



**Universidad
de Valparaíso**
CHILE

**Facultad de Odontología
Escuela de Graduados**



**“Regeneración Ósea Guiada en Implantología para
la Rehabilitación Oral”**

Dr. Sebastián Adolfo Godoy Ibáñez

**Trabajo de Investigación Bibliográfica
Para optar al Título de
Especialista en Rehabilitación Oral**

Prof. Guía: Dr. Ramón Madariaga Fuentes

Julio 2016

INDICE.

1. Introducción:

Regeneración Ósea Guiada en Implantología: inicios, presente y futuro:

- Fase de Desarrollo de la Regeneración Ósea Guiada
- Aplicación Clínica Rutinaria

2. Marco Teórico.

- Bases Biológicas de la Regeneración Ósea.
- Desarrollo y Estructura Ósea:
 - + Funciones
 - + Esqueletogénesis
 - + Tipos de Estructuras y Organización
 - + Células Ósea
 - + Matriz Ósea
- Mantenición Ósea
 - + Hueso Cortical
 - + Hueso Esponjoso
 - + Línea de Cemento
- Biología de la Regeneración Ósea
 - + Regeneración Fisiológica vs Reparativa
 - + Activación de la Regeneración Ósea
 - + Reparación de Defectos Óseos
- Promoción de la Regeneración Ósea
 - + Uso Terapéutico de Factores de Diferenciación y Crecimiento
 - + Injertos y Sustitutos Óseos
 - + Regeneración Ósea Guiada

3. Tipos y Propiedades de las Membranas Biológicas de Barrera.

- **Características Básicas de las Membranas de Barrera**

Membranas No Reabsorbibles

Membranas Reabsorbibles

- **Membranas Poliméricas**
- **Membranas de Colágeno**

Soporte de las Membranas

Horizonte Futuro

- **Concentrados Plaquetarios y Nuevas Tecnologías**
- **Preparación de la Membrana de CFC y del "Sticky Bone"**

4. Injertos Óseos y Materiales Sustitutos de Hueso.

- **Injertos de Hueso Autógeno**
 - + **Injertos Autógenos en Bloque**
 - + **Injertos Autógenos Particulados**
 - + **Hueso Autógeno obtenido de Raspadores Óseos**
 - + **Hueso Autógeno obtenido de Colectores Óseos**
- **Injertos Alógenos o Aloinjertos**
- **Xenoinjertos**
 - + **Minerales derivados de Corales y Algas similares a los Minerales Óseos**
 - + **Minerales Óseos derivados de Animales**
- **Sustitutos Óseos Aloplásticos**

5. Resumen y Conclusiones.

6. Referencias Bibliográficas.

Capítulo I

Introducción.

Basados en los estudios experimentales llevados a cabo por los equipos de investigadores de Per Ingvar Bränemark, de la Universidad de Gotemburgo (Suecia) y André Schroeder, de la Universidad de Berna (Suiza), el uso de Implantes Dentales para el reemplazo de dientes perdidos o ausentes en pacientes parcial y totalmente desdentados, se ha convertido en un tratamiento científicamente aceptado y comprobado, respecto a sus tasas de éxito. En artículos destacados, publicados a finales de las décadas de los 60s y 70s, ambos equipos de investigadores describen el fenómeno de la óseointegración de los implantes de titanio. ^{1,2} Un implante oseointegrado es caracterizado por la directa aposición de hueso vivo en la superficie del titanio. ^{3,4}

Desde esa época, varios prerequisites han sido definidos para lograr la oseointegración de los implantes de titanio, con una alta predictibilidad.¹ Algunos de estos han sido dejados al margen a través de los últimos 30 años; Otros, aún son considerados muy importantes. Para lograr la óseointegración, el implante debe ser insertado por medio de una técnica quirúrgica atraumática, para evitar el sobrecalentamiento del hueso durante la preparación del lecho óseo, y el implante debe lograr una estabilidad primaria suficiente durante su colocación.⁵ Cuando estos protocolos clínicos son seguidos, ocurrirá la oseointegración con una alta predictibilidad, para el caso de los implantes de titanio no sumergidos (Procedimientos en 1 Fase), como también en los implantes de titanio que son sumergidos (Procedimientos en 2 Fases), como lo demuestran estudios experimentales comparativos. ^{6,7}

Unos de los prerequisites más importantes para lograr y mantener una oseointegración exitosa de los implantes dentales es tener, previa su colocación, un volumen adecuado de hueso sano en el sitio receptor de estos. Esto se refiere no solo a una altura ósea adecuada, sino también a un grosor de reborde alveolar suficiente para que el implante este completamente rodeado de hueso por todos sus lados. Diversos estudios han demostrado que implantes que carecen de una pared ósea bucal adecuada tienden a tener mayores complicaciones de los tejidos blandos vestibulares ⁸, con un pronóstico dudoso o francamente malo a largo plazo. Para evitar mayores tasas de complicaciones y fracasos de los implantes, estos estudios sugieren que los sitios planificados para la colocación de implantes con un volumen óseo inadecuado, ya sea, deben considerarse como una contraindicación local a la colocación del implante, o deben ser aumentados localmente con un procedimiento quirúrgico apropiado para regenerar el hueso y permitir la colocación de estos.

En los 80s y a principio de los 90s, se realizaron muchos intentos para desarrollar nuevas técnicas quirúrgicas para el tratamiento de los defectos óseos en los rebordes alveolares, para así superar esta contraindicación local de las prótesis implanto soportadas. Las técnicas propuestas incluían el aumento vertical del reborde con injertos de hueso autógeno de la cresta ilíaca, en mandíbulas y maxilas extremadamente atróficas,^{9,10} procedimientos de elevación del piso del seno, en maxilares parcial o totalmente edéntulos,¹¹⁻¹³ aplicación de injertos autógenos tipo Onlay para aumentar el ancho del reborde¹⁴⁻¹⁶ y también técnicas de Split-crest, tales como la alveoloplastía por extensión^{17,18}.

Durante el mismo período, sumado a estas nuevas técnicas quirúrgicas, fue introducido el concepto de **Regeneración Ósea Guiada (ROG)**, utilizando membranas biológicas como barreras. Basados en reportes de casos y estudios clínicos de corto plazo, diversos autores reportaron sus primeros resultados clínicos con esta técnica de utilización de membranas biológicas como barreras, para la regeneración de defectos óseos localizados en pacientes Implantológicos¹⁹⁻²⁴.

Esta Revisión Bibliográfica pretende otorgar una actualización en las bases biológicas de la técnica de Regeneración Ósea Guiada (ROG) y los materiales utilizados.

Regeneración Ósea Guiada en Implantología: Inicios, Presente y Futuro.

La experiencia clínica con la ROG abarca casi 30 años, los que pueden ser divididos en dos: una primera fase de desarrollo y una segunda fase de aplicación clínica rutinaria.

FASE DE DESARROLLO DE LA REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA.

La utilización de membranas biológicas como barreras, en pacientes implantológicos, fue ciertamente iniciada en la aplicación clínica de éstas membranas en la Regeneración Periodontal, llamada **Regeneración Tisular Guiada (RTG)**. La RTG fue primeramente desarrollada en los inicios de los 80s por Nyman y colaboradores^{25,26}. Los estudios iniciales fueron realizados con filtros Millipore, los cuales ya habían sido usados a finales de los 50s y comienzo de los 60s para la regeneración de defectos óseos en estudios experimentales. Sin embargo, estos estudios no tuvieron mayor impacto en el desarrollo de nuevas técnicas quirúrgicas en la regeneración de defectos óseos localizados en los maxilares, ya que no se reconoció el tremendo potencial de aplicación de estas membranas en ese momento.

Las publicaciones de Nyman y cols. en el campo de la RTG demostraron resultados exitosos en los procedimientos de RTG, creando un gran interés y llevando a un aumento de la actividad científica respecto a estas técnicas, a mediados de la década del 80. Estos estudios fueron realizados con el uso del Politetrafluoroetileno expandido (por sus siglas en inglés ePTFE), que es una membrana bioinerte la cual se convirtió en la membrana de elección para los procedimientos de RTG y ROG durante la fase de desarrollo de ambas técnicas. El uso de estas membranas de ePTFE para la regeneración ósea fue iniciado a mediados de los 80 por el grupo que conducía Nyman y Dahlin, quienes realizaron una serie de estudios experimentales²⁷. Estos estudios confirmaron el concepto de que la aplicación de una membrana de ePTFE crea una barrera física que separa los tejidos y células que potencialmente pueden participar en los eventos de cicatrización de las heridas. Estas membranas actúan como barreras, creando un espacio aislado y facilitando la proliferación de células angiogénicas y osteogénicas provenientes del espacio medular, sin la interferencia de fibroblastos²⁸.

La utilización en pacientes de membranas de ePTFE en procedimientos de ROG comenzó a finales de la década del 80. El objetivo principal era lograr

regenerar defectos óseos periimplantarios en zonas de deficiencia ósea local. La técnica de ROG era usada en dos protocolos:

- 1). Simultánea a la colocación del implante, y
- 2). En dos fases, lo que quiere decir que primero se realiza la cirugía de ROG, y meses después la cirugía del o los implantes²³.

La colocación de Implantes con ROG simultánea, era predominantemente utilizada en cirugías de implantes inmediatos a extracciones^{21,24}, para regenerar defectos óseos periimplantarios y también en implantes con defectos de dehiscencias en la cresta alveolar¹⁹. El protocolo en dos fases fue usado en las situaciones clínicas donde el sitio receptor del implante se encuentra cicatrizado pero con ancho insuficiente de la cresta alveolar. Como fue mencionado antes, esta técnica con membrana fue utilizada para ensanchar la cresta alveolar en una primera cirugía, y la colocación de implantes era realizada en un segundo procedimiento quirúrgico llevado a cabo luego de 6 a 9 meses de cicatrización de la primera fase²².

Tempranamente, diversas complicaciones fueron encontradas en ambos protocolos, por lo que se introdujeron algunas modificaciones en las técnicas quirúrgicas para mejorar la predictibilidad de resultados positivos. Una de las complicaciones que más se presentaba era el colapso de la membrana de ePTFE, lo que reducía el volumen del tejido regenerado bajo esta. En muchos de estos casos los sitios regenerados mostraban una formación ósea insuficiente y la formación de un tejido parecido al periostio bajo las membranas^{19,22}. Por lo que los rellenos óseos, tales como los injertos autógenos y los alógenos fueron recomendados por varios grupos de autores, no solo para darle soporte y evitar el colapso de la membrana, sino también para mejorar la formación de hueso nuevo a través del potencial osteogénico de estos injertos de hueso²⁹⁻³¹. La combinación del uso de membranas de ePTFE e injertos de hueso autógeno otorgan buenos resultados clínicos en ambos protocolos (Figs. 1-1 y 1-2).

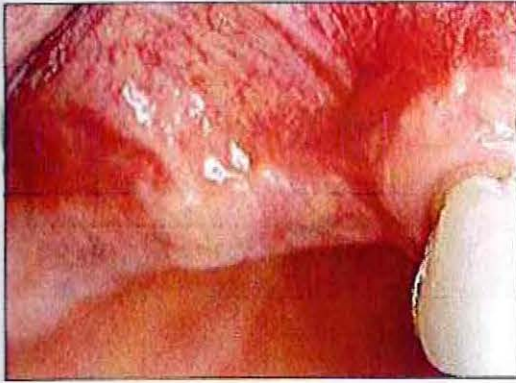


Fig. 1-1a.
Extremo Libre distal en el Maxilar Derecho. Se planifican dos Implantes de Titanio que serán rehabilitados con prótesis fijas.



Fig. 1-1b.
La inserción de ambos implantes da como resultado una dehiscencia en la cresta alveolar vestibular en el implante mesial. La superficie del hueso cortical es perforada con una fresa redonda pequeña para acceder a la cavidad medular y estimular el sangramiento en el área afectada.

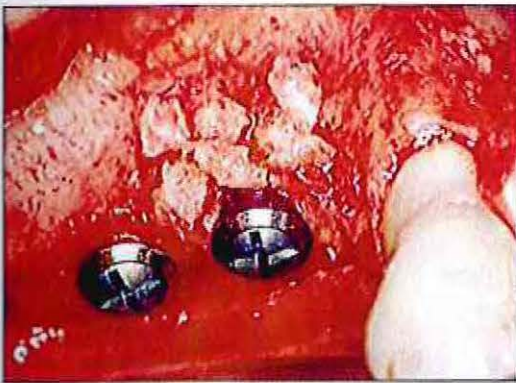


Fig. 1-1c.
Pequeños fragmentos de hueso localmente recolectado son colocados para dar soporte a la membrana de ePTFE y estimular la formación de nuevo hueso en el área del defecto.



Fig. 1-1d.
Se coloca una membrana de ePTFE para funcionar como barrera física. La membrana perforada es estabilizada alrededor del cuello de ambos implantes.



Fig. 1-1e.

Luego de realizar descargas en el periostio, se termina la cirugía con un cierre primario sin tensión de la herida.



Fig. 1-1f.

Control clínico a los 4 meses de evolución post cirugía de implantes y ROG simultánea. La cicatrización de la herida ocurrió sin ninguna complicación.



Fig. 1-1g.

El sitio es reabierto luego de 4 meses de cicatrización. Una segunda cirugía es necesaria para remover la membrana no reabsorbible de ePTFE.



Fig. 1-1h.

Luego del retiro de la membrana se observa una regeneración ósea exitosa en el área del defecto.

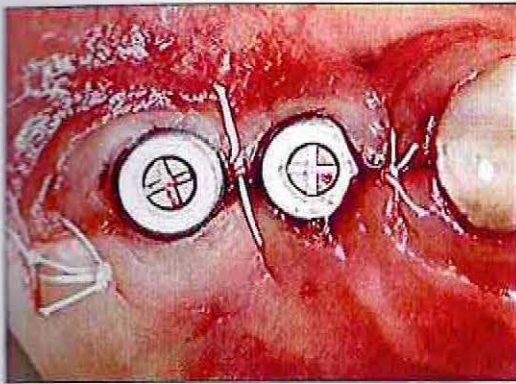


Fig. 1-1i.
Pilares de cicatrización más largos son colocados y el margen de tejido blando es adaptado y asegurado con suturas simples discontinuas.

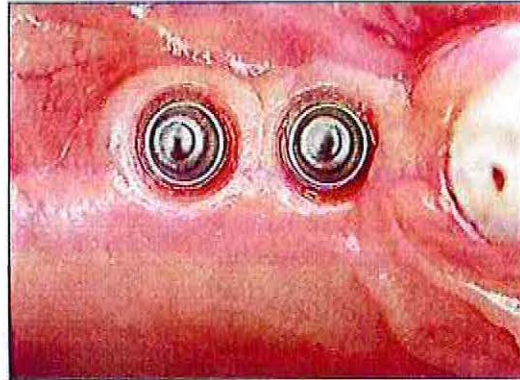


Fig. 1-1j.
Dos semanas después, el tejido blando a cicatrizado y ambos implantes pueden ser rehabilitados con Prótesis Fijas Unitarias.



Fig. 1-1k.
Resultado clínico satisfactorio realizado en el control a los 15 años post rehabilitación definitiva.



Fig. 1-1l.
Control radiográfico a los 15 años. Se observa que los niveles de la cresta ósea se encuentran estables alrededor de ambos implantes.



Fig. 1-2 a
 Vista prequirúrgica oclusal del maxilar derecho con ambos premolares ausentes. Se aprecia la cara vestibular deprimida.

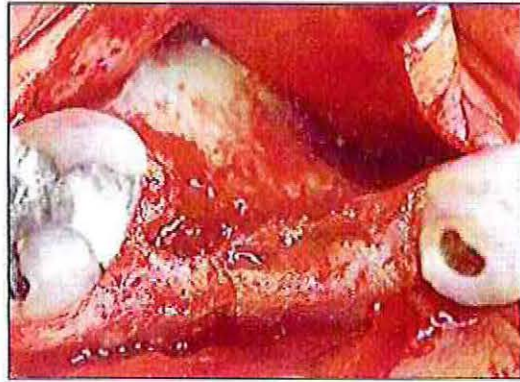


Fig. 1-2b
 Elevación del colgajo mucoperiostico demuestra un ancho insuficiente del reborde alveolar con menos de 4mm. La situación clínica requiere un protocolo en dos fases.



Fig. 1-2c
 Se coloca un injerto en bloque para aumentar el ancho de la cresta alveolar.



Fig.1-2d
 En una vista facial se muestra el injerto en bloque estabilizado con un tornillo de titanio.

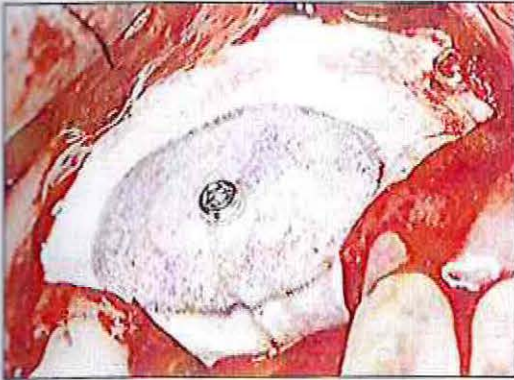


Fig. 1-2e

Luego se coloca una membrana no reabsorbible hidrofóbica de ePTFE, la cual es estabilizada y fijada con mini tornillos.

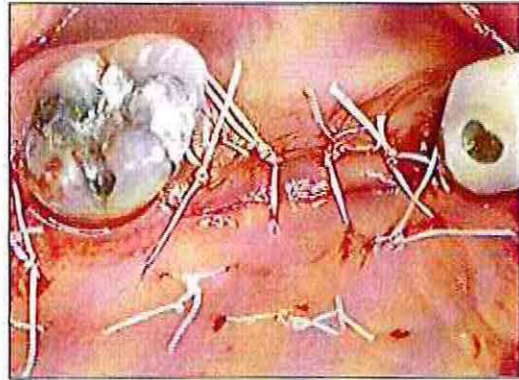


Fig. 1-2f

El cierre primario de la herida es logrado con puntos colchoneros horizontales y simples discontinuos, utilizando una sutura de ePTFE.

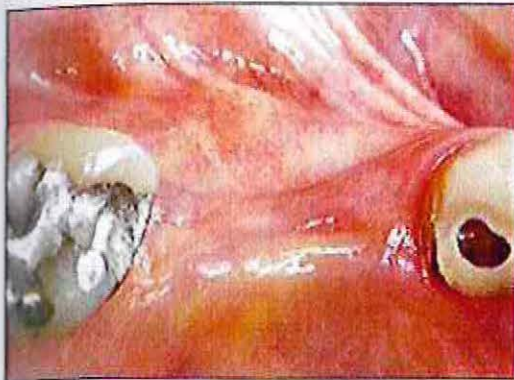


Fig. 1-2g

6 meses después del aumento de reborde, se observa el tejido blando sano. No hubo complicaciones durante el período de cicatrización.

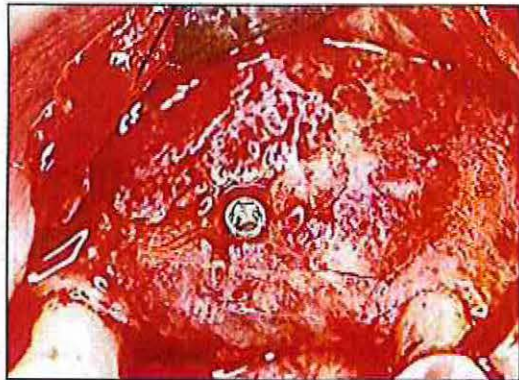


Fig. 1-2h

Luego de la elevación del colgajo y retiro de la membrana, la vista facial muestra el tejido regenerado. El injerto en bloque puede aún ser reconocido, pero en varias zonas está recubierto con hueso nuevo formado.

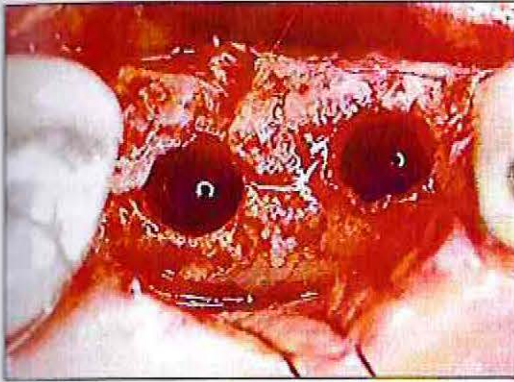


Fig. 1-2i

La vista oclusal confirma el aumento exitoso de reborde alveolar. El ancho de la cresta, ahora de más de 6mm permite la colocación de dos implantes.



Fig. 1-2j

Luego de 3 meses de cicatrización, se observan los pilares de cicatrización de los implantes no sumergidos. La mucosa periimplantar está sana.



Fig. 1-2k

Control a los 14 años luego de la colocación de los implantes. La mucosa peri-implantar está sana y estable.

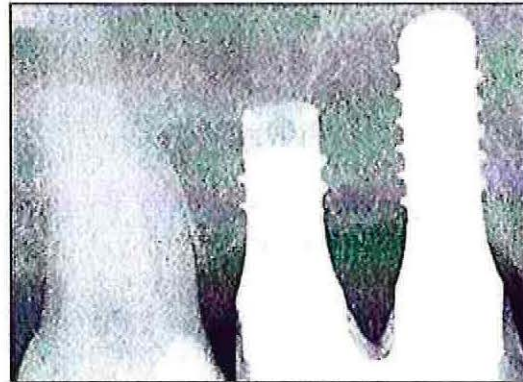


Fig. 1-2l

La radiografía periapical confirma los niveles estables de la cresta ósea alrededor de los dos implantes.

En la década de los 90s, se realizaron varias juntas de expertos para discutir los potenciales y limitaciones de la técnica de ROG usada en la práctica rutinaria en esa época. Los expertos acordaron que la técnica de ROG –basada en la utilización de membranas de ePTFE en combinación con injertos o sustitutos óseos- tenía las siguientes debilidades: 1). Una tasa significativa de exposición de las membranas producida por dehiscencias de los tejidos blandos, los que en muchas ocasiones producía una infección bajo la membrana, y consecuentemente un compromiso en el resultado del tratamiento del procedimiento de ROG³²⁻³⁵; 2). Dificultad en el manejo clínico de las membranas durante las cirugías debido a sus cualidades hidrofóbicas^{30,36}; y 3.) La necesidad de un segundo procedimiento quirúrgico para remover la membrana bioinerte y no reabsorbible.

Durante estas juntas, los participantes definieron objetivos para mejorar la predictibilidad y el atractivo en el uso de los procedimientos de ROG en pacientes implantológicos, que se mencionan en la siguiente tabla.

Objetivos para Mejorar la Técnica de Regeneración Ósea Guiada.
<ul style="list-style-type: none">• Poder obtener resultados exitosos de manera más predecible y reducir la tasa de complicaciones de exposiciones de la membrana e infección posterior.• Lograr que la técnica sea más fácil de realizar, con una aplicación de la membrana más simple.• Lograr que la técnica sea más amigable con los pacientes eliminando el segundo paso quirúrgico de retiro de la membrana y reducir los tiempos de cicatrización lo más posible.

Fue claro para los participantes de estas juntas de expertos, que estos objetivos sólo podían lograrse con la utilización de **membranas reabsorbibles**. Esta tendencia fue nuevamente iniciada en el campo de la Regeneración Tisular Guiada, o RTG, con la introducción a comienzos de la década de los 90s de las primeras membranas bioreabsorbibles^{37,38}. Subsecuentemente, se realizaron numerosos estudios en animales, examinando diferentes tipos de membranas reabsorbibles para los procedimientos de ROG³⁹⁻⁴⁶. En general, dos grupos diferentes de membranas reabsorbibles fueron evaluadas: 1). Membranas Poliméricas hechas de Ácido Poliláctico o Poliglicólico y, 2). Membranas de Colágeno, producidas de diversos orígenes animales⁴⁷. Las características de las diferentes membranas utilizadas en los procedimientos de ROG serán revisadas en el 3er capítulo de esta revisión.

Comparado con la selección de una apropiada membrana de barrera, la selección de un adecuado relleno óseo para dar soporte a la membrana tiene la

misma importancia, al considerar los resultados del tratamiento. Los diferentes tipos de Injertos y sustitutos óseos que pueden ser utilizados como rellenos óseos bajo las membranas serán revisados en el 4to capítulo de esta revisión.

APLICACIÓN CLÍNICA RUTINARIA.

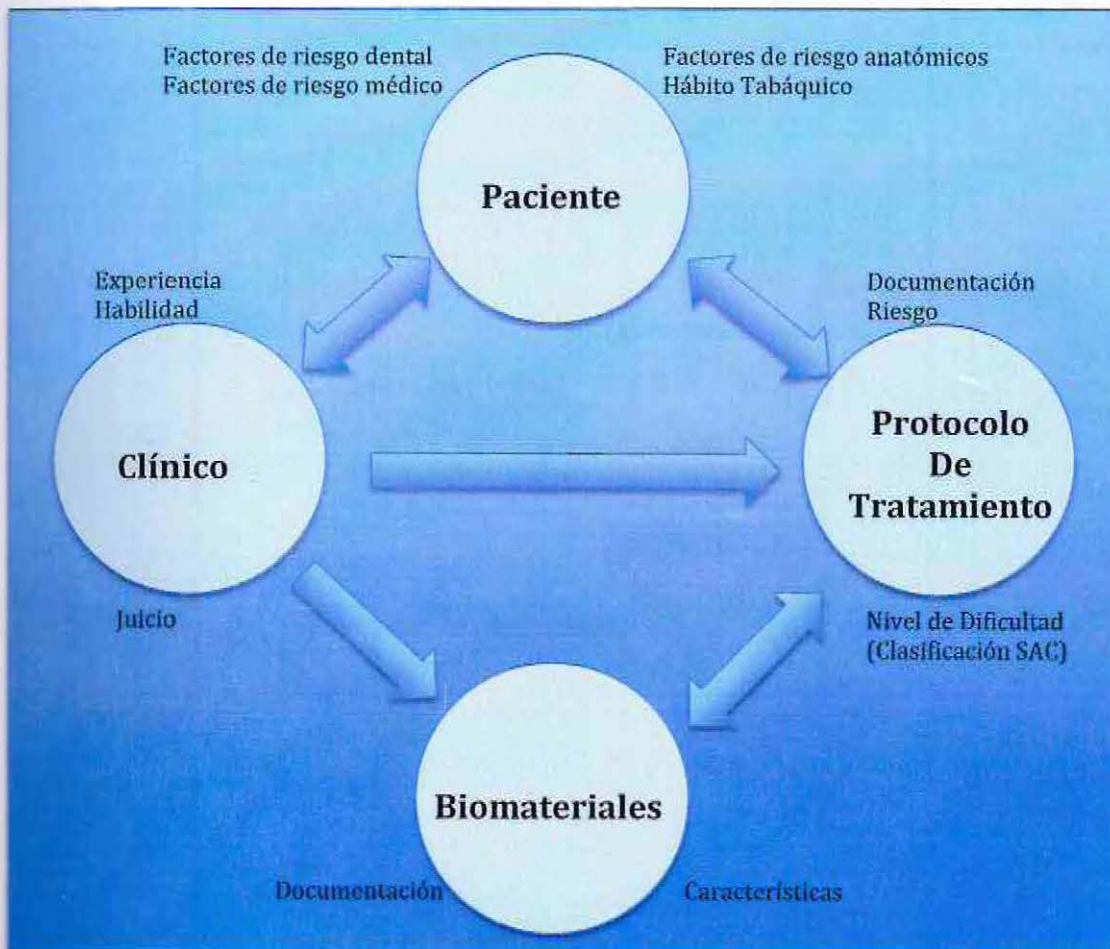
Paralelo a estos estudios experimentales, los clínicos comenzaron a usar membranas reabsorbibles en pacientes. Los primeros reportes clínicos publicados fueron predominantemente estudios con membranas colágenas⁴⁸⁻⁵³. Hoy en día, las membranas colágenas son utilizadas rutinariamente en las clínicas odontológicas, para los procedimientos de ROG.

En los últimos 10 años, la técnica de ROG se ha transformado en el "gold standard" para la regeneración de defectos óseos localizados en pacientes implantológicos. En una Revisión Sistemática realizada por Aghaloo y Moy⁵⁴, se demostró que los implantes colocados en conjunto con procedimientos de ROG tienen tasas favorables de sobrevida, y que el procedimiento de ROG es la única técnica quirúrgica bien documentada al comparar varias técnicas quirúrgicas usadas para el aumento localizado de la cresta alveolar. La única otra técnica quirúrgica bien documentada hasta ahora es el Injerto de Seno (Elevación de Piso de Seno Maxilar). Hoy en día, los clínicos que realizan procedimientos de ROG están en una situación muy favorable, pudiendo seleccionar entre distintos abordajes quirúrgicos y biomateriales disponibles. El procedimiento de Regeneración Ósea Guiada elegido debe siempre intentar cumplir los objetivos primarios y secundarios, sea cual sea la situación clínica presente. Estos objetivos se encuentran en la siguiente tabla.

Objetivos en los Procedimientos de Regeneración Ósea Guiada (ROG)	
<p><u>Objetivos Primarios</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Lograr una exitosa regeneración ósea del defecto con una alta predictibilidad en relación a una larga durabilidad en su función y estética. • Bajo riesgo de complicaciones 	<p><u>Objetivos Secundarios</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • La menor cantidad de intervenciones quirúrgicas. • Baja morbilidad para el paciente. • Reducir los tiempos de cicatrización (curación).

Como vimos con anterioridad, estos objetivos secundarios han sido muy importantes en los últimos 10 a 15 años, ya que los clínicos en todo el mundo han tratado de mejorar estos aspectos, en un intento de hacer que los procedimientos de ROG sean menos estresantes y más atractivos para los pacientes, en la práctica rutinaria. **Sin embargo la importancia dada por los clínicos a los objetivos secundarios, estos no deben comprometer a los objetivos primarios en los procedimientos de ROG, nunca.** En otras palabras un protocolo terapéutico que prometa un número bajo de procedimientos quirúrgicos, una baja morbilidad para el paciente o un corto período de tratamiento, no debe nunca reducir la predictibilidad de un resultado exitoso en el tratamiento, ni tampoco aumentar el riesgo de complicaciones. Por lo tanto todos los aspectos son importantes, pero los objetivos primarios tienen una clara prioridad.

El resultado esperado en el tratamiento, está influenciado por cuatro factores, los que fueron descritos en detalle por Buser y Chen⁵⁵, en procedimientos de colocación de implantes en sitios post-extracciones dentarias. Estos se muestran en el siguiente mapa conceptual.



En general, estos factores también son válidos para los procedimientos de ROG. **El factor clave es el Clínico, quien toma todas las decisiones basado en una correcta valoración de la situación clínica presente. El clínico evalúa al paciente, elige el biomaterial apropiado y decide cuál es el protocolo de tratamiento más adecuado para lograr los resultados esperados.**

Un análisis comprensivo del paciente permite al clínico determinar si la situación clínica es de bajo, mediano, o alto riesgo. Sumado a la determinación de si el paciente presenta el hábito de fumar, el clínico debe evaluar los factores de riesgo médico, dental y anatómicos en detalle, en particular la morfología del defecto óseo a ser regenerado. La morfología del defecto juega un rol importante en la selección de la apropiada técnica quirúrgica y particularmente en la determinación de cuál protocolo quirúrgico de ROG se llevará a cabo; si simultáneo a la colocación del o los implantes, o en dos fases separadas.

Capítulo II

Bases Biológicas de la Regeneración Ósea.

Para los parámetros de resultado estético y éxito a largo plazo, es necesaria una cantidad suficiente de hueso sano en los maxilares previo a la colocación de implantes endo-óseos. En casi el 50% de los sitios que requieren de implantes, se necesita de procedimientos que generen predeciblemente suficiente volumen óseo para la colocación adecuada de estos.

Existen varias opciones para la mejora en la formación ósea, incluyendo:

- 1). Osteoinducción a través de injertos óseos o factores de crecimiento;
- 2). Osteoconducción a través de injertos óseos o materiales sustitutos que sirven como un andamiaje a la formación de hueso nuevo;
- 3). Transferencia de células madre o células progenitoras que se diferencian en osteoblastos;
- 4). Distracción Osteogénica; y
- 5). Regeneración Ósea Guiada utilizando membranas como barrera.

Sin importar que método sea utilizado, siempre ocurre subyacentemente un mecanismo básico de cicatrización ósea.

El hueso posee un potencial único de regeneración, el cuál es demostrado, de mejor manera, en la reparación de una fractura ósea. El hueso es capaz de curar las fracturas o defectos óseos con tejido regenerado, o, regenerar hueso con una organización estructural con idénticas condiciones a la original, sin dejar cicatrices. El mecanismo de este patrón de cicatrización es considerado como una recapitulación de la osteogénesis embrionaria y del crecimiento. Debido a que el hueso posee una capacidad única y espontánea de cicatrización, el truco en cirugía reconstructiva es aprovechar este gran potencial de regeneración para mejorar la formación ósea, en las aplicaciones clínicas. Por lo tanto, para un adecuado aumento de hueso o tratamiento de cualquier defecto óseo se requiere un profundo entendimiento del desarrollo óseo y morfogénesis, desde un nivel celular y molecular. **En este capítulo se resumirá el desarrollo, estructura, función, bioquímica y biología celular ósea, para entender la biología básica del patrón de cicatrización en los procedimientos de Regeneración Ósea Guiada (ROG).**

Desarrollo y Estructura Ósea.

Funciones.

El hueso es un gran logro dentro de la evolución de los tejidos de soporte. Sin embargo tiene funciones que van mucho más allá que el sólo soporte del cuerpo. Las funciones del hueso incluyen:

- 1). Soporte mecánico del cuerpo, movimiento y locomoción;
- 2). Soporte dentario para la masticación y trituración de los alimentos;
- 3). Soporte y protección del cerebro, médula espinal y órganos internos;
- 4). Alojamiento a la médula ósea que es la fuente de las células hematopoyéticas y
- 5). La homeostasis del calcio.

Es muy probable que debido a que estas funciones son de vital importancia, es que el hueso posee una excepcional capacidad de auto-curado, reparación y también regeneración.

Esqueletogénesis.

Desde la punta del dedo, hasta la parte superior de la cabeza, el hueso está presente en todo el cuerpo en varias zonas anatómicas. Su estructura no es homogénea, debido a que el hueso se adapta para cumplir los requerimientos funcionales específicos de cada zona. El esqueleto de los mamíferos consiste de huesos largos y planos, llamados así por sus formas, y se desarrolla de dos fuentes embrionarias, el mesodermo en las somitas, y de los arcos branquiales. La formación ósea depende de dos prerrequisitos: un abundante suministro sanguíneo y de un soporte mecánico adecuado.

Existen dos modos diferentes de osificación: intramembranoso y condral (endocondral). En el caso de la osificación intramembranosa o directa, el tejido conectivo sirve como una plantilla para la deposición de la matriz ósea. Durante la osificación endocondral, o indirecta, el cartílago forma un modelo y luego de su calcificación sirve como una base sólida que primeramente es cubierta, y luego sustituida en su totalidad, por hueso. La osificación endocondral ocurre en los cartílagos de crecimiento.

