

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD



***EVALUACIÓN TISULAR DEL CONCENTRADO EN FACTORES DE
CRECIMIENTO (CGF) ESTIMULADO CON LÁSER TERAPÉUTICO PARA
ACCELERAR PROCESOS DE CICATRIZACIÓN.***

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

PRESENTA

CD. LOURDES ELIUTH ZAMUDIO FLORES

PRESIDENTE

DR. EDUARDO SERENA GÓMEZ

SINODALES

DR. MIGUEL ÁNGEL CADENA ALCÁNTAR

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

Tijuana B.C., Junio 2016

***EVALUACIÓN TISULAR DEL CONCENTRADO EN FACTORES DE
CRECIMIENTO (CGF) ESTIMULADO CON LÁSER TERAPÉUTICO PARA
ACCELERAR PROCESOS DE CICATRIZACIÓN.***

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Abstract	2
3. Introducción	3
4. Justificación	44
5. Planteamiento del Problema	45
6. Hipótesis	46
7. Objetivos	47
8. Variables	48
9. Material y Métodos	49
10. Resultados	70
11. Análisis Estadístico	90
12. Discusión	92
13. Conclusión	96
14. Bibliografía	97

RESUMEN

Diversos factores son el resultante de la pérdida ósea en los maxilares. Desde traumatismos, lesiones patológicas o malos tratamientos odontológicos, sin embargo, desde la utilización de los implantes dentales, lo cual se sitúa en las en las últimas décadas, se han presentado estudios sobre técnicas y materiales para la reconstrucción de hueso alveolar. El aprovechamiento del plasma sanguíneo se ha demostrado que beneficia en los procesos de cicatrización tisular, y se han relatado diversas técnicas siendo el Concentrado en Factores de Crecimiento una de las más actuales. Por otra parte la estimulación celular con láser terapéutico de baja intensidad, ha presentado resultados significativos en los procesos de regeneración tisular.

Hipótesis. La función del CGF con la estimulación celular por medio de fototerapia con láser de baja intensidad, acelera los procesos de cicatrización con la finalidad de ofrecer mayor calidad para el tratamiento post-quirúrgico del paciente.

Objetivo. Acelerar los procesos de cicatrización con el uso del Concentrado de Factores de Crecimiento (CGF) estimulando con láser de baja intensidad para el tratamiento post-quirúrgico, para determinar su efectividad y adecuada indicación.

Metodología. Fueron utilizados 16 conejos Nueva Zelanda, en los cuales se realizaron cuatro ostectomías en calota craneana, cada una de éstas con diferente técnica de reconstrucción ósea. La población de conejos fue dividida además en 4 grupos en relación al tiempo de sacrificio para evaluar la evolución de cicatrización tisular en 7, 14, 28 y 36 días post-quirúrgico (cuatro conejos por grupo).

Resultados. La combinación del CGF estimulado con láser terapéutico de baja intensidad muestra mayor efectividad en los procesos de cicatrización post-quirúrgica.

ABSTRACT

Several factors are the result of bone loss in the maxilla . From trauma, pathological lesions or bad dental treatments, however , from the use of dental implants , which is in the in the last decades , there have been studies on techniques and materials for reconstruction of alveolar bone. The use of blood plasma has been shown to benefit in tissue healing processes , and various techniques have been reported to be the concentrated growth factors. Moreover cell stimulation with low intensity laser therapy has shown significant results in tissue regeneration processes.

Hypothesis. The role of the CGF to cell stimulation by phototherapy with low level intensity laser accelerates the healing process in order to provide higher quality for post-surgical patient treatment.

Objective. Accelerate the healing process with the use of Concentrated Growth Factor (CGF) stimulated with low-intensity laser for post-surgical treatment to determine its effectiveness and appropriate indication.

Methodology. They were used 16 New Zealand rabbits in which four osteotomies were performed in cranial calotte, each of them with different bone reconstruction technique. The rabbit population was further divided into 4 groups of 4 rabbits each in relation to evaluate the evolution of tissue healing at 7, 14, 28 and 36 days post-surgical. At the end of each period, the animals were euthanised and sent for histological study.

Results. The combination of CGF stimulated with low level intensity laser therapy shows greater effectiveness in the processes of post-surgical healing.

INTRODUCCIÓN

Los tejidos bucales pueden ser afectados por causa de eventos traumáticos, es decir, todos aquellos agentes nocivos que de manera accidental los perturban y lesionan, o por las heridas generadas cuando se interviene a un paciente, propias de la técnica quirúrgica aplicada. El cirujano bucal tiene poco control sobre los daños generados por los traumatismos. No obstante, el clínico puede favorecer o no la gravedad del trauma inducido y, por lo tanto, facilitar o interferir en la reparación de la herida.

Con la finalidad de lograr exitosamente la colocación de un implante dental o una prótesis tras haber perdido una pieza dental, necesitamos una condición esencial que es la presencia de suficiente hueso residual en el sitio desdentado. En muchas de las investigaciones se sugiere el injerto óseo, sin embargo existe un enfoque para mejorar la curación del hueso alveolar por medio de los factores de crecimiento. Estos son proteínas bioactivas que controlan el proceso de cicatrización de la herida.

Los factores de crecimiento tienen un papel crítico en la migración y proliferación celular y la angiogénesis de tejido regenerativo.¹

Los factores de crecimiento están presentes en la sangre, forman parte de las plaquetas y el plasma. En estudios pasados, el concentrado del plasma rico en plaquetas (PRP), el concentrado de fibrina rico en plaquetas (PRF), y el concentrado en factores de crecimiento (CGF) se han utilizado para la reconstrucción de los defectos óseos.²

En 1998, se realizó un estudio en donde utilizó injerto óseo con gel PRF para estimular la osificación mandibular en pacientes con defecto óseo. El PRP consiste en el plasma sanguíneo enriquecido con plaquetas de manera que el injerto contiene más plaquetas que el plasma normal.³

En estudios recientes se introdujeron el PRF y el CGF para la ayuda en la proliferación celular y regeneración ósea. El CGF fue introducido por Sacco, que se produce a través de la centrifugación y la ayuda de un tapón a base de gel de polímero separador del suero que contiene fibrina.^{4,5} La aplicación de estas preparaciones tales como PRP, PRF y CGF son ampliamente utilizados con el fin de acortar el tiempo de intervalo entre la colocación del injerto de hueso y el implante o la prótesis dental, aumentando así la probabilidad de éxito de los injertos óseos y la terapia de implante.⁶

Antes de considerar los procesos de reparación tisular, es importante tener presente que la cicatrización,⁷ es el resultado de la regeneración de los tejidos y del cierre de una herida; la cicatrización no es un fenómeno aislado y su evolución está condicionada por una serie de factores bioquímicos a nivel de la solución de continuidad que representa la lesión, por unos cambios en las estructuras tisulares y por una serie de procesos que determinan la formación de la cicatriz.⁸

El epitelio lesionado tiene una habilidad para regenerarse y restablecer la integridad a través de un proceso de migración epitelial conocido con el nombre de “inhibición por contacto”. En general un borde libre de epitelio continua migrando (por proliferación de células germinales que empujan el borde libre hacia adelante) y se detiene en su migración al hacer contacto con otro borde libre de epitelio. Este proceso se regula por la actividad histoquímica de las células epiteliales que han permitido contacto con otras células epiteliales a su alrededor.⁹

Reparación de la herida

La preparación de la herida para su correcta cicatrización es un aspecto destacado de cualquier procedimiento quirúrgico, por lo que es indispensable que los profesionales que lleven a cabo este tipo de procedimientos conozcan muy bien la biología de la reparación tisular normal.

Se pueden producir lesiones a los tejidos por circunstancias patológicas o por traumatismos. El cirujano oral tiene algún tipo de control sobre el daño tisular, como la posibilidad de que se produzca una infección de la herida. Sin embargo, puede influir de forma favorable o desfavorable sobre la cantidad y la gravedad del tejido dañado y, por tanto, puede contribuir a estimular o impedir una correcta cicatrización de la herida.¹⁰⁻¹³

Causas de lesión tisular

Las lesiones traumáticas pueden ser causadas por agentes físicos o químicos. Entre los medios físicos que producen una lesión tisular se encuentran la incisión o el aplastamiento, los extremos de temperatura o la irradiación, la desecación y la obstrucción del flujo venoso o arterial. Las sustancias químicas que pueden producir lesiones son un pH o tonicidad no fisiológicos, los que alteran la integridad estructural de las proteínas y los que causan isquemia secundaria a vasoconstricción o trombosis.¹⁴

Epitelización

El epitelio lesionado tiene una capacidad regenerativa, genéticamente determinada, que le permite restablecer su integridad mediante la proliferación, la migración y a través de un proceso denominado inhibición por contacto. Por lo general, cualquier borde libre de epitelio sigue migrando (por proliferación de células epiteliales germinales que hacen avanzar el frente libre) hasta que

contacta con otro borde libre de epitelio, momento en el que se señala la detención del crecimiento lateralmente.

Aunque algunas teorías afirman que los mediadores químicos (liberados por las células epiteliales que han perdido el contacto circunferencial con otras células epiteliales) cicatrizaran por la proliferación del epitelio a través del lecho de la herida a partir del epitelio contenido en las crestas interpapilares y los tejidos anexiales. Dado que, por lo general, el epitelio no contiene vasos sanguíneos, el epitelio de las heridas en las que el tejido subcutáneo también está lesionado prolifera a través de cualquier lecho tisular vascularizado que este disponible hasta situarse por debajo del coágulo superficial, que se deseca (es decir, formara una costra) hasta alcanzar el otro margen epitelial. Una vez que la herida se ha epitelizado por completo, la costra se desprende.¹⁵

Un ejemplo del efecto perjudicial de la inhibición por contacto que controla la epitelización ocurre cuando se perfora accidentalmente el seno maxilar durante una extracción dental. Si el epitelio de la pared del seno y el de la mucosa oral se lesiona, comienza a proliferar en ambas zonas. En este caso, el borde libre epitelial del seno puede contactar con la mucosa oral y crear una fistula oroantral (tracto epitelizado entre la cavidad oral y el seno maxilar).

En algunas ocasiones, los cirujanos orales y maxilofaciales utilizan el proceso de repitelización (es decir, epitelización secundaria) con fines terapéuticos durante determinados procedimientos pre protésicos en los que se desepitealiza un área de la mucosa oral (encía libre) y se deja que cicatrice por segunda intención desde el epitelio adyacente (encía insertada).¹⁶

Independientemente de la causa que originó la lesión, en la herida se inicia un proceso cuyo fin es devolver la integridad al tejido afectado. Este proceso puede ser dividido en tres etapas básicas : de inflamación, fibroblástica y de remodelación.¹⁷

Factores que interfieren en la cicatrización

El cirujano bucal puede crear las condiciones que favorezcan o no el proceso normal de cicatrización, sin embargo, se pueden ver afectados uno o más tejidos donde se realiza la extracción o cirugía. Al momento que nosotros terminamos con el procedimiento, damos al paciente indicaciones y cuidados post-operatorios para facilitar este proceso, pero pueden presentarse factores que interfieran o alarguen la cicatrización normal.

Estos pueden ser clasificados en dos categorías: factores locales, los cuales son fácilmente controlados por el cirujano bucal, como son los cuerpos extraños, la presencia de tejido necrótico, la isquemia y/o tensión. Y los factores generales, que son más complejos y difíciles de reconocer, ya que muchas veces pueden actuar de una forma desconocida; aquí están presentes el déficit de proteínas y vitaminas, la radiación terapéutica, la edad y si el paciente tiene trastornos metabólicos u hormonales.^{18, 19}

Fases de cicatrización de la herida

Con independencia de cual haya sido el origen de la lesión tisular, se inicia un proceso estereotipado que, si no hay impedimentos, contribuye a restaurar la integridad tisular. Este proceso se denomina cicatrización y se ha dividido en tres fases básicas que, aunque no son mutuamente excluyentes, tienen lugar con la siguiente secuencia: 1) fase inflamatoria, 2) fase fibroblástica y 3) fase de remodelación.

Fase inflamatoria

La fase inflamatoria comienza cuando se produce la lesión tisular y, si no hay factores externos, dura de 3 a 5 días. La fase inflamatoria se divide a su vez en dos fases: vascular y celular. Los fenómenos vasculares que se ponen en

marcha durante la inflamación comienzan con una vasoconstricción inicial de los vasos dañados como consecuencia del tono vascular normal. La vasoconstricción disminuye el flujo sanguíneo hacia la zona de la lesión, lo que favorece la coagulación sanguínea. Al cabo de unos minutos, la histamina y las prostaglandinas E_1 y E_2 elaboradas por los leucocitos producen vasodilatación y abren pequeños espacios entre las células endoteliales, permitiendo así que el plasma se extravase y que los leucocitos migren a los tejidos intersticiales. La fibrina del plasma trasudado provoca la obstrucción de los vasos linfáticos que, junto con el plasma trasudado, hace que este último se acumule en la zona de la lesión, diluyendo así los contaminantes. Esta colección de líquido se denomina edema.

Los principales signos de una inflamación son enrojecimiento (eritema) e hinchazón (edema), con calor y dolor, y pérdida de función. El calor y el eritema se producen por la vasodilatación, la hinchazón está causada por la trasudación de fluidos y el dolor y la pérdida de función están causados por la histamina, las cininas y la prostaglandinas liberadas por los leucocitos, así como por la presión secundaria al edema.

La fase celular de la inflamación se desencadena por la activación del complemento del suero secundaria a la lesión tisular. Los productos del complemento, en especial $C3a$ y $C5a$, actúan como factores quimiotácticos, haciendo que los leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos) se adhieran a las paredes de los vasos (marginación) para luego migrar a través de las paredes del vaso (diapédesis). Una vez en contacto con cuerpos extraños. Las enzimas lisosómicas contribuyen a destruir las bacterias y otros cuerpos extraños y a digerir el tejido necrótico. La eliminación de los productos de desecho también se lleva a cabo con la colaboración de los monocitos, en forma de macrófagos, que fagocitan el tejido necrótico y los cuerpos extraños. Con el tiempo, los linfocitos se acumulan en la zona de lesión tisular. Los linfocitos pueden ser T o B. Los linfocitos B son capaces de reconocer el material antigénico, producir

anticuerpos que ayudan al sistema inmunológico a reconocer el cuerpo extraño y, finalmente, interactuar con el complemento para lisis de las células extrañas. Los linfocitos T se dividen en tres subgrupos principales: 1) células T colaboradoras, que estimulan la proliferación y diferenciación de las células B, 2) células T supresoras, que regulan la función de las células T colaboradoras, y 3) células T citotóxicas que lisan las células que presentan antígenos extraños.

Algunas veces, la fase inflamatoria también se denomina fase transitoria, dado que durante este periodo no se aprecia una ganancia significativa de la resistencia de la herida (porque se está produciendo poco depósito de colágeno). Durante esta fase, el material encargado de mantener unidos los bordes de la herida es la fibrina, que posee una fuerza tensil baja.

Fase fibroblástica

Las hebras de fibrina, que derivan de la coagulación sanguínea entrecruzan la herida formando un entramado sobre el que se asientan los fibroblastos y comienzan a sintetizar sustancia fundamental y tropocolágeno. Esta es la fase fibroblástica de la reparación de la herida. La sustancia fundamental está compuesta por varios mucopolisacáridos cuya misión es cementar las fibras de colágeno juntas. Estos fibroblastos transforman las células mesenquimatosas pluripotenciales locales y circulantes que, a su vez, comienzan a producir tropocolágeno y al tercer o cuarto día de la lesión. Además, los fibroblastos secretan fibronectina que ayuda a estabilizar la fibrina, participa en el reconocimiento de cuerpos extraños que deberían ser eliminados por el sistema inmunitario, actúa como factor quimiotáctico de fibroblastos y ayuda a guiar a los macrófagos a lo largo de las hebras de fibrina para la fagocitosis final de estas por dichas células.²⁰

La red de fibrina también es utilizada por los nuevos capilares, que brotan de los vasos adyacentes a lo largo de los márgenes de la herida y se guían por

los haces de fibrina para atravesar a herida. A medida que la fibrosis continua, gracias a un incremento del numero de células, se produce la fibrinólisis, que es ocasionada por la presencia de plasmina transportada por los capilares en formación, para así retirar los excesos de fibrina que sean innecesarios.²¹

Los fibroblastos depositan tropocolágeno, que se entrecruza para originar colágeno. En un principio, este se produce en grandes cantidades depositándose al azar. Esta deficiente orientación de las fibras disminuye en gran medida la eficacia biomecánica del colágeno, y por tanto se requiere una sobreabundancia del mismo para mantener la resistencia de la herida al principio. A pesar de esta orientación defectuosa de las fibras de colágeno la resistencia de la herida aumenta rápidamente durante la fase fibroblástica, que suele durar 2-3 semanas. Si durante la fase fibroblástica inicial se someten a tensión los bordes de la herida, estos tenderán a separarse. No obstante, si la fuerza sobre la herida se ejerce al final de la fase de fibrosis, la herida se abrirá en la unión del colágeno recién depositado. Desde el punto de vista clínico, la herida estará rígida al finalizar la fase fibroblástica por la excesiva acumulación de colágeno, eritematosa por la elevada vascularización y con la capacidad de resistir hasta el 70-80% de la tensión que soportaría un tejido indemne.²²

Fase de remodelación

La ultima fase de la reparación de una herida, que se prolonga indefinidamente, se denomina fase de remodelación, aunque algunos autores utilizan el termino maduración de la herida. Durante esta fase, muchas de las fibras de colágeno dispuestas al azar se destruyen y reemplazan por nuevas fibras de colágeno, que están orientadas para resistir con mayor eficacia las fuerzas tensiles en la herida. Además, la resistencia de la herida se incrementa lentamente con la magnitud diferente a como sucedía durante la fase fibroblástica. La resistencia nunca supera el 80-85% de la resistencia de los tejidos sanos. Dado que la nueva orientación de las fibras de colágeno es mas eficaz, el numero de fibras necesarias disminuye; el exceso se elimina, lo que permite que la cicatriz se

reblandezca. A medida que el metabolismo de la herida disminuye, la vascularización también lo hace y, por tanto, el eritema de la herida se atenúa. La elastina que se encuentra en el tejido cutáneo y los ligamentos sanos no se reemplaza durante la cicatrización de la herida, de forma que hay una disminución de la flexibilidad en la zona cicatricial.

Un último proceso, que comienza cerca del final de la fase fibroblástica y continúa durante la fase inicial de remodelación, es la contracción de la herida. En la mayoría de los casos, la contracción de la herida tiene un papel beneficioso en la reparación de la misma, aunque todavía no se conoce muy bien el mecanismo exacto de cómo se contrae la herida. Durante la contracción, los bordes de la herida se aproximan entre sí. Si los bordes no están bien alineados, la contracción de la herida disminuye el tamaño de la misma. No obstante, la contracción puede causar problemas, como los que se aprecian en víctimas de quemaduras de tercer grado, que desarrollan contracturas y deformidades si las heridas no se cubren mediante injertos de piel y no se lleva a cabo una fisioterapia energética.

Otro ejemplo de contracción perjudicial es la que aparece en pacientes con laceraciones curvas, que a menudo presentan una depresión en la región cóncava de la herida por la contracción de la misma, a veces incluso cuando se ha realizado una correcta readaptación de los bordes. La contracción puede disminuirse colocando una capa de epitelio entre los bordes libres de la herida. En cirugía oral, este método se emplea cuando se realizan vestibuloplastias al colocar el injerto de piel sobre el periostio desnudo, o en heridas por quemaduras de tercer grado.²³

Cicatrización de tejidos

Regeneración del hueso

Antes de comenzar a señalar los procesos que se ponen en marcha para la reparación ósea, es importante señalar los aportes del autor Hunter en 1837, los cuales siguen siendo válidos y únicamente superados por el conocimiento más profundo que se tienen de los mecanismos bioquímicos y biomoleculares de la osificación. El espacio comprendido entre las superficies fracturadas del hueso se rellena con sangre extravasada procedente de los vasos seccionados, esta sangre se coagula y al cabo de un tiempo se vasculariza y, al igual que en la unión de las partes blancas, se constituye un callo. Entonces se forma una sustancia celular en cuyo interior las arterias depositan sustancias calcáreas. Primero se convierte en cartílago y luego en hueso.

Los eventos que ocurren en la cicatrización normal de los tejidos blandos (inflamación, fibroplasia, y remodelación) también tienen lugar en la reparación del hueso.²⁴

Las células osteogénicas (osteoblastos) importantes en la regeneración del hueso surgen de tres fuentes a saber: periostio, endostio, y células pluripotenciales circulantes. Los osteoclastos por su parte derivan de los precursores celulares monocitos, tienen la función de reabsorber hueso necrótico además, de participar en la remodelación, los osteoblastos también depositan osteoide con lo que se inicia la calcificación.

El proceso de reparación ósea puede ser dividido en cinco estadios:

Formación del hematoma: al producirse una fractura (solución de continuidad en tejido óseo, que tiene su origen no sólo en los traumatismos sino también en los cortes realizados por el cirujano bucal en sus intervenciones quirúrgicas), lo

primero que ocurre es una hemorragia como resultado de la ruptura de los numerosos vasos sanguíneos que discurren en su interior. Esta sangre extravasada difunde por los espacios trabeculares y periostales generando un aumento de la tensión en toda la zona, con la elevación del periostio que es estimulado en su capacidad formadora. Cuando la sangre se coagula, el hematoma va a estar formado por los componentes hemáticos y por un exudado de polimorfonucleares, linfocitos e histiocitos. Este proceso dura aproximadamente 7 días.

