

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial



**DISTRACCIÓN ALVEOLAR HISTOGÉNICA MEDIANTE
UN PROTOTIPO DE DISTRACTOR ALVEOLAR:
ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO EN MANDÍBULA DE
PERRO BEAGLE**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR POR**

Jorge Cano Sánchez

Bajo la dirección de los Doctores:

José María Martínez González
Manuel Donado Rodríguez

Madrid, 2003

ISBN: 84-669-2617-8



**DISTRACCIÓN ALVEOLAR HISTOGENICA
MEDIANTE UN PROTOTIPO DE DISTRACTOR
ALVEOLAR: ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO EN
MANDÍBULA DE PERRO BEAGLE.**

**Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Odontología
Departamento de Medicina y Cirugía Bucofacial**

DIRECTORES

**JOSÉ MARÍA MARTÍNEZ GONZÁLEZ
MANUEL DONADO RODRÍGUEZ**

AUTOR

JORGE CANO SÁNCHEZ

**TESIS DOCTORAL
2003**

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Manuel Donado por dirigir esta tesis y en cuyo departamento se ha podido realizar este trabajo. Su lucha y defensa por la cirugía bucal permite que los trabajos de investigadores odontólogos puedan ser apreciados.

Al coronel veterinario Alberto Rodríguez en cuyo servicio hospitalario se realizó la fase experimental de este estudio. De manera muy especial al teniente coronel veterinario Jesús Díaz-Regañón y a los sargentos Félix y Antonio que nos dieron toda su ayuda profesional y sobre todo su amistad.

Al profesor Luis Gómez-Pellico en cuyo departamento se realizó la fase de laboratorio de este estudio. A la Dra. Celia Clemente por su intervención en la valoración histológica y morfométrica de las muestras. Especialmente a Mayte por su ayuda en el procesado de las muestras.

A la casa Impladent y especialmente al Sr. Antonio López, que han posibilitado que una idea dibujada en un papel pudieran ser una realidad.

Al Centro de Procesado de Datos de la UCM y al profesor Pedro Cuesta por su ayuda y valoración del análisis estadístico de los resultados.

A cualquier profesor que me enseñó algo en mis estudios de pregrado y de postgrado, y en especial a la Dra. M^a Teresa Vázquez-Piñeiro que ha ejercido de auténtico profesor formándome en la especialidad sin esconder ningún conocimiento.

A mis amigos Juan Carlos Gonzalo y Julián Campo. Es un orgullo para mi el poder trabajar con dos de los mejores investigadores de la odontología de este país, pero ante todo es un lujo el poder compartir parte de mi vida con estas dos excepcionales personas.

A mi Betty por el apoyo, animo y cariño que me ha dado para realizar esta tesis. Hizo desaparecer los momentos de desánimo y supo soportar mis preocupaciones por la investigación.

Y por supuesto, mi mayor agradecimiento es para el profesor José María Martínez-González por concederme la oportunidad única de colaborar con él. Este trabajo me ha dado la posibilidad de aprender de él muchísimas cosas de la profesión y la no-profesión.

Para María y Angel

ÍNDICE

I- ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	1
II- HIPÓTESIS DE TRABAJO. OBJETIVOS	9
III- INTRODUCCIÓN	13
III.1. Histología y ultraestructura ósea	13
1.1. Matriz ósea.....	17
1.2. Células óseas.....	28
1.3. Técnica de histomorfometría ósea	30
III.2. Biología de la regeneración ósea	34
2.1. Fase de inflamación	37
2.2. Fase de proliferación y diferenciación celular.....	39
2.3. Fase de formación ósea	42
2.4. Fase de remodelado.....	44
III.3. Distracción alveolar histogénica	54
3.1. Concepto. Indicaciones. Ventajas y complicaciones.....	54
3.2. Biología tisular en distracción	58
3.3. Estudios con distracción alveolar.....	63
3.4. Factores condicionantes en distracción alveolar.....	78
3.4.1. Factores biológicos.....	78
3.4.2. Factores biomecánicos.....	87
III.4. Nuevas terapias en regeneración ósea	91
4.1. Terapias basadas en las células	91
4.2. Terapias basadas en la matriz	94
4.3. Terapias basadas en los factores	95
IV- MATERIALES Y METODOLOGÍA	99
V- RESULTADOS	115
VI- DISCUSIÓN	151
VII- CONCLUSIONES	165
VIII- BIBLIOGRAFÍA	167
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	
ANEXO I	
ANEXO II	

I-ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN



El avance del conocimiento científico y los requerimientos de la sociedad actual conllevan la aparición de un factor importante en el éxito de un tratamiento, “la rapidez”. Actualmente, los profesionales que utilizan las técnicas de regeneración ósea tienen bien en cuenta esta afirmación. Es decir, los pacientes de hoy en día solicitan procedimientos de regeneración tisular más predecibles y sobre todo más rápidos, para poder disfrutar lo antes posible de sus prótesis implantosoportadas o implantorretenidas.

El desarrollo de la implantología moderna, comienza con los trabajos sobre osteointegración de Branemark ⁽¹⁾ a principios de la década de los 50 con los estudios sobre la microvascularización ósea en tibias de conejo. Él mismo, llega a definirla en 1985 como “una conexión directa estructural y funcional entre el hueso vivo, ordenado, y la superficie de un implante sometido a carga funcional”.

Hay que tener en cuenta que el auge actual de la implantología se debe a varios factores: por un lado la demanda social de unos pacientes que exigen prótesis capaces de rehabilitar su edentulismo con la mejor funcionalidad y estética, y por otro lado debido a la presión comercial constante con la aparición de nuevos productos e innovaciones. A esto, se une el mayor conocimiento de los aspectos de osteointegración y biocompatibilidad, diseño de los materiales y nuevas técnicas quirúrgicas, que han creado un aumento de las indicaciones en implantología oral y maxilofacial. Por otro lado hay que valorar el incremento en el número de población mayor de 65 años, subsidiarios en gran número de tratamiento implantológico. Según cálculos de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁽²⁾ en 1950 existían en el mundo 200 millones de personas mayores de 60 años, en 1975 la cifra era de 350 millones, y se predecía que en el 2000 esa cifra aumentara a 600 millones. En España en las últimas décadas la población ha sufrido un rápido proceso de envejecimiento, según datos del Instituto Nacional de Estadística⁽³⁾ de 1991 los mayores de 65 años en nuestro país superaban los 5 millones, y la esperanza de vida aumentaba de 69,9 años en 1960 a 76,5 años en 1985.