Durante el desarrollo embrionario, la forma de cada hueso individual es elaborada directa o indirectamente. En las siguientes etapas, fetal y postnatal, el hueso sufre tres grandes cambios:

- 1). Crecimiento en diámetro y largo;
- 2). Refinamiento de su forma por modelado periostal y endostal, y
- 3). Remodelado.

Los términos modelado y remodelado usualmente causan confusión. El modelado indica un cambio en la forma, mientras que el remodelado se refiere a un reemplazo o sustitución de tejido, sin provocar cambios en su arquitectura. Por lo tanto, el modelado y el remodelado son procesos importantes no sólo en el esqueleto maduro, si no también durante el desarrollo y crecimiento del hueso. Básicamente, la diáfisis de un hueso largo crece en diámetro a través de aposición periostal y reabsorción endostal. Sumado a esto, el modelado de la forma es también regulado por cambios en la tasa de aposición de la matriz ósea.

Tipos de Estructuras y Organización.

Basados en la orientación de las fibras colágenas, podemos identificar tres tipos de tejidos óseos: hueso reticular, hueso laminar y un tipo intermedio – hueso primario de fibras paralelas.

El hueso reticular se forma predominantemente en embriones y niños en crecimiento, y posteriormente es reemplazado por hueso laminar. En adultos, el hueso reticular reaparece cuando se requiere una formación ósea acelerada, tal como en el callo óseo, durante la reparación de fracturas, y en condiciones patológicas, tales como la Enfermedad de Paget, Osteodistrofia renal, hiperparatiroidismo o fluorosis. En el hueso reticular las fibras colágenas están orientadas de manera desordenada, al azar. Los espacios interfibrilares son, en comparación con el laminar, muy anchos⁵⁶. A parte de tener sus fibras colágenas entrelazadas, el hueso reticular se caracteriza por poseer un alto número de osteocitos de gran tamaño y una alta densidad mineral (Fig. 2-1).

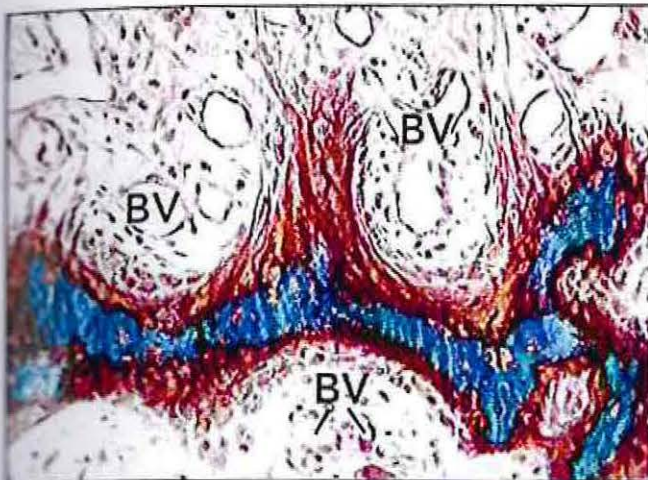


Fig. 2-1

Corte de hueso reticulado visto en un Microscopio Óptico. Este tipo de hueso es capaz de formar puntales y puentes, los que generalmente están asociados a vasos sanguíneos (BV, por su sigla en inglés, Blood Vessel) (Tinción Tricolor de Goldner).

El hueso laminar posee una estructura mucho más compleja, caracterizada por una matriz de capas, que consisten en fibrillas colágenas ordenadas paralelamente. Una unidad laminar es de aprox. 3 a 5µm de ancho, y la orientación de las fibrillas cambia desde una unidad a otra (Fig. 2-2).

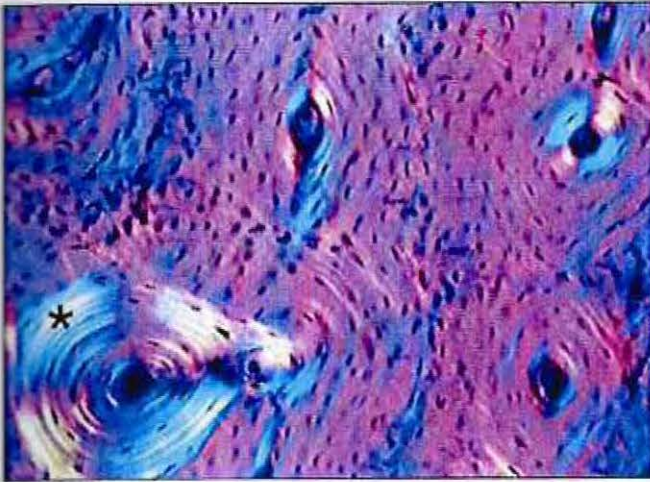


Fig. 2-2

Osteonas primarias y secundarias en un hueso cortical de equino. Con luz polarizada, las osteonas secundarias (asteriscos) muestran un patrón laminillar claro. La pared de las osteonas primarias consiste en hueso con fibrillas orientadas paralelamente, las cuales son menos birrefringentes.

Por lo que se puede ver, el hueso laminar es mucho más complejo, similar a la estructura de una madera enchapada⁵⁷.

El hueso primario de fibras paralelas es depositado durante las etapas primarias de la formación ósea, así como también durante la aposición peri y endostal. Sus fibrillas colágenas corren paralelas a la superficie ósea, pero carecen de una organización laminar (Fig. 2-3). El hueso primario de fibras paralelas comparte la mayor cantidad de propiedades histológicas con el hueso reticulado.

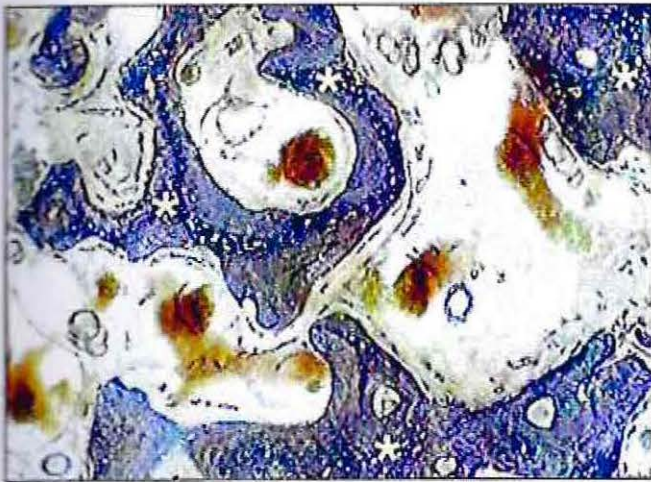


Fig. 2-3
Micrografía de
Microscopio Óptico
donde se muestra el
refuerzo del hueso
reticulado (asteriscos) por
hueso primario de fibras
paralelas (Tinción de
superficie Azul de
Toluidina).

El hueso maduro está formado por hueso cortical (compacto) y hueso esponjoso (trabecular). Basados en la orientación de las laminillas, la matriz del hueso cortical está subdividida en diferentes compartimentos. Las unidades estructurales básicas son las osteonas (o sistemas harvesianos), estructuras cilíndricas orientadas longitudinalmente, con canales vasculares (harvesianos) en el centro. En las osteonas secundarias, las paredes consisten en laminillas concéntricas, mientras que las osteonas primarias se caracterizan por tener una matriz ósea de fibras paralelas más primitivas (ver Fig. 2-2). Sobre las superficies peri y endostales, el crecimiento aposicional generalmente resulta en paquetes de laminillas circunferenciales. Remanentes de laminillas circunferenciales de generaciones de osteonas más tempranas ocupan el espacio laminillar intersticial. Los osteocitos dentro de estos restos de actividad remodeladora son usualmente cortados de su suministro vascular, y posteriormente mueren (Fig. 2-4).

El trabeculado del hueso esponjoso también está compuesto de unidades estructurales, paquetes o paredes separadas (o unidas, unas a otras) por líneas de cemento. También reflejan la remodelación local de etapas más tempranas de crecimiento, cuando este hueso se termina de transformar en esponjoso.

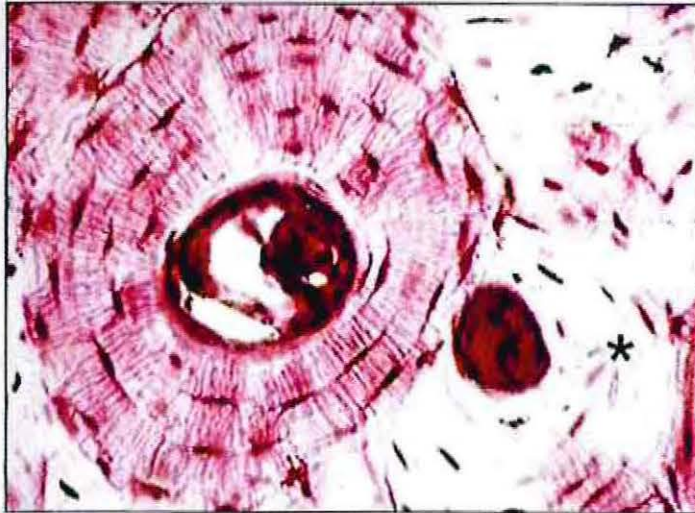


Fig. 2-4

Las Osteonas son unidades metabólicas. La tinción de osteocitos demuestra el sistema canalicular (asterisco). Fragmento necrótico de una Osteona luego de la obliteración del canal harvesiano (Sección no decalcificada, Tinción básica de Fucsina)

Células Óseas.

La formación, mantenimiento y reparación del hueso, son regulados por cuatro tipos distintos de células. Los Osteoblastos, las células de Revestimiento óseo y los Osteoclastos cubren la superficie del hueso, mientras que los Osteocitos son encontrados en el interior de la matriz ósea. **Uno de los prerequisites más importantes para la formación y supervivencia ósea, es tener un suficiente aporte sanguíneo. Por lo tanto, la angiogénesis es un prerequisite necesario, no solamente para el desarrollo óseo, sino también para la mantención y reparación de este tejido.**

Los osteoblastos son células grandes de forma cuboidal, que forman una sola capa recubriendo todas las superficies peri y endostales, en donde la formación ósea está activa. Son células polarizadas que secretan material osteoide unidireccionalmente hacia la superficie ósea. Los núcleos de los osteoblastos son ovoides, y sus citoplasmas están llenos de retículos endoplásmicos, y prominentes Complejos de Golgi (Fig. 2-5). La heterogeneidad entre los osteoblastos, existe y depende de los diferentes tipos de hueso que

forman, y de los sitios anatómicos en donde se encuentren⁵⁸. Los osteoblastos son responsables de la síntesis, organización y mineralización de la matriz ósea.

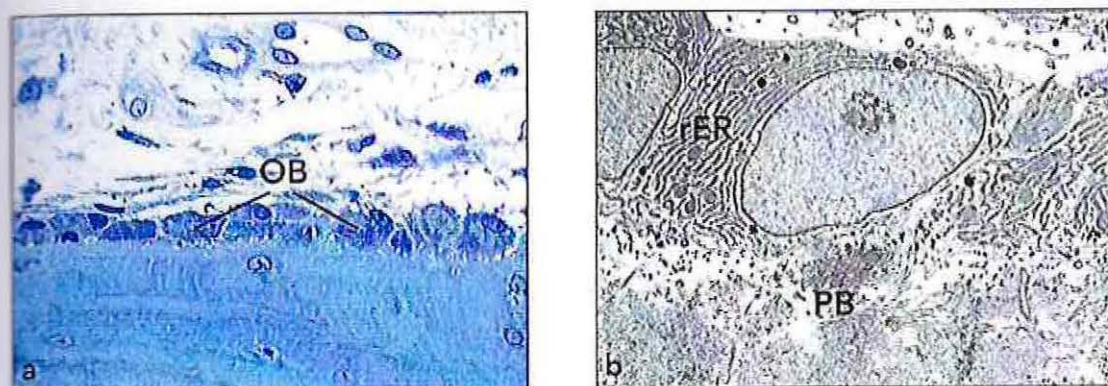


Fig. 2.5

a). Microscopio Óptico donde se muestra una capa unitaria de osteoblastos (OB) revistiendo la matriz ósea. **B).** Microscopio de transmisión de Electrones, ilustrando los osteoblastos con abundantes retículos endoplásmicos (rER) revistiendo la sustancia osteoide o prehueso (PB, del inglés Pre Bone).

Algunos osteoblastos se transforman en osteocitos ya que quedan atrapados dentro de la secreción de la matriz ósea. La velocidad de la deposición puede determinar el número de osteocitos incluidos⁵⁹. Esto queda demostrado en el hueso reticular, el cual es formado mucho más rápido que cualquier otro hueso, y por lo tanto posee un número mayor de osteocitos incluidos en su matriz⁶⁰.

El osteocito queda atrapado en la matriz ósea dentro de una laguna (Fig. 2-6), y osteocitos cercanos están interconectados por un pequeño proceso citoplasmático que se extiende a través de un denso sistema canalicular. Este sistema canaliculo-lagunar permite la difusión de metabolitos y moléculas de señales para la comunicación celular con los osteocitos vecinos, osteoblastos y con las células de revestimiento óseo. Es indispensable para la sobrevivencia de los osteocitos, ya que la difusión de nutrientes y productos de desecho a través de la matriz ósea densamente mineralizada, es casi imposible. De todas formas, la capacidad de transporte de este sistema tiene sus limitaciones. En los mamíferos, la distancia crítica de transporte para mantener al osteocito con vida, son aproximadamente 100um. Esto explica el por qué el ancho de la pared de las osteonas y paquetes, en el hueso trabecular, raramente excede los 100um. Los osteocitos pueden participar activamente en la homeostasis ósea a través de su

influencia en la transformación ósea, intercambio de iones y percepción de señales mecánicas⁶¹.

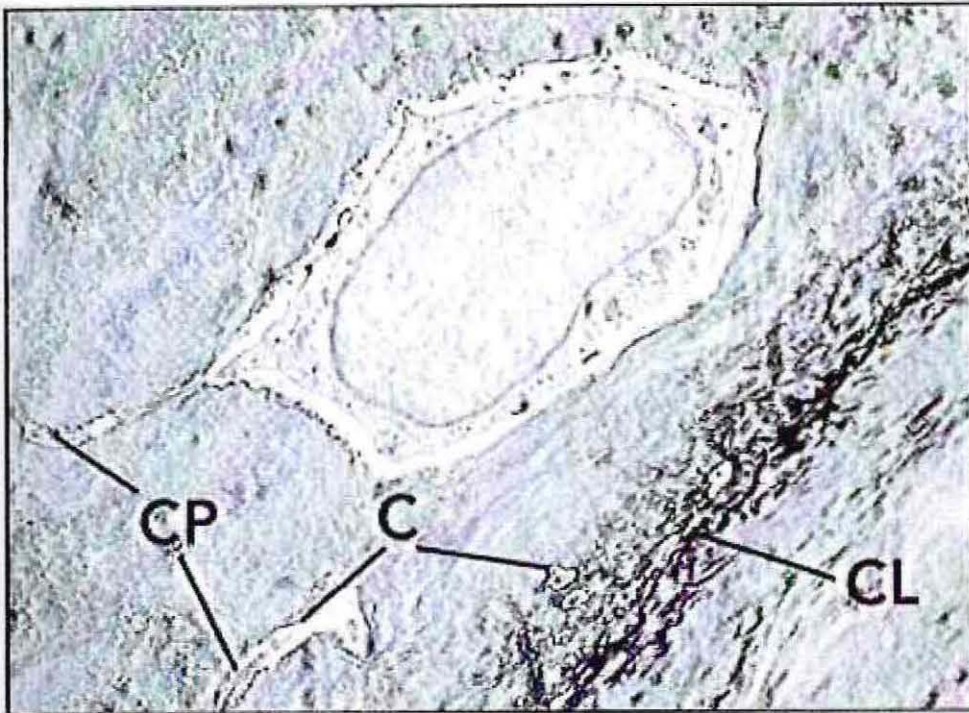


Fig. 2-6

Microscopio de Transmisión de Electrones donde se muestra un osteocito incluido en su laguna, al lado de una línea de cemento (CL, del inglés Cement Line). Canalículo (C) cortado longitudinal y transversalmente conteniendo los procesos citoplasmáticos (CP, del inglés Cytoplasmatic Processes) que son visibles cercanos al osteocito.

Las Células de Revestimiento Óseo, son el tercer tipo de células que pertenecen a la familia de los Osteoblastos. Se consideran como Osteoblastos inactivos que cubren las superficies óseas. Las células de Revestimiento Óseo, son planas y tienen un reducido número de organelos citoplasmáticos, que es indicativo de su baja actividad en relación al metabolismo celular y síntesis de proteínas. Son también llamados Osteoblastos inactivos o "en descanso". Se cree que las células de revestimiento óseo participan en la iniciación de la reabsorción a través de la liberación de factores de activación de los Osteoclastos, y a través de su contracción, con lo que se cree se expondría la superficie ósea para la adhesión de los osteoclastos.

Los Osteoclastos son células de la línea celular hematopoyética de los Monocitos-Macrófagos⁶². Su función primaria es degradar la matriz ósea en distintos tipos de escenarios, fisiológicos y patológicos. Difieren de otras células gigantes, especialmente de las células de cuerpo extraño, y son convencionalmente identificadas por su localización en una cavidad de reabsorción, llamada la Laguna de Howship (Fig. 2-7). Son grandes y multinucleadas. Otra característica es la presencia de varios receptores celulares de superficie, incluyendo aquellos receptores para la activación del factor nuclear κ B (RANK), factor estimulador de colonias de macrófagos, vitronectina y calcitonina. Su tamaño varía desde 30 a 100 μ m, y su número de núcleos va desde 3 a 30 aproximadamente.

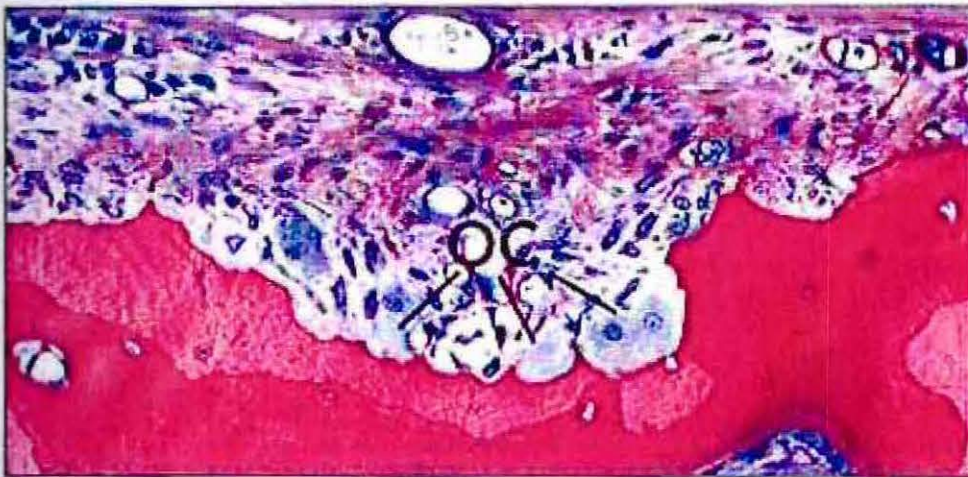


Fig. 2-7

Microscopio Óptico donde se muestran varios Osteoclastos (OC) dentro de las Lagunas de Howship formadas en el hueso alveolar. (Tinción de Fucsina y Azul de Toluidina).

El citoplasma es acidofílico, y frecuentemente contiene vacuolas (Fig. 2-8a). El área marginal del osteoclasto se adhiere a la superficie mineralizada y sella la cámara de reabsorción, en una zona llamada "de sellado". En la parte central de esta cámara, la superficie de la célula se agranda a través de numerosos pliegues citoplasmáticos que forman el "borde arrugado" (Fig. 2-8b). A través de esta zona agrandada de la célula, iones de hidrógeno y enzimas proteolíticas son liberadas para disolver los cristales minerales y degradar la matriz ósea orgánica.

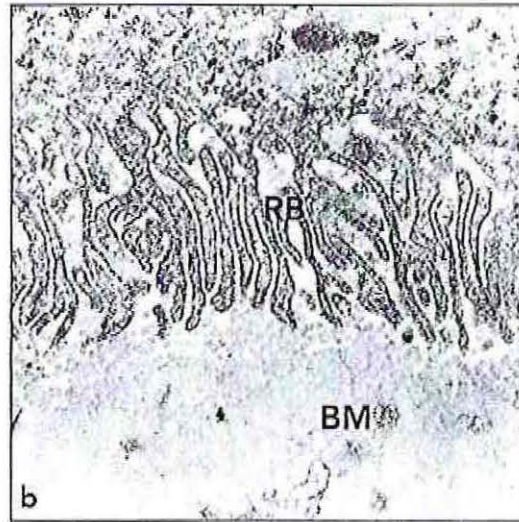
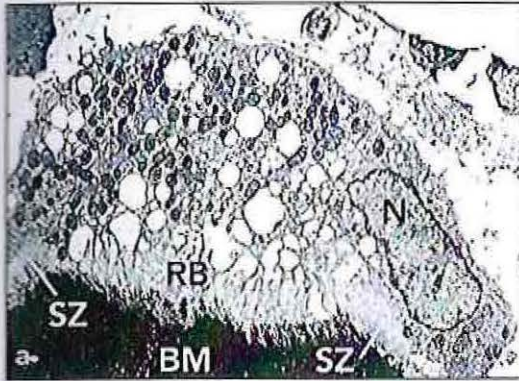


Fig. 2-8. a). Micrografía de Transmisión de Electrones donde se muestra un Osteoclasto con el borde arrugado (RB, del inglés Ruffled Border), la zona de sellado (SZ, del inglés Sealing Zone), y numerosas mitocondrias, vesículas y vacuolas, pero con un solo núcleo (N). El borde arrugado representa el sitio de la matriz ósea (BM, del inglés Bone Matrix) donde ocurre la disolución y degradación ósea. **b).** Micrografía de Transmisión de Electrones agrandada del borde arrugado (RB) y matriz ósea (BM).

Matriz Ósea.

Deposición y Mineralización.

Los Osteoblastos sintetizan una mezcla de macromoléculas, que son secretadas al medio extracelular, para formar la matriz ósea —osteóide o prehueso— que consiste en una matriz unida de proteínas colágenas y no colágenas. A una cierta distancia del osteoblasto, en el frente de mineralización, la sustancia osteóide se convierte en hueso mineralizado. La mineralización del hueso reticulado es iniciada por vesículas de la matriz. En contraste, estas vesículas rara vez están presentes en la mineralización de la sustancia osteóide del hueso laminar. Sin embargo, la primera mineralización en aparecer entre las fibrillas colágenas puede ser encontrada en unas pequeñas y discretas fosas, que están distribuidas en la sustancia osteóide y que se acumulan en el frente de mineralización (Fig. 2-9). La localización conjunta de proteínas óseas no colágenas, tales como, la osteopontina y la sialoproteína ósea, con estas pequeñas fosas de mineralización, indican la asociación de estas proteínas con el proceso de mineralización. La glicoproteína ósea ácida 75 y la osteocalcina, por otra parte, muestran un patrón de distribución difuso a través de la matriz ósea mineralizada⁶³.

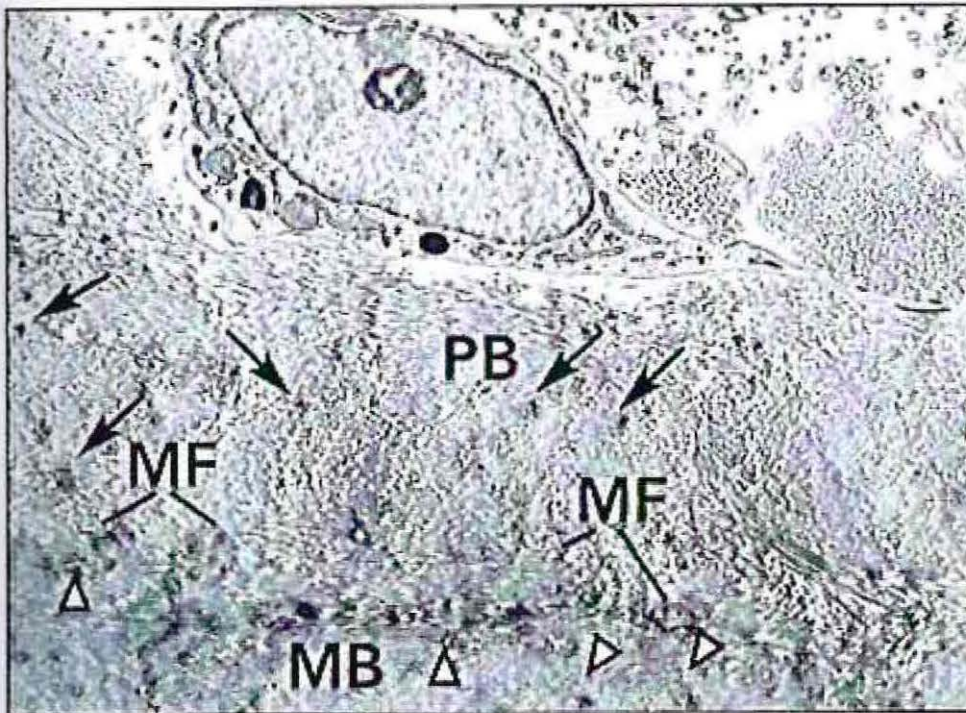


Fig. 2-9

Micrografía de Transmisión de Electrones donde se ilustra un osteoblasto, la sustancia osteoide o prehueso (PB, del inglés Prebone), el frente de mineralización (MF, del inglés Mineralization Front) y la matriz ósea mineralizada (MB, del inglés Matriz Bone). Las fosas de mineralización (Flechas) y los "Parches Grises" (Cabezas de Flechas) son visibles en la sustancia osteoide y en la matriz ósea mineralizada.

Constituyentes.

La matriz ósea es un compuesto biológico, consistente en agua, minerales, colágenos y macromoléculas no colágenas (Proteínas no colágenas)⁶⁴⁻⁶⁷. Los colágenos juegan un papel estructural y morfogénico. En los tejidos mineralizados, estos interactúan con varias proteínas no colágenas para proveer un armazón para la acomodación de los cristales minerales. Las proteínas no colágenas del hueso, pueden ser clasificadas en glicoproteínas, proteoglicanos, proteínas derivadas del plasma, factores de crecimiento y otras macromoléculas. A parte de tener una función estructural, la matriz ósea alberga moléculas que participan en

la biomineralización y en las interacciones entre las células y la matriz misma, y también sirve como una reserva de factores de crecimiento y citoquinas.

Durante la reparación del tejido, los factores de crecimiento y diferenciación no son sólo producidos por las células locales, sino que también pueden ser liberados desde la matriz mineralizada. La opinión prevalente es que los factores de crecimiento liberados por la matriz mineralizada durante el proceso de reabsorción de los osteoclastos, ejercen sus funciones sobre las células locales. Los factores de crecimiento presentes en la matriz ósea incluyen: factores de crecimiento tipo insulina, factores de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento transformador beta (TGF-beta) y factores de crecimiento derivados de plaquetas.

La súper familia de TGF-beta es de mucho interés para la regeneración ósea y también para la formación de hueso nuevo. Los miembros de esta familia son factores solubles que regulan el desarrollo embrionario, la morfogénesis y una variedad de respuestas funcionales, incluyendo la proliferación celular, diferenciación, apoptosis y el ciclo celular. Sus acciones dependen no sólo del tipo de célula, sino que también de las citoquinas y otros factores de crecimiento presentes en el medio local.

Osteoblastos.

Los osteoblastos se originan de las células madres mesenquimales en la médula ósea⁶⁸. La diferenciación de las células hacia el linaje osteoblástico es controlado por múltiples factores de transcripción durante varias etapas de su desarrollo. El factor de Unión del Núcleo alfa1 (Cbfa1), también conocido como Runx2 y osterix (Osx), similar al Cbfa1, son los factores más importantes para la diferenciación de los osteoblastos⁶⁹. La expresión del factor Cbfa1 no está restringida a las células del linaje osteogénico y condrogénico^{70,71}, por lo que la expresión de este factor en células completamente diferenciadas, sugiere roles adicionales de la función de los osteoblastos.

Durante la vida, el esqueleto sufre un continuo remodelado, con el propósito de reparar zonas y adaptarse a las condiciones mecánicas funcionales. Las consecuencias de un desequilibrio en la expresión de las moléculas señalizadoras, son los desórdenes metabólicos óseos, o enfermedades como la de Paget, Osteopetrosis, Osteoporosis, artritis o la pérdida ósea en la periodontitis^{72,73}. La regulación de la remodelación ósea, está bajo un control local y también sistémico. Los factores locales operan de una manera paracrina (células vecinas producen el factor) y autocrina (la misma célula donde hará efecto produce el factor), y, los osteoblastos, osteoclastos y las células inmunes e inflamatorias funcionan de ambas maneras, como productoras y como blancos de estas moléculas señalizadoras. Numerosas citoquinas y factores de crecimiento tienen efectos anabólicos y catabólicos sobre la formación ósea^{74,75}. Dentro de estas moléculas

reguladoras del hueso están la hormona paratiroidea, la calcitonina, el calcitriol (forma activa de la vitamina D), prostaglandina E2, la hormona del crecimiento, la hormona tiroidea, esteroides sexuales (estrógeno y testosterona), la leptina, el interferón gama, el factor de necrosis tumoral alfa, el factor transformador del crecimiento alfa (TGF alfa), TGF beta, proteínas óseas morfogenéticas (POMs), factor de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento tipo insulina 1, factores de crecimiento derivados de plaquetas y las interleuquinas 1,6,11 y 17.

Osteoclastos.

A diferencia de los osteoblastos, los osteoclastos se originan de células madres hematopoyéticas⁶². Es por esto que muchos de los factores de crecimiento y factores de transcripción que están envueltos en la diferenciación hematopoyética de otras células, también afectan la diferenciación de los osteoclastos⁶⁹.

La remodelación ósea normal depende de un delicado balance entre la formación y la reabsorción ósea. La reabsorción ósea es regulada por unas moléculas: el receptor activador del factor nuclear B (RANK) y su ligando RANK-L, los que son miembros de la familia de los factores de necrosis tumoral; y la osteoprotegerina (OPG) (Fig. 2-10). El RANK-L es expresado por las células del estroma de la médula ósea, los osteoblastos y algunos fibroblastos, mientras que el RANK es expresado por los precursores de osteoclastos y su versión adulta. La unión del RANK al RANK-L induce la diferenciación y activación de los osteoclastos y regula la supervivencia de estos. El OPG, sin embargo, que es producido por las células del estroma de la médula ósea, osteoblastos y ciertos fibroblastos, es un receptor decodificador soluble para RANK-L que compite por esta unión. Por lo tanto el OPG es un inhibidor natural de la diferenciación y activación de los osteoclastos.

Cualquier interferencia en este sistema puede empujar la balanza entre la aposición y reabsorción ósea. La expresión del factor estimulador de colonias de macrófagos, juega un rol importante en este sistema regulatorio. Más aún, un número no menor de citoquinas y factores de crecimiento pro-inflamatorios, en particular la interleuquina 1 y el factor de necrosis tumoral alfa, regulan la expresión del RANK-L y la OPG. El sistema inmune modifica el balance entre la formación y reabsorción ósea en un complejo proceso, que incluye a los linfocitos T y B, células dendríticas y citoquinas. A través de la expresión del RANK-L, en las células B, células T y en las células del estroma de la médula ósea, y la expresión del RANK en los precursores de los osteoclastos, osteoclastos maduros, linfocitos T y B y células dendríticas, estas células pueden influenciar directamente la reabsorción ósea⁷⁶⁻⁷⁸.

El descubrimiento de este importante sistema regulatorio, que une la biología ósea con la biología de la inmunidad celular ha creado la posibilidad de nuevas estrategias terapéuticas.

Algunos intentos para prevenir la pérdida y reabsorción ósea utilizando una OPG recombinante han sido exitosos. Sin embargo, estos pacientes produjeron anticuerpos para estas OPG recombinantes, lo que llevó este nuevo desarrollo a un fracaso temprano. Otra manera de bloquear la señalización del RANK, es a través del uso del Denosumab, un anticuerpo monoclonal humano contra el RANK-L. Algunos estudios clínicos se están llevando a cabo explorando sus efectos en la pérdida ósea en paciente con osteoporosis, metástasis óseas, mielomas y artritis reumatoide⁷⁹.

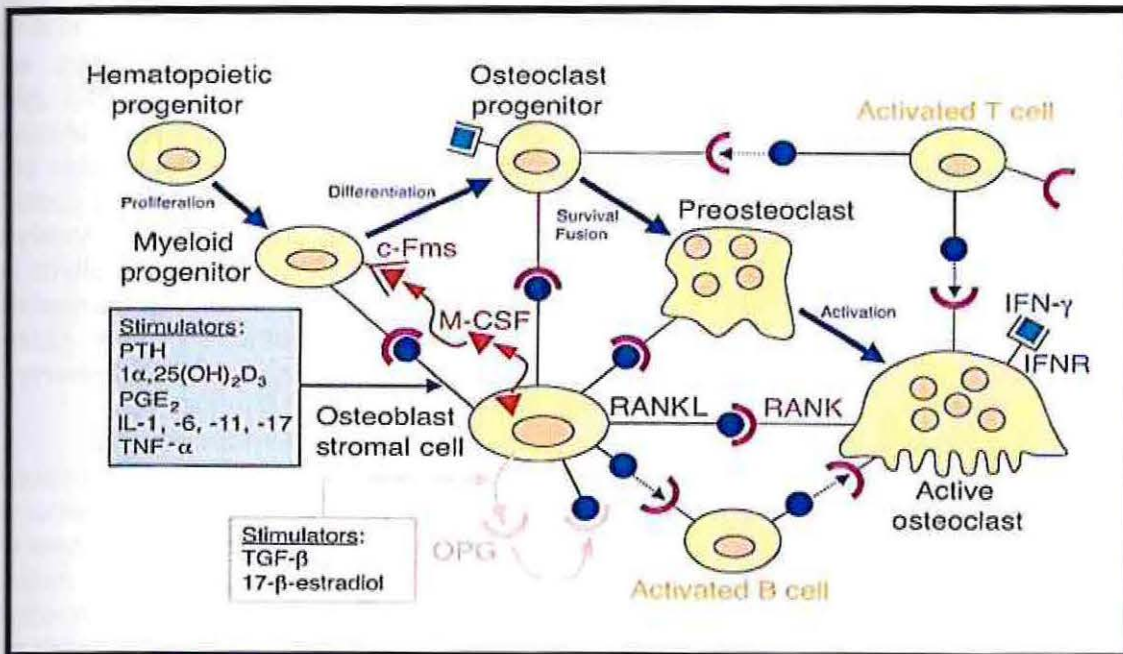


Fig. 2-10.