Formación del tejido de granulación: Aparece una vez que comienza a disminuir los signos de inflamación de la fase anterior, y se caracteriza por la presencia de abundantes capilares y una alta actividad fibroblástica. En él se van a englobar los pequeños fragmentos óseos que se han desprendido de los bordes del hueso en el momento del traumatismo. Además, se pone en marcha un mecanismo de autoclasis, que implica no solamente la desaparición de estos fragmentos sino también una cierta reabsorción de los bordes de la fractura. El tejido de granulación actúa como una matriz para poner en contacto los bordes de la fractura debajo del periostio. En los últimos períodos de la fase fibroblástica el tejido conectivo se transforma en fibroso y una gran cantidad de colágeno debe ser depositado en la brecha de la fractura. Los fibroblastos y los osteoblastos actúan produciendo una matriz de tejido fibroso que se extiende circunferencialmente la herida mas allá de los bordes de la misma, formando lo que se conoce como el nombre de callo. Bajo condiciones normales el tejido fibroso, incluyendo el callo se osifica.

Formación del callo: esta etapa ocurre entre el décimo y decimocuarto día posterior a la herida, éste se va a componer de osteoblastos, sustancia intersticial fasciculada, hueso plexiforme y corpúsculos óseos.

Unión ósea: este proceso transcurre entre la cuarta y la sexta semana después que se realizó la herida. Depende del callo óseo, el cual actúa como un núcleo

que se va a remodelando y reabsorbiendo poco a poco por la acción osteoblástica formando hueso maduro que reemplaza al callo primario y restableciendo la arquitectura primitiva del hueso. Durante la etapa de remodelación, el hueso que se ha formado desordenadamente es reabsorbido por los osteoclastos, y los osteoblastos depositan nuevo hueso para resistir pequeñas tensiones en el área de la fractura.

Reorientación: tiene lugar durante un año aproximadamente, en la cual se va a llevar a cabo la reorientación de las trabéculas óseas de acuerdo con los requerimientos funcionales.²⁵

Cicatrización por primera, segunda y tercera intención

Los clínicos utilizan los términos primera intención y segunda para describir los dos métodos básicos de cicatrización de las heridas. En la cicatrización por primera intención, los márgenes de una herida en la que apenas hay pérdida tisular se colocan y estabilizan casi en la misma posición anatómica que ocupaban antes de la lesión. A continuación, la herida se repara con formación de mínimo tejido cicatricial, porque los tejidos no perciben que se haya producido una lesión. En realidad, la cicatrización por primera intención es únicamente un concepto ideal, imposible de alcanzar clínicamente; no obstante, el término suele utilizarse para designar aquellas heridas en las que los bordes se han re aproximado de forma estrecha. Este método de reparación disminuye la cantidad de reepitelización, depósito de colágeno.

Contracción y remodelación necesaria durante la curación. Por lo tanto, en este caso la cicatrización tiene lugar con mayor rapidez, con menor riesgo de infección y con menos formación de cicatriz que en las heridas que se dejan curar por segunda intención. Algunos ejemplos de heridas que se dejan curar por segunda intención son las laceraciones o incisiones bien saturadas, las fracturas óseas bien reducidas y las reanastomosis nerviosas anatómicas de

nervios recién seccionados. Por el contrario, la cicatrización por segunda intención implica que después de la reparación sigue habiendo una separación entre los bordes de una incisión o laceración, o entre dos fragmentos de hueso o nervio, o implica que ha tenido lugar una pérdida tisular que impide la reaproximación de los bordes de la herida. En estas situaciones se precisa una tracción y remodelación durante la curación. La cicatrización es mas lenta y produce mayor tejido cicatricial que en las situaciones de cicatrización por primera intención. Algunos ejemplos de heridas a las que se permite cicatrizar por segunda intención son los alveolos pos extracción, fracturas mal reducidas, úlceras profundas y cualquier herida extensa con avulsión de tejido blando. Algunos cirujanos utilizan el termino tercera intención para referirse a la cicatrización de heridas que curan mediante injertos tisulares para cubrir grandes heridas y salvar el espacio entre sus márgenes.

Cicatrización de los alvéolos dentarios posterior a la exodoncia

La extracción dentaria reúne una serie de eventos que la convierten en una herida única en nuestra economía. En primer lugar, es una fractura abierta, es decir, hay ruptura del recubrimiento superficial en donde se va a dejar expuesto al hueso. En segundo lugar, puede ser considerada como una herida infectada, pues se abre a una cavidad séptica donde conviven, aunque en forma saprofita, una serie microorganismos que pueden romper su equilibrio biológico, ante el hecho traumático de una extracción. En tercer lugar corresponde a una fractura con pérdida de sustancia, ya que la extracción dentaria interrumpe definitivamente la continuidad ósea. Además, el periodonto en su totalidad va a ser dañado irreversiblemente; por tanto, aunque los fenómenos de reparación ósea alveolar serán semejantes a los de la cicatrización de cualquier hueso, intervienen una serie de eventos que la determinan.²⁶⁻³⁰

La exodoncia activa la misma secuencia de inflamación, de epitelización, fibroplasia y de remodelación vista como prototipo en la piel, o en las heridas de

la mucosa bucal. Cuando un diente es removido queda un alveolo remanente, consistente de cortical ósea con un ligamento periodontal rasgado que va a actuar con una potencialidad formadora de hueso similar al periostio y con restos de epitelio oral (encía) ubicada hacia la cresta. El alveolo se llena con sangre producto de la extravasación hemática como consecuencia de la ruptura de los vasos sanguíneos que nutren al diente. La cual se coagula para sellar el alveolo del medio ambiente bucal.

La etapa de inflamación ocurre durante la primera semana de la curación. Los leucocitos entran en el alveolo para remover bacterias del área de la lesión y comenzar a eliminar restos tales como fragmentos de hueso, que se ubiquen dentro del alveolo. Durante la primera semana también comienza un aumento de los fibroblastos y capilares. El tejido de granulación de aspecto blanquecino, se va transformando en tejido fibroso conforme disminuye la inflamación. Luego surgen focos de osificación por acción de los osteoblastos y al mismo tiempo se pone en acción la reparación del epitelio mucoso proliferando y cubriendo todo el defecto, apoyándose en la matriz conectiva y osteoide. El epitelio migra sobre el tejido de granulación hasta hacer contacto con el otro borde de epitelio. Finalmente, durante la primera semana los osteoclastos se acumulan a lo largo de la cresta de hueso.

Dos semanas después de la exodoncia, la cicatrización se caracteriza por una gran cantidad de tejido de granulación que llena el alveolo. La deposición de osteoide comienza a lo largo del hueso alveolar. El proceso que comenzó durante la segunda semana se continúa durante la tercera y cuarta semana. Tiempo en el cual culmina la epitelización del alveolo. La cortical de hueso continúa reabsorbiéndose en las crestas y paredes del alveolo y un nuevo trabeculado óseo se forma a lo largo del alveolo. No es hasta el cuarto o sexto mes después de la extracción, que la cortical de hueso cubre todo el alveolo. Esto se reconoce por una disminución en la densidad radiográfica de la lamina dura. Como el hueso llena el alveolo, el epitelio migra a través de la cresta. La

única evidencia visible en el alveolo después de un año es una pequeña cicatriz en el borde alveolar. El hueso alveolar ha sido remodelado y cubierto por periostio y mucosa quedando solo unos relieves en la cresta alveolar ósea perceptibles si esta es descubierta.

Factores que dificultan la cicatrización de las heridas

Existen cuatro factores que pueden dificultar la cicatrización de las heridas en una persona sana: 1) cuerpo extraño, 2) tejido necrótico, 3) isquemia y 4) tensión de la herida.

Cuerpo extraño

Un cuerpo extraño es cualquier elemento que el sistema inmunitario del organismo del huésped interpreta como no propio, como bacterias, suciedad y material de suturas. El primer lugar, las bacterias pueden proliferar y producir una infección, liberando proteínas que atacan al tejido del huésped. En segundo lugar, el cuerpo extraño actúa como refugio de las bacterias frente a las defensas del organismo, lo que favorece la infección. En tercer lugar, un cuerpo extraño suele ser antigénico y puede estimular la formación de una reacción crónica inflamatoria que disminuye la fibroplasia.

Tejido necrótico

El tejido necrótico en la herida provoca dos problemas. El primero es que su presencia actúa como una barrera que impide el crecimiento de las células reparativas. De esta forma se prolonga la fase inflamatoria mientras los leucocitos eliminan el material de desecho mediante procesos de lisis enzimática y fagocitosis. El segundo problema es que, al igual que con los materiales extraños, el tejido necrótico sirve de nicho protector para las bacterias. El tejido

necrótico con frecuencia tiene sangre que procede de la herida (hematoma), actuando así como una fuente de nutrientes excelente para bacterias.

Isquemia

La disminución del aporte sanguíneo a la herida interfiere de diferentes formas con la reparación de la misma. Este menor aporte puede causar una mayor necrosis tisular o disminuir el aporte a la herida de anticuerpos, leucocitos y antibióticos, con lo que se incrementa el riesgo de infección de la herida. La isquemia de la herida disminuye el aporte de oxígeno y nutrientes a los tejidos necesarios para una cicatrización adecuada. La isquemia puede a su vez estar causada por varios factores, entre ellos suturas demasiado apretadas o colocadas de forma incorrecta, colgajos mal diseñados, excesiva presión externa sobre la herida, presión interna sobre la misma, hipotensión sistémica, enfermedad vascular periférica y anemia.³¹

Tensión

La tensión sobre la herida es otro factor que puede dificultar la curación de la misma. En este caso, la tensión se refiere a cualquier situación que tienda a separar los márgenes de las heridas, si las suturas se utilizan para aproximar los tejidos por tracción, el tejido englobado entre las suturas será estrangulado y se producirá isquemia. Si las suturas se retiran demasiado pronto durante el periodo de curación, es probable que se reabra la herida bajo tensión y que cicatrice con una formación excesiva de tejido cicatrizal y contracción de la herida. Si las suturas se dejan demasiado tiempo con el fin de vencer la tensión de la herida, esta todavía tendrá a abrirse durante la fase de remodelación y, además, el trayecto de las suturas a través del epitelio será reepitelizado dejando marcas permanentes y desfigurantes.

Bases biológicas del injerto óseo

La utilización de injertos es un procedimiento ampliamente extendido. A pesar de no disponer de datos exactos se calcula que solo en EE.UU se realizan mas de un millón de injertos óseos anuales. Esta popularidad terapéutica refleja el éxito clínico que se consigue con la utilización de los injertos óseos.

Tipos de hueso según el origen embriológico: hueso endocondral o membranoso

El hueso se forma a partir del mesénquima a través de un proceso fisiológico de osificación membranosa o endocondral. La osificación endocondral supone la formación inicial de un molde cartilaginoso que posteriormente se reemplaza por hueso. La matriz cartilaginosa se calcifica un vez que se ha producido la invasión vascular. Esta invasión vascular aporta células mesenquimales indiferenciales que evolucionan a osteoblastos. Los osteoblastos producen el osteoide que posteriormente se calcifica formando espículas de hueso trabecular. Dichos osteoblastos en un día producen una lamina de osteoide de 1 micra de espesor, seguido de una fase de maduración de 10 días. El hueso trabecular se dispone inicialmente como hueso inmaduro amorfo para después convertirse en hueso compacto.

De una manera diferente, el hueso membranoso no requiere un precursor cartilaginoso. Las células mesenquimales se diferencian directamente en osteoblastos que son los formadores del osteoide que evolucionen a hueso mineralizado. El hueso endocondral forma los huesos largos del esqueleto, costillas, vertebra y la base del cráneo. El hueso membranoso incluye la bóveda craneal, la mayoría de los huesos faciales y la clavícula. Algunos huesos tales como esfenoides, mandíbula, temporal y occipital, parecen tener un origen mixto endocondral y membranoso. Se considera que en el proceso reparativo de las fracturas del hueso se sigue la misma secuencia ontológica, es decir, el hueso endocondral fracturado formara un molde cartilaginoso en el callo de fractura y en el membranoso se producirá una osificación directa en el foco de fractura. De

la misma forma, cuando son utilizados como injertos, el hueso membranoso se incorpora formando hueso directamente, mientras que el injerto de origen endocondral se incorpora pasando por una fase intermedia de formación de cartílago.³²

Proceso biológico de incorporación de un injerto óseo

Tradicionalmente se ha considerado que el injerto óseo es un tejido vivo que contiene células donantes que sobrevivirán en la zona receptora. Sin embargo hoy en día se acepta que el injerto está compuesto por material no viable. Los estudios sobre la incorporación biológica de los injertos son responsables de ese cambio en la consideración biológica del material del injerto óseo.

Munuera afirma que la incorporación se produce cuando el injerto óseo se une al lecho de tal forma que su estructura y fisiología comparten total o mayoritariamente las características del tejido receptor hasta el punto de que el conjunto asume sin dolor ni fractura cargas mecánicas en rangos fisiológicos.

Bauer utiliza el término incorporación para definir el conjunto de interacciones biológicas entre injerto y lecho receptor que resultan en formación de neo hueso con unas propiedades mecánicas adecuadas. Cuando colocamos un injerto óseo se desencadena una secuencia de acontecimientos histológicos que dependen de las características del injerto, el grado de vascularización y las características de la zona receptora.

Estos procesos son totalmente superponibles a los que ocurren en el proceso reparador de un fractura. Como afirma Pauwels en 1940, las tres condiciones necesarias para conseguir formación de hueso con células precursoras pluripotenciales, amplio aporte vascular y reposo mecánico.

El injerto esponjoso autólogo se considera hoy en día el patrón oro de los injertos óseos por la calidad y la regularidad de los resultados obtenidos. La

cascada de acontecimientos biológicos entre injerto y lecho receptor durante el proceso de incorporación incluye:

1. formación de un hematoma con liberación de citoquinas y factores de crecimiento.
2. Inflamación, migración y proliferación de células mesenquimales desarrollando un tejido fibrovascular alrededor y en el interior del injerto.
3. Invasión vascular del injerto a través de los canales preexistentes de Volkmann o Havers.
4. Reabsorción focal osteoclástica de las superficies y el interior del injerto.
5. Formación de neo hueso por vía endocondral o membranosa.

El proceso se inicia al producirse en el lecho receptor un hematoma alrededor del injerto. los injertos avasculares se necrosan y se inicia una reacción inflamatoria. La mayoría de los osteocitos del injerto mueren. Solo los de la superficie mas externa o aquellos que consigan restablecer el aporte vascular sobrevivirán. Se establece que solo el 5% de los osteocitos sobreviven en el injerto. De los acontecimientos. La reacción inflamatoria es la crucial. En ella son las plaquetas las primeras en adherirse a las superficies de la herida, degranulándose y liberando factores de crecimiento que incluyen PDGF, TGF-B, FGF-2 inmersos en la malla de fibrina formada al desencadenarse la coagulación.³³ Posteriormente los neutrófilos, linfocitos y monocitos son atraídos hacia el hematoma. Los neutrófilos en particular liberan quininas y prostaglandinas que son angiogénicas.

Por lo tanto el tejido de granulación resultante esta compuesto por pequeños vasos y un tejido fibroso edematoso rico en citoquinas y factores de crecimiento. Todo el proceso esta controlado, pues, por citoquinas del tipo de prostaglandinas, oxido nítrico, aminos vasoactivas, factores de complemento e interleuquinas.

Nilsson ha demostrado que la administración de modificadores de la respuesta inflamatoria del tipo de la indometacina pueden alterar el proceso de incorporación de los injertos si son administrados durante los seis primeros días tras la cirugía. El hematoma se reorganiza en un estroma fibrovascular y el tejido conectivo del huésped envía yemas vasculares y células mesenquimales al interior del injerto. la fase inicial de incorporación se caracteriza por tanto por inflamación, revascularización y osteoinducción.

Injertos autólogos esponjosos

La conductividad en el injerto esponjoso favorecida por los espacios intertrabeculares permite la penetración del tejido de granulación formado a partir del segundo día. La mayoría de las células trasplantadas mueren por hipoxia o por apoptosis inducida. Sin embargo en el injerto esponjoso las células mesenquimales primitivas presentes en la medula ósea y las células progenitoras endoteliales son las más resistentes a la isquemia y por tanto sobreviven en una gran proporción al trasplante. Estas escasas células no solo sobreviven sino que se estimula su proliferación mediante cambios en la tensión de oxígeno, pH y el estímulo de las diversas citoquinas.

La supervivencia de estas escasas pero importantísimas células es en gran parte responsable del éxito en la osificación de los injertos autólogos esponjosos. Esta importancia la corrobora Solheim en un estudio comparando la revascularización de injertos autólogos frescos y desmineralizados con ácido clorhídrico. Encuentra que el injerto autólogo de cresta iliaca de rata se revasculariza antes y mucho más extensamente que el injerto desmineralizado.³⁴ Atribuye que la diferencia a la existencia de células osteogénicas y capilares viables que sobreviven al trasplante en el injerto fresco y que sin embargo son destruidos en el proceso de desmineralización con ácido. Las células inducibles de ese tejido de granulación, activadas por factores y citoquinas liberados se

transforman en osteoblastos que recubren los bordes de las trabéculas necrosadas, depositando sobre ellas capas de osteoide.³⁵

Hay por tanto, y esta es una característica única de los injertos esponjosos, una importante actividad inicial de osteoformación. Por otra parte la presencia de neo vasos permite la llegada de precursores monocitóticos de los osteoclastos. A partir de la tercera semana y hasta el tercer mes se combinan la aposición de hueso nuevo y la reabsorción del hueso necrosado por los osteoclastos.

El predominio inicial de la formación ósea sobre la estructura preexistente explica el aumento de la densidad radiológica observada en los injertos esponjosos. Entre el tercer y sexto mes tiene lugar una lenta remodelación que adecuadamente estimulada por cargas mecánicas progresivas redistribuyen la microestructura interna, siendo posible al año apreciar continuidad de la dirección de las trabéculas del injerto y del lecho, e incluso corticalización de lo que inicialmente era solo esponjosa. Con el paso del tiempo la densidad radiológica del injerto esponjoso va disminuyendo. Finalmente el injerto esponjoso es completamente sustituido, el neo hueso reemplaza por completo el hueso necrótico del injerto.

Por lo tanto, la contribución del injerto es limitada en cuando a la ontogénesis por la escasez de células supervivientes, y esta depende fundamentalmente de las células inducibles que siguen a los vasos neoformados a partir del lecho. Es decir, la supervivencia e incorporación del injerto dependen de la capacidad de revascularización del mismo. Para Buchardt y con variaciones según la especie, los injertos esponjosos pueden estar cubiertos completamente por neo vasos en dos días y la revascularización finalizada en dos semanas. Según Cypher el injerto esponjoso se reemplaza por hueso neoformado de forma total en un año.³⁶

Injerto autólogo cortical

Bauer afirma que en los injertos corticales autólogos su densa matriz impide la difusión de nutrientes y por tanto no sobrevive ninguna fracción de los osteocitos en el interior del injerto tras el trasplante. La no supervivencia de las escasas células osteogénicas la confirma Solheim en el estudio de revascularización de injertos autólogos corticales frescos y desmineralizados con ácido. Como se ha mencionado, encontraba una más rápida y precoz revascularización de los injertos esponjosos, sin embargo en los corticales, no encuentra diferencias en la revascularización de los injertos frescos y los desmineralizados. Lo atribuye a que las escasas células osteogénicas corticales no sobreviven al trasplante en el injerto fresco y por tanto se comporta igual que si se hubieran destruido en el proceso de desmineralización con ácido. La mayor diferencia histológica en la reparación del injerto cortical respecto al esponjoso es el ritmo de revascularización del injerto cortical. En general se admite que en el injerto cortical no penetran los vasos hasta el sexto día. La revascularización completa no se produce hasta dos meses después.

Este retraso se debe a que en el injerto autólogo cortical la invasión por neovasos se encuentra dificultada por su naturaleza densa y compacta. En el hueso esponjoso las vías de conducción se encuentran abiertas mientras que en el cortical debe existir un proceso previo de reabsorción osteoclástica desde la superficie a la profundidad creando túneles que ensanchen los canales de Volkmann y Havers. Este proceso fue denominado Sustitución Progresiva.

La sustitución progresiva tiene como consecuencia el debilitamiento de la densidad radiológica. Hay autores como Heiple que consideran que la sustitución progresiva es más propia de injertos corticales, ya que debido a la estructura abierta al alto índice superficie-volumen del hueso esponjoso, este se incorpora sin clara sustitución progresiva, es decir, formando neo hueso sin existir reabsorción significativa inicial.

La segunda diferencia histológica del injerto cortical respecto al esponjoso es que la reparación del material cortical es iniciado por los osteoclastos. En el esponjoso eran los osteoblastos los que iniciaban esa fase. En estudios con injertos corticales caninos se establece que la actividad de reabsorción era mayor que la norma a las dos semanas, va aumentando hasta la sexta semana y tras un año va declinando gradualmente hasta niveles normales.