Con relación al soporte óseo, importante en implantología, hay que tener en cuenta que la cortical ósea adelgaza e incrementa su porosidad del 4 al 10% entre los 40 y 80 años de edad, siendo la pérdida ósea por década de un 3% y de un 9% en mujeres postmenopáusicas. Por otro lado, con la edad se produce una esclerosis ósea, debido a una mayor mineralización de la estructura ósea, que aumenta la dureza y disminuye la elasticidad⁽⁴⁾. Sin embargo, valorando únicamente la edad como factor influyente en el tratamiento implantológico, se ha demostrado

que se obtienen resultados similares en los diferentes rangos de edad en cuanto al número de implantes perdidos y en la evolución a largo plazo⁽⁵⁾.

La pérdida ósea consecutiva al edentulismo va a condicionar una dificultad o una imposibilidad a la retención y el soporte de las prótesis bucales. La pérdida dentaria va a conllevar una pérdida ósea a nivel de la cresta alveolar que a la vez depende de la interacción de varios factores (anatómicos, sexuales, biológicos y mecánicos). Se ha observado que en los 5 años siguientes a las exodoncias el proceso maxilar ha perdido un tercio de su área original, y el mandibular algo más de su cuarta parte, siendo la tasa media de reabsorción en la mandíbula de 3 a 4 veces mayor que en el maxilar⁽⁵⁾.

En la mandíbula, la cortical vestibular es más fina que la lingual excepto en la zona de los molares lo que condiciona una reabsorción centrífuga, en el maxilar la reabsorción es centrípeta porque la cortical vestibular es más fina. En el sector anterior de la mandíbula permanece la cortical lingual, mientras que en la zona posterior primero se aplanan y luego se excavan entre la cresta alveolar y la cresta oblicua externa. En el maxilar, el paladar proporciona una zona de reparto de fuerzas por encima del cual se frena el proceso reabsortivo del proceso alveolar. A medida que aumenta la reabsorción, la mandíbula parece ensancharse mientras que el maxilar se estrecha, lo cual modifica las relaciones intermaxilares. Según el grado de extensión de la atrofia los defectos óseos pueden ser: generalizados, si afectan a la totalidad de la arcada; y/o segmentarios o localizados cuando afectan a una hemiarcada o al espacio comprendido entre uno o varios dientes. Además, la atrofia ósea puede ser valorada en sentido vertical (altura ósea) u horizontal (anchura o grosor óseo)⁽⁵⁾.

Como consecuencia de la reabsorción severa de los maxilares se producen problemas para la rehabilitación protodéncica posterior, objetivo final del tratamiento implantológico, como son: déficit de volumen óseo para colocar implantes de longitud adecuada a las fuerzas masticatorias, dirección inadecuada de las fijaciones que ocasionan relaciones oclusales desfavorables con las prótesis antagonistas, posibilidad de dañar o sobrepasar estructuras anatómicas intraóseas (conducto dentario inferior, seno maxilar o fosas nasales)⁽⁶⁾.

Una solución a la pérdida ósea es la utilización de injertos sustitutos óseos, entre los cuales y dependiendo de su procedencia diferenciamos⁽⁷⁾:

⇒ Autoinjerto: procedentes del propio individuo, con propiedades osteogénicas, osteoinductivas y osteoconductoras.

⇒Alloinjertos: procedentes de individuos de la misma especie, con capacidad osteoconductiva.

⇒Xenoinjertos: procedente de otras especies, con capacidad osteoconductiva.

⇒Sustitutos no óseos(materiales aloplásticos): con propiedad osteoconductiva.

El éxito obtenido con los tratamientos implantológicos en situaciones habituales, ha llevado a la realización de técnicas avanzadas, para tratar de solucionar situaciones límite debido a reabsorciones severas de los maxilares. Para ello se han desarrollado las siguientes opciones terapéuticas:

-Colocación de implantes en zonas no habituales (implantes en región pterigoidea, en cigoma, trasposición de nervio dentario, implantes transmandibulares...).

-Incorporación de técnicas de aumento óseo en las crestas alveolares edéntulas (regeneración ósea guiada, injertos tipo onlay e inlay, técnicas de expansión ósea, elevación de suelo sinusal...).

-Desplazamientos de estructuras anatómicas (injertos con osteotomía tipo Lefort I, distracción ósea...).

En este sentido hay que destacar que la proporción de demanda en la población de estas técnicas avanzadas es importante. Martínez-González y cols⁽⁸⁾ estudiaron 194 radiografías panorámicas en las cuales determinaron que entre un 10,52% y un 43,07% de los pacientes requerirían para ser tratados con implantes en el maxilar la realización de técnicas de elevación de suelo sinusal junto con injertos de tipo onlay o inlay. Entre un 10,34% y un 28% necesitarían para realizarse tratamiento con implantes en la mandíbula la utilización de técnicas como trasposición de nervio dentario, injertos tipo onlay, regeneración ósea guiada, etc...

La realización de esta llamada implantología avanzada ha aportado una serie de resultados clínicos muy esperanzadores, pero sin embargo no ha demostrado los porcentajes de éxito que podría avalar la implantología básica o convencional. El aumento vertical de la disponibilidad ósea implantológica en la cresta alveolar mandibular y maxilar ha tenido unos resultados variables y controvertidos en comparación a las técnicas de aumento horizontal. Para este aumento vertical mandibular y maxilar se han utilizado diferentes técnicas: injertos en onlay, injertos en inlay regeneración tisular guiada (GTR, por Guided Tisular Regeneration), elevación del suelo sinusal y trasposición o lateralización del nervio dentario inferior (TIAN o LIAN, por Transposition or Lateralization of Inferior Alveolar Nerve). En vista de los resultados iniciales

obtenidos con las técnicas de distracción alveolar, se sugiere que se trata de una técnica con resultados más rápidos, predecibles y permanentes que las otras técnicas de regeneración (**Tabla 1**)^(9, 10).

En la realización de técnicas con **injertos en Onlay** es preferible la utilización de injertos en bloque corticoesponjosos que los injertos en partículas, necesitándose periodos de consolidación entre 6 y 12 meses⁽¹¹⁾. Estos injertos se pueden obtener en distintos puntos de la economía ósea del paciente: tibia, costilla, cresta ilíaca, calota craneal, mentón...

Estos procedimientos se han realizado en pacientes que han sido sometidos a resecciones quirúrgicas por procesos neoplásicos, en casos en los que debido a traumatismos severos hay una pérdida compleja de parte de los maxilares, o situaciones de severa reabsorción alveolar. En los injertos tipo onlay los resultados que se observan en la literatura es de importantes grados de reabsorción, de modo que excepto la zona adyacente a los implantes el resto desaparece en un plazo de 5 años⁽¹²⁾. Sin embargo se ha observado que la reabsorción de los injertos onlay combinados con implantes es considerablemente menor que los injertos solos, y en caso de demorar la colocación de implantes no debe sobrepasar los 4 meses⁽¹³⁾.