Sistema RANK/RANK-L/OPG. (PTH, del inglés parathyroid hormone) Hormona paratiroidea; ($1\alpha,25(OH)_2D_3$) $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D3 o calcitriol; (PGE_2) Prostaglandina E2; (IL-1-6-11-17) Interleuquinas 1-6-11-y 17; (TNF alfa, del inglés Tumor Necrosis Factor) Factor de Necrosis Tumoral alfa; (M-CSF, del inglés Macrophage colony-stimulating factor) Factor estimulador de colonias de Macrófagos; (c-Fms) Receptor de M-CSF; (RANK) factor receptor de activación nuclear; (RANK-L) ligando de RANK; (INF gama) interferón gama; (IFNR) Receptor de interferón gama; (TGF beta) factor transformador de crecimiento beta; (OPG) Osteoprotegerina.

Mantenimiento Óseo.

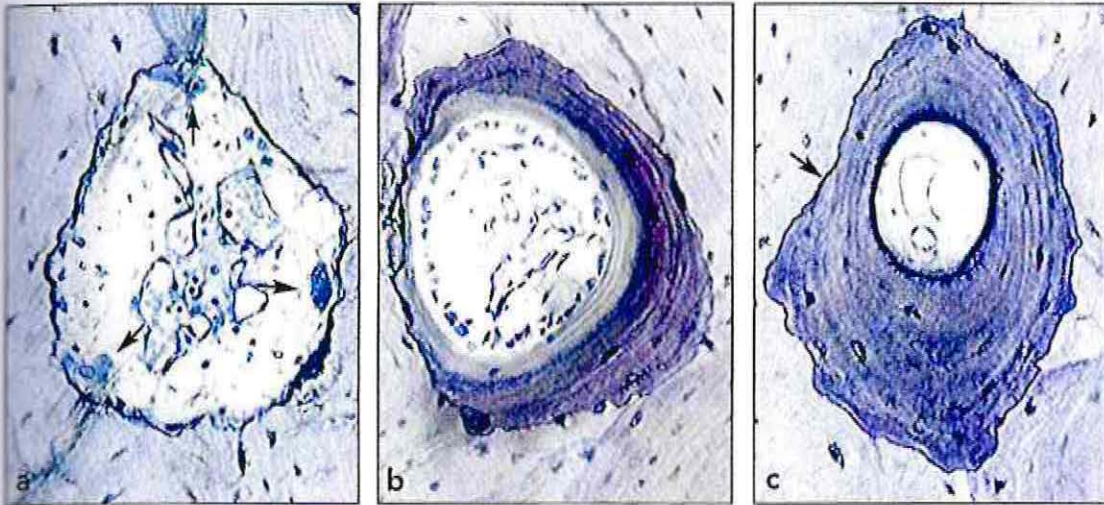
El modelado y remodelado óseo, continúa, luego del término del desarrollo. Las moléculas señalizadoras involucradas en la regulación de la diferenciación y actividad celular, ya fueron señaladas en los párrafos anteriores. El propósito de este nuevo enunciado, es poder recorrer los aspectos morfológicos del modelado y remodelado óseo, luego del término del crecimiento y desarrollo. La remodelación del hueso cortical es diferente a la del hueso trabecular. Ambos tipos de hueso sufren remodelaciones fisiológicas.

Hueso Cortical.

Las osteonas primarias son formadas durante el crecimiento aposicional, mientras que las secundarias son el resultado de la sustitución de la matriz ósea. La unidad fundamental de la remodelación del hueso cortical es la osteona (ver Fig. 2-2). En la Figura 2-11 podemos apreciar la secuencia de remodelación. Al comienzo, los osteoclastos forman un canal de reabsorción. Más tarde, aparecen los osteoblastos y comienzan a rellenar el canal con laminillas concéntricas. En el hueso compacto humano, las osteonas secundarias completas tienen un diámetro externo de entre 200 a 250um, con el canal vascular central – el canal harvesiano – midiendo entre 50 a 80um⁸⁰. Siendo estructuras cilíndricas coherentes, las osteonas secundarias raramente miden más de 2.0 a 3.0 mm de largo. Estas están interconectadas a intervalos de 0.5 a 1.0 mm por canales vasculares transversos, llamados canales de Volkmann.

Las secciones longitudinales de las osteonas recientemente formadas muestran que la reabsorción y aposición ósea está ligada en el tiempo y espacio, y ocurren en pequeños sitios de remodelado llamadas unidades metabolizantes de hueso. En el frente de avance de los canales de reabsorción, los osteoclastos están organizados en una especie de cono de corte (Fig. 2-12). Mientras los osteoclastos avanzan de manera longitudinal, también ensanchan el canal de reabsorción hasta su diámetro final. Siempre encontraremos la punta de un asa vascular por detrás de los osteoclastos. Esta asa se encuentra en el centro del canal y está rodeada por células perivasculares, que incluyen osteoclastos y células precursoras de osteoblastos. En el reverso, entre la reabsorción ósea y la aposición de matriz ósea, la pared del canal está recubierta de células mononucleares. Más atrás, dentro del cono de corte, aparecen los osteoblastos, los que depositan la matriz ósea laminillar, que más tarde será mineralizada. Dependiendo de la especie, el término en la formación de la osteona, varía entre 2 a 4 meses.

Estas medidas y cálculos están basados en marcajes secuenciales fluorocromáticos (Fig. 2-13), y también en la determinación exacta de la tasa de reabsorción osteoclástica de las secciones longitudinales, que va de 50 a 60um por día en perros.



Figs. 2-11

Hueso cortical en remodelación en el húmero de un hombre adulto. a) Canal de Reabsorción con Osteoclastos (flechas). b) Laminillas concéntricas depositadas por los Osteoblastos. c) Osteona secundaria finalizada, unida por una línea de cemento.

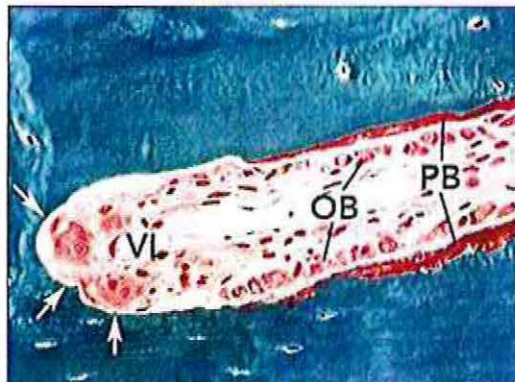


Fig. 2-12.

Sección longitudinal a través de la punta de una osteona secundaria en formación (Unidad metabolizante de hueso), durante una reparación de fractura en un radio de un perro. Flechas: Cono de corte Osteoclástico; VL, del inglés Vascular Loop: asa vascular; OB: Osteoblastos; PB, del inglés Prebone: hueso osteoide o prehueso. Sección de Micrótopo; (Tinción tricolor de Goldner).



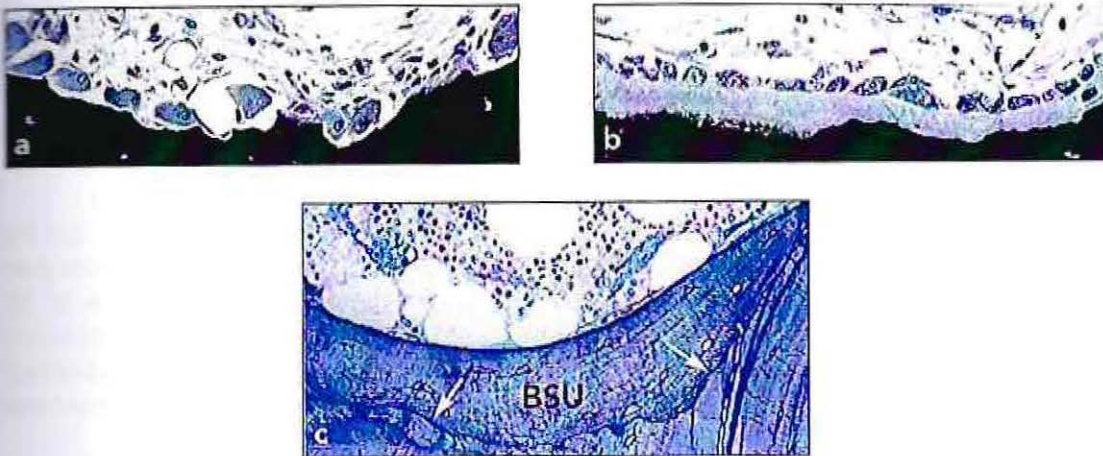
Fig. 2-13.

Marcaje secuencial policromático de una unidad metabolizante de hueso, a intervalos semanales (cabezas de flecha), para medir la Tasa de Reabsorción Osteoclástica Diaria.

Hueso Esponjoso.

Mientras que la arquitectura original del andamiaje trabecular es determinada por el patrón de crecimiento, el modelado del esponjoso cambia esta arquitectura, a lo largo de la vida. La red trabecular sufre profundos cambios que resultan en una adaptación estructural a las cargas funcionales prevalentes, o, como también se le conoce, acorde a la "**Ley de Wolff**"⁸¹. Esta adaptación le permite al hueso soportar un estrés determinado, con una mínima cantidad de material. El mecanismo de esta adaptación funcional no está totalmente dilucidado, y en la actualidad, la Ley de Wolff ofrece una explicación conveniente para aceptarla como realidad, sin buscar otras explicaciones.

La remodelación ósea mejora la calidad del tejido, en relación a sus dos propiedades: mecánicas y metabólicas. El remodelado del hueso trabecular, reemplaza porciones discretas (paquetes), con nuevo hueso laminillar (Fig. 2-14). La formación de un nuevo paquete comienza con el reclutamiento de osteoclastos locales los cuales forman una cavidad en la superficie trabecular.



Figs. 2-14.

Remodelación de Hueso Trabecular en una biopsia de cresta ilíaca humana. a) Fase de Reabsorción. b) Fase de Formación Temprana. c) Nuevo paquete formado (Unidad estructural de Hueso o BSU, del inglés Bone Structural Unit), claramente delimitada por una línea de cemento (Flechas). (a y b: tinción de Von Kossa-McNeal; c: tinción superficial de azul de toluidina).

La profundidad media de estas cavidades de la superficie es de 50µm, y raramente exceden los 70µm. Al final de la fase de reabsorción, y luego de una corta pausa, también llamada fase reversa, los osteoblastos comienzan a depositar la nueva matriz ósea, durante la siguiente fase, llamada fase formativa. En comparación a las osteonas, el nuevo paquete es considerado como la unidad estructural de hueso, y las células involucradas en su formación, se consideran como las unidades metabolizantes de hueso.

Considerando la extensión de superficie de hueso trabecular en el esqueleto humano, el control de la dinámica del remodelado del esponjoso juega un papel muy importante en la patogénesis de desórdenes óseos metabólicos, particularmente en la osteoporosis.

Línea de Cemento.

La línea de cemento es una entidad estructural característica del hueso. Delimita la interface entre el hueso nuevo y el antiguo. Se pueden distinguir dos tipos de líneas de cemento: líneas de descanso y líneas reversas. Las líneas de descanso son suaves y estrictamente paralelas a las laminillas. Estas se forman cuando la formación ósea se detiene y, luego de un período de descanso, comienza de nuevo. Las líneas reversas se forman durante la fase reversa, ejemplo: estas constituyen la matriz que es depositada directamente sobre la

superficie ósea que fue previamente reabsorbida por los osteoclastos (Fig. 2-15). Ambas líneas muestran una composición y estructura similar, aunque las líneas de descanso no están expuestas a la reabsorción de los osteoclastos, como en las líneas reversas.

Las osteonas secundarias siempre están separadas (o conectadas) de la matriz ósea antigua a través de una línea de cemento. Así mismo, los nuevos paquetes formados, luego del término del remodelado trabecular, son separados de la antigua matriz ósea por una línea de cemento. Las lagunas de Howship, dejadas atrás por los osteoclastos, dan a las líneas de cemento una apariencia festoneada (ver las Figs. 2-11c y 2-14c). El número de líneas de cemento, de descanso y reversas, indican la intensidad de la transformación de la matriz ósea.

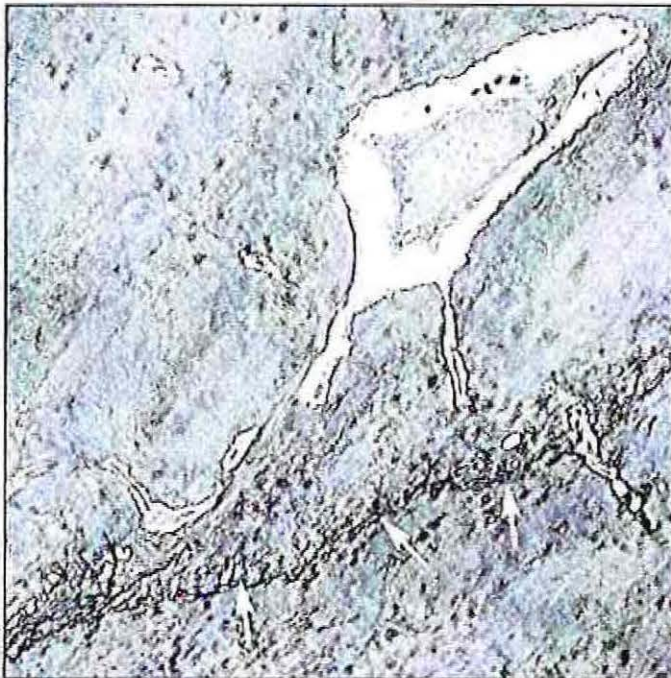


Fig. 2-15.
Micrografía de transmisión de electrones donde se aprecia una Línea de Cemento (flechas) en la interfase entre hueso nuevo y antiguo.

Biología de la Regeneración Ósea.

Regeneración Fisiológica vs Reparativa.

La regeneración es comúnmente entendida como el reemplazo de componentes perdidos en el cuerpo por elementos de igual organización estructural, lo que permite que la estructura y función sean completamente recuperadas. La regeneración fisiológica es distinta a la regeneración reparativa.

Muchos tejidos u órganos sufren regeneraciones fisiológicas, que se refiere a el recambio continuo de células y elementos de estos tejidos. La remodelación de los huesos corticales y trabeculares también representa una regeneración, las células y la matriz son reemplazadas.

La regeneración reparativa ocurre cuando los tejidos son perdidos debido a algún daño por una lesión o enfermedad. El hueso posee el potencial único de restaurar completamente su arquitectura original, pero existen ciertas limitaciones. La reconstrucción del nivel de tejido original ocurre secuencialmente y repite de manera muy parecida el patrón de formación ósea que se produce durante el desarrollo y crecimiento. Así también, se deben cumplir algunas condiciones básicas, tales como un abundante suministro sanguíneo y una estabilidad mecánica estable, dada por una sólida base ósea.

Este patrón de regeneración ósea y algunas posibilidades de promover y proteger el proceso de reparación serán revisadas a través de observaciones histológicas en algunos estudios experimentales a continuación.

Activación de la Regeneración Ósea.

Cualquier lesión ósea (fractura, defecto, inserción de un implante o alguna interrupción del suministro sanguíneo), activa la regeneración ósea local, a través de la liberación y producción local de factores de crecimiento y otras moléculas de señalización. El hueso es una de las fuentes más ricas en factores de crecimiento en el cuerpo humano. La Osteoinducción, en su concepto clásico, implica la iniciación de la formación ósea de tipo heterotópica (ectópica), esto quiere decir, formación ósea en lugares en donde el hueso fisiológicamente no existe. El término Osteoinducción, sin embargo, es frecuentemente aplicado cuando la osificación es activada en contacto con huesos existentes. Esto es, en el caso de la inducción ósea de tipo ortotópica. Para evitar confusiones, se preferirá utilizar el término Activación Ósea en los casos de formación ósea de tipo ortotópica.

En la formación ósea de tipo heterotópica, las células osteoprogenitoras inducibles se encuentran lejos del hueso. Estas células mesenquimales son abundantes en los tejidos conectivos subcutáneos, los músculos esqueléticos y en las cápsulas del bazo y los riñones. Sus respuestas a los estímulos inductivos, tales como las Proteínas Óseas Morfogénicas (POMs), son muchos más

complejas que en el caso de la formación ósea ortotópica, y en muchos aspectos limita la formación ósea endocondral. Luego de la implantación subcutánea de las POMs en ratas, a los 3 a 4 días comienza la proliferación de células mesenquimales. Del 5to a 8vo día, el cartílago se desarrolla y al cabo de un día comienza a mineralizarse. La invasión vascular y la sustitución del cartílago por hueso calcificado, sigue desde el día 10 y 11 en adelante. La diferenciación intermedia en cartílago parece ser un paso obligatorio cuando son inducidas las células osteoprogenitoras, por lo que la respuesta es siempre formación ósea indirecta.

En la formación ósea ortotópica, las células osteoprogenitoras están en los tejidos en una proximidad directa al hueso, como en el estroma de la médula ósea, el periostio, el endostio y en los canales intracorticales. Estas células responden a señales inductivas, proliferando y diferenciándose directamente en osteoblastos. Por lo tanto, en la inducción de hueso ortotópica, los agentes inductivos actúan sobre determinadas células osteoprogenitoras, y la respuesta celular es formar hueso directamente. La fase de latencia es corta – entre 1 a 3 días – y el hueso nuevo formado se deposita en la superficie de hueso preexistente.

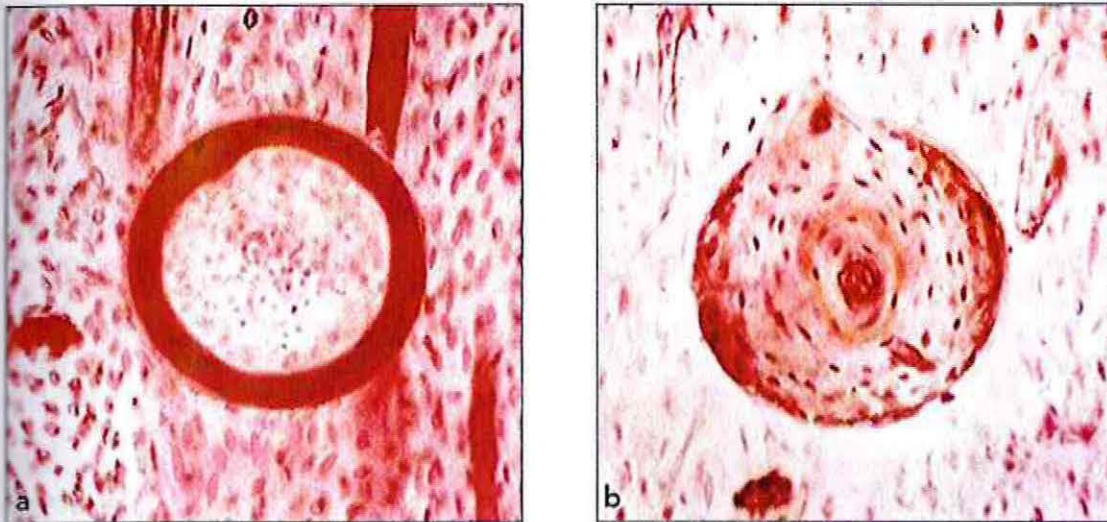
Reparación de defectos óseos.

La reparación de defectos óseos es un excelente ejemplo para el estudio de la regeneración ósea. En contraste con las fracturas, los defectos están menos sujetos a factores mecánicos y a obstrucciones del aporte sanguíneo. Es por esto que la reparación de defectos ha sido usada en muchos experimentos clásicos en los que se quiere evaluar la influencia de distintas medidas quirúrgicas y farmacológicas en las regeneraciones óseas.

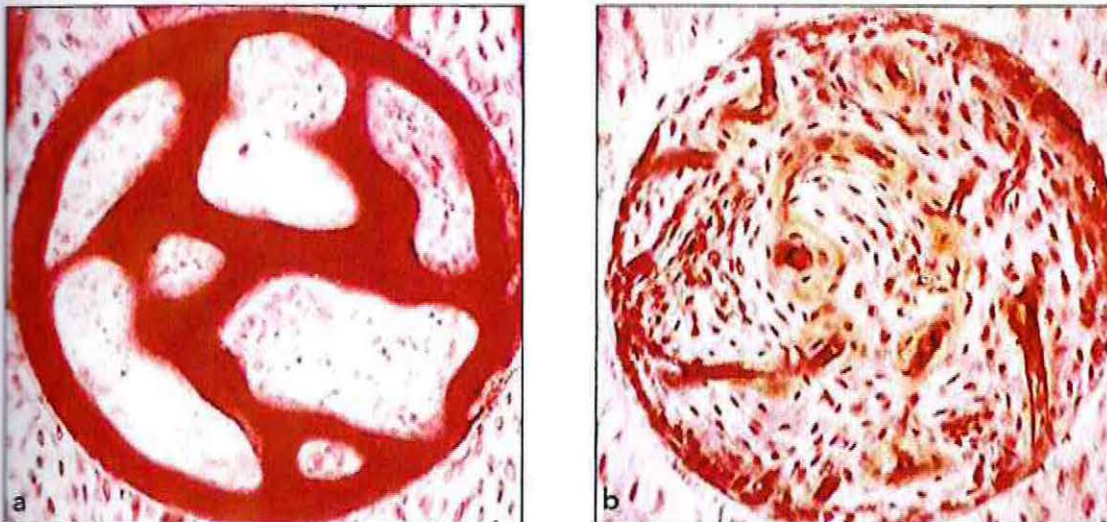
Defectos óseos corticales pequeños.

Johner examinó la reparación de perforaciones de fresa de diámetro de 0,1 a 1.0mm en tibias de conejo. La formación ósea en estas perforaciones comenzó al cabo de 2 días, sin ser precedida por reabsorción osteoclástica, y reveló una relación según el tamaño del defecto. Las perforaciones con un diámetro cercano a las osteonas (0.2mm) son rellenas concéntricamente con hueso laminillar (Figs. 2-16). En perforaciones más grandes, primero se forma un andamiaje de hueso esponjoso y luego hueso laminillar es depositado en los espacios intertrabeculares formados recientemente, los que tienen un diámetro aproximado de entre 150 a 200um (Fig. 2-17). Tal cual como en el crecimiento aposicional, la tasa de deposición de la matriz ósea laminillar está restringida a dos micrones al día, mientras que el hueso esponjoso crea rápidamente puentes en los defectos más grandes. Luego de 4 semanas, ambos defectos, pequeños y grandes, son rellenos con hueso compacto. Existe, sin embargo un límite en el crecimiento

rápido del hueso esponjoso. En el caso del hueso cortical en los conejos, este límite se aproxima al milímetro de largo.



Figs. 2-16. Reparación de un defecto de hueso cortical muy pequeño. En a) se muestran las perforaciones de fresas con un diámetro de 0,2mm luego de 1 semana, y en b) luego de 4 semanas. (Tinción básica de fucsina)



Figs. 2-17. Reparación de un defecto óseo cortical pequeño. En a) se muestra la perforación de diámetro 0,4mm luego de 1 semana, y en b) después de 4 semanas. (Tinción básica de fucsina).

Estudios experimentales realizados en perros, demostraron resultados similares⁸², en donde es utilizada la frase "Distancia de Salto Osteogénico". Este término indica que el hueso no es capaz de rellenar separaciones mayores a 1mm en un solo salto. En el caso de los implantes, la situación es aún más difícil, ya que solamente se pueden realizar puentes sobre los defectos desde el lado de la superficie ósea. Esto no quiere decir que perforaciones o separaciones óseas más grandes estarán abiertas indefinidamente, pero el relleno tomará muchos más tiempo, lo que se comprueba en perforaciones óseas de 3 a 5mm, las cuales persisten por varias semanas, incluso meses, hasta que la reparación es completada. La reparación ósea alrededor de las superficies de implantes, ha sido analizada en relación a la distancia entre la superficie implantaria y el hueso que la rodea⁸³, al variar las características de las superficies de los implantes^{84,85}.

El término del relleno del defecto no es sinónimo con el término de la reparación. Aunque el hueso regenerado parece ser compacto, su estructura es muy diferente a la del hueso cortical definitivo. Lo último debe ser llevado a cabo por la remodelación harvesiana. La remodelación ósea comienza en la cortical que rodea la perforación de la fresa, alrededor de 3 semanas luego de la creación del defecto. El remodelado es activado por el ambiente tisular local, incluyendo el daño vascular producido durante la perforación. La remodelación progresa desde los márgenes del defecto hacia el nuevo hueso formado, y lo reemplaza con osteonas secundarias orientadas longitudinalmente. Luego de un par de meses, el pequeño defecto cortical está totalmente reconstruido y sólo puede ser identificado con una evaluación microscópica detallada.

En resumen, la reparación de defectos corticales pequeños puede ser dividida en dos fases que asemejan la formación de hueso compacto durante el crecimiento y desarrollo. La simple lesión producida al realizar una perforación parece activar una secuencia de eventos programada, que comienza con el relleno del defecto por la formación de hueso aposicional, lo que lleva a la integración estructural del área del defecto a través del remodelado harvesiano.

Defectos óseos medulares pequeños.

Los defectos óseos medulares pequeños revelan un patrón de reparación similar. La reparación también ocurre en dos fases, comenzando con la formación de hueso esponjoso a lo largo del defecto y entre los espacios intertrabeculares adyacentes. Este andamiaje primario es luego reforzado por un relleno concéntrico consistente en fibras óseas primarias y paralelas, que aumentan considerablemente la densidad en el área donde anteriormente se encontraba el defecto. En una segunda fase, la remodelación devuelve la arquitectura trabecular preexistente.

Promoción de la Regeneración Ósea.

El tejido óseo exhibe un potencial regenerativo considerable, que recupera perfectamente su estructura y propiedades mecánicas originales. Sin embargo, este potencial tiene sus limitaciones y puede incluso fallar si ciertas condiciones no se cumplen. **Los factores que pueden limitar, o incluso impedir que se produzca la regeneración ósea, entre otros, son:**

- A). **Falla en el aporte sanguíneo,**
- B). **Inestabilidad mecánica,**
- C). **Defectos de un tamaño muy amplio y**
- D). **Tejidos con alta actividad proliferativa que compiten en el relleno del defecto.**

Sin embargo, diversas opciones, solas o combinadas, están disponibles para promover y dar soporte a la formación ósea, y entre estas se incluyen:

- 1). **Osteoinducción por factores de crecimiento,**
- 2). **Osteoconducción a través de injertos óseos o sustitutos,**
- 3). **Transferencia de células madre o progenitoras, que se diferencian en osteoblastos,**
- 4). **Distracción ósea y**
- 5). **Regeneración ósea guiada usando barreras.**

Veremos a continuación los principios y observaciones experimentales de algunos de estos métodos.

Uso Terapéutico de factores de diferenciación y crecimiento.

La **Inducción de formación ósea** requiere de tres elementos:

- 1) **Señales osteoinductivas solubles,**
- 2) **Células que son capaces de responder a éstas y otras señales, y**
- 3) **Una matriz de soporte o andamiaje que contenga y proporcione células y/o factores moleculares.**

Los factores de crecimiento, tales como los factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento derivados de plaquetas, factores de crecimiento vasculares endoteliales, factores de crecimiento tipo insulina y hormonas de crecimiento están siendo testeados en investigaciones experimentales, para clarificar sus roles potenciales en el mejoramiento de la reparación esquelética. Sin embargo, estos factores de crecimiento no poseen

propiedades osteoinductivas verdaderas, por sí solos. Es por esto que los investigadores y clínicos tienen sus esperanzas puestas en el uso terapéutico de las Proteínas Óseas Morfogenéticas (POMs) en Odontología, para poder mejorar la formación ósea.

La capacidad osteoinductiva del hueso⁸⁶ y matriz dentinaria desmineralizadas⁸⁷, ha sido conocida desde hace muchos años, y ha sido atribuida a la actividad de ciertas moléculas, referidas como Proteínas Óseas Morfogenéticas (POMs)⁸⁸. A la fecha, se han identificado por lo menos 20 miembros de la familia de las POMs. Dos de ellas, la POM-2 y la POM-7, son las que poseen la mayor atención y parecen ser las más prometedoras para su uso como arsenal terapéutico en el mejoramiento de la reparación ósea. En los EEUU y Europa, dos proteínas recombinantes humanas, la rhPOM-2 y la rhPOM-7, están siendo utilizadas en los casos más problemáticos. Son tres los casos donde está aprobado su uso: en la no unión de fracturas óseas, en las fracturas abiertas de tibia y en las fusiones espinales.

Aunque las rhPOMs han sido testeadas de manera experimental en Implantología Dental y Periodoncia, su uso aún no es rutinario. En un estudio realizado por Jung y colaboradores⁸⁹, evaluaron el efecto en la regeneración ósea en humanos, utilizando la rhPOM-2 en conjunto con hueso bovino mineral desproteínizado, como material sustituto óseo. Los análisis histomorfométricos mostraron que no había una diferencia estadística significativa en la cantidad relativa de nuevo hueso formado. Sin embargo, la adición de la rhPOM-2 aumentó el contacto injerto-hueso y mejoró el proceso de maduración del nuevo hueso formado. No obstante, las expectativas de uso terapéutico rutinario de rhPOMs para defectos óseos relativamente pequeños o deficiencias en Periodoncia e Implantología Dental, no deben ser muy altas.

La rhPOM-2 y la rhPOM-7, son predominantemente usadas en pacientes ortopédicos, en los cuales se han agotado todas las otras alternativas de tratamientos. En la cavidad oral, Warnke y colaboradores⁹⁰, lograron una espectacular reconstrucción en un paciente que había sufrido una mandibulectomía parcial. La reconstrucción mandibular fue lograda con un segmento mandibular "de novo", creado en una jaula de titanio, rellena con bloques minerales, médula ósea del paciente y 7mg de rhPMO-7, luego de su implantación dentro del músculo dorsal ancho y unido a un pedículo vascular de la arteria toracodorsal. Siete semanas más tarde, fue transferido este colgajo libre óseo-muscular y anastomosado para reparar el defecto mandibular.

Existen varias razones por las cuales la aplicación rutinaria de las rhPOMs aún no es posible, que incluyen: la necesidad de altas dosis para ser efectivas en humanos, disminución de la respuesta a estas proteínas en pacientes de mayor edad, una muy rápida depuración o "clearance", y su muy alto costo. El uso de un apropiado "portador" que lleve y entregue las rhPOMs podría prolongar su tiempo de acción en el área del defecto o herida. Sin embargo, la búsqueda del sistema portador más adecuado, está aún siendo

llevada a cabo. Un factor no esperado que ha sido observado en las investigaciones recientes en el uso de las rhPOMs es que el uso de estas proteínas en algunos casos provocan la liberación de factores que promueven la osteoclastogénesis y la activación de osteoclastos, lo que lleva a una reabsorción ósea secundaria⁹¹.

Injertos y Sustitutos Óseos.

Los materiales para injertos óseos son usados en cirugía reconstructiva para rellenar espacios vacíos, reemplazar porciones de hueso, aumentar el tejido óseo, facilitar o mejorar la reparación de los defectos óseos a través de la osteoconducción, proveer un soporte mecánico a la membrana, estabilizar el coágulo de sangre y servir de vehículo de transporte para antibióticos o factores de crecimiento. Un relleno óseo debe a lo menos ser seguro, no tóxico y biocompatible; proveer un soporte mecánico y un andamiaje osteoconductor; oseointegrarse o ser reemplazado; permitir el crecimiento hacia su interior de vasos sanguíneos; ser fácil de usar y costo efectivo. En la actualidad existen varias opciones de materiales de injerto, incluyendo los injertos autólogos (de la misma persona), injertos alogénicos (otra persona, misma especie), injertos xenogénicos (otra especie) e injertos aloplásticos (sintéticos). Estos materiales poseen una o más de las propiedades mencionadas a continuación: **osteoconducción, osteoinducción y osteogénicos.**

Los materiales osteoconductivos poseen una matriz, que sirve como andamiaje o marco que es usado como modelo para agrandar la base en donde el hueso será depositado. Los materiales con propiedades osteoinductivas poseen proteínas que estimulan y soportan la proliferación y diferenciación de células progenitoras para que se conviertan en osteoblastos. Osteogénico significa que el material contiene células osteogénicas (osteoblastos o precursores de estos) las que son capaces de formar hueso si se encuentran bajo las condiciones adecuadas.

El hueso autólogo es el material de injerto óseo preferido, ya que posee estas tres últimas propiedades: osteoinductivo, osteogénico y osteoconductor. Sin embargo la recolección de este hueso autólogo puede requerir una intervención quirúrgica adicional a la planificada en el sitio que se desea mejorar, lo que aumenta el tiempo operatorio, sube los costos, se producirá una mayor pérdida de sangre, mayor dolor y tiempo de recuperación. Más aún, se asocia a un riesgo aumentado de morbilidad en el sitio donante del injerto (por ejemplo: mayor dolor postoperatorio, posibles daños nerviosos y/o de vasos sanguíneos, hematomas, infección, formación de hernias y también a veces algunas desventajas cosméticas). Finalmente, la cantidad de hueso autólogo que uno puede recolectar es limitada.

El hueso alogénico, ciertos derivados óseos y los injertos óseos sintéticos tienen propiedades osteoconductoras similares al hueso autólogo. Los aloinjertos (sintéticos) son usados solos o en combinación con hueso autólogo, para el manejo de defectos óseos. Sin embargo, su eficacia es menor que la del hueso autólogo, por el momento^{92,93}.

Los injertos óseos xenogénicos y aloplásticos han aumentado su disponibilidad en el mercado, y se están volviendo cada vez más populares. Estos tienen propiedades osteoconductoras en diferentes grados, dependiendo del material. El relleno óseo de grandes defectos se facilita ampliamente por la osteoconducción. Se deben cumplir dos importantes condiciones para lograr una osteoconducción exitosa: 1) el andamiaje debe ser de un material bioinerte o bioactivo, y 2) la forma y dimensiones de su estructura externa e interna debe favorecer el crecimiento hacia adentro del tejido y la deposición ósea. Respecto a la forma y dimensión, los materiales que asemejan al hueso esponjoso proveen las condiciones ideales para el crecimiento hacia adentro de hueso, que también depende del crecimiento hacia adentro de vasos sanguíneos, a través de la angiogénesis⁹⁴.

Regeneración Ósea Guiada (ROG).

Principios.

La ROG, usualmente en combinación con materiales de relleno (injertos), es el método más ampliamente utilizado, para aumentos óseos en la práctica dental rutinaria. Debido a que el hueso es un tejido con un crecimiento relativo lento, ambos, los fibroblastos y las células epiteliales, tienen la oportunidad de ocupar el espacio disponible de manera más eficiente y así crear tejido blando conectivo de manera más rápida que el crecimiento óseo. Por lo tanto, el mecanismo biológico detrás de la ROG, es la exclusión de células no deseadas de la herida para permitir que proliferen células del tejido óseo dentro del espacio relleno por un coágulo, bajo la membrana de barrera. Si la función de la barrera oclusiva dura lo suficiente, y si esta membrana no se expone a la cavidad oral, existirán las condiciones óptimas para que células madres y osteoprogenitoras se diferencien en osteoblastos, las que depositarán la matriz ósea. **En otras palabras, la membrana de barrera crea un espacio aislado que permite al hueso utilizar su gran y natural capacidad regeneradora, de una manera protegida.** En el mercado existen membranas reabsorbibles y no reabsorbibles.