El inicio de la fase de aposición ósea de la reparación ocurre aproximadamente a las doce semanas sellando la zona con material necrótico y evitando la invasión osteoclástica. Por tanto otra diferencia histológica fundamental es que los injertos esponjosos con el tiempo se reparan completamente con neo hueso vital, mientras que los corticales permanecen como estructuras donde se mezcla hueso necrótico y neo hueso vital.^{37, 38}

El crecimiento de los neocapilares en el hueso cortical se realiza a través de conductos de Havers o Volkmann preexistentes. Durante esta fase el injerto es invadido por osteoclastos que gracias a la reabsorción que producen aumentan la porosidad, disminuyen la masa y la capacidad de soportar carga del injerto. simultáneamente la nueva aposición ósea por los osteocitos intenta aumentar la densidad y fuerza del injerto. La incorporación de injertos corticales supone la coexistencia de nuevo hueso y persistencia de áreas de hueso necrótico incompletamente reabsorbido que a pesar de no ser viable persiste de forma permanente en el injerto remodelado. Se calcula que solo el 40-50% de la sección del hueso cortical es reparado. Cypher calcular que un 40% del hueso original necrótico esta todavía presente un año después del injerto. Debemos recordar que en los injertos esponjosos existe formación ósea inicialmente y la resistencia del hueso permanece constante o incluso aumenta ligeramente mientras se esta produciendo la reabsorción del hueso necrótico. Sin embargo la resistencia de los injertos corticales disminuye a la mitad de la resistencia inicial al producirse la reabsorción osteoclástica, es decir entre las seis semanas y los seis meses pos injerto, permanecen así durante otros seis meses y van

recuperando resistencia lentamente durante el segundo año. A los dos años la porosidad, resistencia mecánica y densidad radiográfica del injerto cortical son equivalente a las del hueso normal.

Para Buchardt, el proceso de incorporación abarca fases tempranas y tardías, en estas últimas existe una gran actividad remodeladora produciendo alteraciones importantes en el volumen y el aspecto del injerto en las fases finales. Para este autor la diferencia fundamental en la incorporación de injertos corticales y esponjosos reside en el ritmo de revascularización. En algunos injertos esponjosos se ha comprobado que se puede producir la revascularización en 2-3 días mientras que en los corticales la invasión vascular se inicia a los 6 días, completándose en 2 meses.

El proceso de incorporación en colgajos óseos vascularizado es distinto, pues al no existir revascularización o ser esta muy corta en el tiempo se asegura la supervivencia de una tasa muy alta de osteocitos. Doi establece que si la anastomosis microquirúrgica funciona correctamente y se alcanza la estabilidad mecánica del colgajo, más del 90% de los osteocitos sobreviven en el interior del hueso trasplantado. La función con el lecho es rápida y la remodelación adaptativa ante los nuevos requerimientos mecánicos de la región receptora se hace normalmente sin la inquietante debilitación de la reabsorción osteoclástica descrita en los injertos. Bauer afirma que la cantidad de colgajo óseo vascularizado que persistirá con el tiempo, dependerá del proceso de remodelación que, a su vez, depende fundamentalmente de la carga mecánica.³⁹

Tipos de Injertos

Están disponibles diversos tipos de injertos óseos para su uso en cirugía reconstructiva. Una clasificación útil cataloga los injertos óseos según su origen y, de este modo, su capacidad para inducir una respuesta inmunológica. Debido a sus orígenes y a las preparaciones usadas para tratar de evitar una respuesta inmunológica intensa, los injertos tienen distintas cualidades e indicaciones de uso.

Injertos autógenos

También conocidos como auto injertos o injertos propios, los injertos autógenos se componen de tejidos provenientes del individuo mismo. El hueso autógeno fresco es el más idóneo de los materiales para el injerto óseo. El injerto autógeno es único entre los injertos óseos, ya que es el único tipo de injerto óseo que aporta células óseas inmunocompatibles vivas esenciales para la fase 1 de la ontogénesis. Cuantas más células vivas se trasplanten, mayor cantidad de tejido óseo se producirá.

El hueso autógeno es el tipo más frecuentemente usado en cirugía oral y maxilofacial. El hueso se puede obtener de diferentes partes del cuerpo del huésped y de distintas formas. Los injertos en bloque son piezas sólidas de hueso cortical y hueso esponjoso subyacente. La cresta iliaca se usa con frecuencia como fuente de ese tipo de injerto. Se puede obtener todo el espesor del ilion o puede ser dividido para obtener una pieza más delgada de injerto en bloque. Las costillas también constituyen un tipo de injerto en bloque. Los injertos de médula particulada y hueso esponjosos se obtienen recogiendo el hueso medular y el endostio asociado y la médula hematopoyética. La médula particulada y los injertos de hueso esponjoso producen la mayor concentración de células osteogénicas, y, debido a su naturaleza particulada, sobreviven más células al trasplante merced a su acceso a los nutrientes en el lecho circundante

al injerto. El sitio más habitual para la obtención de este tipo de injerto es el ilion. Se puede penetrar en la cresta iliaca con curetas grandes obtener volúmenes grandes de medula particulada e injertos de hueso esponjoso. Recientemente se ha utilizado el espacio diploico de la bóveda craneal para la obtención de este tipo de injerto cuando se necesitan pequeñas cantidades de astillas de hueso.

El hueso autógeno también se puede trasplantar a la vez que se mantiene la irrigación del injerto. Esto se puede llevar a cabo empleando dos métodos. El primero de ellos consiste en la transferencia de un injerto óseo pediculado a un pedículo muscular (o muscular o cutáneo). El hueso no se priva de su pedículo de tejido blando, por lo que conserva parte de la irrigación al injerto óseo. De este modo, el número de células osteogénicas supervivientes es potencialmente grande. Un ejemplo de este tipo de injerto autógeno es un segmento de clavícula transferido a la mandíbula y pediculado al músculo esternocleidomastoideo. El segundo método por el que se puede trasplantar el hueso autógeno sin pérdida de la irrigación es mediante el uso de técnicas microquirúrgicas. Se extrae un bloque de ilion, tibia, costilla o otro hueso adecuado con los tejidos blandos subyacentes tras seccionar y liberar una arteria y una vena que irrigan el tejido. Además se preparan una arteria y una vena en el lecho receptor. Una vez asegurado el injerto óseo en su sitio, la arteria y las venas se reconectan utilizando una anastomosis microvascular y las venas se reconectan utilizando una anastomosis microvascular. De esta forma se restablece la irrigación al injerto óseo.

Ambos tipos de injertos autógenos se conocen como injertos compuestos debido a que contienen tejido blando y elementos óseos. El primero tipo descrito, en el que el hueso mantiene un origen muscular, es un injerto compuesto pediculado. El pedículo es el tejido blando que permanece en el y que aporta la vascularización. El segundo tipo de injerto compuesto es un injerto compuesto

libre, caracterizado porque se separa completamente del cuerpo, se reubica inmediatamente y su irrigación se restaura reconectando los vasos sanguíneos.

Si bien estos tipos de injertos pueden parecer ideales, tienen algunas limitaciones cuando se emplean para restaurar defectos del maxilar y la mandíbula. Dado que los tejidos blandos unidos al injerto óseo mantienen el aporte sanguíneo, es necesario un mínimo despegamiento del tejido blando del injerto durante la obtención y reubicación. De este modo, no pueden alterarse de manera significativa el tamaño y la forma del injerto. Frecuentemente, cuando estos injertos se usan para restaurar defectos de continuidad mandibular se obtiene un volumen inadecuado de hueso. Otro problema es la morbilidad de la zona donante. En vez de solo extraer tejido óseo, también se extraen tejidos blandos con los injertos compuestos, lo que causa mayores defectos funcionales y estéticos.

Las ventajas del hueso autógeno son que proporciona células osteogénicas para la fase I de formación del hueso y que no se produce una respuesta inmunológica. Una desventaja es que este procedimiento necesita operar otra zona del cuerpo para la obtención del injerto.

Homoinjertos

Constituyen el patrón oro, el patrón de eficiencia de un material de regeneración ósea. Presentan propiedades osteogénicas, osteoinductivas y osteoconductoras. Las fuentes de obtención del hueso autólogo son diversas, dependiendo su elección de la cantidad de tejido necesaria para reparar el defecto producido. En cavidad oral se usa como donante la sínfisis del mentón, el trigono retromolar y la rama mandibular. Fuera de ella el lugar de elección preferente es la cesta iliaca del coxal, pues de ella se obtiene la cantidad de hueso suficiente para el relleno de los grandes defectos, elevación de senos maxilares y

reconstrucciones con implantes e injertos onlay en maxilares con atrofas extremas.⁴⁰

Otros lugares de elecci3n, tambi3n habituales, los constituyen la epifisis proximal de la tibia, como fuente de hueso esponjoso para el relleno de defectos y elevaci3n de senos maxilares, y la calota, que aporta hueso cortical de magnifico rendimiento sobre los maxilares, siendo la m3nima su reabsorci3n.

El hueso aut3logo obtenido de la epifisis proximal de la tibia, as3 como el extra3do de la cresta iliaca del coxal, corresponden a hueso con un mec3nico de osificaci3n endocondral (osificaci3n a trav3s del paso intermedio del cart3lago), mientras que los maxilares son huesos de osificaci3n directa, el mes3nquima que forma su molde procede del primer arco branquial y directamente en tejido 3seo. Tal vez sea esta la causa por la que los autoinjertos de las fuentes se3aladas anteriormente, en especial los de la cresta iliaca, sufren una marcada reabsorci3n al aplicarlos en cavidad oral, fen3meno que no sufren los injertos de calota que, al pertenecer al desmocraneo, tambi3n presentan el proceso de osificaci3n directa. A pesar de lo se3alado, el volumen de hueso que es posible obtener de la cresta iliaca hace que sea el lugar id3neo de extracci3n.

En estos casos la reabsorci3n antes mencionada puede reducirse en cierta manera mediante el uso de membranas de politetrafluoroetano o de col3geno de reabsorci3n lenta. El hueso empleado en los autoinjertos cumple los tres requisitos necesarios para una adecuada regeneraci3n 3sea, pues presenta per se c3lulas osteog3nicas as3 como factores osteoinductivos y constituye al mismo tiempo una excelente matriz para la formaci3n de hueso de novo. Su uso, sin embargo, esta limitado por la cantidad de hueso que es posible obtener del propio paciente. Por otra parte, dicha extracci3n supone una segunda cirug3a con los riesgos y molestias postoperatorias que la misma conlleva y finalmente, aun constituyendo esta por excelencia la t3cnica de referencia, su eficacia descansa en ultimo termino en la cantidad intr3nseca del hueso del paciente. Las

limitaciones en cuando al tamaño del defecto a repara, debidas a la capacidad limitada de donación por el propio paciente, llevaron al desarrollo y empleo de los injertos heterólogos de hueso.^{41, 42}

Aloinjertos

Un aloinjerto se define como el tejido, que obtenido de un individuo donante, se implanta en otro individuo de la misma especie. Por tanto, se espera que exista una respuesta inmune contra las células del injerto. para evitarlo se someten los aloinjertos humanos a un proceso de limpieza y procesado que eliminen las células y posibles partículas virales.⁴³

Para Bauer, en general se puede afirmar que un aloinjerto sufre un proceso de incorporación cualitativamente similar a los autoinjertos, pero se diferencia por ser mucho mas lento y por existir una cantidad variable de inflamación atribuida a la respuesta inmune contra el aloinjerto. Respecto a los aloinjertos dos factores convierten su incorporación en mas difícil y menos predecible:

1. existe una respuesta inmunológica a los componentes del injerto, que es mayor cuanto mayor sea la disparidad genética entre donante y receptor.
2. Los mecánicos de conservación del injerto alteras sus componentes, por ejemplo todas las células del injerto mueren.

La incorporación del aloinjerto difiere de la incorporación del autoinjerto. Tanto la invasión vascular como la formación de neo hueso es mas lenta y menos intensa que en los injertos autólogos y además los aloinjertos se caracterizan por una actividad de reabsorción mucho mayor. Por ejemplo se calcula que a los ocho meses el aloinjerto tiene la misma revascularización que el injerto autólogo al mes.⁴⁴⁻⁴⁷

Garg estudia mediante puncion-aspiracion con aguja fina los fenómenos celulares que ocurren durante la fase precoz (primeros 40 días) de incorporación de autoinjertos y aloinjertos.

Un primer punto a señalar es que el uso de estos injertos presenta un cierto rechazo por parte de los pacientes, sobre todo en los últimos tiempos ante la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas, en especial del VIH. Los procedimientos comunes en los bancos de huesos, como el lavado y liofilización, no inactivan el virus, requiriéndose la desmineralización de los mismos y el tratamiento con un agente viricida para su inactivación. Con los controles adecuados el riesgo de recibir un injerto óseo de un donante no identificado como portador del VIH es aproximadamente de 1:1.600.000. El hueso utilizado en estos casos es por tanto, hueso desmineralizado y liofilizado. No se tratara, pues, de un material osteoénico. Ya que en los procesos antes mencionados han muerto las posibles células osteofénicas presentes inicialmente en el mismo, pero si se tratara de un material osteoconducto y, posiblemente, osteoinductor, aunque no en el grado presente en el caso de los homoinjertos.⁴⁸

Su uso presenta controversias, pues junto a los estudios donde se señala su utilidad para la regeneración ósea, coexisten otros donde se indica la falta de efecto de los mismo en determinadas localizaciones. Estudios relativamente recientes indican, por otra parte, que el efecto osteoinductivo de los injertos óseos obtenidos de diferentes bancos de huesos varían considerablemente entre ellos, e incluso entre diferentes muestras de un mismo banco. Este hecho es, hasta cierto punto, de esperar, pues el efecto osteoinductivo que se le atribuye depende de la integridad estructural de los diferentes factores de crecimiento y morfogenéticos presentes inicialmente en dicho hueso, lo cual a su vez depende tanto del protocolo exacto de liofilización y desmineralización empleando como de la calidad original del hueso del donante.⁴⁹⁻⁵²

Comportamiento biológico tras la incorporación

Peer en 1951, estudiando el comportamiento de los injertos en función de su origen embriológico, comprueba que el hueso membranosos sobrevive mejor que en el endocondral, concluye que existen cambios en algunas células durante su proceso de diferenciación que condicionaran su comportamiento en el momento de trasplantarlas. Así, células óseas con escaso poder de regeneración tienen una alta capacidad de mantener su matriz calcificada (hueso membranoso), mientras que células con alto poder de regeneración a partir de su periostio no poseen esa capacidad de mantener su estructura intracelular calcificada (hueso endocondral).

Smith y Abramson en 1974, estudiando la reabsorción de injertos membranosos y endocondrales, concluyen que huesos que no soportan carga (calota) sobreviven mejor en zonas receptoras no sometidas a cargas, mientras que injertos de hueso sometido a cargas (cresta iliaca) necesitan sufrir carga en la zona receptora para sobrevivir. Plantean que quizá la estructura abierta del hueso iliaco favorece una mas rápida revascularización pero también una mayor reabsorción.

Zins y Whitaker en 1983 demuestran que los injertos de hueso membranoso se reabsorben en un 20% mientras que los endocondrales oscilan entre un 50 y un 88%. También demuestran mejor comportamiento del injerto cuando la superficie perióstica se coloca en contacto con el tejido blando y la zona esponjosa en contacto con hueso.

Hardesty y Marsh en 1990, realizan un estudio prospectivo valorando la morfología del injerto, la orientación y el origen embriológico. Demuestran que el origen embriológico se correlaciona con la superficie superviviente del injerto, su volumen, peso y unió al lecho receptor. Comprueban que a menudo el peso de los injertos membranosos aumenta. Además, la densidad ósea no varía durante

las fases de aposición y reabsorción. Todo esto les lleva a concluir que las diferencias en la supervivencia se relacionan con la estructura tridimensional. En ella la cortical del injerto endocondral es mas delgada que la parte esponjosa, es por tanto mas fácilmente revascularizada, produciéndose una reabsorción mas temprana. Creen que los mecanismos de reabsorción y aposición en el hueso endocondral y membranoso es el mismo.

Kusiak en 1985, comprueba que en el día 14 hay una media de 20 vasos por campo en injertos intramembranosos, mientras que en los endocondrales solo hay 1,8. Además en el ritmo de osificación de los injertos no solo influye la velocidad de revascularización, así por ejemplo los injertos intramembranosos adoptan una ruta de osificación intramembranosa, es decir, forman hueso directamente mientras que en los endocondrales se debe sintetizar un molde cartilaginosos previo. Por tanto la osificación es mucho mas precoz en los injertos intramembranosos.

Wong en 1999 cuantifica esa diferencia al analizar la diferencia cuantitativa en formación ósea en defectos de tamaño critico en calota de conejo injertados con hueso endocondral y membranoso. Concluye que el injerto membranoso a las dos semanas ha producido un 166% mas de hueso que el de origen endocondral. Este resultado es especialmente significativo si tenemos en cuenta que el injerto endocondral tiene mayor porcentaje de esponjosa que el membranoso y, por tanto, debería de osificar mas rápido. Por esto, Wong afirma que en la velocidad de revascularización y osificación influye la naturaleza de la matriz extracelular, su contenido en mediadores angiogénicos y otros factores de crecimiento en mucha mayor medida que lo que pudiera condicionar la macroestructura tridimensional que conforma el injerto.⁵³

En otro estudio del mismo grupo, Rabie mezcla injerto autólogo intramembranoso fresco (mentón de conejo) con matriz ósea desmineralizada obtenida también de hueso membranoso. Demuestra que la mezcla de matriz

desmineralizada e injerto autólogo produce un 204% mas de hueso que el injerto autólogo en solitario. Además, el hueso neoformado aparece por osificación directa sin cartílago intermedio. Cree que existe un potencial osteoinductor indudable en la utilización de la matriz desmineralizada junto al injerto autólogo membranoso y que dicha combinación permitiría colocar y cargar implantes de forma precoz sobre el hueso injertado.

Perren, estudiando la capacidad de deformación de los tejidos antes de fracturarse, establece que el tejido de granulación tolera elongaciones del 100% de su longitud antes de fracturarse, el cartílago un 10% y el hueso un 2%.⁵⁴

El efecto de la fijación rígida de los injertos ha sido estudiado por Phillips y Rhan, para ellos cualquier momento en los injertos conduce a su reabsorción. En los injertos membranosos se comprueba que sobrevive un 10% mas de volumen si se fijan rígidamente, mientras que el volumen de los endocondrales fijados se mantienen e un 75 frente a un 17% del volumen inicial que sobrevive en los no rígidamente fijados. Para La Trenta y cols., los efectos de la fijación interna rígida se explican por tres razones:

1. la inmovilización favorece la rápida revascularización.
2. La comprensión aumenta la superficie de contacto entre el lecho receptor y el injerto, favoreciendo la incorporación, disminuyendo la fase de reabsorción.
3. La consolidación precoz del injerto favorece la fase de aposición y una mas eficiente proliferación de células osteogénicas.

Bauer afirma que el reposo mecánico influye decisivamente en la revascularización y la diferenciación celular. Si el material de injerto no consigue una adecuada estabilidad mecánica, se genera fibrosis y tejido de granulación en la interfase injerto-huésped, impidiendo el proceso de incorporación.

Davy en 1999, estudia diferentes aspectos biomecánicos con la incorporación de los injertos. Para este autor el comportamiento biomecánico de un injerto viene determinado por tres factores:

1. las propiedades biomecánicas del hueso injertado (tipo de hueso, forma y tamaño)
2. La mecánica de la interfase entre lecho receptor e injerto.
3. El tipo de carga aplicada sobre el conjunto injerto-lecho-sistema de fijación.

Respecto a la variación en la biomecánica entre injertos corticales y esponjosos que reconstruyen defectos diafisarios totales, Davy encuentra que los esponjosos presentan una resistencia mecánica que oscila entre el 4 y el 25% de la resistencia que encontramos en un injerto cortical.⁵⁵

Los injerto particulados (molidos), aunque los compactemos en el momento de la colocación, presentan mínimas propiedades biomecánicas (cierta resistencia a la compresión al tratarse de un tejido mineralizado), ya que el material óseo ha perdido su continuidad. Por tanto en injertos particulados el sistema de fijación es fundamental y el reposo mecánico es inevitable.⁵⁶

Expresión génica durante la incorporación

Recientemente en un intento de comprender mejor las bases biológicas del proceso de incorporación de los injertos óseos, se está investigando en la actividad de distintos genes responsables de la osificación. Midiendo niveles de ARNm se puede cuantificar la actividad de los distintos genes implicados. Así, Virolainen y cols. realizan varios estudios comparando alo y autoinjertos en tibia de rata. Cuantifican la expresión de los genes que codifican diferentes componentes de la matriz ósea. Comprueban una mucho más lenta expresión

de los genes del colágeno y osteonectina en los aloinjertos corticales si los comparamos con los autoinjertos.