Bosker y Dijk⁽¹⁴⁾ indicaron que la reabsorción en reconstrucciones mandibulares con autoinjertos asociada a implantes transmandibulares puede llegar a ser del 34 al 65% en un periodo de 18 meses. Adell y cols⁽¹⁵⁾ encuentran que solo el 74% de los implantes continuaban estables tras colocar injertos onlays con implantes inmediatos sobre maxilares severamente reabsorbidos con un seguimiento de 5 años y tras un periodo de curación precarga de 9 meses. Nyström y cols⁽¹⁶⁾ realizan un estudio similar con un seguimiento de 3 años observando una tasa de éxito del 76%. Widmark y cols obtienen con la técnica de implantes diferidos con injertos en onlay maxilar(4 meses de consolidación + 8 meses curación perimplantaria) una tasa de éxito del 73% tras un año, y con la técnica de implantes inmediatos (8 meses curación perimplantaria) del 75% tras seguimiento postcarga de 3-5 años⁽¹⁷⁾.

Jensen y Pedersen⁽¹²⁾ en un estudio realizado en 26 pacientes propusieron la utilización de injerto onlay de mentón mandibular e implantes inmediatos, indicando que la reabsorción del injerto era del 15% en un periodo de seguimiento medio de 16 meses, siendo esta reabsorción menor que la de injerto de cresta ilíaca. Se ha considerado que cuando se transplanta hueso endocondral autógeno (costilla, tibia, cresta iliaca) la mayor parte se reabsorbe, siendo reemplazado por tejido fibroso, mientras que cuando se utiliza hueso de origen membranoso (tuberosidad, mentón, rama mandibular) se mantiene su volumen. Ello es atribuible a una más rápida vascularización del hueso intramembranoso injertado, que en los procedimientos de

colocación de implantes diferida necesitaría unos 4 meses de consolidación frente a los 6-9 meses que se requieren en los injertos de hueso endocondral⁽¹³⁾.

Parece que los injertos en onlay de aumento horizontal-vertical “en J” de origen mandibular colocados en defectos maxilares localizados, tienen un mejor pronóstico. Se ha observado que con esta técnica, esperando un periodo de consolidación de los injertos de 3 meses antes de colocar los implante presentaban una reabsorción de solo el 5%. Después de 6 meses de cicatrización perimplantaria, con un seguimiento de 37 meses no se observó ninguna pérdida de implantes y una pérdida de cresta limitada⁽¹⁸⁾.

Los injertos en onlay de aumento horizontal tanto en maxilar como mandibular parece que son más predecibles. Bernhart y cols⁽¹⁹⁾ realizan con 3 pacientes una técnica de aumento horizontal con injerto mandibular, utilizando el mismo reborde alveolar mandibular en filo de cuchillo como zona donante del injerto. Observaron que después de 3 meses de consolidación del injerto la pérdida ósea horizontal se encontraba entre 0,5 y 1mm.

Los **injertos en inlay** mediante la técnica de Lefort I han demostrado también similar tasa de éxito que los injertos onlay. Keller y cols⁽²⁰⁾ realizan esta técnica en 10 pacientes con colocación diferida de los implantes observando una tasa de éxito del 83 % con un seguimiento de 76 meses.

Las técnicas de **GTR** se han utilizado también en casos donde los implantes no se han introducido en toda su longitud en el hueso alveolar, y se espera la regeneración ósea en la zona implantaria sobresaliente mediante la aplicación de materiales de injertos y membranas de barrera. Parma-Benefati y cols⁽²¹⁾ utilizan esta técnica en 6 pacientes, aplicando un periodo de cicatrización de 12 meses. En las zonas expuestas encontraron un porcentaje de contacto hueso-implante(BIC, Bone Implant Contact) del 22%, mientras que en las zonas no expuestas del 44%. Los autores se cuestionan si este hueso regenerado sería capaz de soportar las cargas prostodónticas.

Utilizando la técnica de **elevación del suelo sinusal** (“Sinus Lift”) mediante ventana vestibular, Wannfors y cols⁽²²⁾ realizan un seguimiento de 1 año observando una tasa de éxito del 79% con colocación inmediata de implantes(6 meses de curación perimplantaria) y del 89% con colocación diferida de implantes (6 meses consolidación + 6 meses curación perimplantaria). Una técnica más predecible para la elevación del suelo sinusal es la utilización de osteotomos sin necesidad de realizar ventana vestibular. Rosen y cols⁽²³⁾ presentan una serie de 101 pacientes tratados con esta técnica, observando una tasa de éxito del 95,4% en un seguimiento de 20 meses

tras 7 meses de curación perimplantaria. Obtuvieron incrementos en altura de 4 mm y observaron que cuando la altura de hueso remanente era menor de 4 mm, la tasa de éxito disminuía al 85,7 %.

Con la técnica de **TIAN**, Kan y cols⁽²⁴⁾ realizan un seguimiento de 41 meses obteniendo una tasa de éxito del 94%, pero con alteraciones neurológicas del 52%. Hirsch y cols⁽²⁵⁾ hacen un seguimiento clínico de procedimientos de TIAN y LIAN durante 3 meses, donde se necesitaron 6 meses de curación perimplantaria, y se observó una tasa de supervivencia del 92% y en el 16% de los pacientes hipoestesis persistentes.

Hay que tener en cuenta que tanto en la técnica de elevación del suelo sinusal como en la de TIAN estamos regenerando la zona a una situación no fisiológica, es decir vamos a obtener unas proporciones corona-implante desfavorables, con las posibles complicaciones postcarga.

La distracción histogénica se define como la capacidad para desarrollar hueso neoformado y tejidos blandos adyacentes, entre 2 fragmentos óseos que previamente han sido separados por osteotomía y se les va distanciando gradualmente sin interrumpir el aporte sanguíneo^(26, 27). La aplicación de esta técnica tiene abierta la posible aplicación en el ámbito craneofacial. Desde hace mucho tiempo los ortodoncistas han aplicado fuerzas mecánicas en el complejo dentoalveolar que ha inducido la formación de nuevo hueso, por otro lado se han ayudado también de esas fuerzas para provocar expansión de la sutura palatina, con formación de nuevo hueso. La técnica ha tenido un tremendo impacto en el tratamiento de pacientes con alteraciones del crecimiento maxilocraneofacial o defectos tras resección quirúrgica, ya que las anteriores opciones terapéuticas que tenían era la realización de osteotomías maxilares y mandibulares con interposición de injertos costocondrales y dérmicos, con frecuentes resultados impredecibles y que requerían de múltiples operaciones. La distracción es una opción de tratamiento en los casos de mandíbulas hipoplásicas por prematura anquilosis de articulación temporomandibular o artritis reumatoide, ausencia de hueso por causas patológicas, micrognatia (síndrome de Treacher-Collins y de Nager) o expansión craneal en craneosinostosis⁽²⁸⁾. Los iniciales estudios experimentales de distracción craneomaxilar se centraron fundamentalmente en la elongación mandibular⁽²⁹⁾, pero posteriormente se ampliaron en investigaciones de aumento de la anchura mandibular para aplicación en casos severos de discrepancia óseo dentaria en los que los tratamientos ortodóncicos convencionales no tienen éxito⁽³⁰⁾. También se ha aplicado experimentalmente para estudiar el avance del maxilar en casos de deformidad esquelética⁽³¹⁾ o incompetencia velofaríngea⁽³²⁾ y seguidamente se han descrito también una serie de estudios

experimentales de distracción histogénica aplicada al aumento de crestas alveolares atróficas^(33, 34, 35).

