Organizado por la Sociedad Mexicana de Ortopedia y Traumatología, la Federación Mexicana de Ortopedia y Traumatología y la Asociación Mexicana de Médicos Militares Organizados.  
Internet: <http://www.smo.com.mx>  
E-Mail: [smo@smo.com.mx](mailto:smo@smo.com.mx)