En un segundo trabajo estudian la expresión del gen del colágeno tipo I, tipo II y III y de la osteonectina, tanto en auto como aloinjertos, pero esta vez solo de esponjosa. Encuentran que prácticamente no existe expresión de colágeno tipo II, lo que sugiere una osificación membranosa del injerto.^{57, 58}

Respecto al colágeno tipo III, encuentran una expresión inicial muy intensa en los injertos esponjosos, mas precoz en los autoinjertos que en los alos, y un declinar rápido en su actividad sugiriendo por tanto una actividad revascularizadora intensa y precoz en las primeras semanas. Respecto a los injertos corticales la expresión del colágeno tipo III persiste mucho mas tiempo lo que es compatible con un proceso revascularizador mas lento.⁵⁹

El colágeno tipo I es la molécula mas importante de la fibra de colágeno y la que proporciona la matriz para la mineralización determinando por tanto las propiedades materiales del hueso.⁶⁹ El nivel de expresión de ARNm del colágeno tipo I puede ser utilizado como un marcador molecular de formación y remodelación ósea. La expresión del gen de colágeno tipo I, alcanza un máximo en la primera semana en autoinjertos esponjosos mientras que en los autoinjertos corticales ocurre a las dos semanas seguido de una expresión intensa y continua. La mayor lentitud en la expresión de este gen en los injertos corticales se relaciona con los distintos mecanismos de osificación ya vistos, la incorporación de los injertos corticales se inicia con una reabsorción, seguido de formación de neo hueso mientras que en los esponjosos se produce el proceso inverso, primero aposición y luego reabsorción.⁶⁰

Combinación de injertos

El injerto ideal tendrá las características estructurales de un injerto en bloque con el potencial osteogénico de los injertos de hueso esponjosos y de la medula particulada. Sin embargo, para la obtención de un injerto en bloque extenso es necesaria la extracción de una porción amplia de la anatomía del paciente, y este no proporciona la alta concentración de células osteogénicas que la medula particulada y el injerto de hueso esponjoso si suministran. Una técnica muy utilizada para reconstruir defectos de la mandíbula explota los beneficios de los injertos óseos autógenos y alogénicos. Un injerto alogénico en bloque se modifica con la forma de la mandíbula. Este injerto se vacía hasta que solo quedan las placas corticales. Este sistema de injerto se utiliza por su robustez estructural y su contenido proteico, que inducen la fase II de formación ósea a partir de los tejidos circundantes.⁶¹

La medula particulada autógena y el hueso esponjosos se obtienen, y se introducen entonces dentro de esta estructura hueca para proporcionar las células osteogénicas necesarias para la fase I de formación ósea. De esta forma se obtienen los ingredientes necesarios para ambas fases de la ontogénesis sin necesidad de extraer una porción amplia de la anatomía del individuo. La porción alogénica del injerto actúa como una bandeja biodegradable, la cual es sustituida completamente en su momento por hueso del huésped.

Las ventajas de este procedimiento son las mismas que las de los injertos autógenos y alogénicos. Las desventajas es que se necesita una zona secundaria de intervención en el huésped para obtener la medula particulada y el injerto del hueso esponjoso.⁶²

Nuevas alternativas

Como solución alternativa esta el uso de diferentes materiales de relleno de origen inorgánico o natural. La filosofía que subyace en su empleo es aportar un material cuya composición mineral se asemeje a la del hueso, y que sirva como matriz osteoconductora sobre la que se vayan formando las nuevas estructuras óseas, hasta que finalmente, sea sustituida íntegramente por estas.

Entre la gran cantidad de materiales usados cabe destacar, por una parte, los fosfatos cálcicos sintéticos o naturales, y por otra parte, los derivados de hueso bovino desorganificado. Todos estos materiales se han usado como material de relleno y para conseguir aumentos de volúmenes óseos, en general acompañados por el empleo de membranas. Estos materiales basan su modo de acción exclusivamente en procesos osteoconductivos. La comparación entre los resultados obtenidos con los diferentes tipos de materiales indica diferencias favorables.

Como podemos deducir de la breve revisión realizada hasta ahora de los diferentes métodos que se emplean corrientemente en la actualidad para la regeneración ósea, salvo en el caso de los autoinjertos, dicho proceso de regeneración se lleva a cabo casi exclusivamente en virtud de la osteoconduccion del material empleado. No hay osteogénesis ni osteoinducción por parte del mismo, sino que estos procesos recaen de forma directa en el propio organismo.⁶³⁻⁶⁶

En estudios anteriores se menciona la posibilidad de estimular la proliferación ósea utilizando factores de crecimiento plasmáticos. Al aislar y aplicar las proteínas responsables de la cicatrización de las heridas y regeneración de los tejidos en la zona a tratar, el proceso de reparación se acelera, disminuyen las complicaciones postquirúrgicas, el dolor y la inflamación, optimizando la capacidad de regeneración del organismo.

Hasta el momento no se han reportado efectos negativos. La epitelización se ha reportado total en el 100% de los casos y significativamente mejor que en las áreas que no han sido tratadas con CGF. En cuanto a la regeneración ósea, se han encontrado diferencias, mayor calidad y cantidad que en pacientes no tratados con CGF.

Dentro de los beneficios que aporta el CGF son el incremento de la vascularización de los tejidos, acelera la regeneración de tejidos blandos, reduce el edema, promueve la epitelización (formación de piel y mucosa) e induce a la formación ósea. Esta porción de tratamiento ha beneficiado especialmente a los pacientes con antecedentes de tabaquismo y a los diabéticos dadas sus alteraciones en la circulación sanguínea que los lleva a ser más susceptibles a no consolidar fracturas, mala cicatrización ósea y de estructuras blandas.⁶⁷

Los factores de crecimientos son los mediadores biológicos que ponen en marcha el proceso de regeneración ósea los cuales se almacenan en las plaquetas, como son, el factor derivado de las plaquetas, factor de crecimiento fibroblástico y factor de crecimiento semejante a la insulina. Los cuales al actuar en conjunto logran la regeneración periodontal y aceleran el proceso de cicatrización, por lo que se les considera los inductores de crecimiento óseo ideales.⁶⁸

Los factores de crecimiento son fundamentales en la reparación ósea y el empleo de los mismos tiene muchas ventajas, tales como mayor velocidad en la formación de hueso neoformado y aumento en el trabeculado óseo durante la reparación.⁶⁹

El empleo del CGF, favorece la formación de un nuevo ligamento periodontal, hueso y cemento de tipo celular, tanto en cantidad, calidad y velocidad. Las posibilidades de contagios y complicaciones son mínimas ya que solo se utiliza

sangre del propio paciente sin necesidad de mezclarla con ningún hemoderivado que pudiera tener el mínimo efecto antigénico o de contagio.⁷⁰

En 1995, se realizó un estudio en donde mostraron un trabajo in vitro, resultados que indican un aumento en la proliferación y diferenciación de osteoblastos humanos, y un incremento en la síntesis de la matriz extracelular cuando se cultivan dichos osteoblastos en presencia de factores de crecimiento plaquetarios.

Los factores de crecimiento identificados en estudios recientes son los siguientes: PDGF, Platelet Derived Growth Factors (Factores de crecimiento derivados de plaquetas); TGF β , Transforming Growth Factor B (Transformación de factor de crecimiento B); FGF, Fibroblastic Growth Factor (Factor de crecimiento fibroblástico); IGF, Insulin Growth Factor (Factor de crecimiento semejante a la insulina).

Gracias a los últimos avances, el intervalo de longitudes de onda de emisión de la radiación láser se ha visto ampliado considerablemente, y numerosos estudios sugieren que los láseres pueden ser aplicados en diferentes tipos de tratamientos dentales. Las ventajas de este tipo de tratamiento incluyen la efectividad y eficiencia en la ablación de tejidos blandos y duros con gran poder hemostático, efecto bactericida, contracción mínima de la herida, minimización de daños colaterales permitiendo una reducción de analgesia local, comodidad de aplicación y su aplicación silenciosa. La herramienta láser cuenta con una amplia aplicación en el tratamiento post-quirúrgico dental. Sin embargo, la variedad de efectos biológicos que la radiación láser puede producir en el tejido oral, aún no son plenamente comprendidos.

Entre los muchos efectos fisiológicos, es importante reconocer efectos bioestimuladores beneficiosos de la radiación láser en las células del tejido durante la terapia láser, como por ejemplo la contribución a una cicatrización

más rápida en el proceso de reparación de los tejidos, que puede que no ocurra durante la terapia mecánica convencional.

Estos efectos bioestimuladores se han asociado con el empleo de radiación láser de bajo nivel de energía (Peplow y cols., 2010). Conforme a la primera ley de la fotoquímica, el efecto biológico observado tras la aplicación de la radiación láser de bajo nivel energético, sólo puede ser resultado de la presencia de una molécula fotoaceptora, capaz de absorber la energía fotónica emitida (Karu, 2007). Además, asociado a este efecto no existen mecanismos fototérmicos ni fotoacústicos, por lo que no se observa calentamiento macroscópico.^{72, 73}

Una diana identificada en la fototerapia láser es una enzima altamente especializada, la Citocromo c oxidasa, que desempeña un papel crucial en la bioenergía celular. Algunos estudios indican que tras la irradiación con láser a 633 nm, se incrementa tanto el potencial de membrana como el gradiente de protones, provocando cambios en las propiedades ópticas de la mitocondria, aumentando la tasa de intercambio de difosfato de adenosina/trifosfato de adenosina (ADP/ATP)

La regulación al alza de ATP tras la irradiación con láser de bajo nivel energético también se acopla con incrementos transitorios de las especies reactivas del oxígeno (ROS), participando a continuación en la transducción de señales intercelulares. Se ha observado que la modulación del metabolismo celular y de la transducción de señales altera la expresión genética (Snyder y cols., 2002), la proliferación celular (Moore y cols., 2005), el potencial de membrana mitocondrial (Alexandratou y cols., 2002), la de especies reactivas del oxígeno transitorias (Lubart y cols., 2005), el nivel de calcio (Tong y cols., 2000) y el gradiente de protones y el consumo de oxígeno.

El éxito de la cicatrización está determinado por la presencia de un entorno favorable a nivel local y general, que permita al organismo restablecer las condiciones previas al tejido lesionado. A pesar de que la respuesta de un tejido

ante la agresión inducida o traumática es repararse a través de un proceso de inflamación, proliferación fibroblástica y remodelación, en la cavidad bucal convergen una serie de aspectos que caracterizan esta reparación y que son de gran interés en el ámbito de la cirugía bucal, tal es el caso de los alvéolos dentarios en situación posterior a una exodoncia y de los nervios lesionados.⁷⁵⁻⁷⁷

JUSTIFICACIÓN

Los factores de crecimiento son proteínas que intervienen en la comunicación celular ya que transmiten su información al interactuar con los receptores situados en la membrana celular. Asimismo actúan simultáneamente en distintos tipos celulares y desencadenan efectos biológicos como la migración celular dirigida, la proliferación y la diferenciación celular, la formación de nuevos vasos sanguíneos, etc. Todos éstos son acontecimientos fundamentales en la reparación y regeneración tisular. El objetivo principal del CGF es de imitar y optimizar con él, los mecanismos fisiológicos de reparación de los tejidos tras una lesión, ya sea causada por un traumatismo, un tratamiento quirúrgico o una enfermedad. Agregando la combinación con laser de baja intensidad como adición en el tratamiento quirúrgico puede ofrecer la posibilidad de acelerar el proceso de cicatrización, así como de complicaciones post-quirúrgicas tales como hemorragias, alveolitis, sensibilidad, entre otras.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la búsqueda de terapias eficaces para lograr una superficie radicular biocompatible, con mayor grado de descontaminación y reducción de la inflamación de los tejidos periodontales adyacentes, aparece la tecnología láser como terapia alternativa o complementaria de los métodos tradicionales.

Los procedimientos quirúrgicos tienden a desencadenar procesos de regeneración tisular en los cuales están presentes la fase de inflamación así como dolor por lo que una de las complicaciones mas comunes post operatorios en este tipo de procedimientos es el dolor por causa de la inflamación en los tejidos afectados. En el caso de la cirugía bucal además de la preocupación sobre el cuidado en los tejidos se debe tener atención en los microorganismos presentes ya que es bien conocido que la cavidad bucal es un medio contaminado en donde se están presentes mas de 800 tipos de microorganismos diferentes por lo que otra de la preocupaciones post operatorias es evitar un proceso infeccioso ya que también es una complicación común en los procesos quirúrgicos en el área de la odontología.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Los procesos de cicatrización tisular ¿pueden acelerarse con el uso del Concentrado de Factores de Crecimiento, estimulado con láser de baja intensidad?

HIPÓTESIS

La función del CGF con la estimulación celular por medio de fototerapia con láser de baja intensidad, acelera los procesos de cicatrización con la finalidad de ofrecer mayor calidad para el tratamiento post-quirúrgico del paciente.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Acelerar los procesos de cicatrización con el uso del Concentrado de Factores de Crecimiento (CGF) estimulando con láser de baja intensidad para el tratamiento post-quirúrgico, para determinar su efectividad y adecuada indicación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar si existe retraso en los procesos de reparación tisular y cicatrización.
- Evaluar la reparación tisular sin el uso del CGF.
- Evaluar la reparación tisular con el uso del CGF.
- Evaluar los procesos inflamatorios en los tejidos adyacentes al Biomaterial.
- Evaluar la disminución de complicaciones post quirúrgicas utilizando la combinación del CGF y fototerapia de baja intensidad.

DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES

A continuación se describen las variables utilizadas en este estudio. Se identifica como variable dependiente única la cicatrización (Tabla 1). Mientras que el CGF y el láser terapéutico ocupan el lugar de las variables independientes (Tabla 2).

Tabla 1. Tabla de Variable dependiente.

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	CATEGORÍA
CICATRIZACIÓN	PROCESO DE REGENERACIÓN DE UN TEJIDO ALTERADO O DAÑADO.	CUALITATIVA ORDINAL	0. NO CICATRIZÓ 1. CICATRIZACIÓN LEVE 2. CICATRIZACIÓN MODERADA 3. CICATRIZACIÓN POR COMPLETO

Tabla 2. Tabla de Variables independientes.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	CATEGORÍA
CGF	ABORDAJE MULTIMOLECULAR QUE ESTIMULA LA FORMACIÓN DE NUEVOS VASOS SANGUÍNEOS, PROLIFERACIÓN Y DIFERENCIACIÓN CELULAR, LA SÍNTESIS DE MATRIZ CELULAR Y LA REMODELACIÓN ÓSEA.	CUALITATIVO NOMINAL	1. CONCENTRADO EN FACTORES DE CRECIMIENTO
FOTOTERAPIA	RAMA DE LA MEDICINA ALTERNATIVA QUE USA COMO HERRAMIENTA LA LUZ A TRAVÉS DE INFRARROJOS, RAYOS ULTRAVIOLETA O LASER.	CUALITATIVO NOMINAL	1. DE BAJA INTENSIDAD A 5000 HZ

MATERIALES Y MÉTODO

TIPO DE ESTUDIO

Experimental transversal observacional analítico.

UNIVERSO DE TRABAJO

El estudio se realizará en las instalaciones del Bioterio en Valle de Palmas UABC Campus Tijuana. en donde se espera incluir 16 conejos Nueva Zelanda, los cuales se van a dividir en cuatro grupos de cuatro conejos cada uno.

La raza de conejo Nueva Zelanda es la más utilizada en la investigación [Yanni, 2004; Bocan y col., 1993]. Los conejos fueron considerados roedores hasta 1912, pero diferencias en su dentición resultó en el establecimiento de un nuevo orden: Lagomorpha. Los miembros de este orden, poseen 6 incisivos, en contraste los roedores tienen solo 4 incisivos. La clasificación taxonómica del conejo es: Reino Animal, Phylum Chordata, Clase Mammalia, Orden Lagomorpha, Familia Leporidae, Género Oryctolagus, Especie cuniculus.

Existen más de 100 razas de conejos, siendo Nueva Zelanda y Dutch, las más comúnmente usadas en laboratorio. Hay además variedades empleadas en laboratorio, incluyendo el conejo Watanabe, que tiene una predisposición genética para elevados niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL).

El tamaño de camada promedio al nacimiento es de 8 a 10 gazapos en las razas medianas (3.5 - 5 Kilos) aunque en la raza California se detalla que el tamaño de camada promedio es de 6.7, aunque esta se ve influenciada por la estación, máximo en primavera, mínimo en otoño. En otras fuentes se señala que el tamaño de camada promedio para Nueva Zelanda varía entre 8 y 12.

El consumo diario de alimento es aproximadamente el 5% del peso del animal, mientras el consumo diario de agua representa alrededor del 10% del peso. La dieta típica en el conejo de laboratorio contiene aproximadamente 15% de proteína, 40-50% de carbohidratos, 2% de grasa vegetal y 15-25% de fibra.

Se ha reportado que las hembras son menos propensas a la inducción de lesiones arterioscleróticas en comparación con los conejos machos. La protección de las hembras parece deberse a la presencia de altas concentraciones de estrógenos.

Con el objetivo de evitar el maltrato de los animales de laboratorio, existen regulaciones que deben ser acogidas por los investigadores [NIH Guide for the care and use of laboratory animals, 1966; Technical Expert Working Group for the revision of directive 86/609/EEC on the protection of animal used for experimental and other scientific purposes, 2003].

El New Zealand se ha estado seleccionando por cientos de generaciones, porque tienen buena personalidad y son fáciles para trabajar. Es una raza fuerte y con buen carácter. Como todos los conejos de gran tamaño, el New Zealand necesita una zona más grande para vivir. Necesitan hacer ejercicio regularmente ya que son propensos a la obesidad. Pesa alrededor de 5 kg.

El New Zealand se presenta generalmente en blanco con ojos rojos, pero también se encuentra en rojizo o negro.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Conejos Nueva Zelanda
- Género: machos
- De tres a cuatro meses de edad
- Con peso aproximado de 2.5 a 3.0 kg.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN O ELIMINACIÓN

- Conejos que mueran durante el estudio.

METODOLOGÍA

Fueron utilizados 16 conejos Nueva Zelanda, en los cuales se realizaron cuatro osteotomías en calota craneana, cada una de éstas con diferente técnica de reconstrucción ósea. (Fig. 1) Cada uno de los conejos fue codificado con una letra "C" seguida de un numero y letra para poder identificarlos y a su vez pueda ser considerado como estudio ciego ante el histopatólogo.

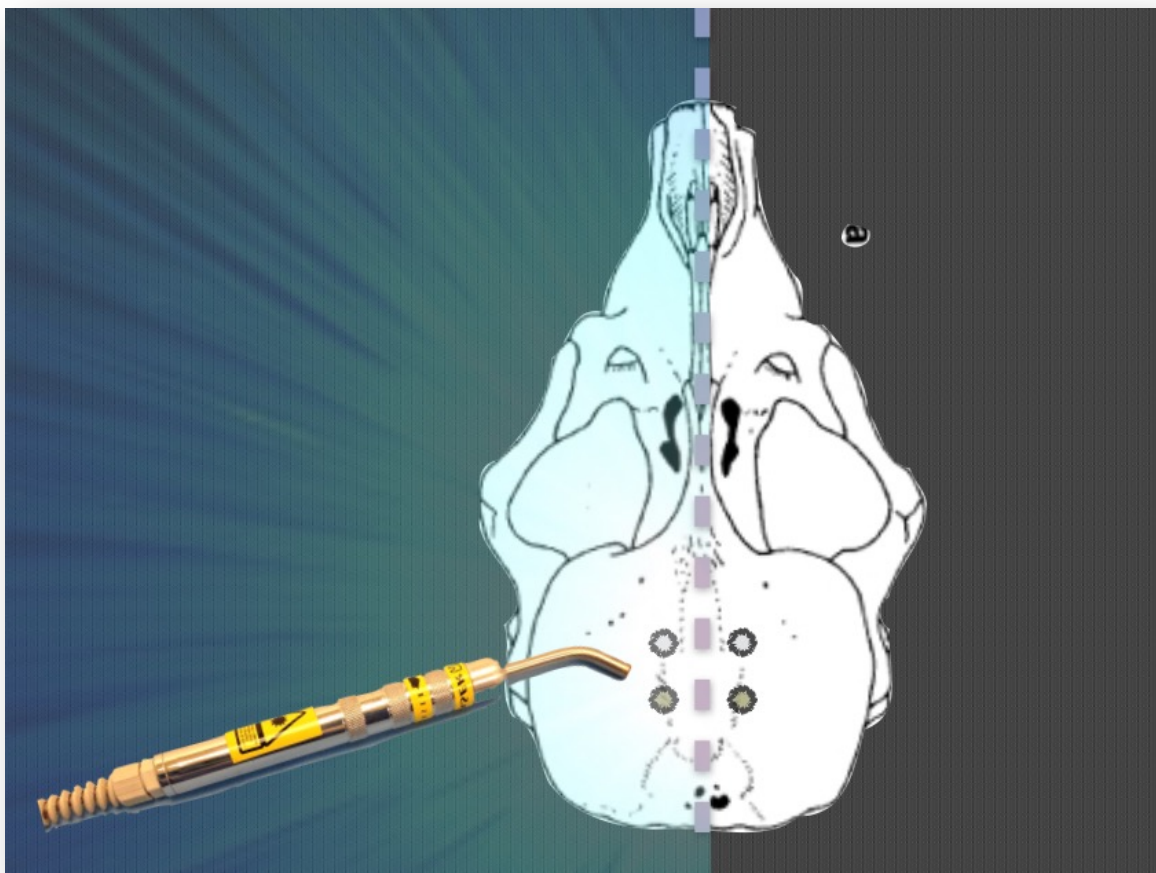


Fig. 1 Esquema de la cirugía para cada conejo

Procedimiento quirúrgico

Todos los animales fueron anestesiados por medio de una inyección intramuscular con una mezcla de Ketamina y Xilacina de acuerdo al peso individual de cada conejo. Se rasuró la cabeza de cada conejo en el área de los parietales y zona de la yugular. (Fig.2)



Fig.2 Se rasura el área de los parietales para mejor visibilidad y evitar contaminación en las heridas.