Los actuales estudios de distracción ósea tanto en la terapéutica de malformaciones congénitas como del desarrollo, así como en el aumento en altura y anchura previo al tratamiento implantológico, han mostrado un panorama más que alentador dentro del ámbito de la regeneración ósea. No cabe duda que el establecimiento racionalizado a través de técnicas cada vez más estandarizadas, así como de diseño de distractores más adecuados abre un camino revolucionario para el tratamiento de pacientes con reabsorciones severas tanto en casos de maxilares totalmente edéntulos como en situaciones de pérdida ósea alveolar localizada. En muchas ocasiones el único tratamiento que han recibido estos pacientes ha sido la no intervención, con los problemas importantes tanto funcionales como estéticos, o bien se han adentrado en la realización de tratamientos avanzados que, o bien tienen unas tasas de éxito un tanto desconcertantes, o no están libres de una importante serie de complicaciones o incomodidades para los pacientes.

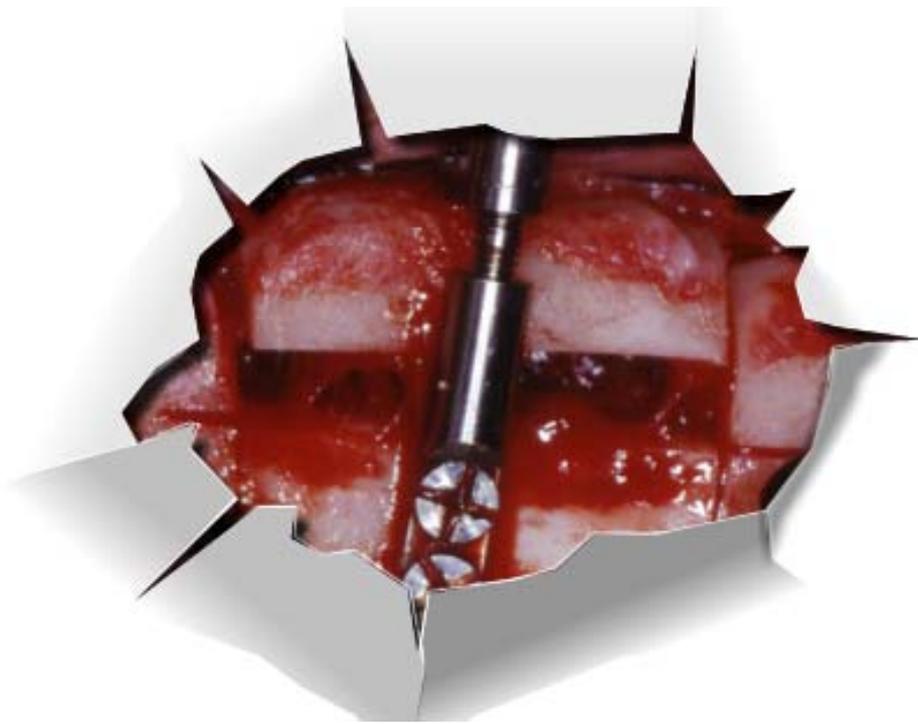
Al cierre de esta tesis, existen escasos estudios en relación al tratamiento de los defectos óseos alveolar por medio de distracción ósea, siendo en su mayoría estudios experimentales en animales o estudios clínicos con muestras muy pequeñas y seguimientos cortos, sin resultados a largo plazo. Son además muy escasos los estudios histomorfométricos experimentales en distracción alveolar que comparen distintos tiempos de consolidación ósea. Por ello, cabe justificar nuevas investigaciones en este campo que nos ayuden a determinar si la técnica de distracción ósea puede ser una solución adecuada en los tratamientos implantológicos de pacientes con defectos óseos importantes. Consideramos necesario también la investigación con nuevos diseños de distractores que sean más versátiles en las diferentes situaciones clínicas.

La utilización de un modelo animal para valorar el hueso óseo neoformado se hace indispensable para estudiar un prototipo de distractor todavía no comercializado ni aprobado por las autoridades sanitarias y por otro lado por la aplicación de tiempos de consolidación experimentales para valorar las muestras histológicas del hueso neoformado. La elección inicial del modelo perro beagle está justificada porque proporciona un volumen óseo adecuado para realizar una distracción alveolar similar al del humano lo cual sería inviable en especies pequeñas (rata o conejo), además de por su fácil manejo en las fases experimentales.

Tabla 1. Estudios clínicos en técnicas de aumento óseo vertical

TÉCNICA Y AUTOR	LOCALIZACIÓN Y SEGUIMIENTO	ÍNDICE DE SUPERVIVENCIA	T.CONOLIDACIÓN ZONA A REGENERAR	T.CURACIÓN PERIMPLANTARIA	T.TOTAL PRECARGA
DISTRACCIÓN (Raghobear y cols, 2000)(36)	Maxilar Mandíbula 6 meses	100%	2 meses	3 meses	5 meses
INJERTO ONLAY “EN J” + IMPLANTES DIFERIDOS (Raghobear y cols, 1996)(18)	Maxilar 37 meses	100%	3 meses	6 meses	9 meses
INJERTO ONLAY + IMPLANTES INMEDIATOS (Adell y cols, 1990)(15)	Maxilar 5 años	74%	9 meses		9 meses
INJERTO ONLAY + IMPLANTES DIFERIDOS (Widmark y cols, 2001)(17)	Maxilar 3-5 años	73%	4 meses	8 meses	12 meses
INJERTOS INLAY+ IMPLANTES DIFERIDOS (Keller y cols, 1999)(20)	Maxilar 76 meses	83%	6 meses	6 meses	12 meses
“SINUS LIFT” + IMPLANTES DIFERIDOS (Wannfors y cols,2000)(22)	Maxilar 1 año	89%	6 meses	6 meses	12 meses
“SINUS LIFT” + IMPLANTES INMEDIATOS (Wannfors y cols,2000)(22)	Maxilar 1 año	79%	6 meses		6 meses
“SINUS LIFT” INDIRECTA(osteotomos) + IMPLANTES INMEDIATOS (Rosen y cols, 1999)(23)	Maxilar 20 meses	95%	7 meses		7 meses
GTR (Parma-Benafati y cols,1999)(21)	Mandíbula Sin determinar	100%	12 meses		12 meses
TIAN y LIAN (Hirsch y cols, 1995)(25)	Mandíbula 3 años	92% 16% Hipoestesia	6 meses		6 meses