Patrón de Cicatrización Ósea.

Para comprender los patrones histológicos de cicatrización en la regeneración ósea con o sin una membrana de barrera, se revisó un estudio experimental realizado en mandíbulas de perros²⁸. En este estudio se crearon defectos óseos tipo silla de montar, de 8x12x10mm, 2 meses posterior a la

extracción de premolares. Algunos defectos fueron cubiertos por una membrana de barrera, y otros no (Fig. 2-18). Las membranas utilizadas fueron tres: membranas de ePTFE (politetrafluoroetileno expandido), y dos prototipos de ePTFE reforzadas con malla de polipropileno. La posición de las membranas fue asegurada con dos mini tornillos. No fue utilizado ningún relleno óseo. Sin embargo, fue inyectado bajo cada membrana un aspirado de sangre venosa. Los análisis histológicos fueron realizados luego de 2 y 4 meses de cicatrización.

Cicatrización sin membrana de barrera.

Los defectos que no recibieron membrana, o sea, controles, mostraron un patrón consistente entre todos, en el cual la formación ósea estuvo restringida a los márgenes del defecto, o sea, hacia las paredes óseas mesial, distal y en el fondo del mismo. El cierre del espacio medular se completó luego de 2 meses, pero la formación ósea no tuvo mayores progresos. A los 4 meses, el hueso tuvo un aumento pequeño en su densidad.

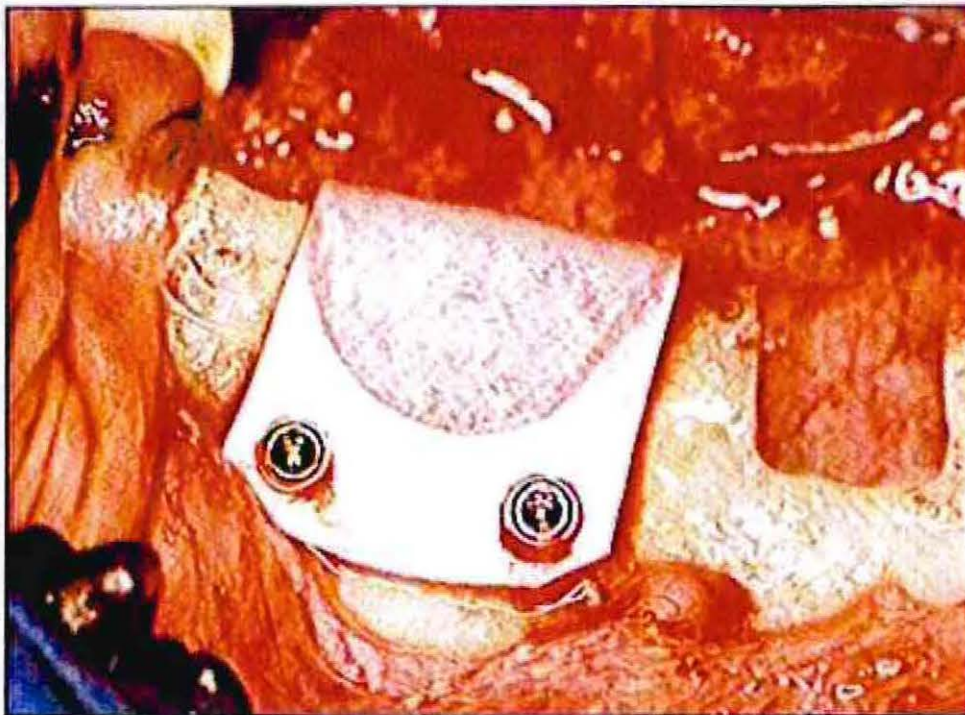


Fig. 2-18.

Procedimiento quirúrgico de Regeneración Ósea Guiada.

Exposición de la cresta alveolar y creación de los defectos en mandíbula de perro, 2 meses después de la extracción de los premolares. El defecto distal lo dejaron abierto, mientras que el mesial es cubierto con una membrana de barrera. Mini tornillos fijan la membrana y sirven de referencia de los límites del defecto para las radiografías posteriores.

Cicatrización bajo una Membrana de Barrera.

La protección de la membrana da como resultado cambios dramáticos en la regeneración ósea y tisular. La membrana mantiene el espacio creado durante la cirugía, y separa claramente el compartimento exterior, constituido por la mucosa oral, del compartimento interior, al cual sólo queda con acceso la cavidad medular ósea (fig. 2-19).

Este compartimento interno es rellenado inicialmente con un coágulo sanguíneo, y a los 2 meses, remanentes de este coágulo aún pueden ser reconocidos en la porción media del defecto (Figs. 2-20 a la 2-22). Sin embargo, el hematoma fue completamente penetrado por el tejido de granulación y vasos sanguíneos. La mayor cantidad del volumen de tejido aislado consiste ahora en un regenerado de hueso esponjoso que contiene, entre su trabeculado, un laberinto de pequeñas interdigitaciones de espacios medulares, llenos con tejido conectivo blando hipervascularizado. Ambos, los vasos y el tejido fibroso están en continuidad con la médula ósea original. La formación ósea comienza, como se ve en los controles, desde los márgenes de los defectos, desde donde se extiende hacia las aberturas de la cavidad medular (Fig. 2-22).

Por lo tanto básicamente existen tres centros de formación ósea, los que forman un sello con forma de domo sobre las entradas a la cavidad medular. Desde esta cobertura ósea, posteriormente, el hueso se expande hacia el centro del espacio protegido por la membrana. La radiografía de la figura 2-20 y los cortes seriados de la figura 2-21 demuestran este patrón característico de cicatrización ósea. La figura 2-22, ilustra el tercer centro de formación ósea, en el fondo del defecto.

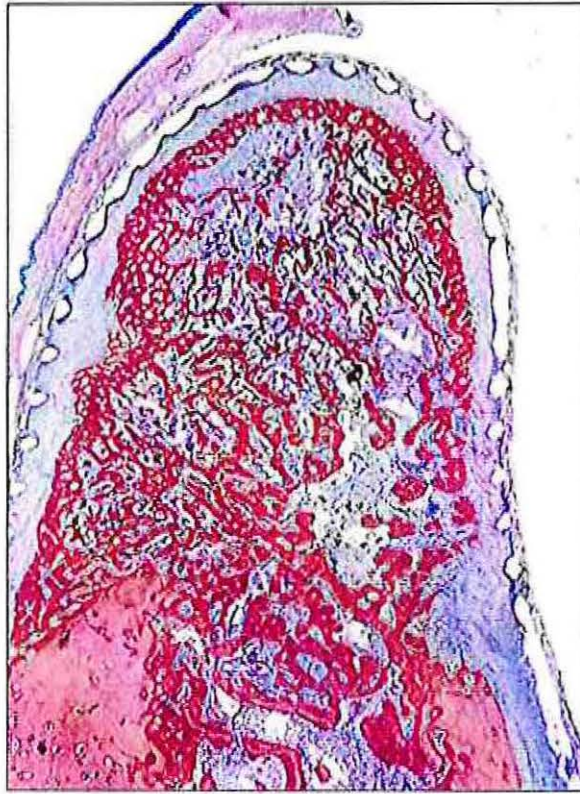


Fig. 2-19.

Sección bucolingual de un defecto cubierto por una membrana, luego de 2 meses de cicatrización, que revela el relleno óseo del espacio aislado bajo la membrana de barrera. (Tinción de Toluidina azul y Fucsina básica)



Fig. 2-20.

Radiografía de un defecto óseo cubierto por una membrana, luego de 2 meses de cicatrización, donde revela el crecimiento óseo interno desde las paredes mesial y distal, así como desde el fondo de este mismo.

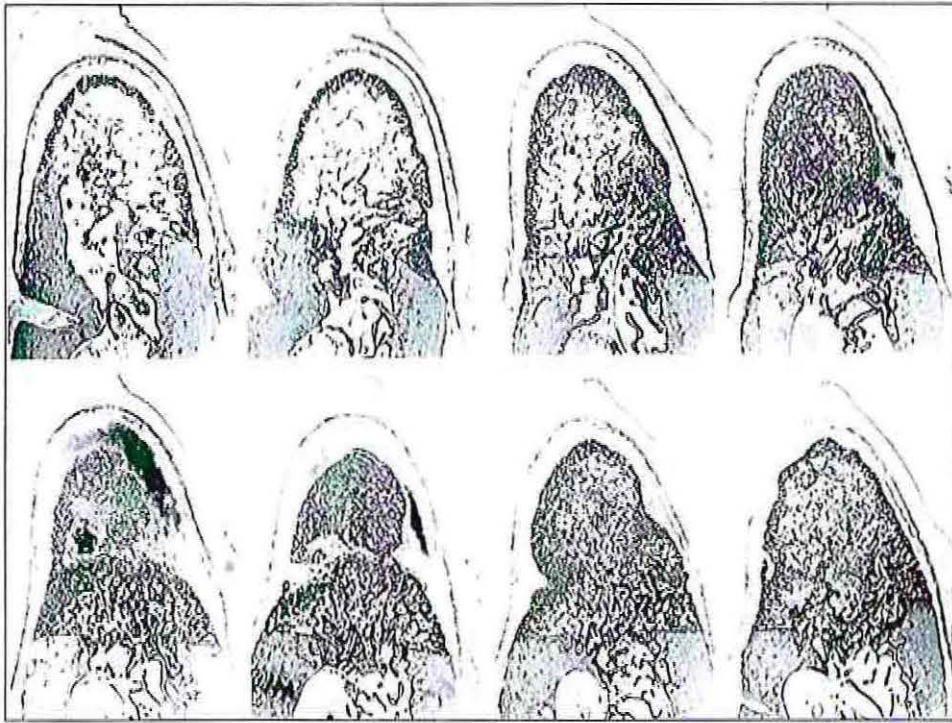


Fig. 2-21.

Secciones bucolinguales seleccionadas, arregladas en secuencia mesio-distal, de un defecto cubierto por membrana, luego de 2 meses de cicatrización.

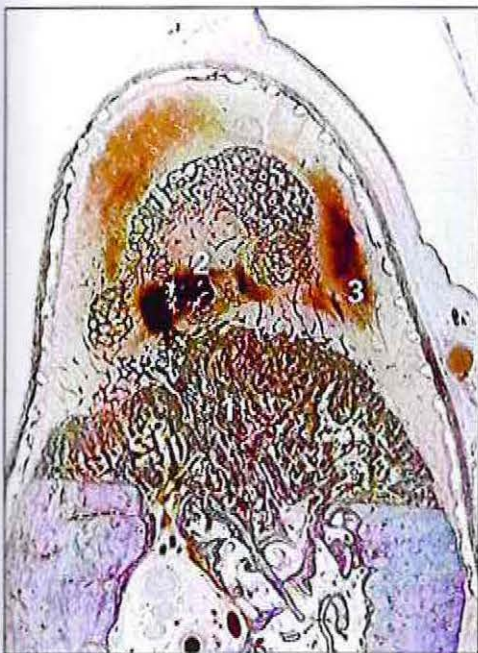


Fig. 2-22.

Sección adyacente a la número 5 anterior (sección inferior izquierda de la figura 2-21) que revela la cubierta ósea del fondo del espacio medular (1) y un corte tangencial a través de la prolongación de hueso nuevo originado en la pared mesial del defecto (2), así como también el hematoma asociado (3).

Formación del andamiaje esponjoso primario.

La histología de la formación ósea en los espacios protegidos por las membranas de barrera muestra una marcada similitud con la formación que encontramos durante el crecimiento y desarrollo óseo (Fig. 2-23). El infiltrado del hematoma por tejido de granulación, sigue el mismo patrón básico de la cicatrización de una herida. Los brotes vasculares que entran, son acompañados por células originadas en la médula ósea, de la periferia del defecto. La médula ósea contiene células madres mesenquimales adultas, capaces de producir una diferenciación de tipo adiposa, condrogénica y osteogénica también⁹⁵. Desde las superficies corticales y trabeculares que fueron cortadas, el hueso reticular brota hacia afuera, mayormente en la forma de delgadas placas bifurcadas. Una característica particular de este andamiaje esponjoso primario, es su perfecta interdigitación con el plexo vascular. Como lo mencionamos antes, es necesaria la formación de nuevos vasos (angiogénesis) y un amplio aporte sanguíneo, para un correcto desarrollo y mantenimiento del hueso.



Fig. 2-23.

Organización del hematoma y formación del hueso reticular. Vasos sanguíneos y células osteoprogenitoras invaden el hematoma (derecha) y construyen un andamiaje de hueso reticular (Tinción Tricroma de Goldner).

Transformación en hueso compacto y esponjoso regular.

El esponjoso primario está formado básicamente por hueso reticular, que más tarde será utilizado como plantilla para la aposición de hueso laminillar, y constituirá más tarde el hueso compacto y esponjoso regular con médula ósea madura. Estos eventos ocurren de 3 a 4 meses luego de la cirugía (Fig. 2-24).

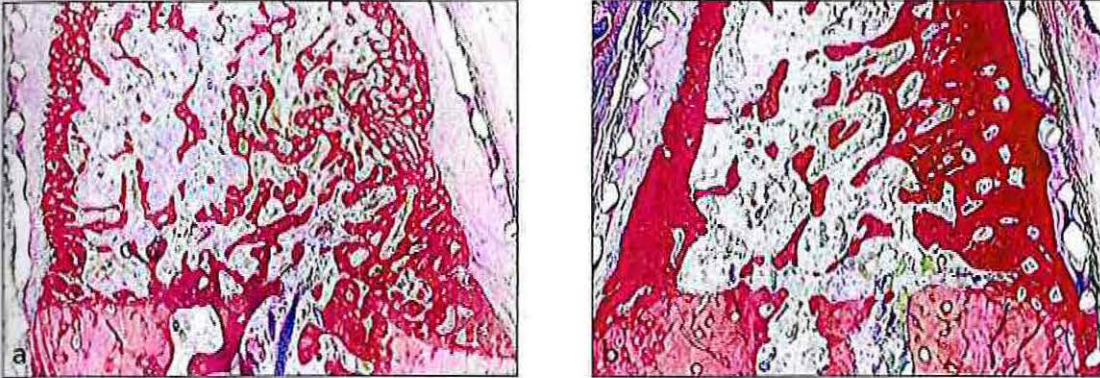


Fig. 2-24.

Transformación del esponjoso primario a hueso cortical y medular. (a) Luego de 2 meses, el esponjoso primario es más denso en la periferia que en el centro del hueso en regeneración. (b) Hueso cortical y esponjo secundario luego de 4 meses. Una capa de hueso compacto en la periferia envuelve al hueso medular en el centro, que posee un trabeculado bien definido de médula ósea regular (Tinciones de azul de toluidina y fucsina de superficie).

La formación de una capa periférica de hueso cortical comienza en las cercanías de las paredes mesial y distal del defecto, como continuación de la cortical original. En la superficie del trabeculado, en el esponjoso primario, encontramos una capa alineada de osteoblastos (Fig. 2-25a). La deposición continua de hueso, aumenta el diámetro del trabeculado y se estrechan los espacios intertrabeculares (Figs. 2-25b y 2-25c). La estructura del hueso nuevo formado cambia gradualmente desde reticular a hueso laminar, siendo el hueso de fibras paralelas una etapa intermedia en este proceso de maduración. El punto final de este proceso se produce cuando los espacios intertrabeculares alcanzan el tamaño de un canal cortical regular y junto con las laminillas concéntricas que lo rodean, constituyen las osteonas primarias (Fig. 2-25d).

La formación del esponjoso regular comienza en la porción central del espacio del defecto, donde el espacio medular fue expandido por la reabsorción del esponjoso primario (Fig. 2-26a). El trabeculado remanente sufre una profunda remodelación y los huesos, reticulados y de fibras paralelas restantes, son gradualmente reemplazados por paquetes de hueso laminar (Fig. 2-26b). Este

proceso también comienza en mesial y distal del defecto, avanzando hacia el centro de este. El hueso esponjoso resultante es continuo al trabeculado preexistente de las paredes del defecto.

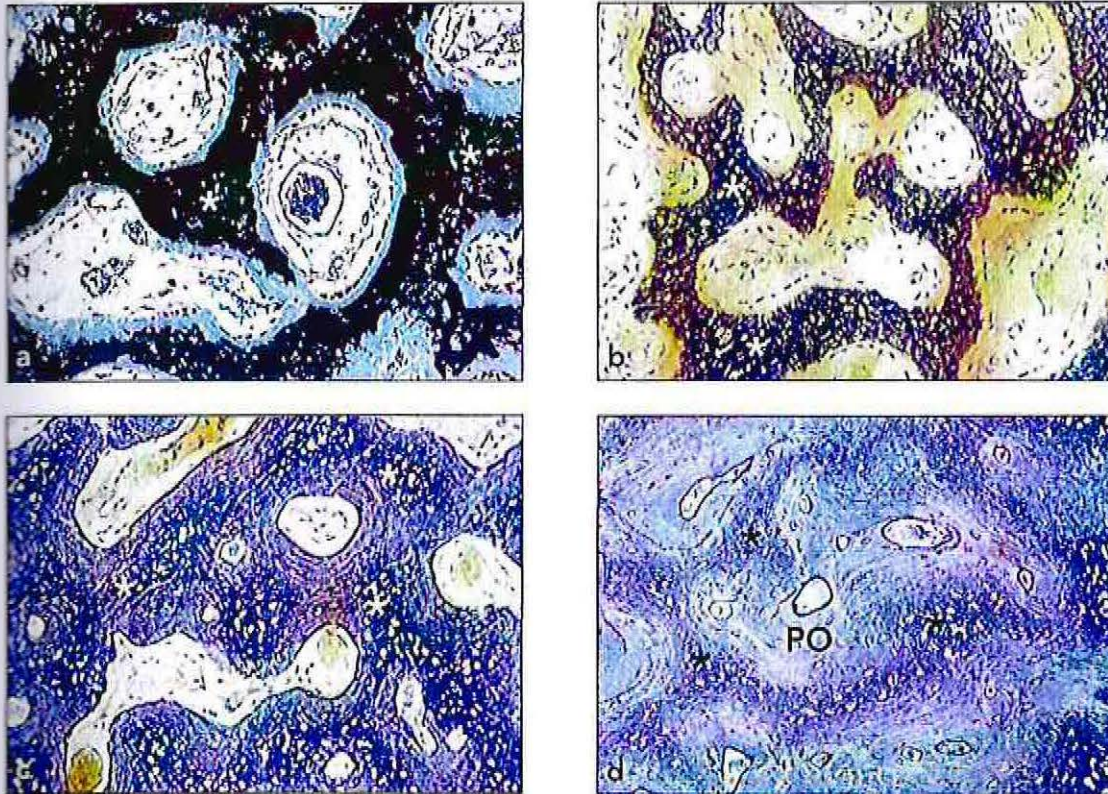


Fig. 2-25.

Transformación de un andamiaje de hueso reticulado a hueso cortical. Las secciones (a) y (b) del micrótomo muestran el nuevo hueso reticular formado (asteriscos) cubiertos por una capa continua de osteoblastos y rodeados por los espacios intertrabeculares bien vascularizados. En la sección (c) se observa hueso reticular reforzado por fibras paralelas luego de 2 meses después de la cirugía, y en sección (d) se aprecia la transformación en osteonas primarias (PO, del inglés Primary Osteons) debido al estrechamiento continuo de los espacios intertrabeculares, a los 4 meses de la cirugía. Aún se logra reconocer hueso reticular en la sección (d) (asteriscos). ((a) Tinción de von Kossa-McNeal; (b, c y d) Tinción azul de Toluidina)

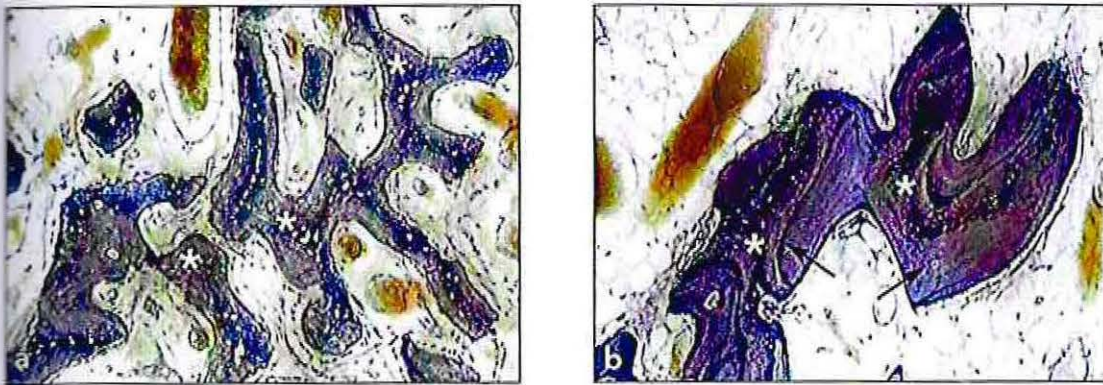


Fig. 2-26

Formación del Esponjoso Secundario. (a) Luego de 2 meses, el trabeculado del esponjoso primario consiste en hueso reticular (asteriscos) reforzado por una capa de hueso de fibras paralelas. (b) Luego de 4 meses, el resultado de la remodelación está compuesto por remanentes del andamiaje original (asteriscos) cubiertos por paquetes de hueso laminar (flechas) (Tinción de superficie de azul de Toluidina).

Remodelación del Hueso Cortical.

Durante el cuarto mes, el hueso cortical comienza con su última fase de maduración, esta es, la remodelación harvesiana. La activación de las unidades metabolizantes de hueso lleva a la formación de canales de reabsorción, los que son posteriormente llenados con laminillas concéntricas (Figs. 2-27a y b). Las osteonas secundarias resultantes son claramente distinguibles de las osteonas primarias, por las líneas de cemento que las rodean (Fig. 2-27c). El proceso de remodelación también comienza cerca de los márgenes del defecto y gradualmente progresa a la porción central del espacio de éste.

Modelado del Hueso Regenerado.

Al final del cuarto mes, continúa el crecimiento y modelado del hueso dentro del espacio aislado por la membrana, particularmente en su porción central. Junto con la formación de una capa de hueso cortical, el periostio y endostio son también repuestos. Siempre que se produce el modelado, la superficie del hueso está cubierta localmente por osteoblastos y una costura osteoide, o cubierta por osteoclastos o lagunas de Howship, como un signo de la actividad de reabsorción en curso, o pasada. En los sitios de reposo, la superficie del hueso es lisa, y el colágeno se incorpora como fibras de Sharpey en la matriz ósea mineralizada.

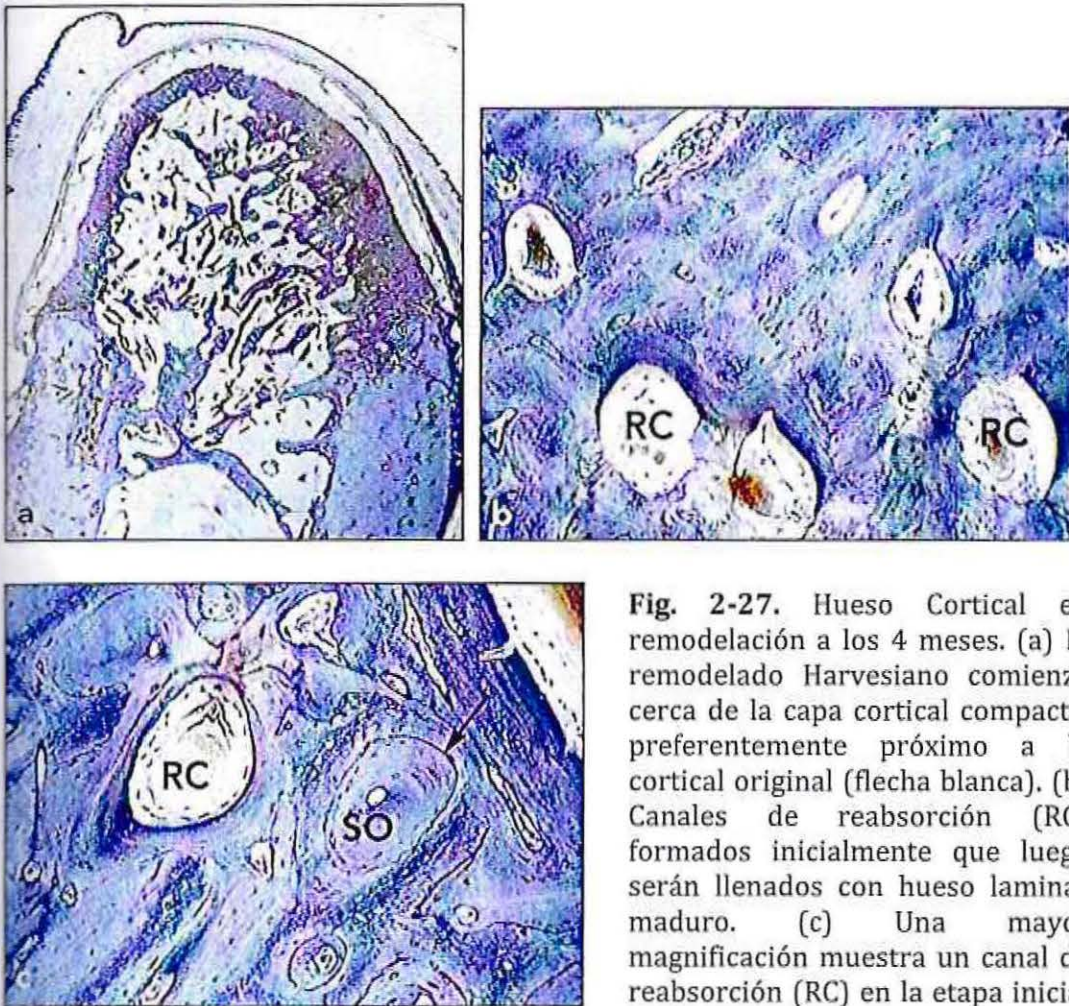


Fig. 2-27. Hueso Cortical en remodelación a los 4 meses. (a) El remodelado Harvesiano comienza cerca de la capa cortical compacta, preferentemente próximo a la cortical original (flecha blanca). (b) Canales de reabsorción (RC) formados inicialmente que luego serán llenados con hueso laminar maduro. (c) Una mayor magnificación muestra un canal de reabsorción (RC) en la etapa inicial de deposición ósea, junto a una osteona secundaria completa (SO) confinada por una línea de cemento (flecha negra) (Tinción azul de Toluidina)

En todos los sitios de modelado, el número de vasos sanguíneos aumenta. Como resultado, la superficie cortical se aprecia mucho más definida y los espacios intertrabeculares más interconectados.

Compartimentos de Tejido Blando.

Lo que falta por evaluar es la integración de la membrana a los tejidos blandos circundantes. Las características de biocompatibilidad del material implantado tienen un importante efecto en la integración de éste al tejido. La membrana de barrera separa los tejidos blandos en un compartimento interno y externo. Durante la cicatrización, ambas características, la composición química y la estructura de la superficie del material, influyen, ya sea, el crecimiento hacia adentro de ésta del tejido conectivo, o la adhesión del tejido conectivo a la membrana. La integración exitosa se logra con un material que no provoque una reacción de "cuerpo extraño", que sea muy pronunciada. Si el material es poroso y muy biocompatible, el tejido conectivo blando podrá invadir estos intersticios de la membrana.

Más aún, incluso el hueso puede crecer dentro de los poros e intersticios de la membrana en los lugares donde ésta se encuentra en contacto con el hueso. Esta osificación intramembranosa nuevamente demuestra que las membranas son materiales bioinertes adecuados, y que pueden poseer la propiedad de osteoconducción.

Un fenómeno similar ocurre con las membranas de barrera hechas de colágeno, particularmente las del tipo entrecruzado. Más aún, en el caso de las membranas de colágeno entrecruzado, pareciera ser que el mismo colágeno modificado gatilla la osificación de la membrana⁹⁶, lo que veremos en el siguiente capítulo.

Capítulo III

Propiedades de las Membranas de Barrera.

El principio de sellado físico de un sitio anatómico para la mejora de la cicatrización de cierto tejido, y dirigir la regeneración del tejido con algún tipo de barrera mecánica, ha sido usado en la Cirugía Reconstructiva y en la Regeneración Neural de fusión espinal desde mediados del año 1950. En la cirugía reconstructiva ósea, la colocación de una barrera es usada para evitar el crecimiento de tejido blando conectivo hacia el defecto óseo. En general, la membrana es colocada en contacto directo con la superficie de hueso que rodea el defecto, colocando por sobre la superficie externa de la membrana el periostio. Luego, el colgajo mucoperióstico es reposicionado y suturado, creando un espacio aislado en el cuál solo células del hueso adyacente pueden migrar^{97,98}.

El uso de Membranas de barrera se ha convertido en el estándar de cuidado en los procedimientos quirúrgicos orales de Regeneración Ósea Guiada (ROG) y Regeneración Tisular Guiada (RTG) para el tratamiento de defectos óseos periodontales y defectos periimplantarios, así como también en los procedimientos para aumentar el reborde óseo realizados previa o simultáneamente a la colocación del implante⁹⁹⁻¹⁰¹. En la literatura y en la práctica los términos RTG y ROG son frecuentemente confundidos y usados como sinónimo o de manera inapropiada. La RTG describe la regeneración del aparato de soporte periodontal, incluyendo el cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. La ROG implica sólo la promoción de formación ósea¹⁰².

Características Básicas de las Membranas de Barrera.

Hoy en día, los clínicos tienen acceso a un amplio abanico de materiales de membrana para los procedimientos de ROG y RTG. Para seleccionar el material que mejor se adaptará a una situación clínica específica, es necesario entender los requerimientos básicos en el uso e indicaciones de cada membrana. Las características básicas incluyen a la biocompatibilidad, oclusión celular, integración con el tejido, generación y mantención del espacio, manejo clínico durante la cirugía y baja susceptibilidad a las complicaciones^{101,103}.

Biocompatibilidad.

La biocompatibilidad es un requerimiento fundamental para obtener una función aceptable de cualquier elemento médico implantable. El término define la habilidad de una material de funcionar en una aplicación específica en presencia

de la respuesta del huésped, y los materiales biocompatibles no deben presentar riesgos de uso en pacientes. La biocompatibilidad de las membranas de barrera se caracteriza por diferentes parámetros, tales como su citotoxicidad, histocompatibilidad, genotoxicidad, mutagenicidad y efectos microbianos. Por lo que es imposible caracterizar el comportamiento biológico de un cierto material con un solo método de testeo.

Por el contrario, estas propiedades deben ser evaluadas usando una batería de pruebas "in vitro" e "in vivo", con protocolos bien estructurados. Por lo que los materiales nuevos y/o prototipos deben ser sometidos a una secuencia específica de pruebas, desde el más simple al más complejo método de prueba; por ejemplo: desde pruebas "in vitro" a pruebas en animales, y desde pruebas preclínicas hasta llegar a las pruebas clínicas en humanos.

Los clínicos que trabajan con estas membranas de barrera deben estar conscientes del hecho de que los materiales inertes (aquellos que no se degradan en ambientes fisiológicos) generalmente presentan una seguridad biológica superior o menos complicada que los materiales reabsorbibles. Estos materiales reabsorbibles liberan productos de su degradación al tejido que lo rodea del hospedero, los cuales pueden producir reacciones adversas locales, y en algunos casos sistémicas¹⁰⁴. Los productos finales de su degradación, por lo tanto, deben ser benignos, y deben ser tomados en cuenta cuando se estudia el material reabsorbible, antes de ser utilizado.

Oclusión Celular.

El objetivo primario de las membranas de oclusión celular, es excluir a las células de tejido conectivo de la región donde se intenta producir la regeneración ósea (Fig. 3-1). Este concepto fue extensivamente testado en los 80s en Periodoncia, en los estudios de Tatakis y cols.¹⁰⁵, donde la exclusión del tejido blando conectivo y el epitelio dentogingival pretendían facilitar la regeneración periodontal alrededor de las raíces dentarias afectadas.

Por otra parte, la teoría de oclusión celular total ha sido cuestionada, debido a que la transferencia de nutrientes a través de la membrana es un factor importante para un proceso de regeneración exitoso^{97,98,106}. Otros estudios han encontrado que membranas con macroporos dan resultados más predecibles en procedimientos de RTG y en general presentan menos complicaciones en el manejo clínico, que las membranas oclusivas^{99,107}. Junto con esto, otros factores locales, tales como un adecuado aporte vascular y también una buena fuente de células osteogénicas, ambas originadas en el hueso del hospedero, son de igual o mayor importancia para la regeneración ósea que la oclusión celular dada por la membrana de barrera¹⁰⁸.



Fig. 3-1

Defecto óseo creado en la mandíbula de un cerdo de guinea a los 4 meses de evolución. El defecto fue llenado con partículas de hueso autólogo (asteriscos) y cubierto con una barrera de membrana de politetrafluoroetileno expandido (ePTFE) (Flechas). Nótese la separación del compartimento óseo creado, en relación con el tejido blando sobre la membrana de barrera. Se puede apreciar nuevo hueso formado desde los márgenes del defecto, extendiéndose entre las partículas de hueso autólogo (Tinción Azul de Toluidina)

Integración Tisular.

La característica de biocompatibilidad de las membranas de barrera tiene un efecto importante en la integración al tejido de biomaterial. La topografía de la superficie, porosidad y las propiedades químicas de la membrana de barrera determinan de manera primaria si se producirá un crecimiento interno de tejido hacia la membrana o una adhesión de la superficie de ésta al tejido, durante el proceso de cicatrización. Un biomaterial no poroso y no texturizado implantado en el tejido blando, resulta en la formación de una cápsula de tejido conectivo fibroso sin unión directa al material, resultando en una disminución del soporte mecánico de la herida durante el período de cicatrización. Las membranas que poseen una

capacidad de integración tisular ideal proveen una alta estabilidad mecánica al área aumentada en los procedimientos de ROG y RTG¹⁰⁹.

Generación y Mantenimiento del Espacio.

La capacidad de las membranas para ROG y RTG de generar y mantener el espacio a regenerar puede ser definido como su capacidad de resistir al colapso bajo condiciones "en vivo", creando y manteniendo un volumen y espacio suficiente durante el período de cicatrización de la regeneración. Un factor determinante en la habilidad de la membrana de barrera de resistir al colapso es la rigidez del material usado para su elaboración.

Un problema importante que afecta a las membranas de barrera reabsorbibles es que los materiales degradables pierden su fuerza mecánica, y por lo tanto prontamente pierden su capacidad de mantener el espacio luego de ser instaladas. Debido a las propiedades mecánicas desfavorables de las membranas reabsorbibles comparadas a las membranas reforzadas no reabsorbibles, se recomienda el uso de materiales de soporte (ej.: Injertos autólogos en bloque, rellenos óseos) para prevenir que la barrera colapse¹⁰³. Hoy en día incluso a las membranas de barrera de PTFE reforzadas con titanio se les coloca materiales de injerto para darles soporte y así lograr mejores resultados en los procedimientos de ROG¹¹⁰.

Manejo Clínico durante la Cirugía.