La obtención del CGF se iniciará con la extracción 5 ml de sangre de la yugular de cada conejo (Fig. 3), posteriormente se coloca la muestra en tubos estériles BD Vacutainer SST que contienen un recubrimiento de silicio para acelerar el proceso de coagulación y un gel de polímero separador del suero. (Fig. 4) Inmediatamente obteniendo la muestra se procede a obtener el CGF en la centrifuga Thermo Scientific CL 2 con 3.8 RPM x 1000 durante 3 min. (Fig. 5)

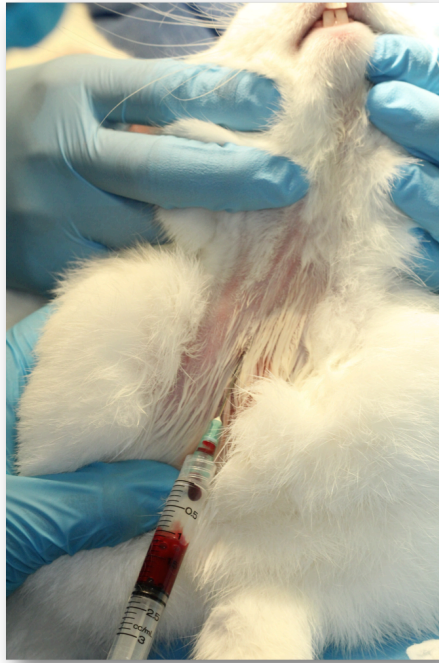


Fig. 3 De la yugular de cada conejo se obtiene la muestra sanguínea de 5 ml



Fig. 4 Tubos estériles BD Vacutainer SST



Fig. 5 Centrífuga Thermo Scientific CL 2, 3.8 x 1000 RPM por 3 min.

Se desinfecta el área a operar con yodo, se colocan puntos de Lidocaína al 3% para evitar sangrado. (Fig. 6) Se realizó una incisión de 3-4 cm a lo largo de la sutura media del craneo. Se traccionó la piel con la ayuda de un par de pinzas Allix. (Fig. 7)

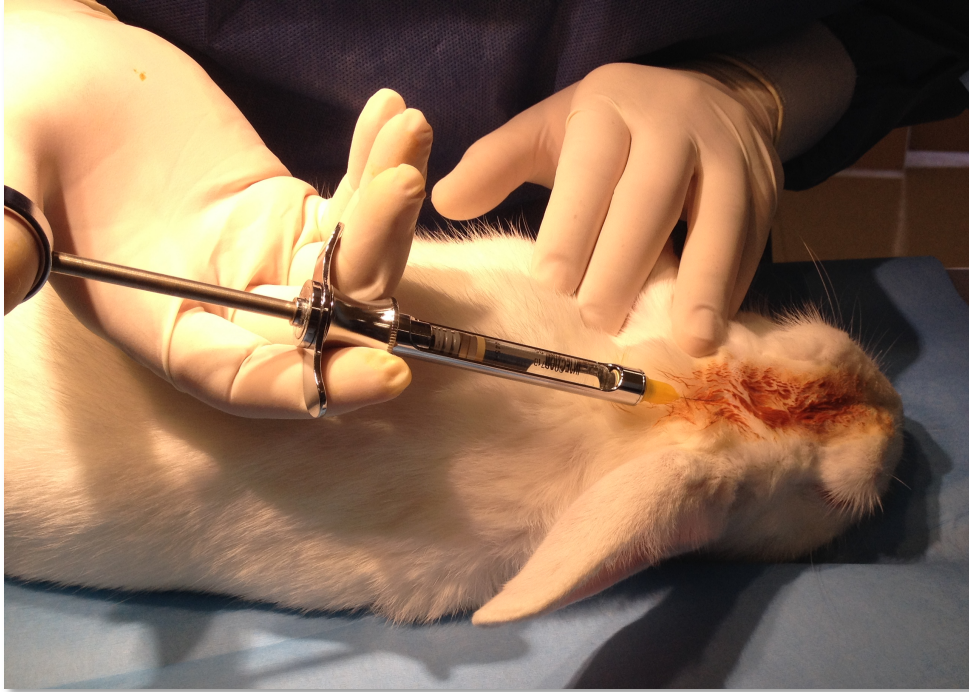


Fig. 6 Aplicación de anestesia local en área parietal



Fig. 7 Incisión en sutura media de 3-4 cm de largo

Utilizando un micromotor Surgic AP se realizaron 4 ostectomías de 4mm de diámetro (dos a cada lado de la línea media) con la ayuda de una trefina e irrigando continuamente con solución salina. (Fig. 8-10) Las porciones de hueso cortadas fueron removidas cuidadosamente para evitar dañar la masa encefálica.(Fig.11)



Fig. 8 Micromotor Surgic AP



Fig. 9 Trefina 4 mm

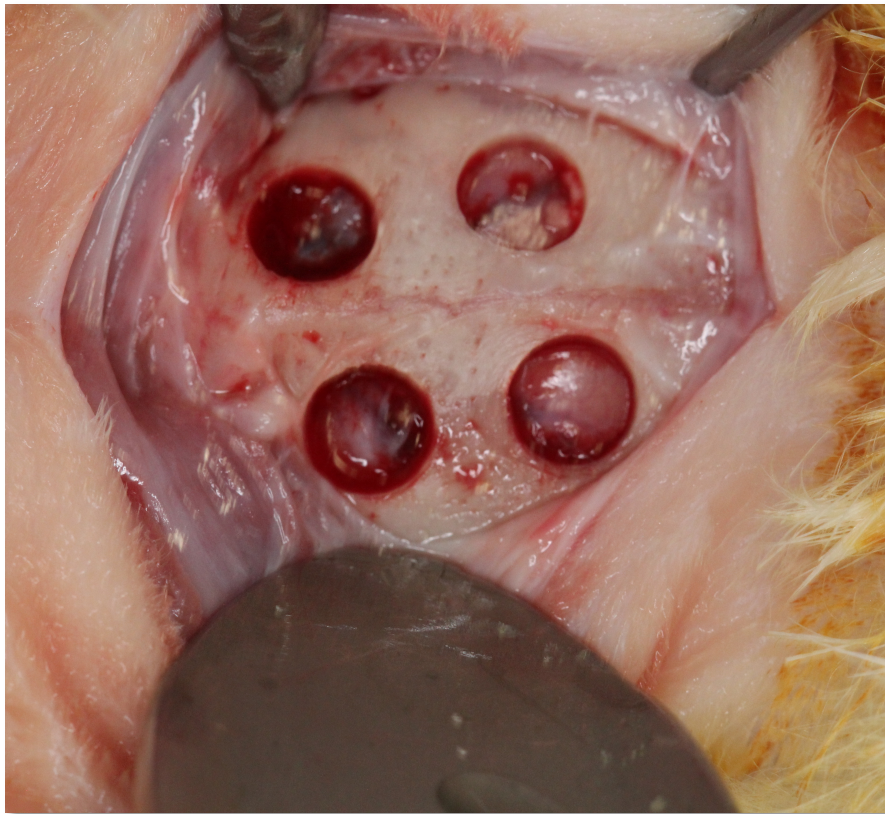


Fig. 10 Ostectomías



Fig. 11 Porciones

La distancia entre una osteotomía y otra fue de por lo menos 4 mm. Los defectos posteriores fueron rellenados con el CGF. (Fig.12) Por último se volvió a colocar la piel en su lugar y se suturó. (Fig.13)

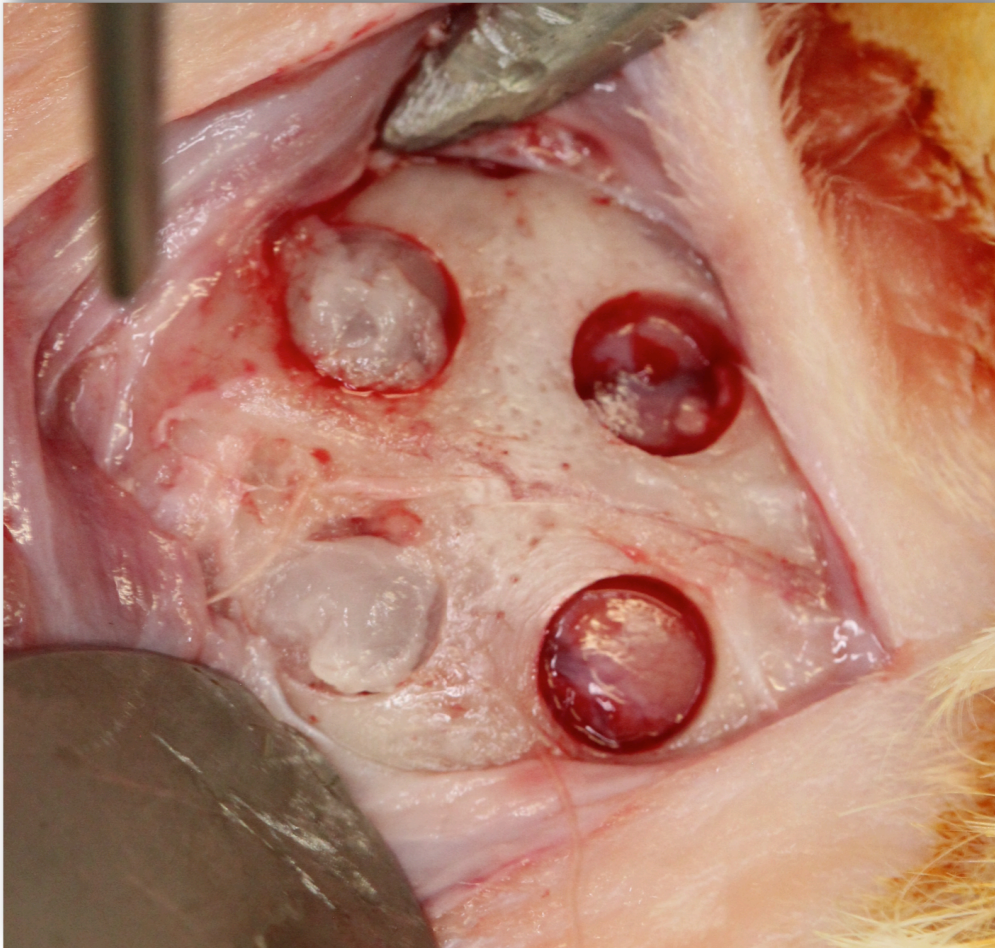


Fig. 12 Ostectomías posteriores con CGF

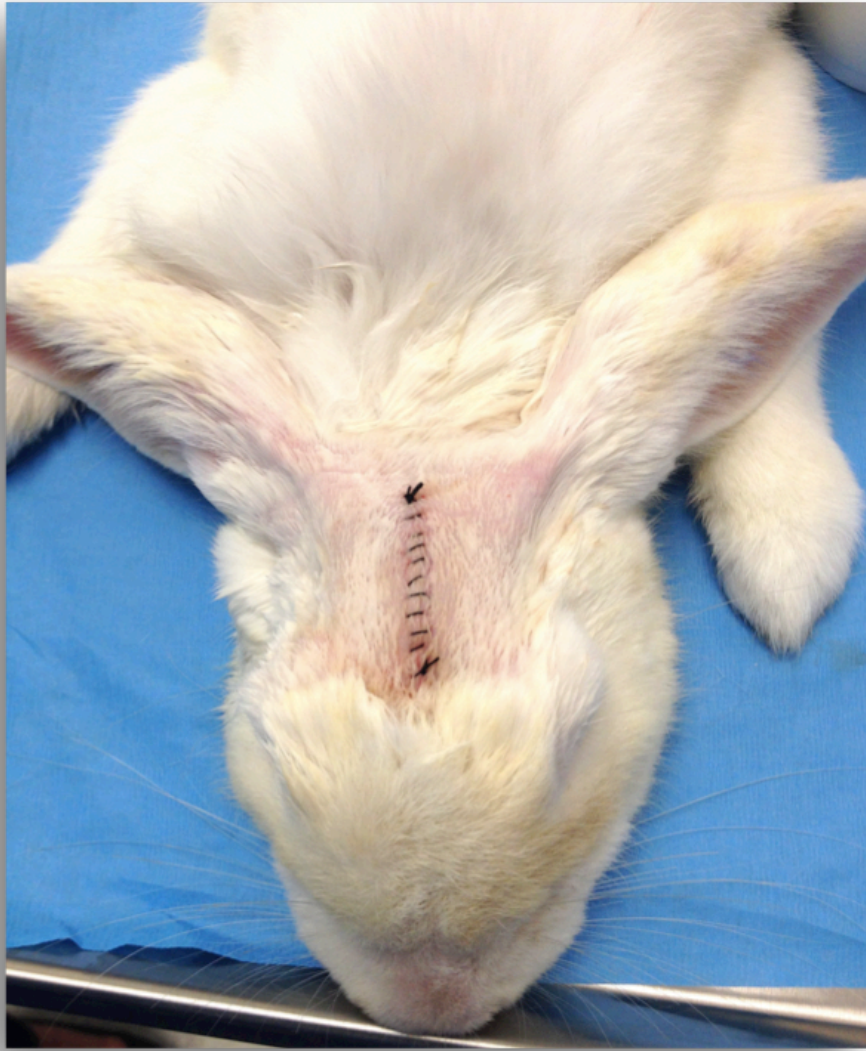


Fig. 13 Sutura

La aplicación de la fototerapia se realizará con el Laser Dent, 7 días continuos post-quirúrgicos con una frecuencia de 5000 Hz durante 6 minutos. (Fig.14)

La terapia se realizara sobre la ostectomías donde se colocara la punta del dispositivo del láser a una distancia aproximada de 0.5 a 2 cm de cada una las heridas de una de las tibias del conejo. La punta se deberá colocar en un ángulo aproximado de 45° . Se cubrirán 2 puntos circundantes de la región, una con el CGF y la otra libre. (Fig.15)



Fig. 14 Laser Dent



Fig. 15 Fototerapia realizada a 7 días continuos post-quirúrgicos, frecuencia 5000 Hz durante 6 min.

Debido a los efectos que el láser puede causar a los ojos, el operador deberá utilizar lentes de protección. La punta del dispositivo láser deberá ser protegida con un plástico desechable para evitar algún tipo de infección cruzada entre los animales por lo que se cuidara todos los aspectos de bioseguridad en todos los procedimientos que se realicen.

El protocolo descrito sobre la fototerapia con láser de baja intensidad es sugerida en la literatura para tratamientos de estimulación para regeneración de los tejidos.

A todos los conejos se les administró Enrofloxacina 10 mg c/12 hr y Carprofeno 4 mg c/12hr por 5 días.

Sacrificio de conejos

Para el análisis comparativo se dividirán los conejos en cuatro grupos, los cuales se van a sacrificar para tomar sus muestras a los 7, 14, 28 y 36 días post-quirúrgico (cuatro conejos por grupo). Al obtener todos los datos necesarios se evaluarán y analizarán histológicamente para la obtención de resultados.

Para el sacrificio humanitario de los conejos se utilizó una mezcla de Ketamina con Xilacina para inducir anestesia profunda y después se les provocó un paro cardíaco con una solución saturada de cloruro de potasio.

CLASIFICACIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

Se obtuvieron cuatro muestras individuales de cada conejo y fueron clasificadas de la siguiente forma:

- I. Muestra de tejido con estimulación de láser terapéutico.
- II. Muestra de tejido sin estimulación de ningún tipo.
- III. Muestra de tejido con CGF estimulada con láser terapéutico
- IV. Muestra de tejido con CGF.

Las muestras de tejido fueron colocadas y separadas en recipientes con formol concentrado al 10% inmediatamente a la realización de osteotomías, y fueron etiquetadas con códigos de identificación y fecha de obtención (Fig. 16).

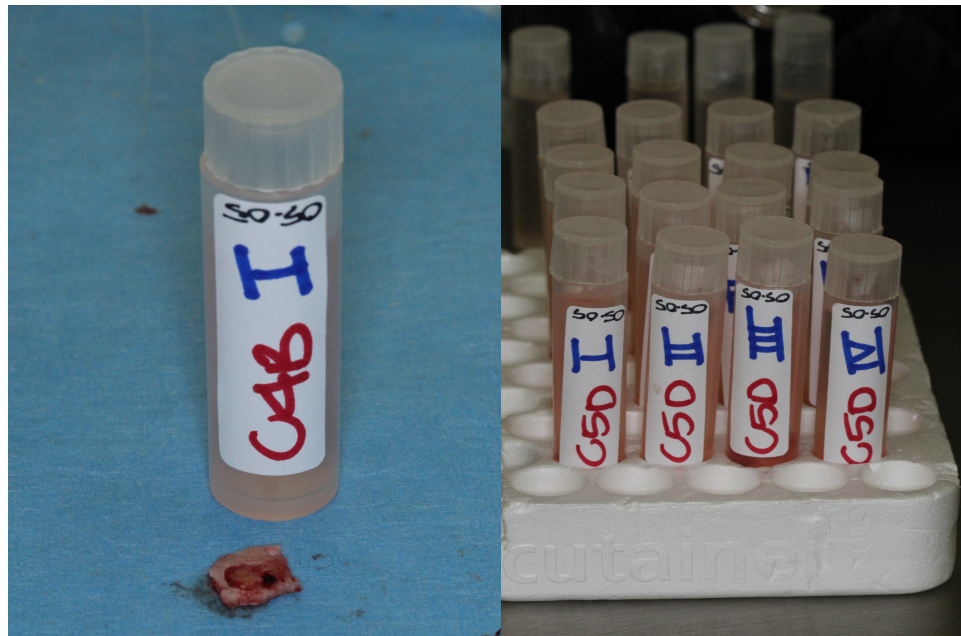


Fig. 16. Muestras de tejido de conejo fijadas en formol al 10%.

Las muestras fueron procesadas en el departamento de histopatología de la Universidad Autónoma de Baja California, Escuela de Ciencias de La Salud,

campus "Valle de las Palmas" (UABC, ECISALUD "Valle de Palmas"). Cada muestra se sometió a un proceso de descalcificación con la solución Osteosoft durante 4 días, que contiene ácido fólico y ácido clorhídrico, entre sus principales componentes. (Fig. 17).



Fig. 17. Osteosoft: solución descalcificadora de huesos para material sensible conteniendo calcio.⁷⁸

Una vez concluida la fase de fijación se inicia la fase de inclusión en el histokinette, donde los tejidos se sumergen en un proceso deshidratación a través de alcoholes de concentración ascendente (30% hasta 100%) hasta llegar a la parafina (Fig. 18). El proceso se lleva a cabo de 14 a 24 horas aproximadamente por medio de un carrusel que gira a intervalos predeterminados mediante un reloj.⁷⁹



Fig. 18. Histokinette.

Una vez obtenidos los bloques de parafina, se obtuvieron cortes histológicos de 3 micras cada uno por medio del micrótopo (Fig. 19).



Fig. 19. Micrótopo.

Para la obtención de las láminas con cortes histológicos, se utilizó tinta de flotación para rehidratar y extender el tejido. Posteriormente se tiñeron con Hematoxilina & Eosina (H&E) y Tricrómico de Masson. La tinción H&E se utilizó para el diagnóstico convencional con el microscopio de luz y la tinción Tricrómica de Masson para resaltar los hallazgos de fibras de colágeno y tejido conectivo en general, respecto a otros tipos celulares como el músculo o epitelios.^{80,81}

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA E IMÁGENES DEL MICROSCOPIO DIGITAL

Las laminillas fueron analizadas con el microscopio digital Carl Zeiss Primo Star, Microimaging-Göttingen-Germany, interpretando cada muestra detectando la regeneración ósea y angiogénesis.

El análisis histológico fue realizado cualitativamente en el que se clasificó la formación de hueso en la siguiente forma: No hay presencia de hueso= 0, presencia de fibras de colágeno y/o tejido de granulación= 1, presencia de hueso inmaduro y/o material osteoide= 2 y presencia de hueso mineralizado= 3 (Tabla 3). De igual forma, fue clasificada la angiogénesis en baja= 1, moderada= 2 y alta =3 (Tabla 4).

Tabla 3. TINCIÓN TRICRÓMICA DE MASSON

FORMACIÓN DE HUESO			
0	1	2	3
NADA	FIBRAS DE COLÁGENO Y TEJIDO DE GRANULACIÓN	HUESO INMADURO MATERIAL OSTEOIDE	HUESO MADURO HUESO MINERALIZADO

Tabla 4. TINCIÓN HEMATOXILINA Y EOSINA

ANGIOGÉNESIS		
1	2	3
BAJA	MODERADA	ALTA

RESULTADOS

A continuación se mostrarán en las Tablas 5-19 los resultados obtenidos de cada conejo, el cual contaba cada uno con 8 laminillas para observar al microscopio. Se encuentran acomodados los grupos por la fecha post-quirúrgica. Al final de cada grupo se coloca la gráfica para comparar los resultados.

Primera semana.

Las muestras C4A, C4B I, II y III mostraron formación de tejido conectivo y tejido de granulación, además de angiogénesis evidente. Las muestras C4AIV y C4BIV mostraron formación de hueso inmaduro y al mismo tiempo formación de abundantes vasos sanguíneos (Tabla 5 y 6).

Tabla 5.

P R I M E R A S E M A N A					05.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C4A	0	1	2	3	1	2	3
I		X					X
II		X					X
III		X					X
IV			X				X

Tabla 6.