II-HIPÓTESIS DE TRABAJO. OBJETIVOS



Desde que Ilizarov^(26, 27) reintrodujera el fenómeno de la distracción en la terapéutica ortopédica mediante un método científico contrastado, han aparecido nuevas aplicaciones en el resto de la economía ósea del organismo. Una de las localizaciones anatómicas donde se ha introducido y se está investigando esta técnica es la regeneración de la cresta alveolar, tanto en la mandíbula como en el maxilar. El procedimiento se ha aplicado desde su primera aplicación clínica realizada por Chin y cols en 1996⁽³⁷⁾ tanto en estudios experimentales^(38, 39, 35, 40) como en estudios clínicos^(41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 10, 48, 49, 9, 50, 51, 52, 36, 53).

Ilizarov tras sus estudios en distracción de extremidades, definió los llamados *efectos Ilizarov*: 1/ la tracción gradual de los tejidos crea estrés que activa el crecimiento y la regeneración tisular (ley de tensión-estrés) y 2/ la forma y la masa ósea va estar influenciada por la carga mecánica y el aporte sanguíneo^(26, 27). Además, estableció las distintas fases del tratamiento con distracción, así como sus tiempos más adecuados: la fase de latencia (7 días), la fase de distracción (índice de 1mm/día) y fase de consolidación (2 días por cada mm conseguido). De esta manera, aunque siguen bien vigentes los 2 efectos Ilizarov, se están modificando los valores recomendados por Ilizarov para la aplicación en otras localizaciones anatómicas, por ejemplo la cresta alveolar.

Según los estudios de Ilizarov en extremidades^(26, 27) y otros estudios posteriores realizados en el territorio maxilofacial⁽⁵⁴⁾ los mejores resultados clínicos e histológicos se obtienen mediante un índice de distracción continuo. Se han conseguido desarrollar experimentalmente distractores de aplicación continua para elongación mandibular⁽⁵⁴⁾. Sin embargo, no se ha conseguido desarrollar en los distractores alveolares debido al menor tamaño de éstos. Actualmente, se pueden clasificar los **distractores** alveolares según su colocación en el hueso alveolar como intraóseos y extraóseos, y según su función, como distractor, distractor-implante y pilar-distractor. Todos los diseños actuales presentan diferentes ventajas e inconvenientes, sin que todavía se haya establecido claramente las indicaciones de cada diseño, así como las posibles ventajas o inconvenientes en cada situación clínica⁽⁵⁵⁾.

Los estudios clínicos con muestras más amplias se han realizado con 3 diseños de distractor alveolar: el distractor extraóseo TRACK (Tissue Regeneration Alveolar Callus distraction Köln, Martin, Tuttlingen, Alemania)^(48, 10), el distractor intraóseo LEAD (Leibinger Endosseous Alveolar Distractor, Stryker-Leibinger, Freiburg, Alemania)⁽⁴³⁾ y el distractor-implante DISSIS (Distraction Implant System, SIS, Klagenfurt, Austria)⁽⁹⁾. Sin embargo solo se han descrito estudios experimentales con el distractor -implante (DISSIS)⁽⁴⁰⁾ mientras que otros prototipos que han sido estudiados inicialmente de manera experimental no han sido usados de

manera clínica posteriormente^(38, 39, 35) , y otros tantos diseños han sido utilizados directamente en clínica sin presentar resultados experimentales^(42, 44, 51, 52, 36, 53).

Es evidente que, ya sea por el afán investigador de los autores que estudian la distracción alveolar, o bien por la indudable influencia de las casas comerciales, se están utilizando clínicamente una gran cantidad de diseños que no han pasado el imprescindible tamiz de la investigación experimental.

El diseño de distractor extraóseo TRACK es uno de los que ha presentado mejores resultados a medio plazo teniendo en cuenta que los seguimientos postcarga prostodóncica de implantes colocados en zona distraída son de 14 meses en los estudios más prolongados⁽¹⁰⁾ . Este diseño parece presentar una serie de ventajas en comparación a los diseños intraóseos^(45, 46, 47, 55) :

- Permite movilizar fragmentos relativamente grandes con un único distractor.
- Buena estabilidad del distractor y del fragmento óseo a distraer.
- Fácil retirada del distractor, sin posible alteración del tejido óseo neoformado.
- La altura del fragmento a distraer la condicionan las estructuras anatómicas y no el diseño del distractor.

Sin embargo el diseño actual del TRACK presenta algunos inconvenientes potenciales⁽⁵⁵⁾:

- Las superficies anatómicas pueden condicionar excesivamente el vector de distracción más adecuado.
- Dificultad de colocación en pequeños defectos óseos interdentarios con riesgo de dañar las raíces adyacentes (menor en TRACK 1.0).

Considerando al distractor TRACK como distractor de referencia, sería apropiado la realización del diseño e investigación de un distractor que solventara los inconvenientes del distractor TRACK. De esta manera, se requeriría la modificación de las aletas de anclaje del distractor de tal manera que se evite la extensión lateral y permita un mejor control del vector de distracción.

La **fase de consolidación** se define como el tiempo que transcurre inmediatamente después de finalizar la fase de distracción hasta que se retira el distractor. Va a permitir que el hueso inmaduro formado en la cámara de distracción se convierta en un hueso maduro que permita desarrollar una función adecuada. En el caso de la cresta alveolar la función a conseguir, sería la de presentar unas condiciones biomecánicas adecuadas para colocar implantes dentales y evitar que se colapse la zona regenerada. La fase de consolidación ha sido estudiada mediante diferentes procedimientos (densitometría, radiología convencional o computerizada, histomorfometría e inmunohistoquímica) en elongación de extremidades^(56, 57, 58) , elongación

mandibular^(59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66) , elongación maxilar^(67, 31, 68) o aumento de la cresta alveolar^(40, 38, 39, 35).

El establecimiento del adecuado tiempo de consolidación no ha sido establecido claramente y existe variabilidad tanto del periodo desde que termina la distracción hasta que se retira el distractor, como desde que se retira el distractor hasta que se colocan los implantes, o como del momento en que se pueden empezar a cargar los implantes prostodóncicamente. El establecimiento de dicho periodo de consolidación se está basando en criterios muy variables como pueden ser radiológicos, histológicos o simplemente empíricos o por similitud con resultados experimentales. Tampoco se han establecido criterios claros y diferenciadores del tiempo de consolidación con relación a factores con gran influencia en la biología ósea como pueden ser, el sexo, la edad, la localización anatómica, la densidad ósea, el modelo oclusal o el estado general del paciente.