Durante las cirugías, las membranas de barrera son desgastadas, cortadas y se les da la forma adecuada para calzar y cubrir el área a aumentar. Para poder llevar a cabo el procedimiento en un tiempo razonable, las membranas deben ser fáciles de manejar. Las membranas no reabsorbibles, debido a su rigidez y características hidrofóbicas, deben ser mantenidas en su posición a través de pins y tornillos de fijación. Las membranas reabsorbibles, especialmente las de colágeno, son mucho más flexibles y debido a su hidrofilia incluso se adhieren al hueso que rodea al defecto, tan pronto como se empapan en sangre¹¹¹.

Las membranas de barrera no reabsorbibles generalmente no presentan mayores inconvenientes clínicos si se requieren remover, ya sea debido a una exposición prematura de ésta e infección, o también en el caso de procedimientos quirúrgicos en dos fases cuando es colocado el implante. Éstas al mantener su integridad estructural permiten al clínico removerlas completamente sin mayores dificultades. Por otra parte, las membranas reabsorbibles pueden generar un problema mayor en el caso de una exposición prematura con infección asociada, ya que debido a su fragmentación y subsecuente pérdida de integridad, el retiro de

todos los restos de éstas se vuelve muy complicado, generando bastantes problemas al clínico tratante.

Susceptibilidad a Complicaciones.

Basándonos en la naturaleza del material, las membranas de barrera exhiben diferentes tipos de complicaciones durante el proceso de cicatrización. Las membranas no reabsorbibles, en particular, tienen un mayor riesgo de que se produzca una exposición prematura¹¹². Esto puede provocar una infección de la herida, produciéndose un mal resultado en términos de regeneración ósea deseada. En cambio, las membranas reabsorbibles, especialmente si no son reticuladas, son mucho más fáciles de manejar y poseen un bajo riesgo de producir una exposición prematura de éstas. Reacciones de tipo inflamatorias y de cuerpo extraño podemos encontrar durante el proceso de reabsorción de la membrana de barrera, especialmente si se utilizan materiales sintéticos del tipo polímeros¹¹³.

Membranas No Reabsorbibles.

El politetrafluoroetileno expandido (ePTFE) fue desarrollado en el año 1969, publicitado y vendido en el año 1971 como Gore-Tex (Gore). La leyenda cuenta que fue W. L. Gore quien mostró un trozo de este material a un amigo que era cirujano cardiovascular. Gore le demostró la capacidad de este material de retener agua y seguir "respirando", permitiendo que pase humo a través de su estructura porosa. Este encuentro gatilló una cascada de eventos, llevando a la introducción del ePTFE en estudios clínicos en animales, y más tarde aumentando sus aplicaciones clínicas en cirugías cardiovasculares, uroginecológicas, fetales, reconstructivas, orales y digestivas¹¹⁴⁻¹¹⁶.

Químicamente el PTFE es un fluoropolímero sintético que posee sus propiedades de ser no reabsorbible y biológicamente inerte debido a una muy fuerte unión entre el carbono y el flúor presentes en él. No existe ninguna enzima conocida del cuerpo, capaz de romper estas uniones entre el carbono y el flúor¹¹⁷. El patrón de entrelazado de la fibras en las láminas no reforzadas, que consiste largas cadenas que se repiten, permiten que el material sea estirado en cualquier dirección y también comprimido. Para lograr una mayor rigidez de estas membranas se les agrega propileno fluorado, convirtiéndose en ePTFE.

En Odontología, las membranas de ePTFE se transformaron en el estándar de uso para los procedimientos de ROG y RTG, en los años 80s y comienzo de los 90s^{31,116}. Junto con las membranas de ePTFE, otro tipo de barreras no reabsorbibles son las ePTFE reforzadas con titanio¹¹⁸.

En un estudio clásico que describe el principio de la ROG con membranas no reabsorbibles, Dahlin y cols.¹¹⁹, levantaron colgajos mucoperiosticos y produjeron defectos óseos bilaterales en los ángulos mandibulares de 30 ratas adultas. En un lado, el defecto fue cubierto con una membrana de ePTFE, mientras que el otro lado, el defecto sirvió como control. Análisis histológicos posteriores a la cicatrización demostraron que en el lado con membrana ePTFE, la mitad de los animales mostraban una cicatrización ósea completa al cabo de 3 semanas, y luego de 6 semanas, todos los animales mostraban una cicatrización ósea completa en el lado de la membrana. Mientras que casi ninguna señal de cicatrización ósea fue encontrada en los lados de control, aun cuando se controló hasta un período de 22 semanas.

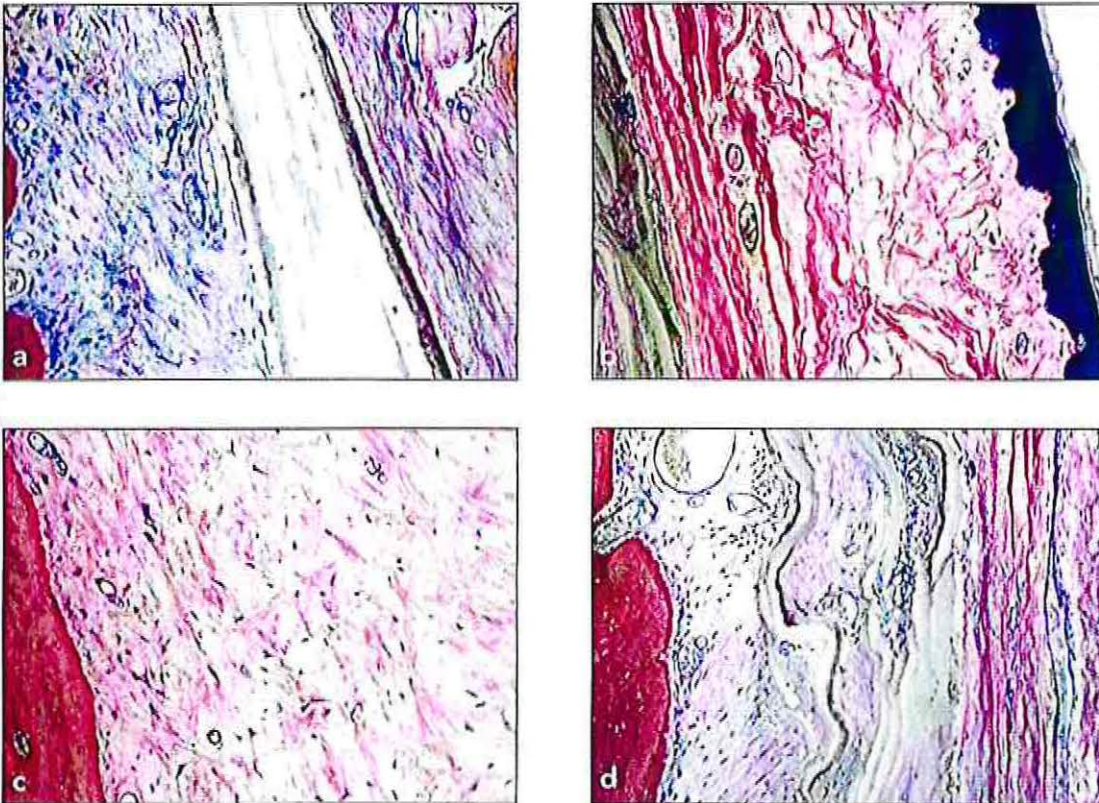
Ya que estos resultados favorables en animales no se pueden extrapolar a las situaciones clínicas en humanos debido al alto potencial osteogénico que muestran las ratas, el mismo grupo de investigadores realizó un estudio similar, pero ahora en primates. Crearon defectos óseos en áreas edéntulas de manera bilateral, en la mandíbula, junto con la apicectomía de los incisivos laterales maxilares. Los defectos de un lado fueron cubiertos por bucal-lingual y palatino con membranas de barrera de ePTFE, mientras que los defectos en el otro lado sirvieron como controles (sin membrana). En todos los sitios de prueba (con membranas) se observó una cicatrización ósea completa, al cabo de 3 meses de cicatrización. En los sitios de control, la cicatrización ósea no fue completa, y se encontraron distintos grados de crecimiento interno de tejido conectivo.

El foco del uso de estas membranas, es la compartimentalización del espacio de tejido blando, lograda con las membranas de ePTFE, y su integración tisular. En un estudio experimental que ha servido como punto de referencia en el uso de este tipo de membranas, Schenk y cols.²⁸, reportaron hallazgos histológicos descriptivos luego de realizar ROG utilizando membranas de ePTFE en mandíbulas de perros. El tejido blando adentro y fuera de la membrana de barrera era distintivamente diferente (fig. 3-2a). El tejido por fuera de la membrana consistía en un tejido blando conectivo cubierto por un epitelio queratinizado (fig. 3-2b). La densidad y diámetro de las fibras colágenas en la lámina propia aumentaba a medida se acercaban a la membrana, por lo que gruesos haces de fibras colágenas estaban en contacto con la superficie de la membrana de ePTFE.

En el compartimento interno, predominaba tejido conectivo suelto con delgadas fibras colágenas (fig. 3-2c). Este tejido, que provenía de la médula ósea, estaba ricamente vascularizado, y el número de vasos sanguíneos se incrementaba a medida que se acercaba a la superficie ósea. Macrófagos, linfocitos y granulocitos eran extremadamente raros de encontrar, incluso con en contacto con la superficie interna de la membrana. Estos hallazgos nuevamente daban pruebas de la excelente compatibilidad tisular de las membranas de ePTFE.

El diseño de las membranas de ePTFE usadas en el estudio de Schenk y cols., otorgaban un grado de porosidad hacia la periferia de estas, creando intersticios de comunicación de aproximadamente 50um de diámetro. Este tamaño de poro permite la invasión de células y pequeños vasos, y parece ser apropiado describir con esto un tercer compartimento intramembranoso, ya que todas las

partes porosas de la membrana contenían células vivas (3-2d). La mayoría de estas células eran fibroblastos, los cuales estaban asociados con fibras colágenas delgadas y pequeños capilares sanguíneos.



Figs. 3-2

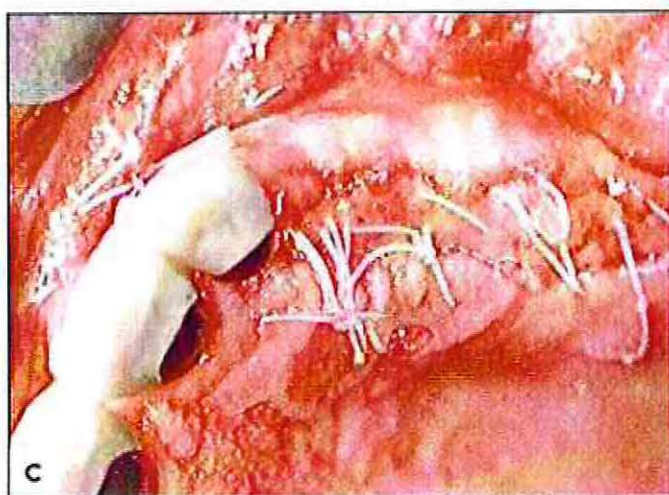
Secciones bucolinguales de una mandíbula canina donde se muestra un defecto óseo cubierto con una membrana de ePTFE (Tinción azul de Toluidina y Fucsina básica). (a) La parte densa central de la membrana, separa el tejido conectivo blando exterior de la mucosa oral del tejido conectivo blando interior, en el compartimento óseo. Ambos tejidos fibrosos están en contacto directo con las superficies de la membrana. (b) El tejido fibroso exterior se caracteriza por poseer una matriz colágena densa, con fibras colágenas que aumentan en diámetro hacia la membrana. (c) La superficie interna de la membrana, está en contacto directo con la superficie ósea, que consiste en un tejido primario conectivo muy vascularizado. (d) La porción periférica porosa de la membrana, permite el crecimiento hacia adentro de los intersticios de esta de vasos sanguíneos y células.

Un estudio experimental en cinco perros Beagle comparó la capacidad de osteopromoción de las membranas de ePTFE reforzadas con titanio vs. las membranas de barrera de ePTFE estándar vs. sin membrana (control), en una gran dehiscencia y déficit de hueso supracrestal alrededor de implantes colocados en el proceso alveolar mandibular¹²⁰. El examen histológico de las secciones luego de un período de cicatrización de 6 meses demostró grandes cantidades de hueso nuevo formado debajo de los dos tipos de membranas de barrera, con una capa superficial de tejido conectivo. Solo en las membranas reforzadas con titanio exhibieron una formación de hueso por sobre la parte superior de los implantes. Los sitios de control sin colocación de membranas mostraron una mínima cantidad de formación de hueso supracrestal. Los autores concluyeron que las membranas reforzadas con titanio muestran una mejor preservación de la forma original durante el período de cicatrización.

Aunque los estudios clínicos y experimentales han demostrado excelentes resultados de tratamientos usando membranas no reabsorbibles en procedimientos de RTG y ROG, estos resultados han sido altamente correlacionados con complicaciones en la cicatrización de las heridas, especialmente dehiscencias^{49,112}. Varios estudios han reportado secuelas por infección de la herida posterior a la exposición de la membrana de ePTFE y subsecuentemente un pobre resultado en la regeneración ósea ¹²¹(figs. 3.3)

En otro estudio, Simion y cols.¹²², reportaron que la ganancia ósea alrededor de implantes dentales colocados en alvéolos frescos fue significativamente menor en los casos en que las membranas se expusieron prematuramente, en comparación con las que no se expusieron. La exposición temprana de las membranas de barrera al medio oral y la subsecuente colonización bacteriana puede llegar a producir la necesidad de retirar prematuramente la membrana expuesta.

Otra desventaja mayor de las membranas no reabsorbibles es la necesidad de una segunda cirugía para retirar este material bioinerte. Esto provoca malestar y aumenta los costos para el paciente, así como también el riesgo de perder parte del hueso regenerado, ya que la elevación de un colgajo tiene como resultado cierto grado de reabsorción ósea de la cresta alveolar.



Figs. 3-3

Aumento horizontal de reborde alveolar en paciente con pérdida de dientes maxilares izquierdos. A). Dos bloques óseos de mentón son fijados en la zona canina y premolar con tornillos. B). El injerto es cubierto con una membrana de ePTFE fijada con dos tornillos por vestibular. C). Diez días después de la cirugía se aprecia exposición prematura de la membrana durante el retiro de suturas.

Membranas Reabsorbibles.

Debido al riesgo de una exposición prematura y la necesidad de una segunda cirugía para remover la membrana no reabsorbible, los clínicos e investigadores del tema recomiendan el uso de membranas de barrera reabsorbibles en los procedimientos de ROG. Algunas de las ventajas y características de las membranas reabsorbibles descritas en la literatura incluyen: eliminación de la cirugía de retiro de ésta; un procedimiento quirúrgico simplificado con un sistema de implantes y protocolo de dos fases; un amplio rango de técnicas quirúrgicas posibles para la conexión del pilar del implante, lo que coincidiría con el retiro de la membrana en las de tipo no reabsorbible o bioinertes; mayor costo – efectividad y una disminución en la morbilidad de los pacientes.

Actualmente, dos materiales son los que principalmente se utilizan para confeccionar las membranas reabsorbibles: Poliésteres alifáticos sintéticos y colágeno derivado de distintas fuentes animales⁴⁷. Aunque ambas sustancias son consideradas como biomateriales, cada una tiene características y efectos biológicos distintivos^{123,124}. Aspectos importantes de significancia clínica son la longevidad en la función como barrera y la respuesta del tejido (biocompatibilidad de la barrera), relacionados con la degradación de la barrera.

Membranas Poliméricas.

Los poliésteres sintéticos usados como membranas de barrera son los poliglicólidos (PGAs), los poliláctidos (PLAs) y sus copolímeros. Otros poliésteres alifáticos usados son la polidioxanona y los carbonatos trimetilenos. Estos materiales sintéticos pueden ser preparados y reproducidos bajo condiciones estrictamente controladas y pueden estar disponibles en cantidades ilimitadas, lo cual es una clara ventaja sobre los materiales naturales, como el colágeno. Otra ventaja es la capacidad del PGA, PLA y sus copolímeros de ser completamente biodegradados hasta dióxido de carbono y agua, a través del ciclo de Krebs celular.

Son numerosos los factores conocidos que afectan la degradación de los polímeros biodegradables, ya sea "in vitro" o "in vivo", tales como su estructura y su composición química, su peso molecular, forma, condiciones de procesado, proceso de esterilización, factores psicoquímicos y mecanismo de hidrólisis. El uso de estos polímeros como placas óseas, tornillos y vehículos de entrega de drogas y factores de crecimiento ha sido asociado con reacciones de tipo cuerpo extraño e inflamatorias, en Cirugía Ortopédica, Maxilofacial e Implantología Dental. Incluso, en algunos casos fue necesario el desbridamiento quirúrgico y la remoción del material^{125,126}.

Las reacciones tempranas del tejido a la inserción de membranas de PLA, ha sido analizado por Piattelli et al¹²⁷, en un estudio experimental realizado en tibias de conejo. Luego de 1 semana, la estructura de la membrana aún era reconocible, y no había ninguna señal de fragmentación o reabsorción. Sin embargo la superficie exterior de la membrana se encontraba irregular, y se encontraron macrófagos y células gigantes multinucleadas. Luego de 3 semanas, la membrana comenzaba a mostrar signos de degradación, y se encontraba dividida en varios fragmentos. La formación de hueso alrededor de la membrana mostraba dos características diferentes: en algunas áreas estaba en contacto directo con la superficie de la membrana, mientras en otras porciones una pequeña capa de células gigantes multinucleadas se encontraba interpuesta entre el hueso y la membrana de barrera.

Estudiando la exposición prematura de las membranas de barrera a la cavidad oral, Simion y colaboradores¹²⁸ encontraron que, una vez expuesta, las membranas de PLA/PGA comenzaban a reabsorberse casi instantáneamente, y el proceso de reabsorción terminaba luego de 3 a 4 semanas. Los autores consideraron este comportamiento característico como una ventaja sobre las barreras no reabsorbibles, ya que permite una cicatrización espontánea y un cierre del tejido. Como resultado, esto reduciría el tiempo de exposición de la membrana afectada y de la zona herida, lo que podría prevenir la invasión bacteriana del sitio injertado. Por otra parte, un proceso de degradación que fuese muy rápido, puede reducir el tiempo de función como barrera y la capacidad de mantener el espacio de la membrana. Esto podría afectar negativamente el resultado de todo el procedimiento de ROG.

Membranas de Colágeno.

La mayoría de las membranas de colágeno comercialmente disponibles han sido desarrolladas a partir de colágeno tipo I, componente predominante del tejido conectivo periodontal, y también de una combinación de colágenos tipo I y III. Las fuentes del colágeno de las barreras varían e incluyen: tendones de bovinos, dermis de bovinos, piel de ternero o dermis de porcino. En la literatura, se mencionan varias ventajas de los materiales de colágeno, que incluyen: hemostasis, quimiotaxis de los fibroblastos del ligamento periodontal y fibroblastos gingivales, baja inmunogenicidad, fácil manipulación, efecto directo en la formación ósea y la capacidad de aumentar el grosor del tejido¹²¹. Por lo tanto, los materiales de colágeno parecen ser la alternativa ideal para ser usados como barrera en los procedimientos de ROG y RTG.

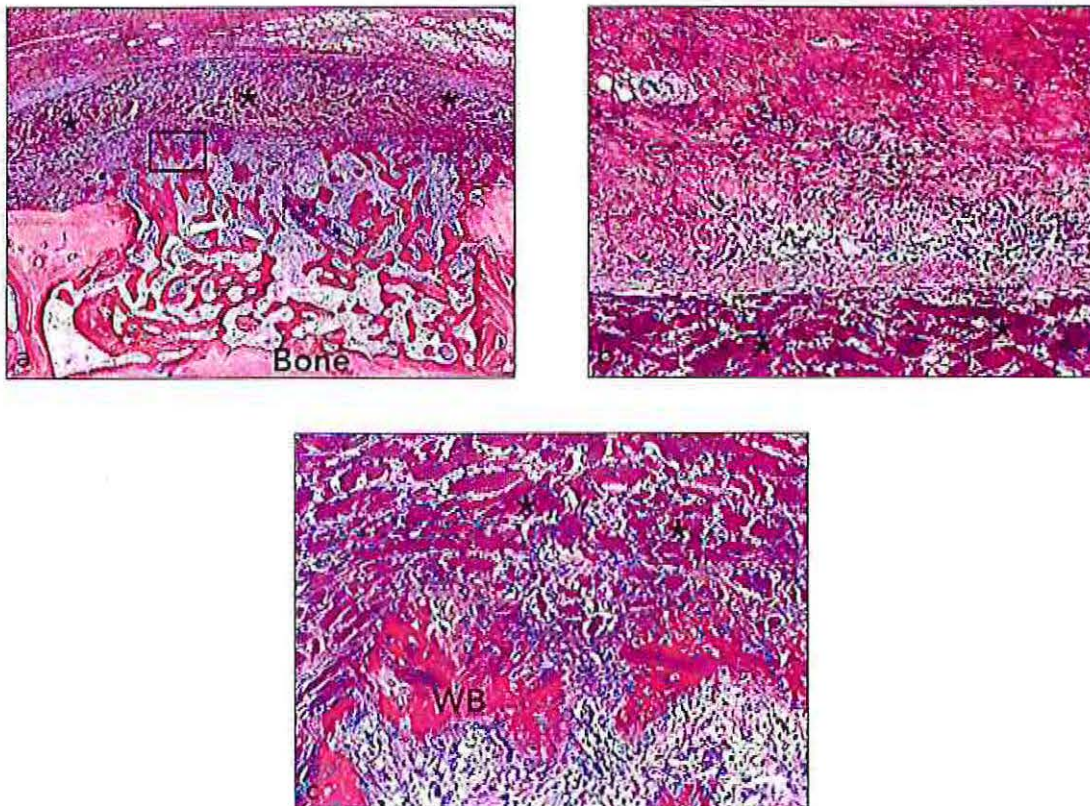
Por otra parte, mientras las membranas de colágeno son consideradas más amistosas con los tejidos, también se ha reportado que poseen propiedades mecánicas desfavorables⁴⁰ y que funcionan inadecuadamente como barreras,

debido a su rápida biodegradación a través de la actividad enzimática de macrófagos y leucocitos polimorfonucleares^{129,130}. Para prolongar la función de barrera de las membranas de colágeno, se han usado varias tecnologías de reticulado (entrecruzamiento de las fibras), tales como la radiación ultravioleta, el glutaraldehído, la difenilfosforilazida y el diisocianato de hexametileno. La tecnología de reticulado químico más ampliamente utilizada, técnica con glutaraldehído, tiene algunos inconvenientes, ya que se ha reportado que deja residuos citotóxicos durante el procedimiento.

En un estudio experimental realizado en bóveda craneana de conejo, por Arx y col.¹³¹, se compararon tres diferentes prototipos de Membranas de colágeno reticulado con una membrana no reticulada, y con dos membranas sintéticas de polímero, de uso clínico. En las membranas sintéticas se observó una encapsulación fibrosa. Estas revelaron un infiltrado celular inflamatorio marginal a las 2 semanas, y una reacción de cuerpo extraño con células gigantes multinucleadas en las fisuras a las 12 semanas. En contraste, la membrana de colágeno no reticulado (Fig. 3-4) y los tres prototipos de membranas de colágeno reticulado (Fig. 3-5) no mostraron signos de reacción a cuerpo extraño. Sin embargo, el tejido blando en la periferia de todos los tipos de membranas de colágeno fue invadido por células inflamatorias.

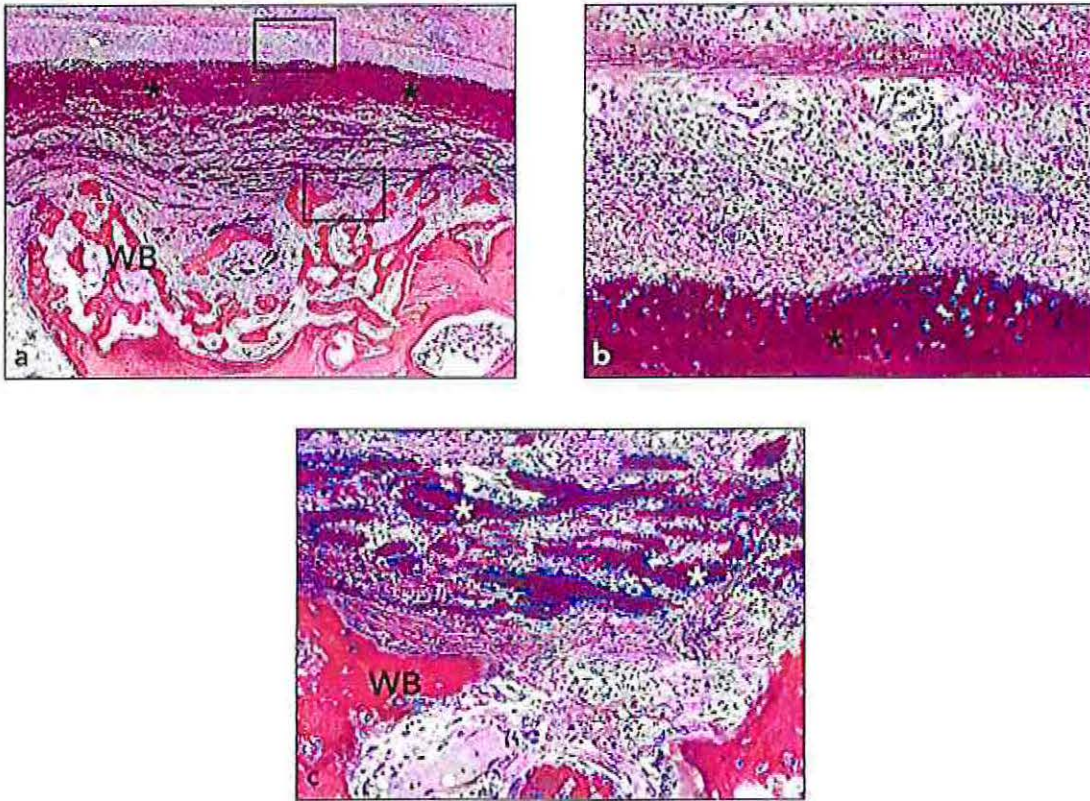
Este infiltrado celular es interpretado como un evento necesario para la degradación celular de las membranas de colágeno. Esta visión se basa por el hecho de que luego de 12 semanas, no encontramos este infiltrado celular. La invasión celular de la membrana a las 2 semanas fue evidentemente mayor en la membrana no reticulada (comparando figs. 3-4 y 3-5). La membrana de colágeno no reticulada y dos de los prototipos de membranas colágenas demostraron signos histológicos de biodegradación a las 6 semanas, y desaparecieron completamente a las 12 semanas (Fig. 3-6). En contraste, en uno de los prototipos de membrana colágena modificada químicamente, aún podían ser visibles algunos componentes, a las 12 semanas de estudio (Fig. 3-7).

Clínicamente, la rápida degradación de las membranas de colágeno no reticulado, seguido de su exposición a la cavidad oral, ha sido reportada como una ventaja para los procedimientos de aumento horizontales de reborde (Fig. 3-8). En ese estudio, 3 de 42 pacientes desarrollaron una pequeña exposición de la membrana luego del aumento crestal. Todos los sitios cicatrizaron normalmente, con una re-epitelización espontánea dentro de las 2 a 4 semanas, y fue posible colocar un implante en todos ellos, durante la cirugía de re-entrada.



Figs. 3-4.

Proceso de degradación de una membrana de colágeno no reticulada (Bio-Gide, Geistlich) (asteriscos) en una bóveda craneana de conejo a las 2 semanas luego de la creación del defecto óseo (Tinción Azul de Toluidina y Fucsina Básica). A). El hueso regenerado ha rellenado parcialmente el espacio del defecto e incluso sobrepasa la altura del hueso original. B). La parte externa de la membrana está cubierta por una capa fibrosa que se aprecia infiltrada con células inflamatorias. C). Muy cerca de la superficie interna de la membrana (cuadro agrandado que se aprecia en foto (A)) ocurre formación de hueso reticular. Los intersticios de la membrana están poblados con un infiltrado celular mixto.



Figs. 3-5.

Durabilidad prolongada de un prototipo de membrana de colágeno reticulado (asteriscos) en una bóveda craneana de conejo luego de 2 semanas de la creación de un defecto óseo (Tinción Azul de Toluidina y Fucsina Básica). (a) La mayor parte del espesor de la membrana se encuentra compacto y no se aprecia infiltrado celular. Se observa nuevo hueso reticulado formado (WB, del inglés woven bone) bajo la membrana en el área del defecto creado. (b) Se observa el tejido blando conectivo sobre la membrana (magnificación del rectángulo superior de fig. (a)) con infiltrado celular. (c) Se aprecia la formación de hueso reticulado (WB) muy cerca de la superficie interna de la membrana (magnificación del rectángulo inferior de fig. (a)). La zona más porosa de la porción interna de la membrana de barrera muestra un infiltrado celular mixto.

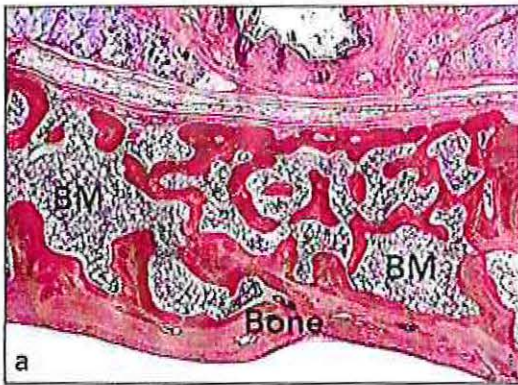


Fig. 3-6.

Defecto óseo en bóveda craneana de conejo cubierto con una membrana de barrera de colágeno no reticulado a las 12 semanas (Tinción Azul de Toluidina y Fucsina Básica). (a) El hueso en formación que rellena el área del defecto creado, consiste en un trabeculado grueso, con médula ósea interpuesta (BM, del inglés Bone Marrow). (b) Un tejido conectivo rico en colágeno recubre la superficie externa. Una diferenciación entre el colágeno de la membrana y del huésped es virtualmente imposible.

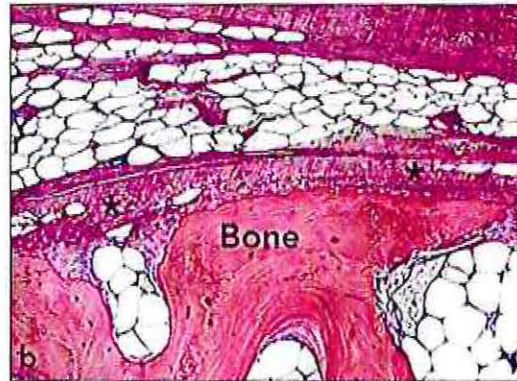
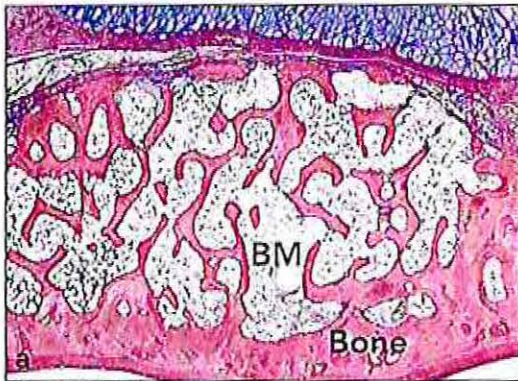


Fig. 3-7.

Defecto óseo en cráneo de conejo cubierto por una membrana de barrera de colágeno reticulado a las 12 semanas (Tinción azul de toluidina y Fucsina básica). (a) El hueso que rellena el defecto consiste en un trabeculado grueso con médula ósea interpuesta (BM). (b) Un tejido conectivo rico en colágeno cubre la superficie externa de hueso (asterisco). (c) A mayor magnificación se aprecian algunos remanentes de la membrana (flechas), en el tejido conectivo, e incluso en el hueso mineralizado.

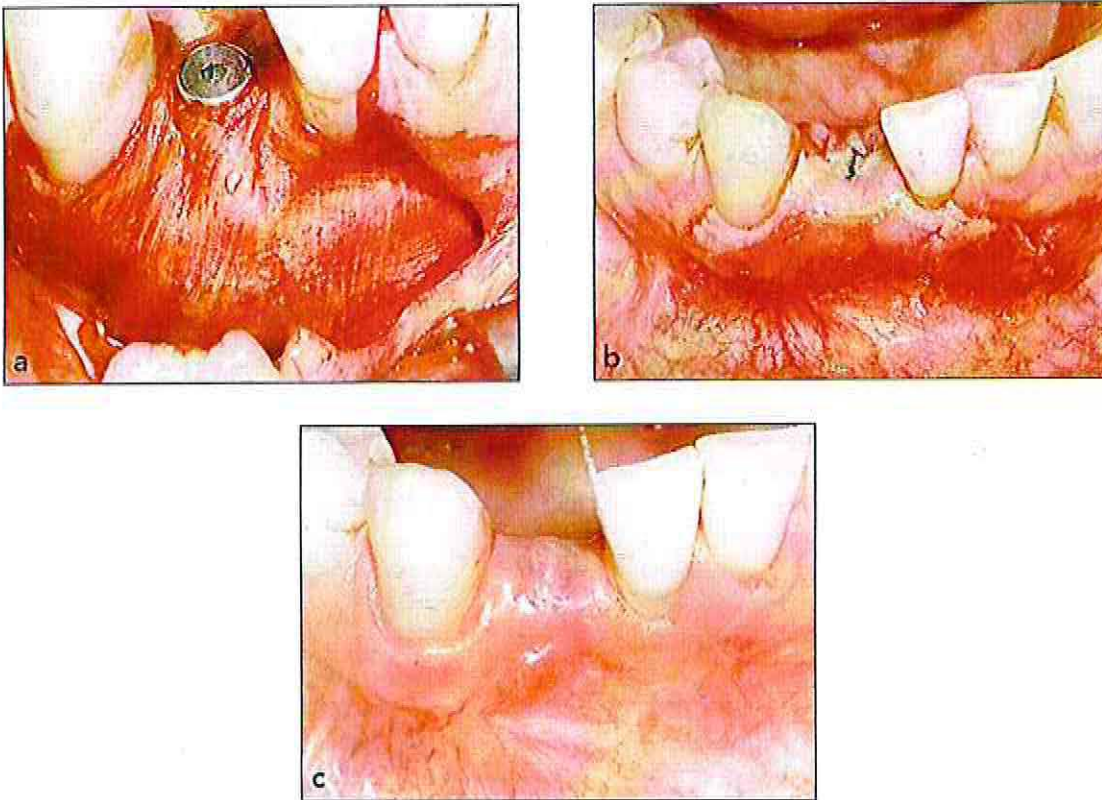


Fig. 3-8.