P R I M E R A S E M A N A					05.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C4B	0	1	2	3	1	2	3
I		X					X
II		X					X
III		X					X
IV			X				X

Las muestras C5B I, II y III mostraron formación de tejido conectivo y tejido de granulación. La muestra C5BI presentó nivel alto de formación de vasos sanguíneos, la C5BII mostró un nivel bajo y la C5BIII nivel moderado. La muestra C5BIV fue eliminada del estudio (Tabla 7).

Tabla 7.

P R I M E R A S E M A N A					05.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C5B	0	1	2	3	1	2	3
I		X					X
II		X			X		
III		X				X	
IV	---	---	---	---	---	---	---

Las muestras C5D I, II y IV mostraron fibras de colágeno, y solo en la muestra C5DIII se observó hueso maduro. Hubo nivel moderado de vasos sanguíneos en la muestra C5DI, en contraste con las muestras C5D II, III y IV que mostraron un nivel alto de neoformación de vasos sanguíneos (Tabla 8).

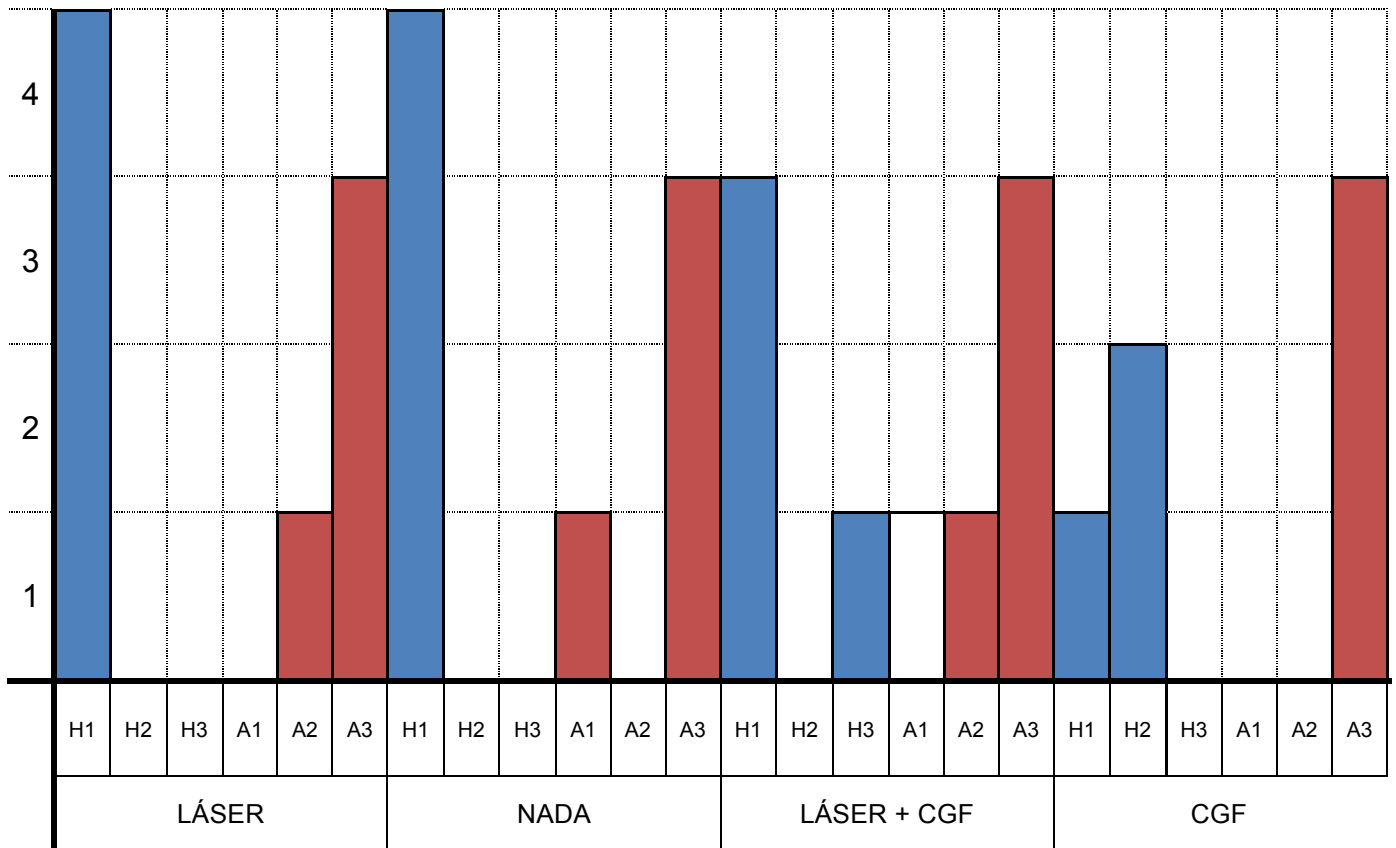
Tabla 8.

P R I M E R A S E M A N A					05.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C5D	0	1	2	3	1	2	3
I		X				X	
II		X					X
III				X			X
IV		X					X

En este primer grupo se observa gran cantidad de neoformación de vasos sanguíneos que se presentaron en las heridas 7 días después de ser operados los primeros 4 conejos. También se observó formación de fibras de colágeno y tejido de granulación (Gráfica 1).

Gráfica 1.

7 DIAS POST-QUIRÚRGICO



Segunda Semana.

En las muestras C2C I, II, III y IV se mostró la formación de fibras de colágeno, tejido de granulación y presencia elevada de neoformación de vasos sanguíneos (Tabla 9).

Tabla 9.

S E G U N D A S E M A N A					12.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C2C	0	1	2	3	1	2	3
I		X					X
II		X					X
III		X					X
IV		X					X

En las muestras C3A I, II, III y IV se mostró la formación de hueso inmaduro. La muestra C3AI demostró nivel alto de angiogénesis, mientras que las muestras C3A II, III y IV presentaron nivel moderado de neoformación de vasos sanguíneos (Tabla 10).

Tabla 10.

S E G U N D A S E M A N A					12.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C3A	0	1	2	3	1	2	3
I			X				X
II			X			X	
III			X			X	
IV			X			X	

En las muestras C4C I, III y IV se encontró la presencia de hueso inmaduro, mientras que en la muestra C4C II solamente tejido fibroso. Las muestras C4C I, III y IV demostraron neoformación de vasos sanguíneos en nivel elevado. Solo la muestra C4C II presentó angiogénesis moderada (Tabla 11).

Tabla 11.

S E G U N D A S E M A N A					12.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C4C	0	1	2	3	1	2	3
I			X				X
II		X				X	
III			X				X
IV			X				X

En las muestras C4D I, II y IV se mostró la presencia de hueso maduro con neoformación moderada, mientras que en la muestra C4DIII presentó hueso inmaduro con angiogénesis baja (Tabla 12).

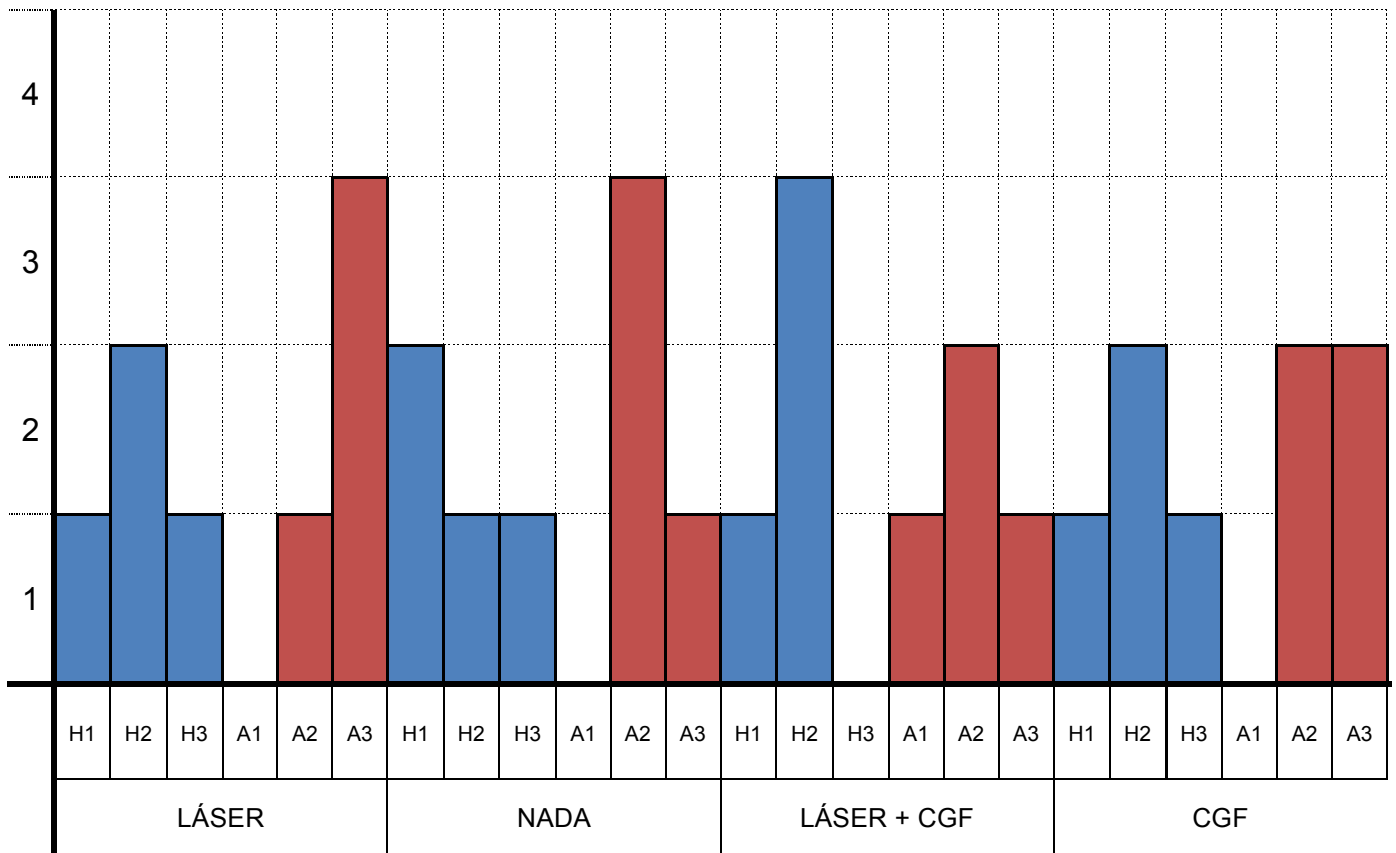
Tabla 12.

S E G U N D A S E M A N A					12.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C4D	0	1	2	3	1	2	3
I				X		X	
II				X		X	
III			X		X		
IV				X		X	

El segundo grupo de conejos que fue sacrificado a los 14 días, muestra alta irrigación en vasos sanguíneos, y se empieza a predominar la presencia de hueso inmaduro (Gráfica 2).

Gráfica 2.

14 DIAS POST-QUIRÚRGICO



Cuarta semana.

En la muestra C1AI se encontró la presencia de fibras de colágeno con neoformación alta de vasos sanguíneos. Las muestras C1A II y III se demuestran la presencia de hueso inmaduro con angiogénesis moderada. La muestra C1AIV fue eliminada para la tinción tricrómica de Masson, pero se logró registrar nivel elevado de neoformación de vasos sanguíneos (Tabla 13).

Tabla 13.

C U A R T A S E M A N A					20.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C1A	0	1	2	3	1	2	3
I		X					X
II			X			X	
III			X			X	
IV	---	---	---	---			X

En la muestra C1B I, II y IV se demostró la presencia de hueso maduro. La muestra C1BIII presentó hueso inmaduro. Las muestras C1B I y II mostraron la presencia de angiogénesis moderada, mientras que las muestras C1B III y IV mostraron nivel elevado de neoformación de vasos sanguíneos (Tabla 14).

Tabla 14.

C U A R T A S E M A N A					20.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C1B	0	1	2	3	1	2	3
I				X		X	
II				X		X	
III			X				X
IV				X			X

Las muestras C1D II y IV mostraron la formación de hueso maduro. En la muestra C1DIII se detectó la presencia de hueso inmaduro. Las muestras C1D II y III presentaron nivel elevado de neoformación de vasos sanguíneos. La muestra C1DIV mostró un nivel bajo de angiogénesis. La muestra C1DI fue eliminada del estudio (Tabla 15).

Tabla 15.

C U A R T A S E M A N A					20.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C1D	0	1	2	3	1	2	3
I	---	---	---	---	---	---	---
II				X			X
III			X				X
IV				X	X		

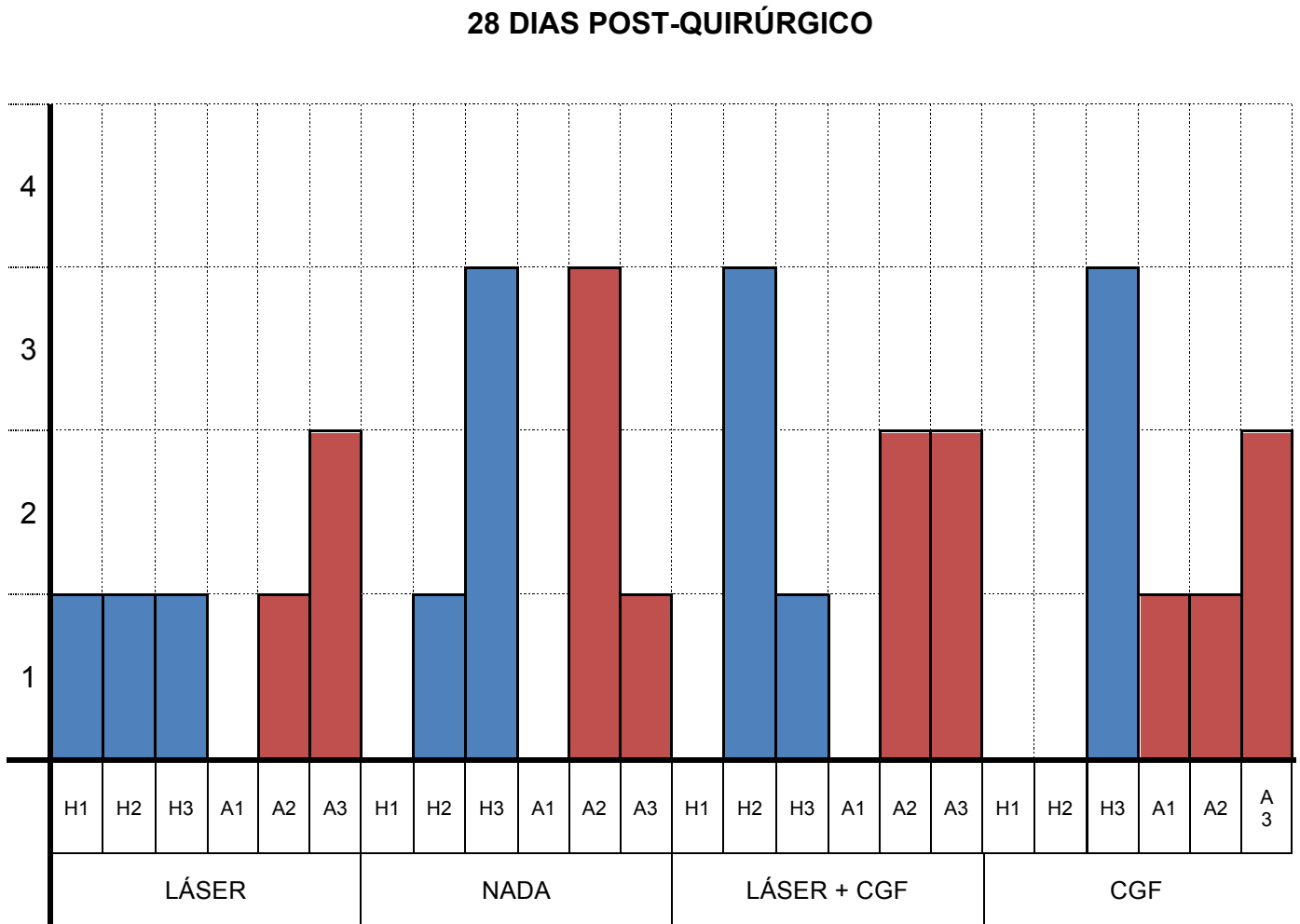
En la muestra C2BI se mostró la presencia de hueso inmaduro con nivel elevado de neoformación de vasos sanguíneos. Las muestras C2B II, III y IV mostraron formación de hueso madura con nivel moderado de angiogénesis (Tabla 16).

Tabla 16.

C U A R T A S E M A N A					20.05.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C2B	0	1	2	3	1	2	3
I			X				X
II				X		X	
III				X		X	
IV				X		X	

En el tercer grupo de conejos que fueron sacrificados a los 28 días de la operación, sigue predominando la presencia de hueso inmaduro, con la angiogénesis en sus niveles altos (Gráfica 3).

Gráfica 3.



Sexta semana.

Las muestras C2D I, II y IV mostraron la presencia de hueso inmaduro, solamente se detecta la presencia de hueso maduro en la muestra C2DIII. Con respecto a la neoformación de vasos sanguíneos, las muestras C2D I, III y IV presentan nivel bajo, mientras que la muestra C2DII un nivel moderado (Tabla 17).

Tabla 17.

S E X T A S E M A N A					05.06.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C2D	0	1	2	3	1	2	3
I			X		X		
II			X			X	
III				X	X		
IV			X		X		

La muestra C3BI mostró la formación de hueso maduro. Las muestras C3B II, III y IV presentaron formación de hueso inmaduro. En las muestras C3B I, III y IV se detecta nivel moderado de neoformación de vasos sanguíneos, mientras que la muestra C3B II nivel bajo (Tabla 18).

Tabla 18.

S E X T A S E M A N A					05.06.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C3B	0	1	2	3	1	2	3
I				X		X	
II			X		X		
III			X			X	
IV			X			X	

En las muestras C3C I, II y III se detecta la presencia de hueso inmaduro. La muestra C3CIV mostró formación de hueso maduro. Las muestras C3C I y IV presentan nivel bajo de angiogénesis y las muestras C3C II y III nivel moderado (Tabla 18).

Tabla 18.

S E X T A S E M A N A					05.06.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C3C	0	1	2	3	1	2	3
I			X		X		
II			X			X	
III			X			X	
IV				X	X		

En las muestras C3D I, II y III se muestra la formación de hueso inmaduro. En la muestra C3DIV se presentó formación de fibras de colágeno. En las muestras C3D I, II y IV se presentó nivel moderado de neoformación de vasos sanguíneos. La muestra C3DIII mostró nivel bajo de angiogénesis (Tabla 19).

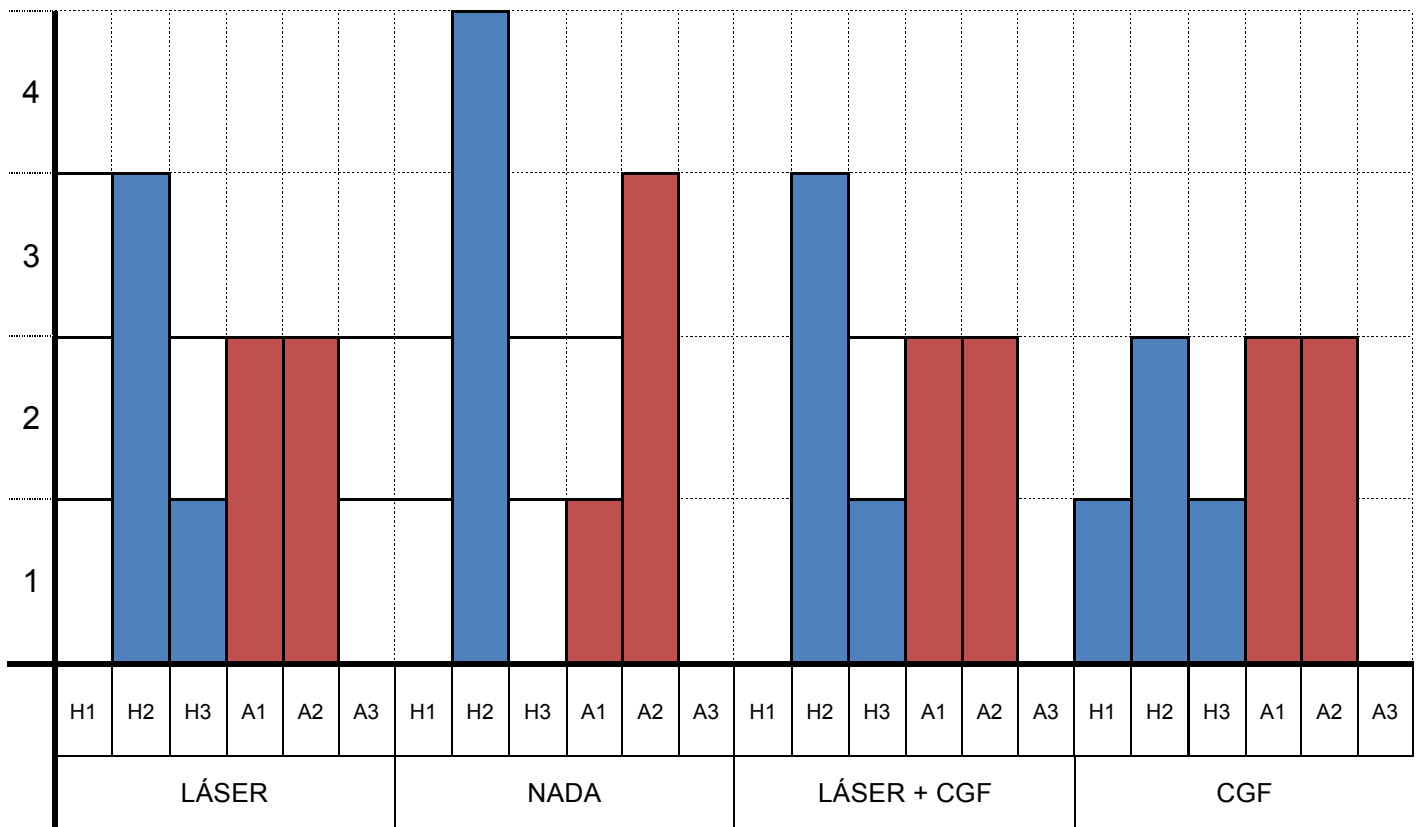
Tabla 19.