De esta manera, existen estudios clínicos con distracción alveolar que han establecido como periodo de consolidación 4 semanas^(41, 43, 52, 44), otros 8 semanas^(45, 36, 10, 53, 49), y otros 10-12 semanas^(46, 48, 47, 69). Hay estudios que han establecido un periodo desde la retirada del distractor hasta que se colocan los implantes de manera inmediata^(45, 52, 36, 10, 53, 49, 48, 47, 69) , o bien a las 4 semanas^(41, 43, 44). En relación con el momento de la carga prostodóncica, es decir el tiempo que pasa desde que se colocan los implantes hasta que se empiezan a cargar, se ha descrito en muy pocos estudios. Se han aplicado 12 semanas⁽³⁶⁾, 16 semanas^(10, 50), 24 semanas⁽⁴⁴⁾, o entre 16-24 semanas en el caso del distractor-implante DISSIS⁽⁹⁾.

La valoración histológica es el método más objetivo para poder determinar el momento adecuado para poder retirar el distractor y poder colocar los implantes, sin embargo las evidencias histológicas no han sido habituales en los estudios. De esta manera hay estudios clínicos con distracción alveolar que encuentra hueso inmaduro a las 8 semanas después de terminar la distracción^(41, 53), otros hueso laminar a las 8 semanas⁽³⁶⁾, otros hueso laminar a las 10 semanas ⁽⁴⁷⁾ y otros hueso laminar a las 20 semanas⁽⁴⁵⁾. Experimentalmente, en mandíbula de perro se ha encontrado hueso laminar a las 12 semanas⁽³⁵⁾ y en mandíbula de ovejas hueso laminar a las 12 semanas⁽⁴⁰⁾.

Debido a la variabilidad de resultados es difícil establecer cual sería el periodo de consolidación más corto y con suficientes garantías de mantener el hueso regenerado sin que se produzca un colapso o fractura de la zona. En su mayoría, los estudios clínicos publicados demuestran que los implantes se colocan de 8 a 10 semanas después del final de la distracción^(41, 43, 45, 36, 10, 47, 51, 46, 53). Consolo⁽⁴⁵⁾ describió que a los 40 días después del fin de la distracción aparecía un callo blando, rico en fibras colágenas, fibroblastos y nuevos vasos, mientras que la

aparición de hueso inmaduro entrelazado solo era presente a los 60 días, sin embargo no se realizó estudio histomorfométrico con lo cual no se pudieron comparar el nivel de mineralización en ambos estadios. Resultados similares fueron encontrados por Urbani y cols⁽⁵³⁾. Por otro lado, Raghobear y cols⁽³⁶⁾ encontraron hueso laminar a las 8 semanas pero no refieren resultados histológicos en periodos anteriores, y por lo tanto no establecieron el momento en que existía una proporción importante de hueso inmaduro.

Parece que se ha establecido empíricamente un periodo de consolidación de 8-10 semanas en distracción alveolar. Sin embargo, diferentes autores han establecido que la aparición de una proporción importante de hueso inmaduro, sin necesidad de conseguir hueso laminar, crearía unas condiciones biomecánicas suficientes en la cámara de distracción para evitar que se colapse el fragmento distraído, y para poder colocar los implantes con garantías de una estabilidad primaria adecuada. Esto se ha establecido en estudios clínicos de distracción alveolar^(45, 41), en estudios experimentales de distracción alveolar⁽³⁹⁾, y en estudios experimentales de distracción de elongación mandibular^(65, 62, 61). La incógnita se encuentra en saber cuál es el momento de consolidación adecuado para conseguir esa proporción de hueso inmaduro, o tipo II, tanto en los diferentes animales experimentales como en el hueso humano.

Pretendemos con este estudio establecer experimentalmente la viabilidad del tratamiento con distracción ósea de los defectos verticales de la cresta alveolar utilizando un nuevo prototipo de distractor alveolar extraóseo. Por otro lado, comparar los resultados histológicos e histomorfométricos en cuanto a dos diferentes tiempos de consolidación del área distraída.

Teniendo presente el desarrollo de los estudios revisados y los conceptos descritos podemos establecer las siguientes **HIPÓTESIS DE TRABAJO:**

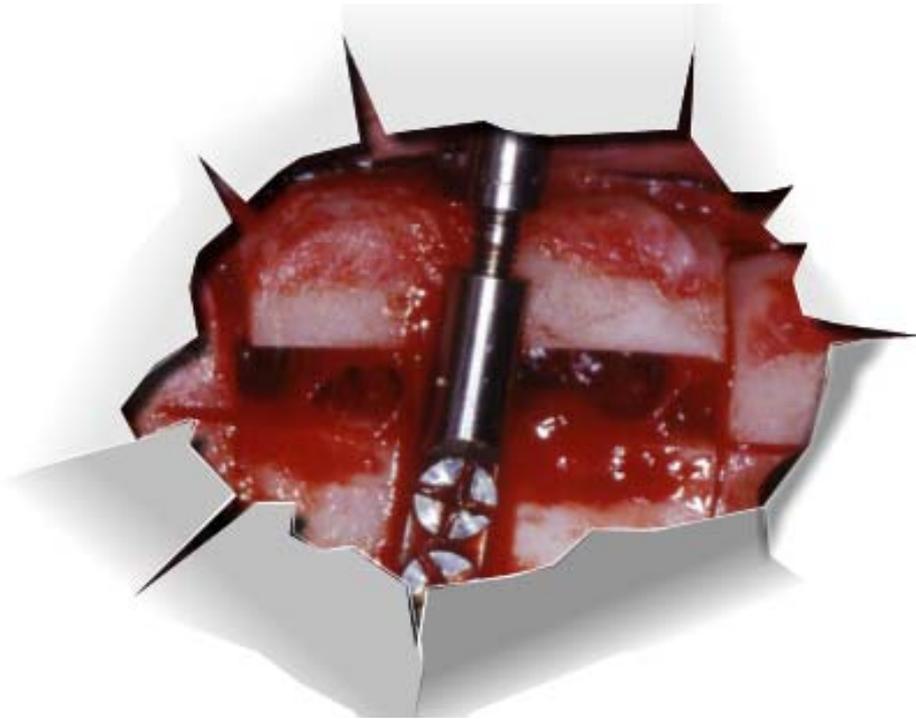
-Que el desplazamiento controlado en altura de los fragmentos óseos, mediante la utilización del nuevo prototipo va a conllevar a la formación de un hueso neoformado entre los fragmentos, que origina y mantiene un aumento de tejidos blandos y duros en la cresta alveolar.