Incisivo Lateral Inferior perdido, reemplazado por un implante unitario en una paciente de 34 años. (a) Durante la cirugía, la cara vestibular del implante es cubierta con chips de hueso, hueso mineral particulado bovino y una membrana de colágeno reabsorbible. (b) 10 días después de la cirugía, se aprecia una pequeña exposición prematura de la membrana en el sitio implantario. El manejo de esta complicación consiste en la desinfección local con clorhexidina en gel (0,12%) y controles semanales. (c) 2 meses después de la cirugía, se observa el sitio con una cicatrización por segunda intención y sin signos de infección.

Soporte de las Membranas.

Ambas membranas, las de colágeno y las de poliésteres sintéticos, no poseen buenas propiedades mecánicas, en comparación con las membranas de barrera no reabsorbibles reforzadas, por lo que necesitan materiales de soporte (injertos de hueso autólogo o materiales sustitutos óseos) para prevenir el colapso de éstas como barrera. Cuando los materiales de injerto son usados en combinación con membranas reabsorbibles⁴⁵, los resultados de las ROGs son generalmente favorables, incluso comparados con los que encontramos con las

barreras no reabsorbibles de ePTFE. Los materiales de injerto por sí solos, son menos efectivos que la combinación de éstos con membranas de barrera. Lundgren y cols.¹³², reportaron resultados claramente a favor del uso de partículas de injerto óseo cubiertas con barreras reabsorbibles, en relación a la altura y volumen del hueso aumentado logrado.

Horizonte Futuro.

Probablemente, las investigaciones y desarrollos futuros en el campo de las membranas de barrera para los procedimientos de ROG seguirán dos caminos¹⁰⁰: el primero es un enfoque mecánico, que apunte a facilitar la intervención quirúrgica para el cirujano, y reducir la morbilidad para los pacientes. El segundo camino, será el enfoque biológico, centrado en los mecanismos celulares y moleculares del proceso de cicatrización de las heridas; lo que quiere decir, la regeneración y reparación natural del hueso en el cuerpo humano. El objetivo de este enfoque será el de aplicar nuevos descubrimientos de estos mecanismos biológicos centrales a la práctica clínica, y a la manera en que los procedimientos de ROG son llevados a cabo.

En el enfoque mecánico, una membrana de barrera líquida y reabsorbible, consistente en un hidrogel de polietilenglicol (PEG) ha sido recientemente descrita como un posible material para formar membranas reabsorbibles in situ, en los procedimientos de ROG¹³³. Los hidrogeles de PEG son conocidos por su biocompatibilidad y son actualmente utilizados en otros campos médicos, tales como la Neurocirugía y la Cirugía Vasculare^{134,135}. Sin embargo, las investigaciones futuras necesitan evaluar las indicaciones clínicas adecuadas para esta nueva técnica quirúrgica. Posiblemente, una matriz de hidrogel de PEG podrá ser combinada con factores de crecimiento y diferenciación, para así llevar el material de injerto y la membrana de barrera juntos, en un único dispositivo.

Un enfoque biológico primario es la búsqueda de nuevos materiales de barrera, para lograr mejores resultados en los procedimientos de ROG y RTG. Un nuevo material que está siendo investigado es una matriz dérmica acelular, material obtenido de la piel humana, la cual ha sido usado como membrana para procedimientos de ROG en rebordes edéntulos en asociación con la colocación de implantes^{136,137}. Se requieren más estudios clínicos controlados para evaluar sus potenciales en los procedimientos de ROG.

Concentrados Plaquetarios y Nuevas Tecnologías.

Es sabido que las plaquetas liberan varios factores de crecimiento que estimulan la regeneración de los tejidos. Variadas técnicas para la obtención de concentrados plaquetarios han sido introducidas en el ámbito quirúrgico, ya sea para prevenir hemorragias, así como también para acelerar y mejorar la regeneración de los tejidos involucrados.

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y el Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRFC) pertenecen a la primera generación de concentrados plaquetarios. El PRP y el PRFC requieren de aditivos químicos, como anticoagulantes, trombina o clorhidrato de calcio, previo a su aplicación en el sitio quirúrgico.

Las Plaquetas Ricas en Fibrina (PRF) y los Concentrados de Factores de Crecimiento (CFC), como segunda generación de concentrados plaquetarios, utilizan la sangre venosa sola, para gatillar la activación plaquetaria y la polimerización de la fibrina. El PRF y el CFC pueden ser usados como una alternativa a las membranas de barrera tradicionales sobre los injertos óseos, logrando por medio de éstas, un mejoramiento en la regeneración esperada de los tejidos intervenidos.

A diferencia del PRF, que utiliza una velocidad constante de centrifugado para su producción, para el CFC se requiere de velocidades de centrifugación alternadas, lo que produce una matriz de fibrina más grande, densa y rica en factores de crecimiento. Desde el 2010, se ha venido trabajando en un nuevo protocolo de matriz de injerto óseo enriquecido en factores de crecimiento, llamado "Sticky Bone", o Hueso Pegajoso en castellano, utilizando Adhesivo de Fibrina Autóloga (AFA) para su fabricación. El "Sticky Bone" provee estabilidad al injerto óseo en el defecto tratado, mejorando la cicatrización del tejido, y minimizando la pérdida de hueso durante este período.

Para lograr un mejoramiento de la cicatrización del injerto de hueso colocado sobre el defecto óseo a tratar, han aparecido numerosas técnicas que utilizan concentrados plaquetarios y de fibrina. Es sabido, que las plaquetas contienen altas cantidades de factores de crecimiento, tales como: el Factor Transformador de Crecimiento B1 (FTCB1), el Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas (FCP), el Factor de Crecimiento Epitelial (FCE), el Factor de Crecimiento Insulínico 1 (FCI1) y Factores de Crecimiento Vasculares Endoteliales (FCVE), los cuales

estimulan la proliferación celular y regulan la angiogénesis¹³⁸⁻¹⁴⁰, que recordemos, es un factor fundamental para lograr una exitosa Regeneración Ósea Guiada de los tejidos tratados.

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP), fue la primera forma de concentrado plaquetario utilizado para reemplazar el Adhesivo de Fibrina comercial¹⁴¹. Se utilizan pequeñas cantidades de PRP en Implantología Dental, que es preparado en la misma sesión clínica. Existen numerosos Kits de preparación de PRP, por nombrar algunos:

- Platelet Concentrated Collection System (PCC; 3i/Implant Innovations, Palm Beach Gardens, FL);
- SmartPREP (Harvest Autologous Hemobiologics, Norwell, Massachusetts);
- Curasan PRP Kit (Curasan, Pharma GmbH AG, Lindigstrab, Germany), y
- Placon (Oscotec Co, Chunan, Korea)

Todos los sistemas descritos anteriormente funcionan de manera similar. Requieren de una pequeña cantidad de sangre venosa del paciente (8 – 10cc), la cual es recolectada a través de una punción y vía venosa, en tubos colectores que contienen un anticoagulante. La capa de células rojas es descartada luego del primer ciclo de centrifugado, y la capa leuco-plaquetaria y el plasma pobre en plaquetas es colectado en un nuevo tubo de ensayo para un segundo ciclo de centrifugado. Como resultado de este segundo ciclo se obtiene un concentrado plaquetario con fibrinógeno. El PRP es mezclado con hueso particulado y luego se agrega trombina bovina y clorhidrato de calcio, para lograr la polimerización de la fibrina¹⁴².

El PRP y el PRFC son considerados como la 1ra generación de concentrados plaquetarios, caracterizados por requerir una doble centrifugación y el uso de aditivos químicos para su producción, tales como anticoagulantes, trombina bovina y/o clorhidrato de calcio. Sus efectos en la regeneración ósea son aún controversiales¹⁴³.

La 2da generación de concentrados plaquetarios, utilizan sangre venosa de los pacientes por sí sola, sin aditivos. Las Plaquetas Ricas en Fibrina (PRF) de Choukroun, es el primer desarrollo de esta segunda generación de concentrados¹⁴⁴.

La sangre venosa es sacada del paciente y colectada en un tubo al vacío, recubierto con sílice, sin anticoagulantes agregados. Estos tubos son inmediatamente centrifugados a 2.700rpm (revoluciones por minuto) por 12 minutos. Se obtiene una capa de fibrina naturalmente coagulada, separada de la capa de glóbulos rojos, por lo que la capa de plaquetas ricas en fibrina es

fácilmente recolectada desde el tubo. Para obtener el concentrado de factores de crecimiento, propuesto por Sacco¹⁴⁵, se utiliza una centrifugación alternada entre 2.400 a 2.700 rpm por 12 minutos, obteniendo así una fracción de fibrina rica en factores de crecimiento más grande, densa y concentrada¹⁴⁶.

Las capas de PRF o de CFC contienen factores de crecimiento autólogos concentrados, pero poseen limitaciones en el caso de aumentos de la cresta ósea, ya que estos concentrados no logran estabilizar el hueso particulado utilizado, que es uno de los requisitos fundamentales de la Regeneración Ósea Guiada.

En la actualidad se están utilizando membranas de CFC, junto con un nuevo tipo de matriz de injerto óseo enriquecido con factores de crecimiento, llamado "Sticky Bone", logrando resultados promisorios.

PREPARACIÓN DE LA MEMBRANA DE CFC Y DEL "STICKY BONE"

Las membranas de CFC y el adhesivo de fibrina autóloga (AFA), que se usa para hacer el Sticky Bone, son preparados al mismo tiempo. Antes de realizar la cirugía se extraen del paciente entre 20 a 60cc de sangre venosa, desde la vena en el antebrazo, y la sangre es dividida entre 1 a 2 tubos al vacío no recubiertos (Tapa amarilla, Fig. 3 - 9) para obtener el adhesivo de fibrina autóloga (AFA) y con este preparar el "Sticky bone"; y de 2 a 7 tubos de ensayo recubiertos de sílice (Tapa roja, Fig. 3 - 9), sin anticoagulantes para obtener las capas de CFC, que serán transformadas en membranas, posteriormente. La sangre en los tubos de ensayo es centrifugada a 2.400rpm y 2.700rpm, utilizando centrífugas especiales, preparadas para alternar entre estas revoluciones por 12 minutos (Ejemplo en Fig. 3 - 10).

El tiempo de centrifugación para producir el AFA varía entre 2 a 12 minutos. Para obtener una mayor concentración de factores de crecimiento, la centrífuga es detenida a los 2 minutos de centrifugado y se retira el tubo del AFA. Este tubo, no recubierto, muestra 2 capas diferentes:

- una capa superior, que corresponde al adhesivo de fibrina autóloga (AFA),
y
- una segunda capa inferior de glóbulos rojos que serán desechados.

El espacio vacío en la centrífuga es ocupado por un tubo con agua para mantener el balance en el peso, y se continúa con el centrifugado de los tubos recubiertos, para preparar el CFC. Luego del centrifugado, los tubos recubiertos con sílice muestran 3 capas diferentes. La capa más superior, es la capa de Plasma Pobre en Plaquetas (PPP), la del medio es la capa de fibrina



Fig. 3-9.

La sangre venosa del paciente es dividida en dos tubos al vacío, sin anticoagulantes. El tubo sin recubrimiento (tapa amarilla) es usado para obtener el Adhesivo de Fibrina Autóloga (AFA) que será utilizado para crear el "Sticky Bone", y el tubo recubierto con sílice (tapa roja) es utilizado para obtener la capa de "Concentrado de Factores de Crecimiento o CFC"¹⁴⁷

Fig. 3-10.

Se utilizan centrífugas especiales capaces de alternar sus revoluciones entre 2.400 a 2.700 rpm durante 12 minutos, como la que vemos en la foto¹⁴⁷.



leuco-plaquetaria, representada por un gran bloque de fibrina densa polimerizada, que contiene los factores de crecimiento concentrados. La capa inferior es la de las células o glóbulos rojos (Fig. 3 - 11). Con pinzas se retira el CFC del tubo, y es colocado en el contenedor metálico sobre un fondo perforado, para luego ser comprimido y así convertir el CFC en una membrana (Figs. 3 - 11 a la 3 - 13).

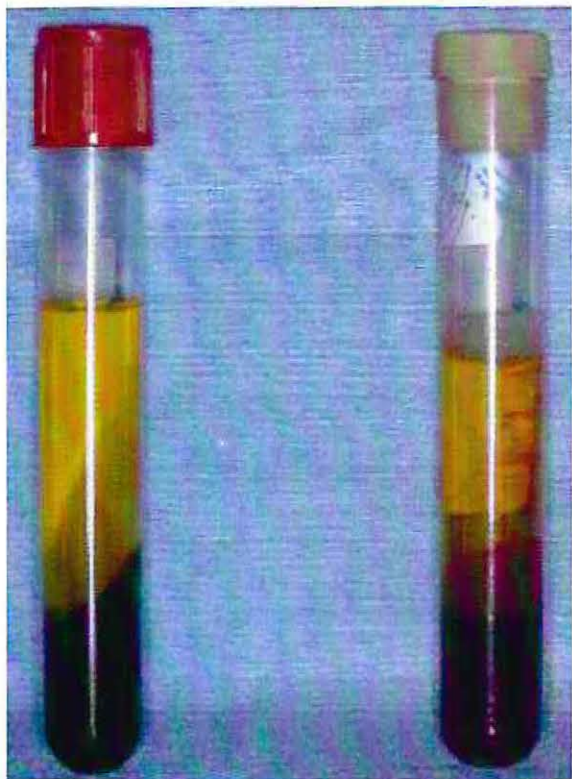


Fig. 3-11.

El tubo de Tapa roja, recubierto con sílice, muestra tres capas diferentes, después del centrifugado. La capa más superior es la de Plasma Pobre en Plaquetas, o PPP; la de al medio es la Capa de Fibrina Leucoplaquetaria, que es un gran bloque de fibrina densa polimerizada que contiene los Factores de Crecimiento concentrados. La capa inferior es la de los Glóbulos rojos. El Tubo de Tapa Amarilla (sin recubrimiento) muestra dos capas, después del centrifugado. La capa superior es la del Adhesivo de Fibrina Autóloga, o AFA, y la inferior la capa de células rojas que será desechada.

Fig. 3-12

Las capas de CFC son colocadas en el contenedor de metal estéril con fondo perforado para su posterior compresión.





Fig. 3-13

Se observan las membranas de CFC (Concentrado de Factores de Crecimiento) formadas, luego de ser comprimidas con la tapa metálica del contenedor, Estas membranas son usadas como alternativas a las membranas de colágeno.

El AFA se obtiene con jeringa, y es mezclado con hueso particulado o en polvo y dejado de 5 a 10 minutos para su polimerización, y así generar el Sticky bone, que queda de color amarillento (Fig. 3 - 14). Para acelerar la polimerización del AFA se toma el exudado del fondo del contenedor metálico, luego de la compresión de la capa de CFC, y se mezcla con el AFA y el injerto óseo. Este exudado contiene factores de crecimiento y trombina autóloga, de parte de la capa de glóbulos rojos, por lo que la auto-polimerización se logra rápidamente. Este "Sticky Bone" es de color rojo, por los restos de la capa de glóbulos rojos utilizada para mejorar el proceso de polimerización (Fig. 3 - 15)¹⁴⁷. El Sticky Bone no se rompe fácilmente, incluso al sacudirlo con las pinzas. Todo esto debido al entrelazado de fibrina que se forma, por lo que la pérdida de injerto óseo es mínima, incluso sin el uso de tachuelas óseas y/o mallas de titanio.



Fig. 3-14

Sticky Bone de color amarillento, mezcla de hueso particulado y Adhesivo de Fibrina Autóloga (AFA). La formación se demora de 5 a 10 minutos, dependiendo del tipo de injerto óseo utilizado.

Fig. 3-15

Sticky Bone de color rojo.
Para lograr una aceleración de la polimerización del Sticky bone primario (amarillento) se le agrega el líquido obtenido de la compresión de las Capas de CFC, el que contiene factores de crecimiento y trombina autóloga, de parte de la capa de glóbulos rojos, por lo que la auto-polimerización se logra en no más de un minuto.



Capítulo IV

Injertos Óseos y Materiales Sustitutos de Hueso.

Los materiales de relleno óseo sirven para varios propósitos en los procedimientos de Regeneración Ósea Guiada (ROG):

- **Dar soporte a la membrana, para evitar que esta colapse**
- **Actuar como andamiaje para que el hueso crezca desde el sitio del defecto**
- **Estimular el crecimiento óseo desde el sitio beneficiario**
- **Funcionar como un escudo mecánico ante las fuerzas de los tejidos blandos que cubren el sitio**
- **Proteger el volumen aumentado de la reabsorción**

Además, las indicaciones clínicas de uso de materiales de relleno óseo van desde injertos menores en defectos peri-implantares, hasta la regeneración extensos defectos óseos.

Considerando este amplio rango de propósitos, es de esperarse que un solo material no pueda cumplir todos estos requerimientos. Por lo tanto, será necesario de manera habitual combinar dos o más materiales para obtener un resultado predecible y exitoso en el tratamiento. Las características de los injertos y materiales de relleno óseo más usados serán revisados en esta sección.

Los materiales de relleno óseo pueden derivar ya sea de la persona que está siendo tratada (Injertos de Hueso Autógeno o Autoinjertos) o de una fuente externa (Materiales Sustitutos de Hueso). La figura 4-1 nos entrega una clasificación de los materiales disponibles para Injertos Óseos. Ambos, los autoinjertos y los materiales sustitutos de hueso pueden ser usados como injertos en bloque o injertos particulados.

Sea cuál sea el origen y el método de producción, el material de injerto óseo debe cumplir ciertas demandas y demostrar algunas características materiales bien definidas para que pueda ser utilizado en procedimientos de aumento de hueso. El material sustituto de hueso debe ser seguro y biocompatible para evitar el riesgo de transmisión de alguna enfermedad o causar alguna reacción inmunológica. Esto no es tema con los autoinjertos, a no ser que no sean manipulados correctamente durante la cirugía.

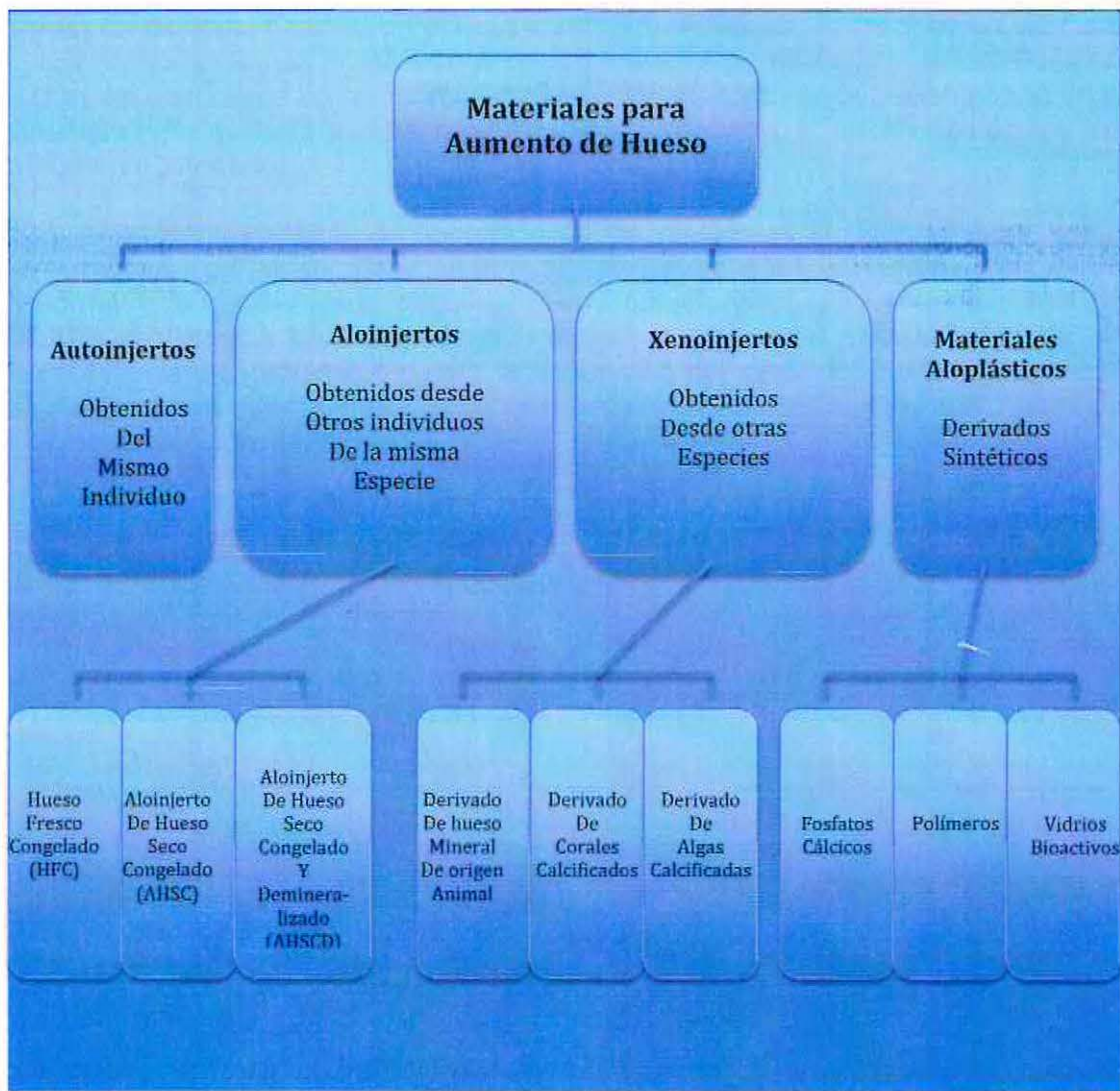


Fig. 4-1. Clasificación de los Materiales para Aumento Óseo.

La geometría del material debe favorecer el crecimiento hacia adentro de vasos sanguíneos, lo que es crucial para la formación de hueso dentro de este mismo. Esto quiere decir que el material no sólo debe ser poroso, sino que también debe tener macro poros que estén interconectados¹⁴⁸. Existen reportes disímiles respecto al tamaño óptimo que deben tener los macroporos, pero se cree que debe ser de entre 100 a 500um¹⁴⁹. La macroporosidad es mucho más

importante para la revascularización en materiales de relleno óseo usados en la forma de bloques. Cuando se utilizan injertos particulados, el crecimiento vascular hacia el injerto es más probable que ocurra entre las partículas injertadas. Por esta razón, es importante no comprimir en demasía las partículas del relleno óseo en el área del defecto, para que se produzca una revascularización sin obstáculos del volumen aumentado.

Las características de superficie de los materiales sustitutos óseos, están determinadas por su composición química, microporosidad, aspereza de superficie y forma y tamaño de sus cristales. Estas características de superficie son de mucha importancia para la absorción inicial de proteínas, para la adhesión de osteoblastos y osteoclastos y para la deposición del osteoide, por lo tanto, incide en la aposición directa sobre la superficie del material de hueso nuevo formado (Osteoconducción)¹⁵⁰⁻¹⁵²(Fig. 4-2).

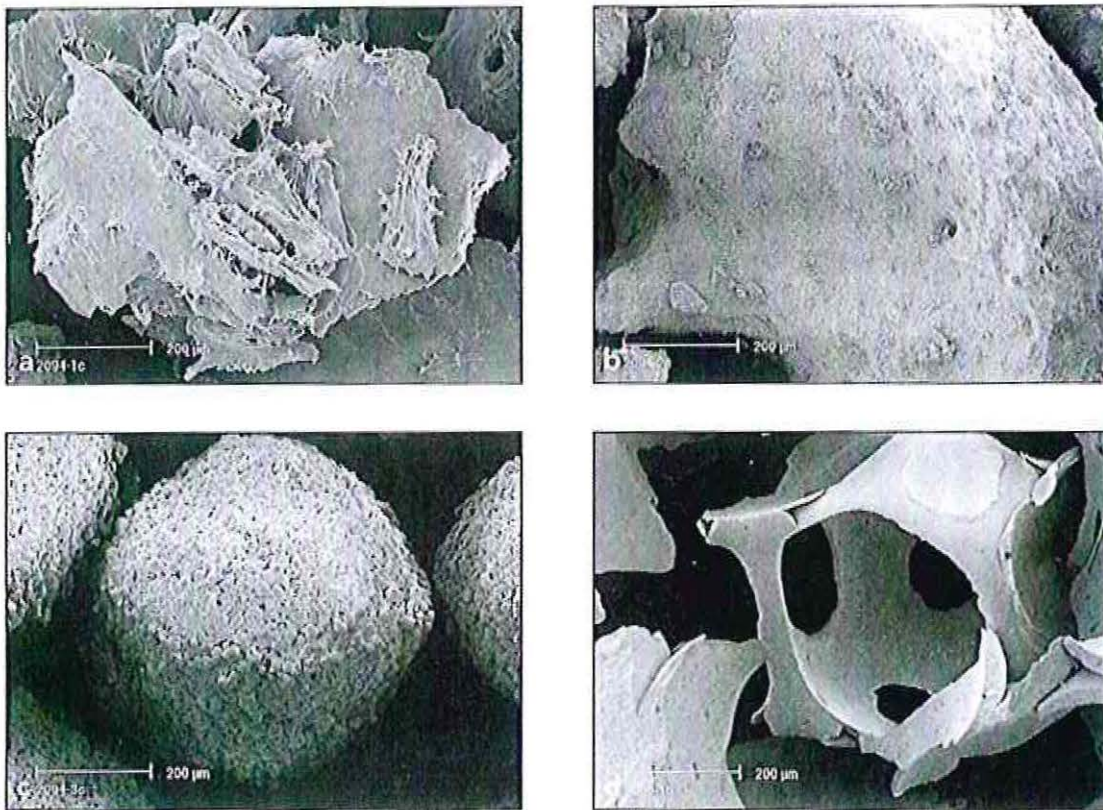


Fig. 4-2.

Imágenes de un Microscopio de Barrido de Electrones de (a) Aloinjerto de hueso desmineralizado, seco y congelado, (b) Hueso mineral desproteínizado bovino, (c) Fosfato cálcico sintético no poroso y (d) Fosfato cálcico sintético poroso.

Finalmente, las propiedades de manejo del material de injerto deben facilitar su aplicación clínica. Características adicionales dependen de la indicación clínica: si el material de relleno óseo es aplicado en áreas en donde serán colocados implantes más adelante, como por ejemplo los alvéolos postextracción, el material debe ser preferentemente reabsorbido junto con la formación de hueso nuevo, para así permitir la colocación de los implantes en hueso vital, solamente. En otras situaciones es más favorable que el material posea una baja tasa de sustitución, o incluso, que no se reabsorba. Este puede ser el caso en las zonas estéticas, donde el material de relleno óseo es usado para restablecer el contorno del proceso alveolar y funciona como una barrera para mantener el soporte de los tejidos blandos, por lo que contribuye a un resultado exitoso a largo plazo^{153,154}.

Todas las características de estos materiales deben ser cuidadosamente evaluadas antes de que el nuevo material sea introducido para el uso clínico. En el laboratorio, en estudios in vitro, usando líneas de células osteoblásticas, se puede demostrar cómo estas células, muy importantes, reaccionarán al nuevo material, en relación a la proliferación celular, diferenciación y producción de matriz extracelular. También puede ser determinado si se requerirán de osteoclastos para producir lagunas por reabsorción de la superficie del material, o ocurrirá una disolución físico-química.

Toda la documentación disponible de los estudios in vitro y en vivo debe ser cuidadosamente evaluada antes de que el nuevo material sea introducido. En el campo de la Implantología Dental, sin embargo, muchos de los materiales sustitutos óseos son lanzados al mercado sin suficiente documentación disponible.

Injertos de Hueso Autógeno.

Los autoinjertos pueden ser recolectados de sitios intra y extraorales (Tabla 4-1). El hueso autógeno está formado por un 30% de contenido orgánico y un 70% inorgánico, aproximadamente. De los componentes orgánicos, un 90 a 95% corresponde a colágeno (tipo I), y el resto son proteínas no colágenas, tales como osteocalcina, calcitonina, osteopontina, predominantemente en la forma de cristales de Hidroxiapatita (HA).

Al trasplantar hueso autógeno, los factores de crecimiento y células osteogénicas viables que estimulan la formación ósea, son llevados al sitio receptor. La cantidad de células y la concentración de factores de crecimiento muestran una gran variación inter e intra-individual, dependiendo en gran medida de la edad del paciente, la presencia de enfermedades sistémicas y la ubicación del sitio donante.

Los factores de crecimiento comprenden a las proteínas óseas Morfogenéticas (POMs), factor de crecimiento transformador beta, factores de crecimiento tipo insulina I y II, factor de crecimiento derivado de plaquetas y factores de crecimiento de fibroblastos A y B. Estos factores se encuentran principalmente en la matriz ósea y son liberados durante la reabsorción de los autoinjertos. Mientras mayor sea el área de superficie del autoinjerto, más rápido serán liberados estos factores. Esto quiere decir que los bloques para injerto de hueso esponjoso liberan más rápidamente estos factores de crecimiento que los bloques de hueso cortical, y los autoinjertos particulados muestran una mayor rapidez en la liberación de estos factores de crecimiento, que estimulan la formación ósea, en comparación con los autoinjertos en bloque¹⁵⁵.

Tabla 4-1: Sitios donantes de Autoinjertos.

Región	Geometría	Volumen	Reabsorción
Intraoral			
Mentón	Corticoesponjoso*	++	++
Rama y Cuerpo Mandibular	Cortical	++	+
Espina Nasal	Corticoesponjoso*	+	+++
Tuberosidad del Maxilar	Corticoesponjoso#	+	+++
Cuerpo del Cigomático	Corticoesponjoso#	+	+++
Extraoral			
Cresta Iliaca	Corticoesponjoso#	+++	++
Cóndilo Tibial	Esponjoso	++	+++
Bóveda Craneal	Cortical	++	+
Fíbula (vascularizado)	Corticoesponjoso#	+++	+

- Volumen: + = hueso suficiente para aumentar brecha de un diente; ++ = hueso suficiente para dos elevaciones de piso de seno maxilar; +++ = hueso suficiente para aumentos mayores tipo inlay u onlay y reconstrucciones de defectos de continuidad.
- Reabsorción: + = mínima; ++ = moderada; +++ = pronunciada.
- * Más hueso cortical que esponjoso.
- # Más hueso esponjoso que cortical.

Las células recolectadas del tejido óseo son osteocitos, osteoblastos y osteoclastos, predominantemente. Las células de interés primario para los procedimientos de ROG son las células osteogénicas (Osteoblastos, preosteoblastos y células madre pluripotenciales). Estas células son más numerosas en el hueso trabecular (esponjoso), mientras que el hueso compacto (cortical) muestra una menor cantidad de estas células osteogénicas. El potencial osteogénico en individuos jóvenes y sanos es mayor que en individuos adultos y

adultos mayores, debido principalmente a una capacidad proliferativa disminuida de las células osteoprogenitoras en individuos adultos y adultos mayores, y no por una función inapropiada de los osteoblastos presentes¹⁵⁶. No existe evidencia que los osteocitos en sus lagunas jueguen un rol en la formación ósea al ser trasplantados, pero se han encontrado osteocitos vivos en biopsias de procedimientos de ROG, lo que confirma que sobreviven al proceso de trasplante.

La geometría de los injertos autógenos de hueso cortical y esponjoso varía enormemente y depende principalmente de la edad y ubicación del sitio donante (ver tabla 4-1). Los injertos autógenos pueden ser recolectados de diferentes ubicaciones y pueden ser usados en diferentes formas. A continuación veremos los comportamientos biológicos esperados en distintos tipos de injertos autógenos.

Injertos Autógenos en Bloque.

Los injertos autógenos en bloque son los únicos injertos que ofrecen una estabilidad mecánica contra la presión de los tejidos blandos circundantes, asumiendo que estos son inmovilizados con tornillos de fijación. La tasa de revascularización depende de la geometría del injerto en bloque, por lo tanto, depende básicamente del cuál es el sitio donante. El uso de una membrana oclusiva para cubrir el injerto en bloque, puede desacelerar la revascularización¹⁵⁷, pero si se perfora la cortical del sitio receptor con una fresa pequeña, se facilita el crecimiento hacia el injerto de nuevos vasos sanguíneos. Los bloques de hueso compacto (cortical) del cuerpo mandibular, por ejemplo, demuestran una revascularización más lenta que los bloques corticoesponjosos de la cresta ilíaca. Esto también ocurre en relación a la tasa de reabsorción. Los bloques corticoesponjosos muestran una reabsorción hasta del 60% del volumen inicial, dentro de los primeros 6 meses^{16,158}. Los bloques corticales de sitios donantes del cráneo también sufren reabsorción, pero en mucho menor medida¹⁵⁹.

Injertos Autógenos Particulados.

Los injertos autógenos Particulados muestran una gran capacidad osteoinductiva y osteoconductiva, en comparación a los autoinjertos en bloque, debido a la mayor área de superficie expuesta del injerto que contiene factores de crecimiento¹⁵⁵. Mientras que el potencial osteogénico de un injerto autógeno aumenta si este es particulado, la cantidad total de células osteogénicas disminuye mientras mayor sea la manipulación mecánica del injerto¹⁶⁰. Esto quiere decir que el número de células es mayor en un bloque de cresta ilíaca, que en el material particulado luego que el mismo bloque haya sido molido en una moledora de hueso (Fig. 4-3). Sin embargo, si el bloque es particulado, se pierde la posibilidad de fijar el injerto, por lo que la estabilidad mecánica de éste disminuye. Sumado a esto, aumenta considerablemente su tasa de reabsorción.

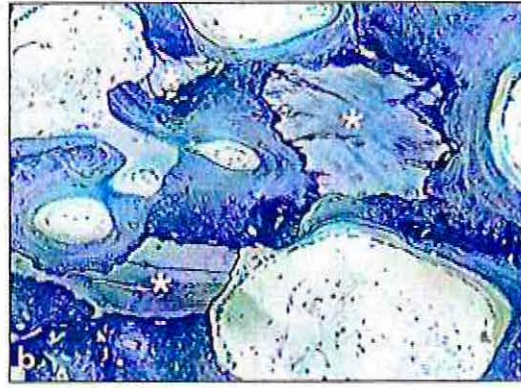
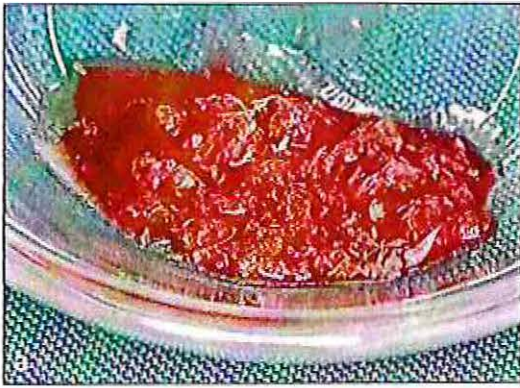


Fig. 4-3.

Injerto Óseo Autógeno Particulado. (a) Injerto óseo humano particulado obtenido al moler un bloque Corticoesponjoso en una moledora de hueso. (b) Sección histológica donde se muestra la formación de hueso alrededor de las partículas del injerto autógeno de hueso (asteriscos) (Tinción Azul de Toluidina).