S E X T A S E M A N A					05.06.14		
FORMACIÓN DE HUESO					ANGIOGÉNESIS		
C3D	0	1	2	3	1	2	3
I			X			X	
II			X			X	
III			X		X		
IV		X				X	

En el cuarto grupo de conejos que fue sacrificado a los 36 días post-quirúrgico, se logra observar en la gráfica de resultados que en la mayoría de las muestras sigue apareciendo la presencia de hueso inmaduro y muy poco con hueso maduro. La angiogénesis no se muestra tan elevada como en las gráficas pasadas, pero aun así sigue habiendo presencia y proliferación de vasos sanguíneos, lo cual ayuda a la formación ósea en un futuro (Gráfica 4).

Gráfica 4.

36 DIAS POST-QUIRÚRGICO



MUESTRA C2DIII. Fig. 20-A. Corte histológico donde se observa formación de hueso maduro y escasos vasos sanguíneos en tejido fibroconectivo (tinción en H&E, 40X). Fig. 20-B. Neoformación de hueso circundado por tejido fibroso conectivo (tinción en H&E, 100X).

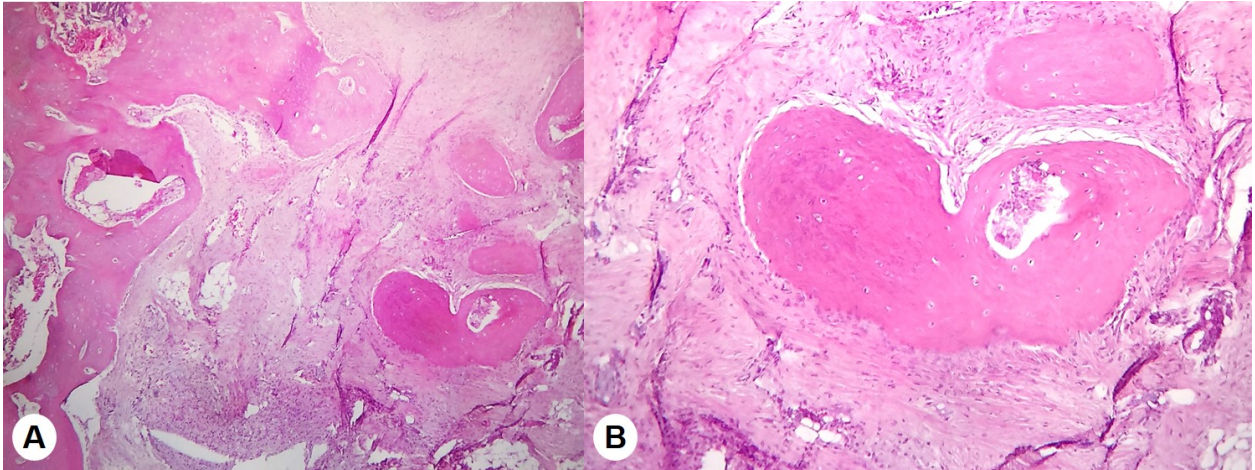


Fig. 20 A y B.

MUESTRA C3DII. Fig. 21-A. Corte histológico que demuestra moderada formación de hueso inmerso en proliferación de tejido fibroso conectivo (tinción Tricrómico de Masson, 100X). Fig. 21-B. Corte histológico que muestra formación de tejido óseo, y proliferación de tejido fibroconectivo a mayor aumento (tinción Tricrómico de Masson, 400X).

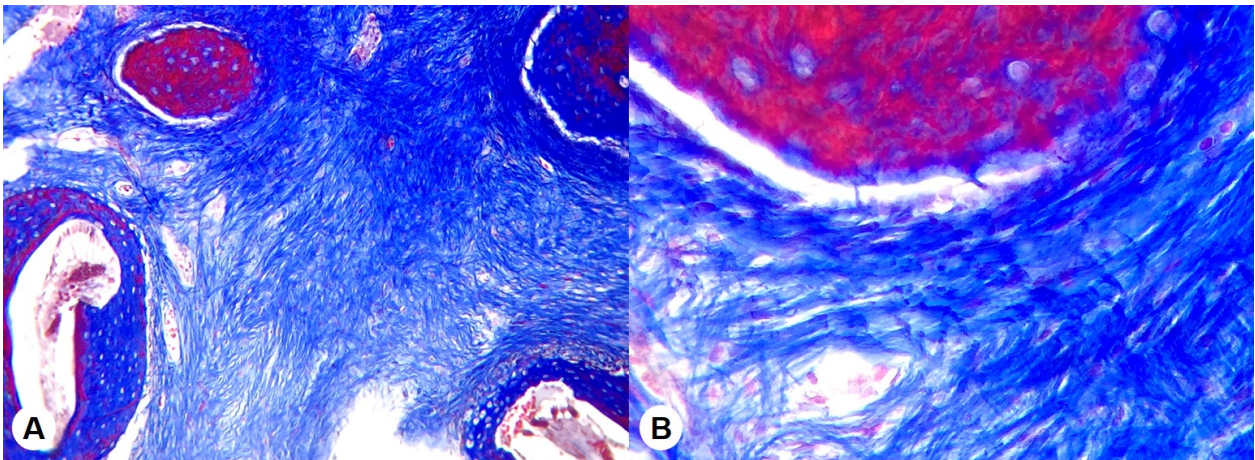


Fig. 21 A y B.

MUESTRA C3DIII. Fig. 22-A. Corte histológico que demuestra neoformación ósea en tejido fibroconectivo (tinción Tricrómico de Masson, 400X). Fig. 22-B. Corte histológico donde se observa proliferación de tejido óseo (tinción Tricrómico de Masson, 100X).

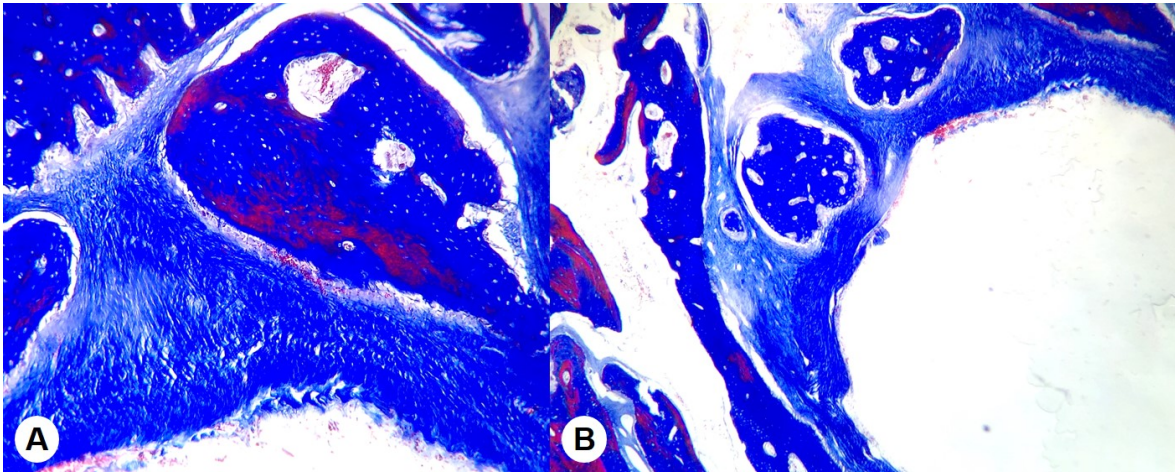


Fig. 22 A y B.

MUESTRA C4AIII. Fig. 23-A. Corte histológico en donde se observa proliferación de vasos sanguíneos inmersos en tejido fibroso conectivo (tinción en H&E, 40X). Fig. 23-B. Corte histológico que muestra formación de vasos sanguíneos en abundante proliferación de tejido fibroconectivo (tinción en H&E, 100X).

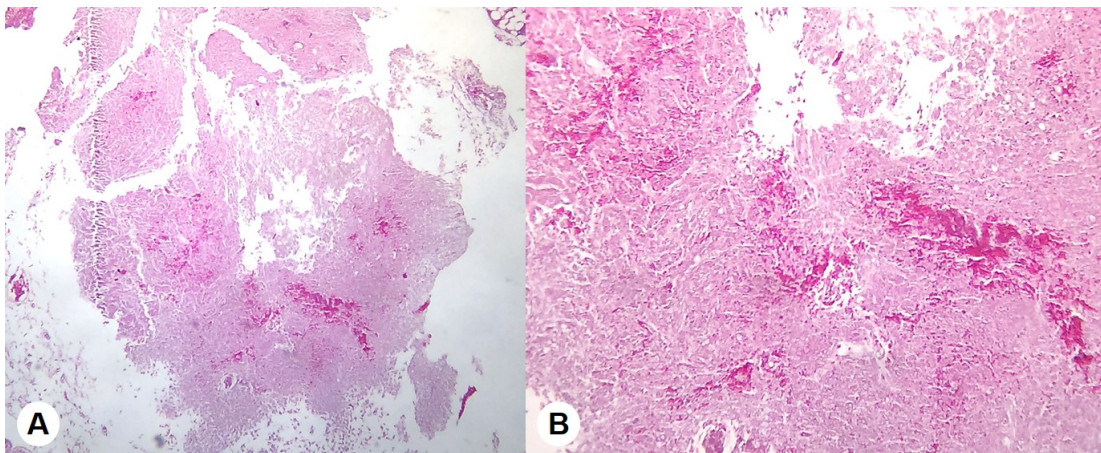


Fig. 23 A y B.

MUESTRA C4DI. Fig. 24-A. Corte histológico que muestra proliferación de tejido fibroconectivo (tinción en H&E, 40X). Fig. 24-B. Corte histológico que demuestra neoformación ósea y proliferación de tejido fibroconectivo con moderada formación de vasos sanguíneos (tinción en H&E, 40X).

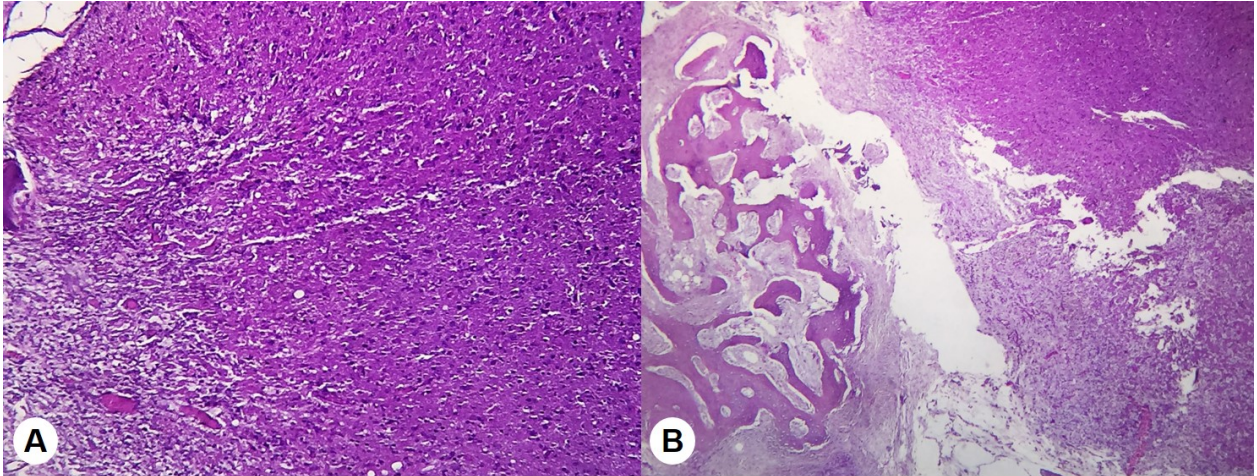


Fig. 24 A y B.

MUESTRA C4DIV. Fig. 25-A. Corte histológico donde se observa formación de hueso maduro en tejido conectivo de tipo laxo (tinción en H&E, 40X). Fig. 25-B. Corte histológico que muestra proliferación de tejido óseo (tinción en H&E, 100X).

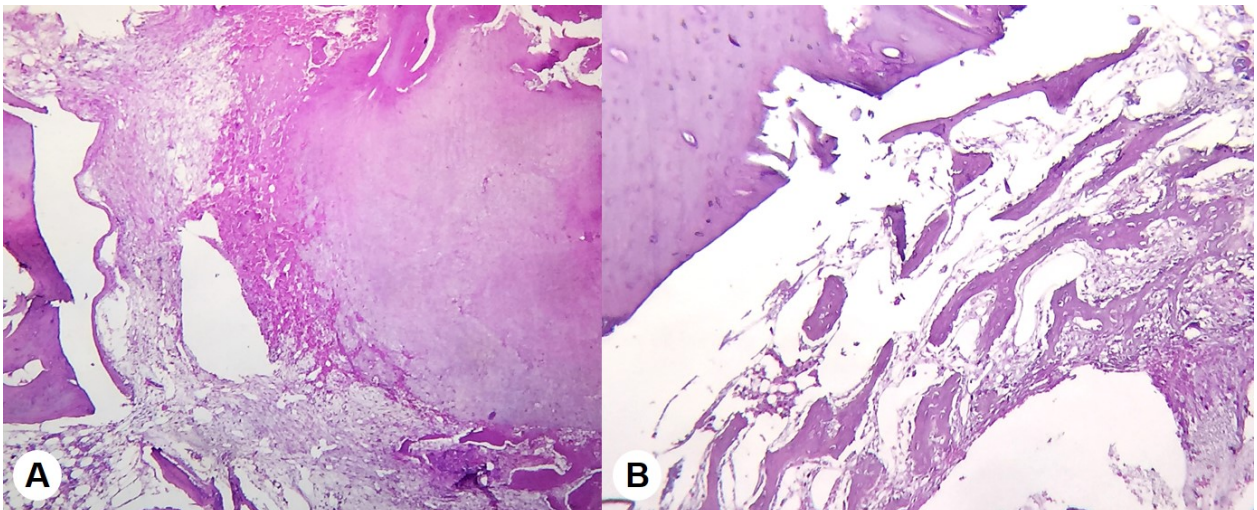


Fig. 25 A y B.

MUESTRA C5DIII. Fig. 26-A. Corte histológico donde se observa proliferación de hueso y tejido fibroconectivo de tipo laxo, además de escasa proliferación de vasos sanguíneos (tinción Tricrómico de Masson, 40X). Fig. 26-B. Corte histológico que muestra neoformación de hueso en tejido fibroso laxo, además de escasos vasos sanguíneos (tinción Tricrómico de Masson, 100X).

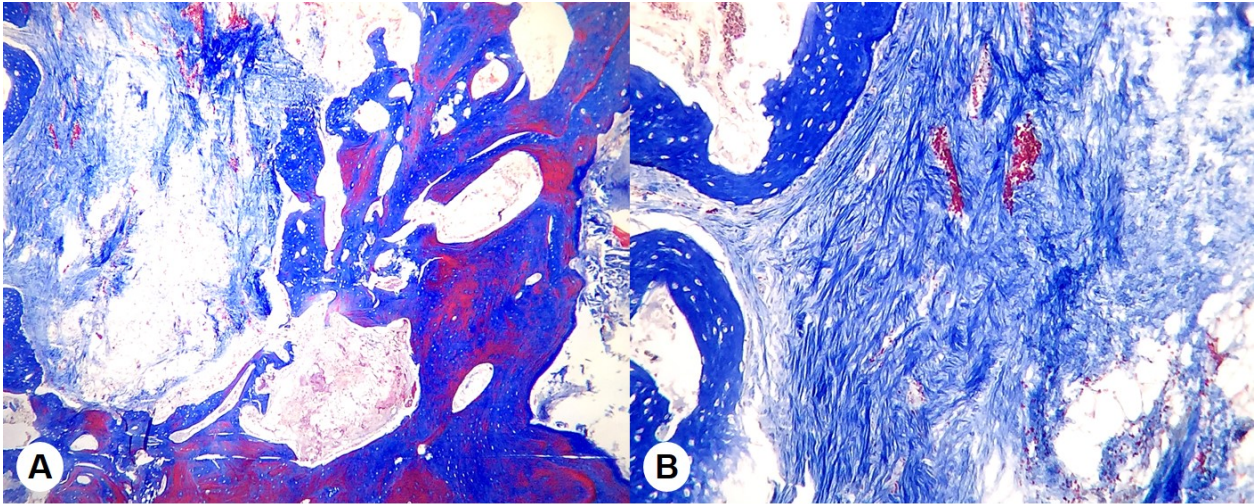


Fig. 26 A y B.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el fin de determinar las diferencias osteogénicas entre el grupo experimental y los grupos control, tomando en cuenta la variable del factor de tiempo entre una, dos, cuatro y seis semanas post-operatorio, se utiliza un poder estadístico con una muestra ya determinada de 16 sujetos a evaluar mediante el análisis ANOVA y prueba Kruskal-Wallis (Tabla 20), utilizando el programa estadístico SPSS. (Gráfica 5).

Tabla 20. Resultados con prueba Kruskal-Wallis

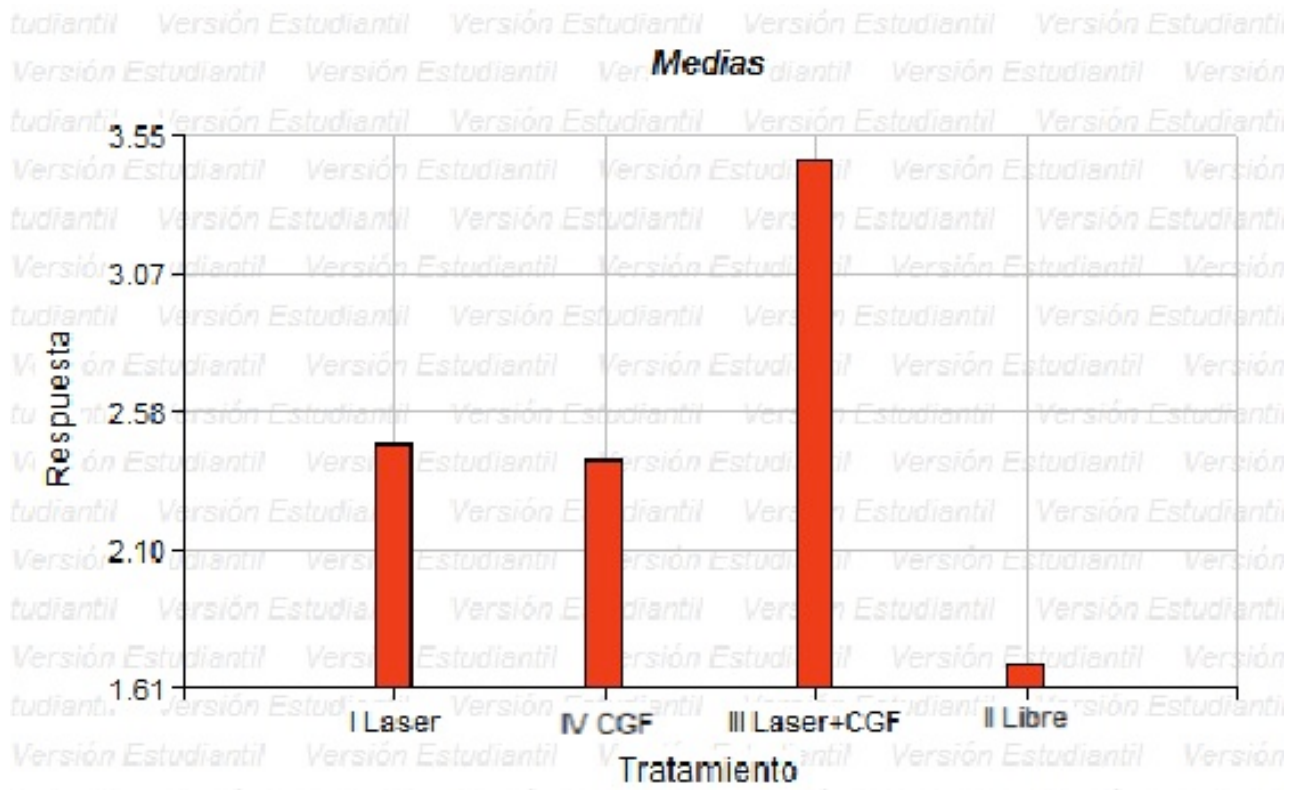
Variable	Variable	Variable	Variable	Variable	Variable	Variable	Variable
Avance	I Laser	16	2.47	0.7	2.35		
Avance	II Libre	16	2.41	0.79	2.35		
Avance	III Laser+CGF	16	3.46	0.72	3.5	27.7	<0.0001
Avance	IV CGF	16	1.7	0.6	1.65		

Arrojando los datos en el programa SPSS para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los 4 grupos en los diferentes intervalos de tiempos con un alfa de 0.05. (Tabla 21).