-Que el hueso obtenido tras 4 semanas de consolidación no presenta resultados histológicos e histomorfométricos muy diferentes a los del hueso regenerado tras 8 semanas de consolidación.

Para realizar este estudio nos hemos propuesto conseguir los siguientes **OBJETIVOS:**

- 1- Evaluar la viabilidad clínica de un nuevo prototipo de distractor alveolar.
- 2- Valorar las características clínicas e histológicas del hueso neoformado en el espacio creado por la distracción ósea, y compararlas entre los grupos de estudio.
- 3- Cuantificar parámetros histomorfométricos estáticos tanto en las zonas de hueso neoformado como en el hueso basal y el hueso transportado, en los diferentes grupos de estudio.

III-INTRODUCCIÓN



III.1 - HISTOLOGÍA Y ULTRAESTRUCTURA ÓSEA

El hueso posee una resistencia a la tensión similar a la del hierro pero es tres veces más ligero y diez veces más flexible. Es el principal componente del esqueleto adulto por lo que posibilita la acción mecánica de la musculatura, protege órganos vitales y alberga la médula ósea hematopoyética. El hueso sirve además de reservorio de calcio, fósforo y otros iones. No es totalmente sólido sino que tiene pequeños espacios entre sus componentes, formando pequeños canales por donde circulan los vasos sanguíneos encargados del intercambio de nutrientes⁽⁷⁰⁾.

Desde un punto de vista macroscópico existen 2 tipos de huesos:

Hueso compacto o cortical: Es el 80% del total de los huesos y ocupa el $3,5 \times 10^6$ mm² de la superficie total del esqueleto. Constituye la mayor parte de la diáfisis de los huesos largos así como de la parte externa de todos los huesos del cuerpo. El hueso compacto constituye una protección y un soporte. Tiene una estructura de láminas o anillos concéntricos alrededor de canales centrales llamados canales de Havers que se extienden longitudinalmente. Los canales de Havers están conectados con otros canales llamados canales de Volkmann que perforan el periostio. Ambos canales son utilizados por los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios para extenderse por el hueso. Entre las láminas concéntricas de matriz mineralizada hay pequeños orificios o lagunas de forma elíptica donde se encuentran los osteocitos. Para que estas células puedan intercambiar nutrientes con el líquido intersticial, cada laguna dispone de una serie de canalículos por donde se extienden prolongaciones de los osteocitos. Los canalículos están conectados entre sí, y eventualmente a los canales de Havers.

Cuando la estructura microscópica de estas láminas es madura, el conjunto de un canal central, las láminas concéntricas que lo rodean y las lagunas, canalículos y osteocitos en ellas incluidos recibe el nombre de osteona secundaria o sistema de Havers, que tiene un diámetro medio de 200-300µm. Las restantes láminas entre osteonas se llaman láminas intersticiales, y las que están en contacto con periostio y endostio, láminas circunferenciales^(71, 72). La resistencia a la compresión de este hueso es de 10 veces mayor a un mismo volumen de hueso trabecular⁽⁷³⁾.

Hueso esponjoso, canceloso o trabecular: Es el 20% del total de los huesos y ocupa el 7×10^6 mm² de la superficie total del esqueleto. A diferencia del hueso compacto, el hueso esponjoso no contiene osteonas, sino que las láminas intersticiales están dispuestas de forma superpuesta, no

concéntrica, formando unos tabiques o placas llamadas trabéculas. Estos tabiques forman una estructura esponjosa dejando huecos que están llenos de la médula ósea roja. Dentro de las trabéculas están los osteocitos que yacen en sus lagunas con canalículos que irradian desde las mismas. En este caso, los vasos sanguíneos penetran directamente en el hueso esponjoso y permiten el intercambio de nutrientes con los osteocitos. El hueso esponjoso es el principal constituyente de las epífisis de los huesos largos y del interior de la mayor parte de los huesos cortos y planos^(74, 72).

Los huesos maxilofaciales siguen la distribución macroscópica de los huesos planos de la bóveda craneal, es decir existe una cortical interna, una externa y en el interior una zona de hueso esponjoso. El maxilar presenta esta disposición en la mayor parte de su superficie, excepto en la zona de la tuberosidad en donde adquiere la morfología de los huesos cortos (finas corticales y abundante hueso esponjoso).

Periostio y endostio: El periostio reviste la superficie externa de todos los huesos excepto en las superficies articulares. Es un tejido especializado organizado en 2 capas. La capa interna es rica en células osteoblásticas y preosteoblásticas. La capa externa es rica en fibras colágenas y en vasos sanguíneos que penetran en los canalículos intraóseos. El endostio es una fina capa de tejido conjuntivo que tapiza la cavidad medular de los huesos largos, los conductos de Volkmann y de Havers del hueso compacto y los espacios medulares del hueso esponjoso. Las células mesenquimales indiferenciadas (MSCs, por Mesenchymal Stem Cells) que contiene en su interior tienen potencialidad osteogénica y hematopoyética^(75, 73).

Desde el punto de vista microscópico se distinguen 3 tipos de huesos que corresponden a diferentes fases de maduración, cuyas características se describen en la **Tabla 2**^(73, 76, 72).