Una gran cantidad de evidencia científica, obtenida en estudios clínicos y experimentales documenta la idoneidad de los injertos autógenos Particulados para procedimientos de aumento óseo, en donde se requiera de una gran capacidad osteogénica por parte del injerto. Numerosos estudios experimentales han documentados que los injertos autógenos particulados son considerablemente más osteogénicos que cualquier material sustituto de hueso disponible en el mercado hoy en día ¹⁵¹(Fig. 4-4).

Hueso Autógeno obtenido de Raspadores Óseos.

El hueso autógeno obtenido con raspadores (legras) óseos, ha sido utilizado en los últimos años para procedimientos de regeneración ósea menores, tales como en alvéolos post extracción y procedimientos de elevación de piso de seno maxilar localizados, y también para cubrir algunos defectos tipo dehiscencias, sólo o en combinación, con materiales sustitutos de hueso¹⁶¹⁻¹⁶³. Con esta técnica, pequeñas partículas de hueso cortical son recolectadas al raspar la superficie ósea – con un simple abordaje Intraoral en donde se puede llegar a obtener hasta 5cm³ de hueso¹⁶¹. Se ha demostrado que osteocitos viables logran sobrevivir, dentro de sus lagunas, el proceso de injerto, pero debido a la naturaleza cortical de este tipo de partículas, muy pocos osteoblastos y preosteoblastos son encontrados dentro de ellas. Su resistencia a la reabsorción es presumiblemente baja, debido a pequeño tamaño de ellas (1.0 a 1.3 x 0.2 x 0,1mm)¹⁶³. Aún no está disponible la información respecto al contenido de factores de crecimiento presentes en estas partículas.

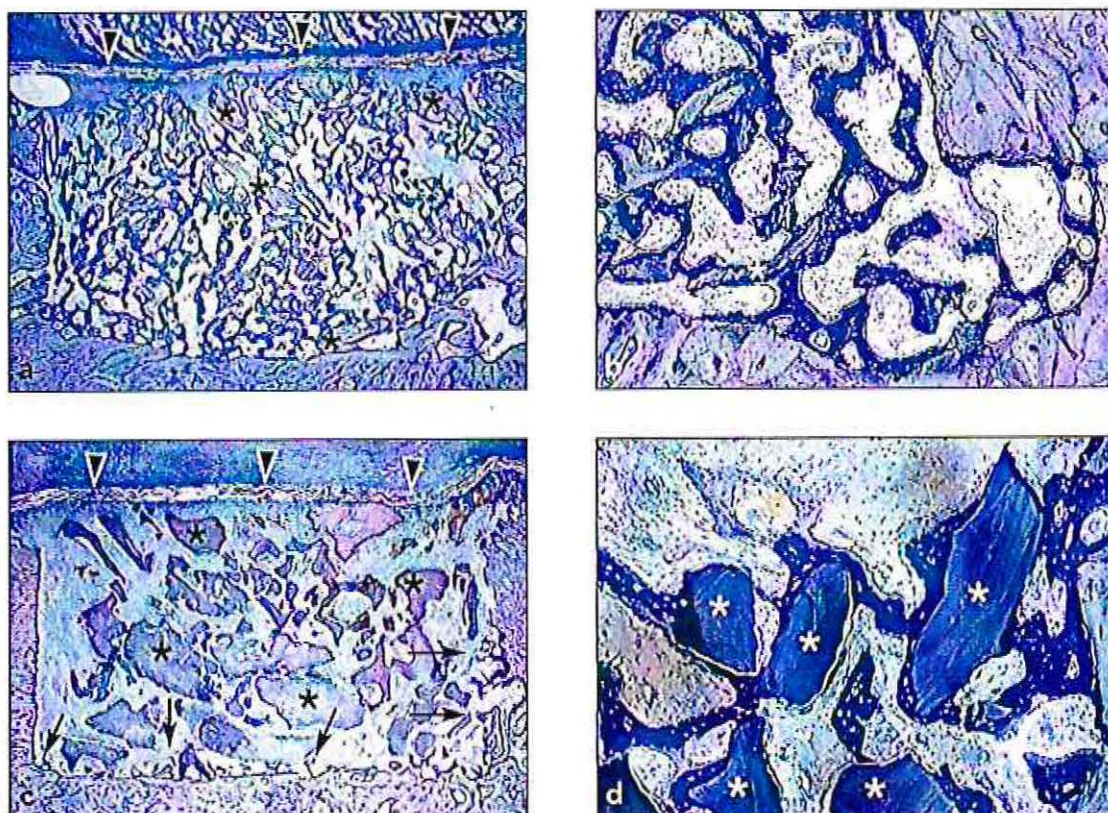


Fig. 4-4.

Micrografías comparando las propiedades osteoconductoras del injerto óseo autógeno particulado (a y b, asteriscos) y del hueso mineral bovino desproteínizado (c y d, asteriscos) que es un material sustituto de hueso. Los rellenos óseos fueron colocados en defectos óseos creados en mandíbulas de cerdos enanos y cubiertos con una membrana de barrera de ePTFE (cabezas de flecha). El tiempo de cicatrización fue de 2 semanas. (a y b) Nótese el denso entramado de hueso trabeculado nuevo formado alrededor y entre las partículas de autoinjerto. (c y d) En contraste, hay muy poca formación de hueso nuevo en los márgenes del defecto óseo (flechas) en donde el sustituto óseo xenogénico fue usado. (Tinción Azul de Toluidina).

Hueso Autógeno obtenido de Colectores Óseos.

El hueso autógeno obtenido con colectores óseos, es un método de recolección en el cual el polvillo óseo es colectado a través de un filtro que está conectado al equipo de succión, que es usado durante la preparación del lecho implantario. La filosofía de este procedimiento es intrigante, ya que la adquisición

de este injerto de hueso autógeno no le causa ningún discomfort adicional al paciente. En el mercado existen varios tipos diferentes de colectores óseos, con distintas eficiencias¹⁶⁴, pero la cantidad de hueso que puede ser colectada es menor, por lo que generalmente sólo es usado para cubrir pequeños defectos periimplantarios.

Este material de injerto frecuentemente se contamina con bacterias de la cavidad oral. Esta contaminación puede ser reducida, pero no eliminada, al hacer que el paciente se enjuague previa cirugía con clorhexidina; también al utilizar un protocolo de succión riguroso, con dos aparatos de succión, donde el que tiene el filtro colector es usado exclusivamente durante la perforación ósea; y por último, enjuagando el hueso colectado con clorhexidina^{165,166}. Sin embargo, no es sabido si estos enjuagues con clorhexidina afectan el potencial osteogénico del injerto.

En la tabla 4-2 se muestran las indicaciones posibles para las diferentes formas de injertos autógenos.

Los injertos autógenos aún son considerados como el "gold standard" en la Cirugía Ósea Reconstructiva¹⁶⁷. Sin embargo, variados inconvenientes relacionados con el uso de estos, ha intensificado la búsqueda de nuevas alternativas. Primero, está la reabsorción impredecible de hasta un 60% en los bloques corticoesponjosos autógenos¹⁵⁸. Si se produjera una reabsorción uniforme, sería simple realizar una sobre compensación estandarizada del volumen aumentado. Segundo, está la morbilidad del sitio donante. Esto es más pronunciado en relación a sitios donantes extraorales, pero también puede llegar a ser bastante significativo en los procedimientos intraorales. Finalmente, puede ser un inconveniente que el hueso autógeno no está disponible en cantidades ilimitadas.

Con el objetivo principal de reducir, o incluso eliminar las deficiencias de los injertos autógenos, se siguen buscando y estudiando nuevos y apropiados materiales sustitutos de hueso.

Tabla 4-2. Características de los Injertos Autógenos y sus Indicaciones.

Tipo de Injerto	Células Osteogénicas	Factores de Crecimiento	Estabilidad Mecánica	Reabsorción	Indicaciones
Bloque Cortical	++	++++	+++++	+	Aumentos laterales y verticales de crestas en protocolo diferido.
Bloque Cortico – Esponjoso	++++	+++	++++	++	Aumentos laterales y verticales de crestas en protocolo diferido.
Partículas Corticales	+	+++	+++	+++	Aumentos laterales menores, defectos periimplantarios, fenestraciones y dehiscencias simultáneo a la colocación del implante. Procedimientos de aumentos de seno Empaquetado alrededor de bloques. Mezcla con materiales sustitutos óseos.
Partículas Esponjoso	+++	++	++	++++	Aumentos laterales menores, defectos periimplantarios, fenestraciones y dehiscencias simultáneo a la colocación del implante. Procedimientos de aumentos de seno Empaquetado alrededor de bloques. Mezcla con materiales sustitutos óseos.
Hueso de Raspador	+	++	++	++++	Aumentos laterales menores, defectos periimplantarios, fenestraciones y dehiscencias simultáneo a la colocación del implante. Aumentos sinusales menores. Mezcla con materiales sustitutos óseos.
Hueso de Colector	+	+	+	++++ +	Mezcla con materiales sustitutos óseos.

- Células Osteogénicas y Factores de Crecimiento: + = pocas; ++ = número moderado; +++ = muchas; ++++ = abundantes.
- Estabilidad Mecánica y Reabsorción: + = mínima; ++ = limitada; +++ = moderada; ++++ = substancial; +++++ = pronunciada.

Injertos Alógenos o Aloinjertos.

Los injertos alógenos consisten en hueso obtenido de un donante, y usado en otro individuo de la misma especie. El trasplante de hueso desde un individuo a otro ha sido realizado en Cirugía Ortopédica por más de 120 años¹⁶⁸.

Los aloinjertos, usualmente, son guardados en bancos de hueso, y pueden ser usados como aloinjerto de hueso fresco congelado (AHFC), aloinjerto de hueso seco congelado (AHSC) o aloinjerto de hueso desmineralizado seco y congelado (AHDSC). El AHFC es raramente utilizado en los procedimientos de ROG, debido al alto riesgo de rechazo inmunológico y transmisión de enfermedades, mientras que el proceso de secado y congelado, en los AHSC y AHDSC, tiende a disminuir la inmunogenicidad de estos materiales, mejorando sus resultados clínicos. Los aloinjertos están disponibles en las formas de bloque y partículas, ya sea cortical o esponjoso^{169,170}.

Los AHSC y AHDSC, han demostrado ser biocompatibles, y contienen moléculas osteoinductivas, tales como las POMs (proteínas óseas morfogenéticas)¹⁷¹. La desmineralización de los aloinjertos se realiza para exponer aún más las POMs, y así incrementar su potencial osteoinductivo inmediato. Sin embargo, durante el proceso de desmineralización, los AHSC pierden parte de su estabilidad mecánica, por lo que los AHDSC deben ser usados en combinación con otro material que mantenga el espacio (volumen) logrado en la cirugía de aumento.

La evidencia histológica de un estudio comparativo experimental, realizado en mandíbulas de cerdos enanos, mostró que los aloinjertos desaceleran la formación de hueso nuevo en comparación con los autoinjertos (control positivo) y con el coágulo (control negativo). Los AHDSC mostraron propiedades osteoconductoras, pero un efecto de un posible potencial osteoinductivo no pudo ser demostrado (Fig. 4-5). Por lo tanto, los AHFC, AHSC y los AHDSC poseen indiscutiblemente moléculas osteoinductivas. Sin embargo, aún es debatido si las concentraciones de estas POMs son suficientes para activar un potencial osteoinductivo clínicamente relevante, y también si estas moléculas están presentes en su forma activa.

Comparados con las limitaciones de los autoinjertos, éstos no provocan morbilidad del sitio donante, y están disponibles en cantidades abundantes. Sin embargo, sufren reabsorción, tal como pasa en los autoinjertos¹⁶⁹.

Injertos Alógenos o Aloinjertos.

Los injertos alógenos consisten en hueso obtenido de un donante, y usado en otro individuo de la misma especie. El trasplante de hueso desde un individuo a otro ha sido realizado en Cirugía Ortopédica por más de 120 años¹⁶⁸.

Los aloinjertos, usualmente, son guardados en bancos de hueso, y pueden ser usados como aloinjerto de hueso fresco congelado (AHFC), aloinjerto de hueso seco congelado (AHSC) o aloinjerto de hueso desmineralizado seco y congelado (AHDSC). El AHFC es raramente utilizado en los procedimientos de ROG, debido al alto riesgo de rechazo inmunológico y transmisión de enfermedades, mientras que el proceso de secado y congelado, en los AHSC y AHDSC, tiende a disminuir la inmunogenicidad de estos materiales, mejorando sus resultados clínicos. Los aloinjertos están disponibles en las formas de bloque y partículas, ya sea cortical o esponjoso^{169,170}.

Los AHSC y AHDSC, han demostrado ser biocompatibles, y contienen moléculas osteoinductivas, tales como las POMs (proteínas óseas morfogenéticas)¹⁷¹. La desmineralización de los aloinjertos se realiza para exponer aún más las POMs, y así incrementar su potencial osteoinductivo inmediato. Sin embargo, durante el proceso de desmineralización, los AHSC pierden parte de su estabilidad mecánica, por lo que los AHDSC deben ser usados en combinación con otro material que mantenga el espacio (volumen) logrado en la cirugía de aumento.

La evidencia histológica de un estudio comparativo experimental, realizado en mandíbulas de cerdos enanos, mostró que los aloinjertos desaceleran la formación de hueso nuevo en comparación con los autoinjertos (control positivo) y con el coágulo (control negativo). Los AHDSC mostraron propiedades osteoconductoras, pero un efecto de un posible potencial osteoinductivo no pudo ser demostrado (Fig. 4-5). Por lo tanto, los AHFC, AHSC y los AHDSC poseen indiscutiblemente moléculas osteoinductivas. Sin embargo, aún es debatido si las concentraciones de estas POMs son suficientes para activar un potencial osteoinductivo clínicamente relevante, y también si estas moléculas están presentes en su forma activa.

Comparados con las limitaciones de los autoinjertos, éstos no provocan morbilidad del sitio donante, y están disponibles en cantidades abundantes. Sin embargo, sufren reabsorción, tal como pasa en los autoinjertos¹⁶⁹.

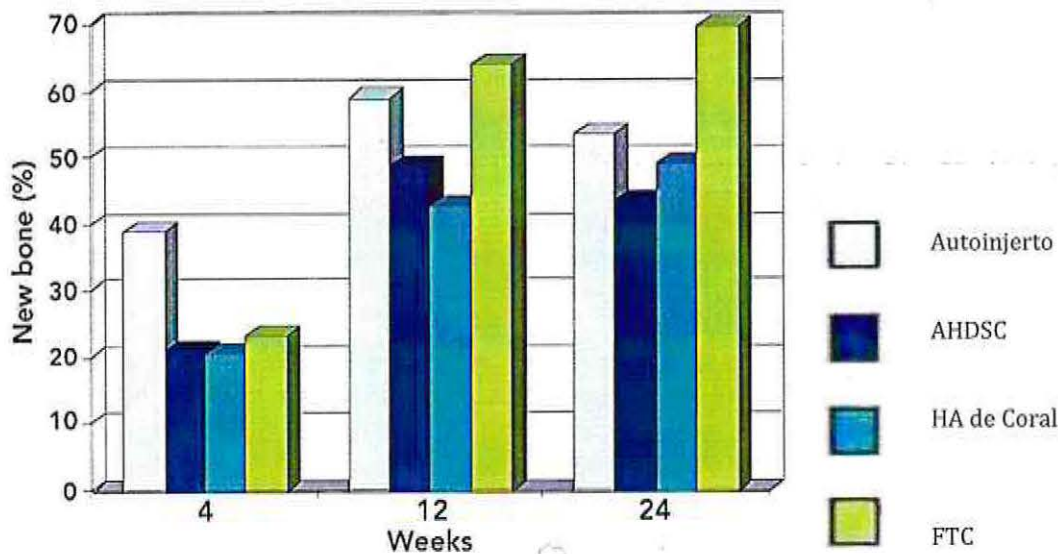


Fig. 4-5.

Porcentaje de hueso nuevo formado en defectos óseos estandarizados realizados en mandíbulas de cerdos enanos, injertados con Autoinjertos particulados, Aloinjerto de hueso desmineralizado seco congelado (AHDSC), Xenoinjerto de HA (hidroxiapatita) derivada de coral e injerto aloplástico fosfato tricálcico (FTC).

Xenoinjertos.

Los xenoinjertos, o sustitutos óseos xenógenos, consisten en minerales óseos derivados de animales, o minerales similares al óseo, derivados de corales o algas calcificadas, a los cuales se les ha extraído su componente orgánico para eliminar el riesgo de reacciones inmunogénicas y la transmisión de enfermedades.

Minerales derivados de corales y algas similares a los minerales óseos.

Los sustitutos óseos derivados de corales ganaron popularidad en las cirugías ortopédicas y craneofaciales a finales de los 80s. En diferentes especies de corales calcificados, fueron encontrados un esqueleto de carbonato de calcio, con una geometría similar a la que posee el hueso esponjoso humano, con macroporos interconectados de 200 a 600um (micrómetros). El carbonato de calcio coralino es transformado en HA por una reacción de intercambio hidrotermal con el fósforo. Aunque la HA coralina es idéntica al componente mineral del hueso, estudios experimentales han demostrado que posee un potencial

osteoconductor inferior que los otros materiales sustitutos óseos (Fig. 4-6). Hoy en día, la HA coralina es raramente usada en procedimientos de ROG de tipo onlay, debido a su alta tasa de complicaciones tardías¹⁷².

Cuando es usado en la forma particulada, los gránulos tienden a migrar, y los que permanecen en la zona aumentada, generalmente son encapsulados por tejido fibroso.

Los bloques, por otra parte, generalmente muestran formación ósea en todo el volumen aumentado, pero tienden a desarrollar dehiscencias tardías¹⁷³. (Fig. 4-7)

También existe un grupo de algas marinas que contienen un exoesqueleto calcificado, hecho de carbonato de calcio. El material natural es convertido a fluorohidroxiapatita, a través de una reacción de intercambio con fosfato de amonio, a 700°C. La estructura morfológica, está compuesta por poros alineados de forma paralela, con un diámetro medio de 10µm y conectados por microperforaciones. La configuración de los poros no es la ideal para el crecimiento vascular, pero se ha reportado invasión celular y deposición directa de hueso sobre la superficie del material^{174,175}. A diferencia de la HA coralina, la fluoroapatita de estas algas sufre una reabsorción más lenta¹⁷⁴.

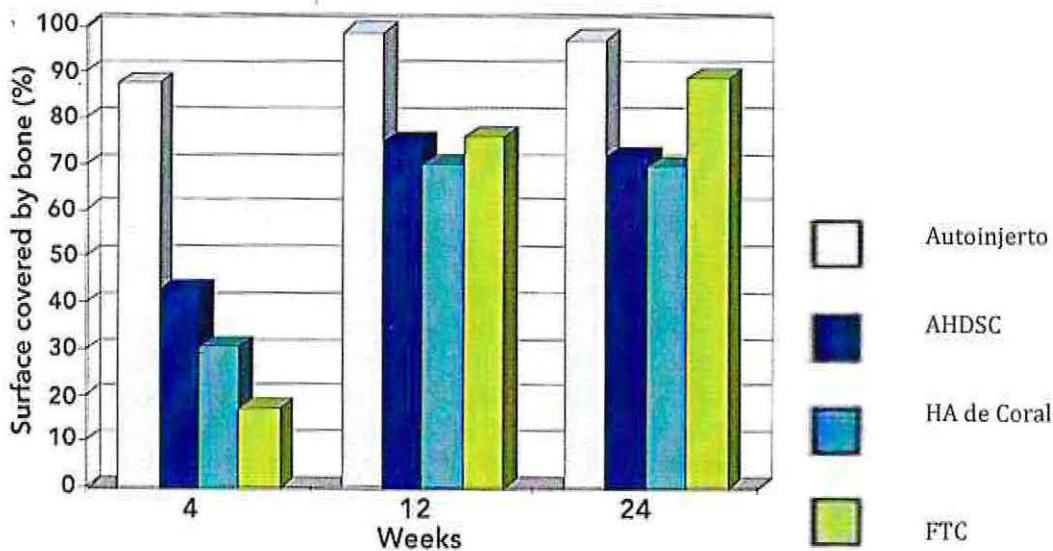


Fig. 4-6.

Porcentaje de superficie del material de injerto cubierto por hueso como indicador del potencial osteoconductor de Autoinjertos particulados, Autoinjerto de hueso desmineralizado seco congelado (AHDSC), Xenoinjerto de HA (hidroxiapatita) derivada de coral e injerto aloplástico fosfato tricálcico (FTC), en defectos óseos estandarizados en mandíbulas de cerdos enanos.



Fig. 4-7.

Dehiscencia mucosa de un bloque xenogénico derivado de un coral a los 4 años luego del aumento óseo en una mandíbula edéntula.

Minerales Óseos derivados de Animales.

Los xenoinjertos derivados de fuentes óseas naturales han sido investigados en extenso en múltiples estudios clínicos y experimentales. En particular, ha sido usado el hueso esponjoso bovino, como fuente de estos materiales sustitutos óseos, debido a su cercana similitud al hueso esponjoso humano (Fig. 4.8). Es removido el componente orgánico, a través de un tratamiento de calor, o con métodos de extracción química, o una combinación de ambos, para así eliminar el riesgo de reacciones inmunológicas y transmisión de enfermedades. Desde el primer reporte de encefalopatía bovina esponjiforme, ha habido un enfoque particular en la capacidad de estos métodos de extracción para eliminar completamente todas las proteínas de esta fuente ósea bovina^{176,177}. Sin embargo, a pesar del riesgo hipotético que queden remanentes orgánicos en estos materiales, no ha habido reportes de transmisión de enfermedades con estos sustitutos óseos. En contraste, con los aloinjertos, se han reportado algunos pocos casos de transmisión del Virus de Inmunodeficiencia Humana y de la Hepatitis.

Los minerales óseos bovinos desproteinizados (MOBD) son, en general, conocidos por su biocompatibilidad y osteoconducción, aunque los métodos de producción tienen un fuerte impacto en su comportamiento biológico.

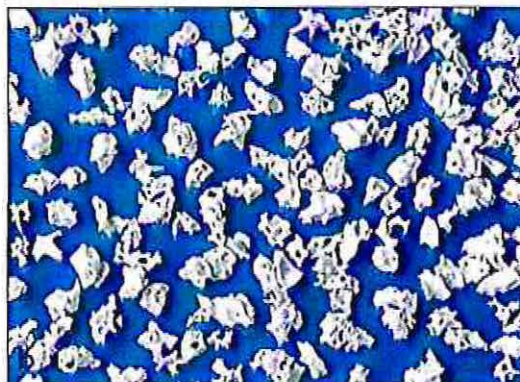
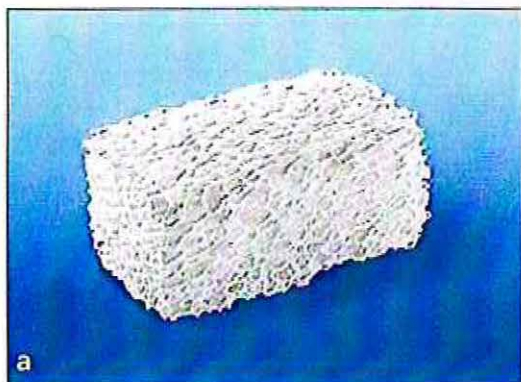


Fig. 4-8
Mineral Óseo Bovino desproteinizado (MOBD) Sustituto óseo xenogénico. (a) Bloque de esponjoso de MOBD. (b) MODB en su forma particulada. (c) Sección histológica de un MOBD particulado, antes de su implantación. Se ve el patrón laminar con un microscopio de luz polarizada.

Dos sustitutos óseos derivados de hueso esponjoso bovino, uno desproteinizado por medio de altas temperaturas, y el otro, principalmente por métodos de extracción química, mostraron diferentes propiedades osteoconductoras y de reabsorción, in vivo y in vitro ^{175,178}(Fig. 4-9). Estas diferencias reflejan los cambios en las características de superficie, relacionados con la producción de estos materiales. Las temperaturas por sobre los 1000°C, provocan una sinterización (unión de la superficie de las moléculas) en la HA natural, con la cual los cristales de apatita crecen y desaparecen, en su gran mayoría los espacios intercristales. Esto reduce la microaspereza y porosidad del sustituto óseo y aumenta su cristalinidad.

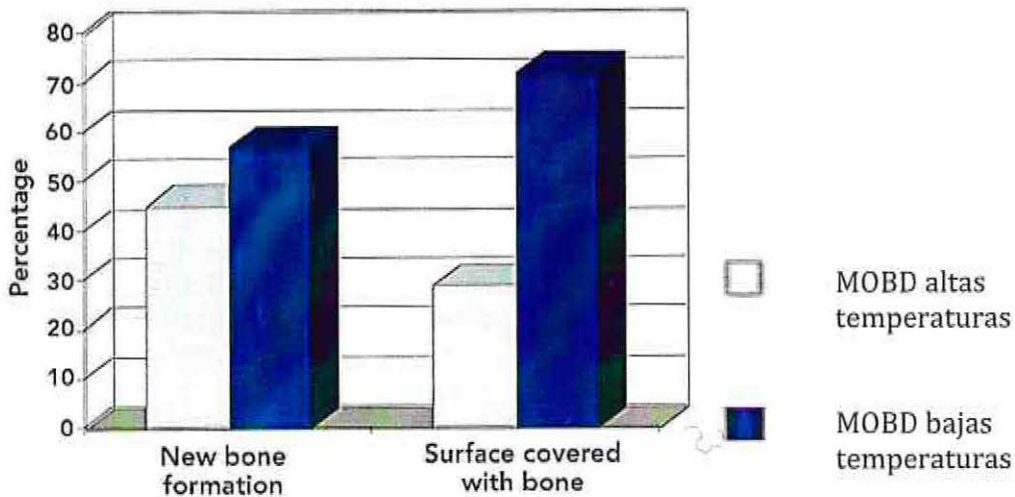


Fig. 4-9

Porcentaje de formación de hueso nuevo y porcentaje de superficie del material de injerto cubierta por hueso (osteoconducción) para dos minerales óseos bovinos desproteinizados de manera distinta. La diferencia en la cantidad de hueso nuevo formado no es estadísticamente significativa, mientras que el MOBD desproteinizado a bajas temperaturas muestra una mayor capacidad osteoconductiva, estadísticamente significativa.

Aún existe controversia respecto si los MOBDs son realmente reabsorbibles¹⁷⁹. Se ha demostrado en estudios In Vitro que las células progenitoras de osteoclastos son capaces de proliferar en la superficie de los MOBDs, y más tarde, células similares a los osteoclastos producen fosas de reabsorción. Sin embargo, comparado con el hueso bovino nativo, los MOBDs poseen menos osteoclastos y más pequeños, y sus fosas de reabsorción son menos pronunciadas¹⁷⁸. Biopsias humanas, luego de aumentos sinusales, confirman que partículas de sustitutos óseos derivados de bovinos pueden aún ser encontrados a los 10 años postcirugías¹⁷⁹. Por esto, para la práctica diaria los xenoinjertos bovinos deben ser considerados casi como materiales no reabsorbibles.

Sustitutos Óseos Aloplásticos.

La gran ventaja de los sustitutos óseos aloplásticos, es que debido a su completo origen sintético, no presentan riesgos de transmisión de enfermedades. Otra razón principal por la que han tenido cada vez más atención científica y clínica, es por la posibilidad teórica de poder diseñar individualmente cada una de las características del material, para cada indicación clínica específica. Hoy en día, la composición química de los materiales puede ser controlada hasta el nivel molecular; el tamaño y la interconectividad de los macroporos, puede ser optimizados para el crecimiento vascular; el porcentaje de las fases de material, cristalina o amorfa, puede ser variado, y la morfología de los bloques y partículas, hechos a medida.

Sin embargo, no todas las características del sustituto óseo aloplástico ideal, han sido identificadas. Por ejemplo, es sabido que la absorción inicial de proteínas y otras macromoléculas del suero, es de vital importancia para la adhesión de células osteogénicas y sus precursores. Esto también aplica a otros materiales sustitutos de hueso, sin embargo, el conocimiento de las características de superficie responsables de esta interacción entre el material y el tejido, aún es limitado¹⁸⁰. Sumado a limitaciones técnicas, hasta ahora, ha sido imposible reproducir las características deseadas del material. No ha sido posible preparar un material macroporoso con una aspereza de superficie que simule a la del hueso natural. Esto, en contraste con los avances en la tecnología de superficie de los implantes de titanio^{85,181}.

Hoy, los materiales disponibles en el mercado, pueden ser categorizados en tres grupos:

- Fosfatos de Calcio
- Vidrios Bioactivos, y
- Polímeros.

De estos, los fosfatos de calcio, especialmente la Hidroxiapatita (HA) y el fosfato beta tricálcico (FTC), han sido los más estudiados debido a sus composiciones, que se asemejan muy cercanamente a la fase inorgánica del hueso¹⁸².

En general, la HA tiene propiedades osteoconductoras y es no reabsorbible, mientras que el FTC, también tiene propiedades osteoconductoras, pero se reabsorbe rápidamente. En defectos óseos protegidos, el sustituto óseo a base de FTC, muestra una cicatrización ósea más rápida que los materiales en base a HA. La explicación de esto es que los iones de calcio y fosfato son liberados desde el material de FTC durante el proceso de degradación, y estos son usados como materia prima para la formación de hueso nuevo. Sumado a esto, la reabsorción del FTC crea espacio para la formación de hueso nuevo, a través del proceso de sustitución progresiva. Sin embargo, en morfologías de defectos más demandantes, como en los aumentos laterales de cresta alveolar, la tasa de reabsorción del FTC es muy alta para poder permitir la formación de hueso nuevo.

La capacidad de mantener el espacio (volumen) del material de FTC, desaparece antes que el hueso nuevo logre ser capaz de estabilizar el volumen aumentado¹⁸³.

Por esta misma razón, combinaciones de HA y FTC, llamado fosfato de calcio bifásico, han sido probadas para beneficiarse de ambas virtudes, la capacidad de mantener el volumen de la HA, y las características osteogénicas y de reabsorción del FTC¹⁸⁴. En estudios experimentales en animales, ha sido posible modular la tasa de sustitución ósea y bioactividad de estos materiales, cambiando las proporciones de HA / FTC^{151,152}. Las perspectivas futuras apuntan a la aplicación de estos descubrimientos para desarrollar una selección de dos o tres tipos de fosfatos de calcio bifásicos para abarcar las distintas indicaciones clínicas posibles.

Aunque en general los fosfatos de calcio son considerados como osteoconductivos, aún deben ser completamente identificadas las características óptimas de sus superficies, para llegar a la osteoconductividad de la superficie de hueso esponjoso. Sin embargo, son una muy buena alternativa para los clínicos y pacientes que tengan dudas sobre el uso de materiales de origen humano o animal.

Los vidrios Bioactivos, son materiales basados en sílice, que fueron introducidos a principios del 1970. Estos vidrios muestran una unión con el hueso, debido a la superficie reactiva de sílice, calcio y grupos fosfatos que presentan. Se cree que el sílice juega un rol crítico en la bioactividad de estos materiales. Los vidrios Bioactivos son materiales muy biocompatibles. Existen algunos datos de estudios experimentales donde se utilizaron estos materiales en procedimientos de ROG, tales como preservaciones alveolares y aumentos sinusales. Sin embargo, existen limitaciones inherentes en los vidrios Bioactivos existentes hoy. Debido a su naturaleza granular y no porosa, no funcionan correctamente como mantenedores del volumen logrado, aunque el primer vidrio cerámico macroporoso ya está siendo probado¹⁸⁵.

Capítulo V

Resumen y Conclusiones

En los últimos 20 años, se ha logrado un progreso muy significativo en el desarrollo de los procedimientos de ROG en Implantología Dental. La ROG se ha convertido en el "Gold Standard" de la regeneración de defectos óseos localizados de la cresta alveolar, en pacientes que requieren de implantes oseointegrados para su rehabilitación oral. Este progreso ha sido un factor muy importante para la rápida expansión de la terapia con implantes en los últimos 10 a 15 años.

El hueso posee la capacidad única de reconstruir su estructura y funciones originales, en respuesta a una fractura, o a la creación de un defecto. El patrón de cicatrización ósea se asemeja al que encontramos durante el crecimiento y desarrollo. Bajo condiciones mecánicas estables, el hueso se forma de manera primaria o directa, siempre que se cumplan dos condiciones esenciales:

- un abundante aporte sanguíneo y,
- exista una base sólida para la deposición de hueso nuevo.

Esta base sólida la proporciona la superficie final del fragmento óseo, en el caso de una fractura, y los márgenes del defecto óseo, en el otro caso.

La reparación de los defectos óseos asemeja el crecimiento óseo aposicional. En el inicio, una fase rápida, la construcción de un molde de hueso reticular, para luego gradualmente ir siendo reforzado por hueso laminar. Dependiendo del ambiente local, este esponjoso primario luego será transformado en hueso cortical compacto, o hueso trabecular. En una segunda fase, la regeneración sufre una profunda remodelación y sustitución por unidades remodeladoras de hueso (unidades metabolizantes óseas). En el hueso cortical, las unidades remodeladoras producen osteonas secundarias. En el hueso esponjoso, la unidad estructural serán los paquetes.

Mientras que la cicatrización de defectos óseos tiene límites que se aproximan a los 2 milímetros, existen varias maneras, separadas o combinadas, para promover la regeneración ósea en zonas mayores:

- Osteoinducción por factores de crecimiento, liberados desde partículas de hueso autólogo, o agregadas como proteínas recombinantes dentro de un transportador, dentro del defecto.
- Osteoconducción dada por autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos, e injertos aloplásticos. La osteoconducción facilita la unión en grandes defectos, al ofrecer un andamiaje sólido en donde el hueso puede ser depositado. La tasa de sustitución del material de relleno óseo varía, y depende del tipo de injerto óseo o material sustituto utilizado.

- Transferencia de células madres, o células progenitoras, que pueden diferenciarse en osteoblastos, utilizando injertos de hueso esponjoso o aspirados de médula ósea.
- Distracción osteogénica, canalizando la formación del callo óseo en un compartimento longitudinal, confinado por fibras colágenas unidas y continuamente estiradas. Esta técnica entrega resultados impresionantes.
- ROG, procedimiento bien establecido, basado en el principio de proteger la regeneración ósea del sobre crecimiento de tejidos blandos que no forman hueso. Su éxito está probado en los aumentos de crestas óseas.

Actualmente, las membranas de colágeno no reticuladas son las membranas de elección para la mayoría de los procedimientos de ROG. Según los protocolos del Departamento de Cirugía Oral y Estomatología, de la Universidad de Bern, Suiza, ellos recomiendan el uso de membranas de colágeno reabsorbibles para todos los procedimientos de ROG horizontales y, también para las elevaciones de pisos de seno maxilar. Las membranas no reabsorbibles de ePTFE, sólo son usadas en casos seleccionados de aumentos óseos verticales.

Las ventajas de las membranas de colágeno son:

- Tienen propiedades para un manejo clínico favorable durante las cirugías, incluyendo su cualidad hidrofílica.
- En comparación con las membranas no reabsorbibles de ePTFE, las de colágeno poseen un bajo riesgo de complicaciones postoperatorias que impidan la regeneración ósea, tal como baja tasa de exposición prematura.
- Eliminan la necesidad de una segunda cirugía para remover la membrana, ya que éstas se reabsorben completamente.