Tabla 21. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Trat.	Ranks			
IV CGF	16.41	A		
II Libre	30.72		B	
I Laser	32		B	
III Laser+CGF	50.88			C

Gráfica 5. Resultados del estudio con el programa SPSS.



DISCUSIÓN

De esta manera se puede observar, si se revisa la bibliografía de los últimos tiempos, la aparición de un gran número de trabajos, tanto básicos como aplicados de experimentación animal y, cuando la ética del trabajo lo permite, experimentación clínica, donde no se trata ya tanto de “reparar” en el sentido clásico del término, sino de estimular. Estimular todos aquellos procesos naturales que conducen de forma espontánea a la regeneración ósea, de forma que sea posible mediante dicho estímulo el tratamiento de defectos óseos de un tamaño superior al crítico, sin necesidad de tratamientos quirúrgicos sustitutorios.

Una técnica diferente para el "concentrado en factores de crecimiento (CGF)" ha sido descrito por Anitua.²⁹ Con el uso de estos métodos, es posible obtener diferentes preparaciones autólogas ricas en factores de crecimiento a partir de la sangre del paciente, dependiendo de la extensión de la coagulación y la activación de las muestras. Estos incluyen como el PRF compuesto de fibrilar y componentes celulares, que puede ser utilizado para inducir la regeneración ósea en alvéolos postextracción. Otro es el PRP líquido, que puede ser utilizado para humidificar y bioactivar superficies de implantes dentales para mejorar su osteointegración.

Una de las razones principales por las cuales elegimos usar el CGF en vez del PRP fue gracias a un estudio realizado por Sherwin en 2008. Que comparó la preparación PRP con un sistema de CGF. El rendimiento de plaquetas fue mayor para PRP, pero la activación de las plaquetas fueron mayores con el CGF.

En las últimas décadas se ha estado estudiando mucho lo que es el injerto óseo o reconstrucción de los maxilares a partir de la necesidad de obtener hueso para la colocación de implantes dentales, sin embargo no solamente se hace la

reconstrucción en caso de colocación de implantes, también se puede poner injerto óseo posterior a una apicectomía, curación de algún quiste o cualquier lesión patológica y como complemento a tratamientos ortodónticos y/o periodontales.

En el área de Ortodoncia, nos puede ser de gran ayuda la colocación del CGF estimulado con laser terapéutico en caso de que hubo reabsorción ósea mediana o severa para dar estabilidad a las piezas dentales.

En mayo del 2014, Kim TH, se realizó el estudio “La comparación del plasma rico en plaquetas (PRP), plasma rico en fibrin (PRF) y concentrado de factores de crecimiento (CGF) para defectos óseos en el cráneo de conejos”. El objetivo de este estudio fue la utilización de estas substancias para evaluarlas en la cicatrización ósea. Doce conejos fueron incluidos en el estudio, siendo aleatorio, ciego y prospectivo. Se realizaron tres defectos óseos en los parietales de cada conejo, colocando en cada defecto cada una de los biomateriales a comparar. Para la medición del volumen de la densidad mineral ósea fue utilizada una tomografía computarizada microscópica (micro-CT) y análisis histológico a la sexta y doceava semana.⁸² En comparación con el estudio de esta tesis, se utilizaron 16 conejos, el tiempo de la experimentación fue mas corto y solo se realizó el análisis histológico de manera cualitativa, aun así, se logra concluir en ambos estudios que la aplicación del CGF aumenta significativamente la regeneración ósea y neoformación de vasos sanguíneos posterior a una cirugía.

Un estudio hecho recientemente en Mayo de este año por Galanis, Fiska, Kapetanakis, Kazakos y Demetriou llamado “Efecto del PRP combinado con matriz ósea desmineralizada para la regeneración ósea”. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del plasma rico en plaquetas PRP en combinación con matriz ósea desmineralizada en defectos óseos realizados en la zona cubital de 36 conejos Nueva Zelanda, los cuales fueron sacrificados 12 semanas después de la operación. Para poder hacer la medición de la regeneración ósea, se evaluó radiológicamente, histológicamente y biomecánicamente, así después

lograron obtener los resultados mediante un análisis estadístico. Concluyeron que el uso del PRP solo fue eficaz en combinación con un injerto óseo a comparación de los grupos control, mostraron diferencias significativas en la neoformación y unión de hueso en los defectos.⁸³ A diferencia de nuestro estudio, solo se logró comprobar la regeneración ósea y neoformación de vasos sanguíneos mediante análisis histológico, sin la ayuda de radiografía para poder auxiliar nuestros resultados, pues nuestra área de operación fue la calota del conejo complicando la posibilidad de tomar rayos x.

En cuanto al láser terapéutico ha sido de gran evolución, desarrollo y ha causado gran impacto en el área Odontológica en los últimos años. Sin embargo, solamente en las áreas de Ortodoncia y Periodoncia, razón por la cual se decide estudiarlo en el área de Cirugía Oral. En este trabajo se pretendió hacer una actualización desde el punto de vista crítico, científico y objetivo a los avances y aplicaciones que se han publicado acerca de este método.

Todavía hoy en día no se conoce perfectamente su mecanismo de acción pero se cree que modifica el comportamiento celular sin incrementar significativamente la temperatura tisular. Así pues, su actividad sobre los tejidos no someterse a efectos térmicos, sino a la interacción de las ondas electromagnéticas de esta radiación hacia las células, estimulando las reacciones biológicas relacionadas con el proceso de reparación de las heridas.

Numeroso autores como Kreisler y cols⁸⁴ han estudiado los efectos de la irradiación con láser de baja intensidad post-extracción o tras la colocación de implantes osteointegrados, aprovechando su carácter bioestimulable, para disminuir la inflamación, controlar el dolor y favorecer la rápida cicatrización. Como en este estudio fueron utilizados conejos, nuestros únicos comprobantes de la efectividad del láser fueron las observaciones clínicas ante la cicatrización de la herida, y los resultados de los análisis histológicos.

En un estudio realizado en personas por Wigdor, menciona que este aparato es interesante por la interacción de utilizar la palabra “laser”, pues ejerce sobre la mente de los pacientes actuando como placebo por las reminiscencias que en sí conlleva y favorece el cumplimiento de las instrucciones postoperatorias.⁸⁵

Como se mencionó anteriormente, la principal indicación de estimulación de laser terapéutico en Odontología es en los campos de Periodoncia y Ortodoncia, dado que en estudios publicados anteriormente los resultados obtenidos son muy variados y quizás por este motivo los autores no se atreven a generalizar los parámetros ideales para su utilización, y a la hora de medirlos son muy subjetivos y son difíciles de cuantificar.

En el presente trabajo de investigación, encontramos que fue estadísticamente significativo el resultado obtenido utilizando la combinación del CGF con láser de baja intensidad ($P < .0001$) en contraste de los otros grupos control.

Hoy en día, la bibliografía nos ha demostrado el uso del CGF combinado con algún tipo de injerto, pero en este estudio se quiso comprobar que se puede utilizar solo el CGF y laser de baja intensidad, para hacerlo mas sencillo

CONCLUSIÓN

En el estudio presentado el grupo en donde se utilizó el CGF estimulado con láser de baja intensidad presentó mayor regeneración tisular en las cuatro fases con una diferencia significativa en relación a los grupos control, por lo que los resultados de este estudio refieren que la utilización de ambas técnicas disminuyen los tiempos de tratamiento así como morbilidad, costos e incrementan eficiencia en la reconstrucción de los tejidos, tanto blandos como duros. Se recomienda la elaboración de mas estudios científicos sobre la combinación de técnicas en regeneración tisular, probablemente con la ayuda de algún tipo de injerto óseo, incrementando el universo de trabajo y el tiempo de experimentación, para que los resultados tengan un valor de significancia mas elevada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Clark RAF. Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001;936:355-67
2. Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plastic Surgery* 2002;18:27-33
3. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma-Growth factor enhancement for bone graft. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 1998;85:638-46
4. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Sacco L, et al. Growth factors CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microscopy Research and Technique* 2011;74:772-2.
5. Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen JA, Creugers NH. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 2008;19:539-45.
6. Tae-Hoon K, Sung-Hee K, George K.S, Yong-Deok K. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Elsevier Archives of Oral Biology* 2014;59:550-558.
7. López J. *Cirugía oral*. España: Interamericana, McGraw-Hill; 1992.
8. Ricardo Felzani, *Cicatrización de los tejidos con interés en cirugía bucal: Revisión de la literatura*; 2004.
9. Peterson L. J., Hupp J., Ellis E., Tucker R. *Contemporary of oral and maxillofacial surgery*. St. Louis: Mosby; 1988.
10. Marx RE, Saunders TR: Reconstruction and rehabilitation of cancer patients. In Fonseca RJ, Davis WH, editors: *Reconstructive preprosthetic oral and maxillofacial surgery*, Philadelphia, 1986, WB Saunders.
11. Axhausen W: The osteogenetic phases of regeneration of bone: a historical and experimental study, *J Bone Joint Surg Am* 38:593, 1956.

12. Burwell RG: Studies in the transplantation of bone: the fresh composite homograft-autograft of cancellous bone, *J Bone Joint Surg Br* 46:110, 1964.
13. Elves MW: Newer knowledge of immunology of bone and cartilage, *Clin Orthop Relat Res* 120:232, 1976.
14. Gray JC, Elves M: Early osteogenesis in compact bone, *Calcif Tissue Int* 29:225, 1979.
15. Urist MR: Osteoinduction in undermineralized bone implants modified by chemicals inhibitors of endogenous matrix enzymes, *Clin Orthop Relat Res* 78:132, 1972.
16. Urist MR: The substratum for bone morphogenesis, *Dev Biol* 4(suppl):125, 1970.
17. Raspall G. Cirugía maxilofacial. España: Editorial Médica Panamericana; 1997.
18. Sailer H., Patarola G. Atlas de cirugía oral. España: III Masson; 1999.
19. Aimetti M, Pigella E, Romano F. Clinical and radiographic evaluation of the effects of guided tissue regeneration using resorbable membranes after extraction of impacted mandibular third molars. *Int J Periodontics Restorative Dent*. Feb;27(1):51-9, 2007.
20. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641-50.
21. Gitelman SE, Kobrin MS, Ye J-Q, Lopez AR, Lee A, Derynck R. Recombinant Vgr-1/BMP-6 expressing tumors induces fibrosis and endochondral bone formation in vivo. *J Cell Biol* 1994; 126: 1595-609.
22. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly L, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodon Rest Dent* 1997; 17: 11-25.
23. Marx RE, Ames JR: The use of hyperbaric oxygen therapy in bony reconstruction of the irradiated and tissue-deficient patient, *J Oral Maxillofac Surg* 40:412, 1982.

24. García Núñez Juan Antonio, Gómez Hernández María Clara: Fototerapia láser aplicada complementariamente al tratamiento periodontal no-quirúrgico en periodontitis crónica: Aspectos clínicos e inflamatorios. Calderín Pérez, Saray (2011).
25. Vázquez Landaverde, Luis Jorge, Guerrero del Ángel Fermín, Torres Benítez José Martín Salazar, Lozano Sergio, Lom Orta Alfredo, Domínguez Arellano Sergio: Uso del plasma rico en factores de crecimiento en la regeneración ósea. Oral Año 8. Num 25. Verano 2007. 396-398.
26. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. Int J Oral Maxillofac Implants. 14(4):529-35, 1999.
27. Felzani Ricardo, Cicatrización de los tejidos con interés en cirugía bucal: revisión de la literatura, vol43 no 3, 2005.
28. Anitua E. Enhancement of osseointegration by generating a dynamic implant surface. J Oral Implant 2006;32:72-76.
29. Anitua E, Orive G, Plá R, Román P, Serrano V, Andía I. The effects of PRGF on bone regeneration and on titanium osseointegration in goats: a histologic and histomorphometric study. J Biomed Mater Res A 2009; 91(1):158-65
30. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. Biomaterials. Nov;28(31):4551-60, 2007.
31. Knighton D, Silver I, Hunt TK. Regulation of wound healing angiogenesis- Effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. Surgery 1981; 90: 262-70.
32. Hollinger J O, Weng MEK. The integrated processes of hard tissue regeneration with special emphasis on fracture healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1996; 82:594.

33. Ozkaynak E, Rueger DC, Drier EA, Corbett C, Ridge RJ, Sampath TK, et al. OP-1 cDNA encodes an osteogenic protein in the TGF- β family. *EMBO J* 1990; 9:2085-93.
34. Koole R, Bosker H, van der Dussen FN. Late secondary autogenous bone fragting in cleft patients comparing mandibular (ectomesenchymal) and iliac crest (mesenchymal) grafts. *J Craniomaxillofac Surg* 1989; 17: 28-30.
35. Brugnami F, Then PR, Moroi H, Leone CW. Histologic evaluation of human extraction sockets trated with demineralized freeze-dried bone allograft (DFDBA) and cell occlusive membrane. *J Periodontol* 1996; 67:821-5.
36. Wang EA, Rosen V, Cordes P. Purification and characterization of other distincti bone-inducing factors. *Proc Natl Acad Sci.* 1988; 87: 9484-8.
37. Hollinger JO, Buck DC, Bruder SP. Biology of bone healing: its imparct on clinical therapy. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. (eds) *Tissue Engineering*. Illinois (EEUU): Quintessence Publishing Co.;1999.
38. Johnson EE, Urist MR, Scmalzried TP, Chotivichit A, Huang H, Finerman GA. Bovine bone morphogenetic protein (bBMP) augmentation grafting of segmental ulnar defects in beagle dogs. *Proc ORthop Res Soc* 1988; 12:425.
39. Celeste AJ, Iannazzi JA, Taylor RC, Hewick RM, Rosen V, Wang EA, et al. Identification of transforming growth factor β from bovine bone. *Prc Natl Acad Sci* 1990; 87: 9843-7
40. Boyne PJ. Advances in preprosthetic surgery and implantation. *Curr Opin Dent* 1991; 1:277-81.
41. Johnson MW, Sullivan SM, Rohrer M, Collier M. Regeneration of peri-implant infrabony defects using PerioGlas: a pilot study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12:835-9.
42. Li XJ, Toriumi D, Turek TJ. Healing of a canine critical-sized mandibular defect with a rhBMP-2/collagen implant involves de novo bone formation without chondrogenesis. *J Bone Miner Res* 1996; 11: S379.

43. Schwartz Z, Mellonig JT, Carnes DL Jr, De La Fontaine J, Cochran DL, Dean DD, et al. Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. *J Periodontol* 1996; 67: 918-26.
44. Marx RE, Carlson RE, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Straruss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone graft. *Oral Surg. Oral Med Oral Pathol* 1998; 85: 638-46.
45. Marx RE. Platelet-rich plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone graft. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE, editor. *Tissue engineering Quintessence books*. Illinois (EEUU): Quintessence Publishing Co. 1999.
46. Meek'ren JJV. *Observations Medico-Chirurgicae 1668* (citado en: Burgess EA y Hollinger JO. *Options for Engineering Bone* en Patrick CHW Jr., Mikos AG, McIntire LV, editor *Frontiers in Tissue Engineering*. Oxford (GB): Elsevier Science Ltd; 1998.
47. Mellonig JT, Prewett AB, Moyer MP. HIV inactivation in a bone allograft. *J Periodontal* 1992; 63:979-83.
48. Buck BE, Malinin TI, Brown MD. Bone transplantation and human immunodeficiency virus. *Clin Orthop* 1989; 240: 129-36.
49. Cook SD, Baffes GC, Wolfe MW, Sampath TK, Rueger DC. Recombinant human bone morphogenetic protein-7 induces healing in a canine long-bone segmental defect model. *Clin Orthop* 1994b; 301:302-12.
50. Garg AK. *Practical Implant Dentistry*. Dallas, Taylor Co; 1996.
51. Garg AK. Grafting materials in repair and restoration. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. (eds) *Tissue Engineering*. Illinois (USA): Quintessence Publishing Co.; 1999.
52. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 2220-4.
53. Anitua Aldecoa E. *Un Nuevo enfoque en la regeneracion osea: Plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F.)*. Vitoria (España): Puesta al día publicaciones S.L; 2000.

54. Katz RW, Reddi AH. Dissociative extraction and partial purification of osteogenin, a bone inductive protein, from rat tooth matrix by heparin affinity chromatography. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 1253-7.
55. Boyne PJ. Animal studies of the application of rhBMP-2 in maxillofacial reconstruction. *Bone* 1996; 19:S83-S92.
56. Cook SD, Baffes GC, Wolfe MW, Sampath TK, Rueger DC, Whitecloud TS. III. The effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of segmental defects in non-human primates. *J Bone Joint Surg Am* 1995; 77A: 734-50.
57. Sampath TK, Maliakal JC, Hauschka PV, Jones WK, Sazak H, Tucker RF, et al. Recombinant human osteogenic protein-1 (hOP-1) induces new bone formation in vivo with a specific activity comparable with natural bovine osteogenic protein and stimulates osteoblast proliferation and differentiation in vitro. *J Biol Chem* 1992; 267: 20352-62.
58. Sciadini MF, Dawson JM, Berman LM, Johnson KD. Dose response characteristics of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in a canine segmental defect model. *Trans Orthop Res Soc* 1995; 20: 594.
59. Misch CE, Dietsh F. Bone-graftings materials in implant dentistry. *Implant Dent* 1993; 2:158-67.
60. Bostrom MG, Lane J, Berberian WS, Missri AA, Tomin E, Weiland A, et al. Immunolocalization and expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing. *J Orthop Res* 1995; 13: 357-67
61. Spector M. Anorganic bovine bone and ceramics analogs of bone mineral as implants to facilitate bone regeneration. *Clin Plast Surg* 1994; 21: 437-44.
62. Sanz Casado JV. Regeneracion osea en cirugia oral. *Canales de la Real Academia Nacional de Medicina* 2002; CXIX (2): 237-54.
63. Zhang M, Powers RM Jr, Wolfenbarger L Jr. A quantitative assessment of osteoconductivity of human demineralized bone matrix. *J Periodontol* 1997; 64: 844-7.

64. Cook SD, Baffes GC, Wolfe MW, Sampath TK, Rueger DC, Whitecloud TS. III. The effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of large segmental bone defects. *J Bone Joint Surg Am* 1994a; 76A: 827-38.
65. Groeneveld EHJ, Burger EH. Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *Eur J Endocrinol* 2000; 142: 9-21.
66. Urist MR. Bone: Formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893-9.
67. Mosan S, Baylink DJ. Bone Growth Factors. *Clin Orthop Relat Res* 1991; 263: 30-43.
68. Zamet JS, Darbar UR, Griffiths GS, Bulman JS, Bragger U, Burgin W, et al. Particulate Bioglass as a grafting material in the treatment of periodontal intrabony defects. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 401-8.
69. Caplan AI. Bone development and repair: Bioessays 1987; 6:171-5.
70. Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54:420-32.
71. Petite H, Viateau V, Bensaid W, Meunier A, de Pollak C, Bourguignon M, et al. Tissue-engineered bone regeneration. *Nature Biotechnol* 2000; 18(9): 959-63.
72. Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, Bauduy M, Cordes P, Harada T, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 2220-4.
73. Wilson J, Nolletti D. Bonding of soft tissues to Bioglass. In Yamamuro T, Hench LL, Wilson J, editor. *Handbook of Bioactive Ceramics*, vol. 1. Boca Raton, FL: CRC Press; 1990.
74. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters Mj, Kriz RW, et al. Novel regulators of bone formation: Molecular clones and activities. *Science* 1988; 242: 1528-34.
75. Ozkaynak E, Rueger DC, Drier EA, Corbett C, Ridge RJ, Sampath TK, et al. OP-1 cDNA encodes an osteogenic protein in the TGF- β family. *EMBO J* 1990; 9:2085-93.

76. Li XJ, Toriumi D, Turek TJ. Healing of a canine critical-sized mandibular defect with a rhBMP-2/collagen implant involves de novo bone formation without chondrogenesis. *J Bone Miner Res* 1996; 11: S379.
77. Zitzmann NU, Naef R, Charer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guides bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12: 844-52.
78. Microscopia, Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Alemania, Junio 2004
79. www.medlib.med.utah.edu/WebPath/HISTHTL/HITOTCH/HITOTCH/html#11 Histotechnology. 1999.
80. Raimundo García del Moral, Manual de laboratorio de anatomía patológica, Editorial interamericana Mac Graw Hill, año 1993.
81. Atlas de Histología Vegetal y Animal. Técnicas Histológicas Protocolo. Tinción Tricrómico de Masson, año 2016
82. Kim TH, Kim SH, Sandor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol* 2014; 59:550-8.
83. Galanis V, Fiska A, Kapetanakis S, Kazakos K, Demetriou T. Effect of platelet-rich plasma combined with demineralized bone matrix on bone healing in rabbit ulnar defects. *Singapore Med J*. 2016.
84. Kreisler M, Kohen W, Marinello C y cols. Antimicrobial efficacy of semiconductor laser irradiation on implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18: 706-11.
85. Wigdor HA. Evaluation of the perception of patients of laser and how lasers can make a dental visit easier. *Laser Surg Med* 1995; 7:15.