También presentan algunas desventajas relativas, que son:

- Debido a sus no tan favorables propiedades mecánicas, requieren del uso de materiales de soporte (por ejemplo: bloques autólogos, injertos particulados, sustitutos óseos) para prevenir el colapso de éstas.
- Requieren de un material de injerto con un tiempo prolongado de reabsorción, ya que las membranas de colágeno funcionan durante un corto período.

Los injertos óseos y los materiales sustitutos de hueso juegan un rol muy importante en los procedimientos de ROG, con indicaciones que van desde una fenestración implantaria menor, hasta defectos mayores de brechas o extremos libres en el esqueleto facial.

Los Autoinjertos son los únicos materiales para injertos con potencial osteoinductivo bien documentado. La inmediata disponibilidad de moléculas estimulantes de la formación ósea en los autoinjertos, se puede aumentar, al particular el injerto, y por lo tanto, aumentar su área de superficie. Sin embargo, la resistencia a la reabsorción del injerto disminuye a medida que el tamaño de estas partículas sea menor. Las mayores desventajas en el uso de los autoinjertos son:

- Porcentaje de Reabsorción no predecible
- Morbilidad del sitio donante, y
- Cantidades disponibles limitadas, de este tipo de injerto.

Como consecuencia de estas desventajas de los autoinjertos, se han hecho muchos esfuerzos para encontrar alternativas adecuadas. Tal como los autoinjertos, los aloinjertos contienen moléculas osteoinductivas. Sin embargo, es debatido si la concentración y actividad de estas moléculas tiene alguna significancia clínica. Sumado a esto, los aloinjertos también tienen la desventaja de no poder estimar exactamente cuánto de él se reabsorberá.

Hoy en día, los xenoinjertos, son usados principalmente en la forma de Minerales Óseos Bovinos Desproteinizados (MOBDs). El proceso de producción de estos materiales, preserva la geometría original del esponjoso y sus características de superficie naturales, pero el material orgánico es removido, para eliminar el riesgo de transmisión de enfermedades. Los MOBDs, están bien documentados, y se deben considerar como materiales cercanos a los no reabsorbibles.

Los materiales Aloplásticos están hechos de diferentes formulaciones de fosfato de calcio, como la HA, el FTC, o combinaciones de estos, llamados fosfatos de calcio bifásicos. Ha habido grandes avances en el desempeño biológico de estos materiales, ya que cada vez son más conocidas las características de superficie ideales para que migren las células osteogénicas, junto con que los métodos de producción han mejorado considerablemente. Hasta ahora, no ha sido posible imitar la superficie del hueso natural, pero los materiales aloplásticos disponibles hoy en día son alternativas muy valiosas para pacientes y clínicos que tienen dudas en el uso de materiales sustitutos óseos de origen natural.

Referencias Bibliográficas

1. Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson a. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969;3(2):81-100. doi:10.1097/00006534-197107000-00067.
2. Schroeder A, van der Zypen E, Stich H, Sutter F. The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *J Maxillofac Surg.* 1981;9(1):15-25.
3. Albrektsson T., Branemark PI, Hansson HA LJ. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand.* 1981;(52(2)).
4. Schenk RK, Buser D. Osseointegration: a reality. *Periodontol 2000.* 1998;17:22-35.
5. Buser D, von Arx T, ten Bruggenkate C, Weingart D. Basic surgical principles with ITI implants. *Clin Oral Implants Res.* 2000;11 Suppl 1:59-68.
6. Weber HP, Buser D, Donath K, et al. Comparison of healed tissues adjacent to submerged and non-submerged unloaded titanium dental implants. A histometric study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(1):11-19. doi:10.1034/j.1600-0501.1996.070102.x.
7. Gøtfredsen K, Rostrup E, Hjørtting-hansen E, Stoltze K, Budtz-jørgensen E. Histological and histomorphometrical evaluation of tissue reactions adjacent to endosteal implants in monkey's. *Clin Oral Implants Res.* 1991;2(1):30-37. doi:10.1034/j.1600-0501.1991.020104.x.
8. Lekholm U, Adell R, Lindhe J, et al. Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures. (II) A cross-sectional retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1986;15(1):53-61.
9. Lindström J, Brånemark PI, Albrektsson T. Mandibular reconstruction using the preformed autologous bone graft. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1981;15(1):29-38.
10. Jensen J, Sindet-Pedersen S. Autogenous mandibular bone grafts and osseointegrated implants for reconstruction of the severely atrophied maxilla: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg.* 1991;49(12):1277-1287.
11. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980;38(8):613-616.
12. Wood RM, Moore DL. Grafting of the maxillary sinus with intraorally harvested autogenous bone prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1988;3(3):209-214.
13. Kent JN, Block MS. Simultaneous maxillary sinus floor bone grafting and placement of hydroxylapatite-coated implants. *J Oral Maxillofac Surg.* 1989;47(3):238-242.
14. ten Bruggenkate CM, Kraaijenhagen HA, van der Kwast WA, Krekeler G, Oosterbeek HS. Autogenous maxillary bone grafts in conjunction with placement of I.T.I. endosseous implants. A preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1992;21(2):81-84.
15. Triplett RG, Schow SR. Autologous bone grafts and endosseous implants: complementary techniques. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996;54(4):486-494.
16. Widmark G, Andersson B, Ivanoff CJ. Mandibular bone graft in the anterior maxilla for single-tooth implants. Presentation of surgical method. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997;26(2):106-109.
17. Osborn JF. [Extension alveoloplasty (I). New surgical procedures for the treatment of alveolar collapse and residual alveolar ridge atrophy]. *Quintessenz.* 1985;36(1):9-16.
18. Simion M, Baldoni M, Zaffe D. Jawbone enlargement using immediate implant placement associated with a split-crest technique and guided tissue regeneration. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1992;12(6):462-473.
19. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ. Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscid defect sites: a clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1992;7(2):233-245.
20. Dahlin C, Andersson L, Linde A. Bone augmentation at fenestrated implants by an osteopromotive membrane technique. A controlled clinical study. *Clin Oral Implants Res.* 1991;2(4):159-165.

21. Becker W, Becker BE. Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implant dehiscences: surgical techniques and case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1990;10(5):376-391.
22. Buser D, Brägger U, Lang NP, Nyman S. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. *Clin Oral Implants Res.* 1990;1(1):22-32.
23. Nyman S, Lang NP, Buser D, Bragger U. Bone regeneration adjacent to titanium dental implants using guided tissue regeneration: a report of two cases. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990;5(1):9-14.
24. Lazzara RJ. Immediate implant placement into extraction sites: surgical and restorative advantages. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1989;9(5):332-343.
25. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1982;9(4):290-296. doi:10.1111/j.1600-051X.1982.tb02095.x.
26. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol.* 1982;9(3):257-265. doi:10.1111/j.1600-051X.1982.tb02065.x.
27. Dahlin C, Gottlow J, Linde A, Nyman S. Healing of Maxillary and Mandibular Bone Defects Using a Membrane Technique: An Experimental Study in Monkeys. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1990;24(1):13-19. doi:10.3109/02844319009004514.
28. Schenk RK, Buser D, Hardwick WR, Dahlin C. Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1994;9(1):13-29.
29. Nevins M, Mellonig JT. Enhancement of the damaged edentulous ridge to receive dental implants: a combination of allograft and the GORE-TEX membrane. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1992;12(2):96-111.
30. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 1. Surgical procedure in the maxilla. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1993;13(1):29-45.
31. Buser D, Dula K, Belser UC, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. II. Surgical procedure in the mandible. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1995;15(1):10-29.
32. Becker W, Dahlin C, Becker BE, et al. The use of e-PTFE barrier membranes for bone promotion around titanium implants placed into extraction sockets. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993;9(1):31-40.
33. Gottfredsen K, Nimb L, Buser D, Hjørting-Hansen E. Evaluation of guided bone generation around implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51(8):879-884; discussion 885-886.
34. Augthun M, Yildirim M, Spiekermann H, Biesterfeld S. Healing of bone defects in combination with immediate implants using the membrane technique. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1995;10(4):421-428.
35. Rosenquist B, Grenthe B. Immediate placement of implants into extraction sockets: implant survival. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1996;11(2):205-209.
36. Becker W, Becker BE, McGuire MK. Localized ridge augmentation using absorbable pins and e-PTFE barrier membranes: a new surgical technique. Case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1994;14(1):48-61.
37. Gottlow J. Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results. *J Periodontol.* 1993;64(11 Suppl):1157-1165. doi:10.1902/jop.1993.64.11s.1157.
38. Gottlow J, Laurell L, Lundgren D, et al. Periodontal tissue response to a new bioresorbable guided tissue regeneration device: a longitudinal study in monkeys. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1994;14(5):436-449.
39. Hurzeler MB, Quinones CR, Hutmacher D, Schupbach P. Guided bone regeneration around dental implants in the atrophic alveolar ridge using a bioresorbable barrier. An experimental study in the monkey. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(4):323-331. doi:10.1034/j.1600-0501.1997.080411.x.
40. Hürzeler MB, Kohal RJ, Naghshbandi J, et al. Evaluation of a new bioresorbable barrier to

- facilitate guided bone regeneration around exposed implant threads. An experimental study in the monkey. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1998;27(4):315-320.
41. Schliephake H, Kracht D. Vertical ridge augmentation using polylactic membranes in conjunction with immediate implants in periodontally compromised extraction sites: an experimental study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(3):325-334.
 42. Hockers T, Abensur D, Valentini P, Legrand R, Hammerle CHF. The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone defects around implants. A study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*. 1999;10(6):487-498. doi:10.1034/j.1600-0501.1999.100607.x.
 43. Alliot B, Piotrowski B, Marin P, Zahedi S, Brunel G. Regeneration procedures in immediate transmucosal implants: an animal study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(6):841-848.
 44. von Arx T, Cochran DL, Schenk RK, Buser D. Evaluation of a prototype trilayer membrane (PTLM) for lateral ridge augmentation: an experimental study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2002;31(2):190-199. doi:10.1054/ijom.2001.0205.
 45. Donos N, Kostopoulos L, Karring T. Alveolar ridge augmentation using a resorbable copolymer membrane and autogenous bone grafts. An experimental study in the rat. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13(2):203-213. doi:10.1034/j.1600-0501.2002.130211.x.
 46. Oh T-J, Meraw SJ, Lee E-J, Giannobile W V, Wang H-L. Comparative analysis of collagen membranes for the treatment of implant dehiscence defects. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(1):80-90.
 47. Hutmacher D, Hürzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(5):667-678.
 48. Hürzeler MB, Strub JR. Guided bone regeneration around exposed implants: a new bioresorbable device and bioresorbable membrane pins. *Pract Periodontics Aesthet Dent*. 1995;7(9):37-47; quiz 50.
 49. Zitzmann NU, Naef R, Schärer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997;12(6):844-852.
 50. Zitzmann NU, Schärer P, Marinello CP. Factors influencing the success of GBR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration. *J Clin Periodontol*. 1999;26(10):673-682.
 51. Nemcovsky CE, Artzi Z, Moses O. Rotated split palatal flap for soft tissue primary coverage over extraction sites with immediate implant placement. Description of the surgical procedure and clinical results. *J Periodontol*. 1999;70(8):926-934. doi:10.1902/jop.1999.70.8.926.
 52. Nemcovsky CE, Artzi Z, Moses O, Gelernter I. Healing of dehiscence defects at delayed-immediate implant sites primarily closed by a rotated palatal flap following extraction. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15(4):550-558.
 53. Hämmerle CH, Lang NP. Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. *Clin Oral Implants Res*. 2001;12(1):9-18.
 54. Aghaloo TL, Moy PK. Which Hard Tissue Augmentation Techniques Are the Most Successful in Furnishing Bony Support for Implant Placement? *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;49(22).
 55. Buser D, Chen S, Wismeijer D, Belser U. ITI Treatment Guide. Vol 3: Implant placement in post-extraction sites: Treatment options. *Quintessence*. 2009:18-28.
 56. Bonucci E. *Calcification in Biological Systems*. CRC Press; 1992.
 57. Weiner S, Traub W, Wagner HD. Lamellar bone: structure-function relations. *J Struct Biol*. 1999;126(3):241-255. doi:10.1006/jsbi.1999.4107.
 58. Candeliere GA, Liu F, Aubin JE. Individual osteoblasts in the developing calvaria express different gene repertoires. *Bone*. 2001;28(4):351-361.
 59. Qiu S, Rao D., Painitkar S, Parfitt A. Relationships between osteocyte density and bone formation rate in human cancellous bone. *Bone*. 2002;31(6):709-711. doi:10.1016/S8756-3282(02)00907-9.
 60. Ferretti M, Muglia MA, Remaggi F, Canè V, Palumbo C. Histomorphometric study on the

- osteocyte lacuno-canalicular network in animals of different species. II. Parallel-fibered and lamellar bones. *Ital J Anat Embryol.* 1999;104(3):121-131.
61. Noble BS, Reeve J. Osteocyte function, osteocyte death and bone fracture resistance. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;159(1):7-13. doi:10.1016/S0303-7207(99)00174-4.
 62. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet.* 2003;4(8):638-649. doi:10.1038/nrg1122.
 63. Nanci A. Content and Distribution of Noncollagenous Matrix Proteins in Bone and Cementum: Relationship to Speed of Formation and Collagen Packing Density. *J Struct Biol.* 1999;126(3):256-269. doi:10.1006/jsbi.1999.4137.
 64. Robey PG. Vertebrate mineralized matrix proteins: structure and function. *Connect Tissue Res.* 1996;35(1-4):131-136.
 65. SODEK J, MCKEE MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol 2000.* 2000;24(1):99-126. doi:10.1034/j.1600-0757.2000.2240106.x.
 66. Bosshardt DD. Are Cementoblasts a Subpopulation of Osteoblasts or a Unique Phenotype? *J Dent Res.* 2005;84(5):390-406. doi:10.1177/154405910508400501.
 67. Lamoureux F, Baud'huin M, Duplomb L, Heymann D, Rédini F. Proteoglycans: key partners in bone cell biology. *Bioessays.* 2007;29(8):758-771. doi:10.1002/bies.20612.
 68. Aubin J, Triffit J. Principles of Bone Biology. In: Bilezikian J, Raisz L, Rodan G, eds. New York: Academic Press; 2002:59-81.
 69. Yang X, Karsenty G. Transcription factors in bone: developmental and pathological aspects. *Trends Mol Med.* 2002;8(7):340-345.
 70. Otto F, Thornell AP, Crompton T, et al. Cbfa1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell.* 1997;89(5):765-771.
 71. Bronckers AL, Engelse MA, Cavender A, Gaikwad J, D'Souza RN. Cell-specific patterns of Cbfa1 mRNA and protein expression in postnatal murine dental tissues. *Mech Dev.* 2001;101(1-2):255-258.
 72. Suda T, Nakamura I, Jimi E, Takahashi N. Regulation of osteoclast function. *J Bone Miner Res.* 1997;12(6):869-879. doi:10.1359/jbmr.1997.12.6.869.
 73. Mogi M, Otagoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res.* 2004;83(2):166-169.
 74. Aubin JE. Regulation of Osteoblast Formation and Function. *Rev Endocr Metab Disord.* 2001;2(1):81-94. doi:10.1023/A:1010011209064.
 75. Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature.* 2003;423(6937):349-355. doi:10.1038/nature01660.
 76. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med (Berl).* 2001;79(5-6):243-253.
 77. Goldring SR. Inflammatory mediators as essential elements in bone remodeling. *Calcif Tissue Int.* 2003;73(2):97-100. doi:10.1007/s00223-002-1049-y.
 78. Clowes JA, Riggs BL, Khosla S. The role of the immune system in the pathophysiology of osteoporosis. *Immunol Rev.* 2005;208:207-227. doi:10.1111/j.0105-2896.2005.00334.x.
 79. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev.* 2008;29(2):155-192. doi:10.1210/er.2007-0014.
 80. Enlow DH. Functions of the Haversian System. *Am J Anat.* 1962;(110):269-305.
 81. Brand R, Claes L, Ashman RB, et al. The law of bone remodelling. *J Biomech.* 1989;22(2):185-187. doi:10.1016/0021-9290(89)90043-2.
 82. Harris WH, White RE, McCarthy JC, Walker PS, Weinberg EH. Bony ingrowth fixation of the acetabular component in canine hip joint arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 1983;(176):7-11.
 83. Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. A model study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(3):251-262. doi:10.1034/j.1600-0501.2003.00972.x.
 84. Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(4):381-392. doi:10.1111/j.1600-0501.2004.01082.x.

85. Buser D, Broggini N, Wieland M, et al. Enhanced Bone Apposition to a Chemically Modified SLA Titanium Surface. *J Dent Res*. 2004;83(7):529-533. doi:10.1177/154405910408300704.
86. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965;150(3698):893-899.
87. Bang G, Urist MR. Bone induction in excavation chambers in matrix of decalcified dentin. *Arch Surg*. 1967;94(6):781-789.
88. Urist MR, Strates BS. Bone morphogenetic protein. *J Dent Res*. 1971;50(6):1392-1406.
89. Jung RE, Glauser R, Scharer P, Hammerle CHF, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(5):556-568. doi:10.1034/j.1600-0501.2003.00921.x.
90. Warnke P, Springer I, Wiltfang J, et al. Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man. *Lancet*. 2004;364(9436):766-770. doi:10.1016/S0140-6736(04)16935-3.
91. Gautschi OP, Frey SP, Zellweger R. Bone morphogenetic proteins in clinical applications. *ANZ J Surg*. 2007;77(8):626-631. doi:10.1111/j.1445-2197.2007.04175.x.
92. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84-A(3):454-464.
93. Ziran BH, Smith WR, Morgan SJ. Use of calcium-based demineralized bone matrix/allograft for nonunions and posttraumatic reconstruction of the appendicular skeleton: preliminary results and complications. *J Trauma*. 2007;63(6):1324-1328. doi:10.1097/01.ta.0000240452.64138.b0.
94. Dai J, Rabie ABM. VEGF: an essential mediator of both angiogenesis and endochondral ossification. *J Dent Res*. 2007;86(10):937-950.
95. Jackson L, Jones DR, Scotting P, Sottile V. Adult mesenchymal stem cells: differentiation potential and therapeutic applications. *J Postgrad Med*. 2007;53(2):121-127.
96. Zubery Y, Goldlust A, Alves A, Nir E. Ossification of a novel cross-linked porcine collagen barrier in guided bone regeneration in dogs. *J Periodontol*. 2007;78(1):112-121. doi:10.1902/jop.2007.060055.
97. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *Open Dent J*. 2014;8:56-65. doi:10.2174/1874210601408010056.
98. Elgali I, Turri A, Xia W, et al. Guided bone regeneration using resorbable membrane and different bone substitutes: Early histological and molecular events. *Acta Biomater*. 2016;29:409-423. doi:10.1016/j.actbio.2015.10.005.
99. Bunyaratavej P, Wang H-L. Collagen Membranes: A Review. *J Periodontol*. 2001;72(2):215-229. doi:10.1902/jop.2001.72.2.215.
100. Hammerle CHF, Jung RE. Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontol 2000*. 2003;33(1):36-53. doi:10.1046/j.0906-6713.2003.03304.x.
101. Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl:237-259.
102. Hwang D, Sonick M. Guided Bone Regeneration: Concepts and Materials. In: *Implant Site Development*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2015:153-178. doi:10.1002/9781119136194.ch9.
103. McAllister BS, Haghghat K. Bone Augmentation Techniques. *J Periodontol*. 2007;78(3):377-396. doi:10.1902/jop.2007.060048.
104. Almazrooa SA, Noonan V, Woo S-B. Resorbable collagen membranes: histopathologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014;118(2):236-240. doi:10.1016/j.oooo.2014.04.006.
105. Tatakis DN, Promsudthi A, Wikesjö UM. Devices for periodontal regeneration. *Periodontol 2000*. 1999;19:59-73.
106. Turri A, Elgali I, Vazirisani F, et al. Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment. *Biomaterials*. 2016;84:167-183. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.01.034.
107. Wikesjö UME, Lim WH, Thomson RC, Hardwick WR. Periodontal repair in dogs: gingival tissue occlusion, a critical requirement for GTR? *J Clin Periodontol*. 2003;30(7):655-664. doi:10.1034/j.1600-051X.2003.00362.x.
108. Majzoub Z, Berengo M, Giardino R, Aldini NN, Cordioli G. Role of intramarrow penetration in osseous repair: a pilot study in the rabbit calvaria. *J Periodontol*. 1999;70(12):1501-1510.

- doi:10.1902/jop.1999.70.12.1501.
109. Ortolani E, Quadrini F, Bellisario D, Santo L, Polimeni A, Santarsiero A. Mechanical qualification of collagen membranes used in dentistry. *Ann Ist Super Sanita*. 2015;51(3):229-235. doi:10.4415/ANN_15_03_11.
 110. Lorenzoni M, Pertl C, Polansky RA, Jakse N, Wegscheider WA. Evaluation of implants placed with barrier membranes. A retrospective follow-up study up to five years. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13(3):274-280.
 111. von Arx T, Buser D. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(4):359-366. doi:10.1111/j.1600-0501.2005.01234.x.
 112. Machtei EE. The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis. *J Periodontol*. 2001;72(4):512-516. doi:10.1902/jop.2001.72.4.512.
 113. Dupoirieux L, Pourquier D, Picot MC, Neves M. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2001;30(1):58-62. doi:10.1054/ijom.2000.0011.
 114. Singh S, Baker JL. Use of expanded polytetrafluoroethylene in aesthetic surgery of the face. *Clin Plast Surg*. 2000;27(4):579-593.
 115. Bordenave L, Fernandez P, Rémy-Zolghadri M, Villars S, Daculsi R, Midy D. In vitro endothelialized ePTFE prostheses: clinical update 20 years after the first realization. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2005;33(3):227-234.
 116. Becker W, Dahlin C, Lekholm U, et al. Five-year evaluation of implants placed at extraction and with dehiscences and fenestration defects augmented with ePTFE membranes: results from a prospective multicenter study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 1999;1(1):27-32.
 117. Ham J, Miller PJ. Expanded polytetrafluoroethylene implants in rhinoplasty: literature review, operative techniques, and outcome. *Facial Plast Surg*. 2003;19(4):331-339. doi:10.1055/s-2004-815653.
 118. Jovanovic SA, Nevins M. Bone formation utilizing titanium-reinforced barrier membranes. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1995;15(1):56-69.
 119. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, Nyman S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 1988;81(5):672-676.
 120. Jovanovic SA, Schenk RK, Orsini M, Kenney EB. Supracrestal bone formation around dental implants: an experimental dog study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1995;10(1):23-31.
 121. Buser D. *20 Years of Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry*. Quintessence Pub Co; 2009.
 122. Simion M, Baldoni M, Rossi P, Zaffe D. A comparative study of the effectiveness of e-PTFE membranes with and without early exposure during the healing period. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1994;14(2):166-180.
 123. Zellin G, Gritti-Linde A, Linde A. Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: an experimental study in rats. *Biomaterials*. 1995;16(8):601-609.
 124. Aaboe M, Schou S, Hjørting-Hansen E, Helbo M, Vikjaer D. Osseointegration of subperiosteal implants using bovine bone substitute and various membranes. *Clin Oral Implants Res*. 2000;11(1):51-58.
 125. Schliephake H, Dard M, Planck H, Hierlemann H, Jakob A. Guided bone regeneration around endosseous implants using a resorbable membrane vs a PTFE membrane. *Clin Oral Implants Res*. 2000;11(3):230-241.
 126. Schmitz JP, Lemke RR, Zardeneta G, Hollinger JO, Milam SB. Isolation of particulate degradation debris 1 year after implantation of a Guidor membrane for guided bone regeneration: case report. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000;58(8):888-893. doi:10.1053/joms.2000.8216.
 127. Piattelli A, Scarano A, Coraggio F, Matarasso S. Early tissue reactions to polylactic acid resorbable membranes: a histological and histochemical study in rabbit. *Biomaterials*. 1998;19(10):889-896.
 128. Simion M, Maglione M, Iamoni F, Scarano A, Piattelli A, Salvato A. Bacterial penetration

- through Resolut resorbable membrane in vitro. An histological and scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(1):23-31.
129. Zhao S, Pinholt EM, Madsen JE, Donath K. Histological evaluation of different biodegradable and non-biodegradable membranes implanted subcutaneously in rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2000;28(2):116-122. doi:10.1054/jcms.2000.0127.
 130. Owens KW, Yukna RA. Collagen membrane resorption in dogs: a comparative study. *Implant Dent.* 2001;10(1):49-58.
 131. von Arx T, Brogini N, Jensen SS, Bornstein MM, Schenk RK, Buser D. Membrane durability and tissue response of different bioresorbable barrier membranes: a histologic study in the rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(6):843-853.
 132. Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D, Taylor A, Gottlow J, Nyman S. Bone augmentation at titanium implants using autologous bone grafts and a bioresorbable barrier. An experimental study in the rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(2):82-89.
 133. Jung RE, Zwahlen R, Weber FE, Molenberg A, van Lenthe GH, Hammerle CHF. Evaluation of an in situ formed synthetic hydrogel as a biodegradable membrane for guided bone regeneration. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(4):426-433. doi:10.1111/j.1600-0501.2005.01228.x.
 134. Boogaarts JD, Grotenhuis JA, Bartels RHMA, Beems T. Use of a novel absorbable hydrogel for augmentation of dural repair: results of a preliminary clinical study. *Neurosurgery.* 2005;57(1 Suppl):146-151; discussion 146-151.
 135. Wallace DG, Cruise GM, Rhee WM, et al. A tissue sealant based on reactive multifunctional polyethylene glycol. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(5):545-555.
 136. Fowler EB, Breault LG. Ridge augmentation with a folded acellular dermal matrix allograft: a case report. *J Contemp Dent Pract.* 2001;2(3):31-40.
 137. Novaes AB, Papalexiou V, Luczyszyn SM, Muglia VA, Souza SLS, Taba Júnior M. Immediate implant in extraction socket with acellular dermal matrix graft and bioactive glass: a case report. *Implant Dent.* 2002;11(4):343-348.
 138. Rosenkranz S, Kazlauskas A. Evidence for distinct signaling properties and biological responses induced by the PDGF receptor alpha and beta subtypes. *Growth Factors.* 1999;16(3):201-216. doi:10.3109/08977199909002130.
 139. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, et al. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials.* 2003;24(18):3095-3100. doi:10.1016/S0142-9612(03)00114-5.
 140. Tözüm TF, Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc.* 2003;69(10):664.
 141. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55(11):1294-1299.
 142. Anitua E, Orive G, Pla R, Roman P, Serrano V, Andía I. The effects of PRGF on bone regeneration and on titanium implant osseointegration in goats: a histologic and histomorphometric study. *J Biomed Mater Res A.* 2009;91(1):158-165. doi:10.1002/jbm.a.32217.
 143. Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen JA, Creugers NHJ. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(6):539-545. doi:10.1111/j.1600-0501.2008.01525.x.
 144. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e37-e44. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.008.
 145. Corigliano M, Sacco L, Baldoni E. Cgf-una proposta terapeutica. *Odontoiatr N°1.* 2010;1:69-81.
 146. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech.* 2011;74(8):772-777. doi:10.1002/jemt.20968.
 147. Sohn D-S, Huang B, Kim J, Park E, Park C. Utilization of Autologous Concentrated Growth Factors (CGF) Enriched Bone Matrix (Sticky Bone) and CGF-Enriched Fibrin Membrane in Implant Dentistry. *J Implant Adv Clin Dent.* 2015:11-29.

148. Mastrogiacomo M, Scaglione S, Martinetti R, et al. Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics. *Biomaterials*. 2006;27(17):3230-3237. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.031.
149. Eggli PS, Müller W, Schenk RK. Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. A comparative histomorphometric and histologic study of bony ingrowth and implant substitution. *Clin Orthop Relat Res*. 1988;(232):127-138.
150. Berube P, Yang Y, Carnes DL, Stover RE, Boland EJ, Ong JL. The effect of sputtered calcium phosphate coatings of different crystallinity on osteoblast differentiation. *J Periodontol*. 2005;76(10):1697-1709. doi:10.1902/jop.2005.76.10.1697.
151. Jensen SS, Yeo A, Dard M, Hunziker E, Schenk R, Buser D. Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(6):752-760. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01417.x.
152. Jensen SS, Bornstein MM, Dard M, Bosshardt DD, Buser D. Comparative study of biphasic calcium phosphates with different HA/TCP ratios in mandibular bone defects. A long-term histomorphometric study in minipigs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;90(1):171-181. doi:10.1002/jbm.b.31271.
153. Buser D, Martin W, Belser UC. Optimizing esthetics for implant restorations in the anterior maxilla: anatomic and surgical considerations. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19 Suppl:43-61.
154. Buser D, Chen ST, Weber HP, Belser UC. Early implant placement following single-tooth extraction in the esthetic zone: biologic rationale and surgical procedures. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008;28(5):441-451.
155. Pallesen L, Schou S, Aaboe M, Hjørtting-Hansen E, Nattestad A, Melsen F. Influence of particle size of autogenous bone grafts on the early stages of bone regeneration: a histologic and stereologic study in rabbit calvarium. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002;17(4):498-506.
156. Stenderup K, Justesen J, Clausen C, Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*. 2003;33(6):919-926.
157. De Marco AC, Jardini MAN, Lima LPA. Revascularization of autogenous block grafts with or without an e-PTFE membrane. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 20(6):867-874.
158. Johansson B, Grepe A, Wannfors K, Hirsch JM. A clinical study of changes in the volume of bone grafts in the atrophic maxilla. *Dentomaxillofac Radiol*. 2001;30(3):157-161. doi:10.1038/sj/dmfr/4600601.
159. Monica Gordh PA. SOME BASIC FACTORS ESSENTIAL TO AUTOGENEIC NONVASCULARIZED ONLAY BONE GRAFTING TO THE CRANIOFACIAL SKELETON. <http://dx.doi.org/101080/02844319950159370>. 2009.
160. Springer ING, Terheyden H, Geiss S, Härle F, Hedderich J, Açil Y. Particulated bone grafts--effectiveness of bone cell supply. *Clin Oral Implants Res*. 2004;15(2):205-212.
161. Peleg M, Garg AK, Misch CM, Mazor Z. Maxillary sinus and ridge augmentations using a surface-derived autogenous bone graft. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(12):1535-1544.
162. Artzi Z, Kozlovsky A, Nemcovsky CE, Weinreb M. The amount of newly formed bone in sinus grafting procedures depends on tissue depth as well as the type and residual amount of the grafted material. *J Clin Periodontol*. 2005;32(2):193-199. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00656.x.
163. Zaffe D, D'Avenia F. A novel bone scraper for intraoral harvesting: a device for filling small bone defects. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(4):525-533. doi:10.1111/j.1600-0501.2007.01368.x.
164. Kainulainen VT, Kainulainen TJ, Oikarinen KS, Carmichael RP, Sándor GKB. Performance of six bone collectors designed for dental implant surgery. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(3):282-287. doi:10.1111/j.1600-0501.2005.01199.x.
165. Young MP, Carter DH, Worthington H, Korachi M, Drucker DB. Microbial analysis of bone collected during implant surgery: a clinical and laboratory study. *Clin Oral Implants Res*. 2001;12(2):95-103.
166. Etcheson AW, Miley DD, Gillespie MJ. Osseous coagulum collected in bone traps: potential

- for bacterial contamination and methods for decontamination. *J Oral Implantol*. 2007;33(3):109-115. doi:10.1563/1548-1336(2007)33[109:OCCIBT]2.0.CO;2.
167. Hjørtting-Hansen E. Bone grafting to the jaws with special reference to reconstructive preprosthetic surgery. A historical review. *Mund Kiefer Gesichtschir*. 2002;6(1):6-14.
 168. Tomford WW. Bone allografts: past, present and future. *Cell Tissue Bank*. 2000;1(2):105-109. doi:10.1023/A:1010158731885.
 169. Lyford RH, Mills MP, Knapp CI, Scheyer ET, Mellonig JT. Clinical evaluation of freeze-dried block allografts for alveolar ridge augmentation: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2003;23(5):417-425.
 170. Block MS, Degen M. Horizontal ridge augmentation using human mineralized particulate bone: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(9 Suppl 2):67-72.
 171. Reddi AH, Wientroub S, Muthukumaran N. Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am*. 1987;18(2):207-212.
 172. Piecuch JF, Ponichtera A, Nikoukari H. Long-term evaluation of porous hydroxyapatite blocks for alveolar ridge augmentation. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1990;19(3):147-150. doi:10.1016/S0901-5027(05)80131-6.
 173. Hjørtting-Hansen E, Worsaae N, Lemons JE. Histologic response after implantation of porous hydroxylapatite ceramic in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1990;5(3):255-263.
 174. Ewers R. Maxilla sinus grafting with marine algae derived bone forming material: a clinical report of long-term results. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005;63(12):1712-1723. doi:10.1016/j.joms.2005.08.020.
 175. Thorwarth M, Wehrhan F, Srour S, et al. Evaluation of substitutes for bone: comparison of microradiographic and histological assessments. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2007;45(1):41-47. doi:10.1016/j.bjoms.2006.03.013.
 176. Schwartz Z, Weesner T, van Dijk S, et al. Ability of deproteinized cancellous bovine bone to induce new bone formation. *J Periodontol*. 2000;71(8):1258-1269. doi:10.1902/jop.2000.71.8.1258.
 177. Wenz B, Oesch B, Horst M. Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. *Biomaterials*. 2001;22(12):1599-1606.
 178. Taylor JC, Cuff SE, Leger JPL, Morra A, Anderson GI. In vitro osteoclast resorption of bone substitute biomaterials used for implant site augmentation: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 17(3):321-330.
 179. Piattelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piattelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 14(6):835-840.
 180. Wilson CJ, Clegg RE, Leavesley DI, Pearcy MJ. Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review. *Tissue Eng*. 11(1-2):1-18. doi:10.1089/ten.2005.11.1.
 181. Bagno A, Di Bello C. Surface treatments and roughness properties of Ti-based biomaterials. *J Mater Sci Mater Med*. 2004;15(9):935-949. doi:10.1023/B:JMSM.0000042679.28493.7f.
 182. Bohner M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury*. 2000;31 Suppl 4:37-47.
 183. von Arx T, Cochran DL, Hermann JS, Schenk RK, Higginbottom FL, Buser D. Lateral ridge augmentation and implant placement: an experimental study evaluating implant osseointegration in different augmentation materials in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 16(3):343-354.
 184. LeGeros RZ, Lin S, Rohanizadeh R, Mijares D, LeGeros JP. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *J Mater Sci Mater Med*. 2003;14(3):201-209.
 185. Vitale-Brovarone C, Verné E, Robiglio L, Martinasso G, Canuto RA, Muzio G. Biocompatible glass-ceramic materials for bone substitution. *J Mater Sci Mater Med*. 2008;19(1):471-478. doi:10.1007/s10856-006-0111-0.