Tabla 2. Tipos de hueso	
ESTRUCTURA MACROSCÓPICA	ESTRUCTURA MICROSCÓPICA
<p style="text-align: center;">HUESO TRABECULAR / ESPONJOSO/ CANCELOSO. (Unidad Multicelular Básica- Trabécula)</p>	<p>HUESO INMADURO / TIPO I / PRIMARIO/ NEOFORMADO/ JOVEN / DE NUEVA FORMACIÓN.</p> <p>HUESO ENTRELAZADO/ RETICULAR (WB, por Woven Bone). Gran número de osteocitos globulares de gran tamaño con núcleo muy visible. Tinción intensa. Gran número de vasos. Distribución anárquica de células y matriz extracelular. Gran número de osteoblastos anexos con producción de osteoide. Desorden arquitectural de las fibras de colágeno (luz polarizada).</p>
	<p>HUESO DE FIBRAS PARALELAS/ COMPUESTO (PFB, por Parallel Fibered Bone). Trabécula Primaria. Menor número de osteocitos elipsoidales y de menor tamaño. Tinción menos intensa que el H.entrelazado. Disposición más homogénea de las células y la matriz extracelular. Distribución paralela de las fibras de colágeno (luz polarizada).</p>
<p>HUESO LAMINAR/ MADURO/ TIPO II/ SECUNDARIO/ NATIVO/ ANTIGUO (LB, por Lamellar Bone). Trabécula Secundaria. Menor número de osteocitos difíciles de ver dentro de la laguna osteocítica. Tinción menos intensa que el H. de fibras paralelas. Disposición de las células y la matriz extracelular en láminas paralelas. Distribución paralela de las fibras de colágeno (luz polarizada).</p>	
<p style="text-align: center;">HUESO CORTICAL/ COMPACTO. (Unidad Multicelular Básica- Osteona)</p>	<p>HUESO INMADURO / TIPO I / PRIMARIO/ NEOFORMADO/ JOVEN / DE NUEVA FORMACIÓN.</p> <p>HUESO ENTRELAZADO/ RETICULAR (WB, por Woven Bone). Gran número de osteocitos globulares de gran tamaño con núcleo muy visible. Tinción intensa. Gran número de vasos. Distribución anárquica de células y matriz extracelular. Gran número de osteoblastos anexos con producción de osteoide. Desorden arquitectural de las fibras de colágeno (luz polarizada).</p>
	<p>HUESO DE FIBRAS PARALELAS/ COMPUESTO (PFB, por Parallel Fibered Bone). Osteona Primaria. Menor número de osteocitos elipsoidales y de menor tamaño. Tinción menos intensa que el H.entrelazado. Disposición más homogénea de las células y la matriz extracelular agrupados alrededor de un vaso más ancho que el conducto de Havers. Distribución paralela de las fibras de colágeno (luz polarizada).</p>
<p>HUESO LAMINAR/ MADURO/ TIPO II/ SECUNDARIO/ NATIVO/ ANTIGUO(LB, por Lamellar Bone). Osteona Secundaria. Menor número de osteocitos difíciles de ver dentro de la laguna osteocítica. Tinción menos intensa que el H. de fibras paralelas. Disposición de las células y la matriz extracelular en láminas concéntricas alrededor de los conductos de Havers. Distribución paralela de las fibras de colágeno (luz polarizada).</p>	

El hueso entrelazado es producto de una secreción rápida (30-50 $\mu\text{m}/\text{día}$) y asincrónica de las células. Parece que este tipo de hueso carece de la resistencia adecuada para soportar las cargas funcionales perimplantarias. Tiene un índice de deposición y recambio mayor que el hueso laminar. Sobre este hueso entrelazado (WB) se va depositando mayor cantidad de mineral y las fibras colágenas se reestructuran y compactan de manera organizada. Parece que este tipo de hueso inmaduro de fibras paralelas (PFB), sí tendría una resistencia biomecánica adecuada para soportar las cargas transmitidas a través de los implantes (76, 72).

En el hueso laminar (LB) la matriz ósea (densamente mineralizada) se dispone en forma de laminillas superpuestas. En cada laminilla las fibras colágenas se disponen paralelamente según una dirección que se modifica en cada laminilla sucesiva. Entre las laminillas se encuentran incluidos los osteocitos. Se origina por una secreción lenta ($<1\mu\text{m}/\text{día}$) y sincrónica. En el hueso cortical inicialmente se forma una osteona primaria o sistema de Havers atípico (formada por PFB) que esta delimitada por una línea basófila lisa. Posteriormente se forma la osteona secundaria o sistema de Havers producida por un proceso de remodelación (reabsorción-aposición), y es delimitada por una línea ondulada o festoneada. La osteona secundaria además tiene un canal de Havers de diámetro menor que la primaria. En el hueso trabecular también se distingue una trabécula primaria (formada por PFB) y posteriormente una trabécula secundaria (formada por LB) (76, 72).

En el hueso maduro las fibras colágenas se disponen en láminas paralelas pero en cada lámina las fibras forman un ángulo agudo con respecto a las de las láminas contiguas. Esta disposición determina que al observar hueso laminar mediante luz polarizada alternen las láminas claras de aspecto muy brillante (láminas birrefringentes: fibras orientadas perpendicularmente a la luz polarizada) con las oscuras (láminas no birrefringentes: fibras orientadas en un ángulo más o menos agudo con respecto a la luz polarizada) (77). En el hueso embrionario o inmaduro las fibras se disponen de manera desordenada. Cuando este tipo de hueso se observa mediante luz polarizada no muestra alternancia de bandas claras y oscuras sino un aspecto finamente fibrilar. Este aspecto es debido a que solo brillan las escasas fibras colágenas que al azar han quedado dispuestas perpendicularmente a la luz polarizada. En el esqueleto adulto normal el hueso entrelazado prácticamente ha desaparecido, pero puede formarse de nuevo si se acelera la producción de matriz (callos de fractura, tumores óseos...).

La matriz ósea que no se halla mineralizada también se denomina osteoide, teniendo una importante proporción de fibras colágenas y proteínas que se originan de los osteoblastos en el

proceso de remodelado. El osteoide puede observarse en forma de finos ribetes de unas 10 micras de espesor que revisten la superficie de algunas trabéculas y tapizan algunas cavidades intracorticales⁽⁷⁴⁾.

Existen 2 tipos de osificación^(73, 72, 71) :

Osificación endocondral: Se produce en los huesos de las extremidades, vértebras y el cinturón óseo pectoral y pélvico. Las células mesenquimales se diferencian inicialmente en condrocitos debido a una disminución del aporte vascular. Posteriormente este cartílago es invadido por nuevos vasos y las MSCs se diferencian directamente en osteoblastos y el cartílago es reabsorbido y sustituido por hueso

Osificación intramembranosa: Es el tipo de osificación que se produce en los huesos de la bóveda craneal, ilion, escápula, clavícula y en los huesos maxilares. La osificación se produce directamente a partir de las MSCs y el tejido conectivo estromal, sin necesidad del paso intermedio del cartílago hialino. Inicialmente se produce una concentración de MSCs que se concentran alrededor de una red de capilares profusa. La diferenciación a osteoblastos y la producción de ciertas proteínas origina deposición de cristales de hidroxapatita inicialmente en las vesículas de la matriz y después siguiendo la orientación de las fibras de colágeno. Inicialmente se forma un entramado o laberinto de hueso entrelazado que ira evolucionando hasta el sistema laminar maduro.

1.1.-MATRIZ ÓSEA

Se forma de un componente inorgánico (65% del peso húmedo), de un componente orgánico(20 % del peso húmedo) y agua (10%)⁽⁷³⁾ . El componente inorgánico de la matriz ósea está constituido en su mayor parte por fosfato cálcico en forma de cristales de **hidroxapatita** ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). La precipitación de fósforo y calcio en forma más o menos cristalina sobre la red de colágeno va a depender de la acción de diferentes proteínas no colagénicas de la matriz. En total, el tejido óseo de un adulto contiene 1100 gramos de calcio (el 99% del calcio total del organismo) y aproximadamente 600 gramos de fósforo(es decir el 85% del fósforo total del organismo). Los cristales se disponen en forma de bastones o agujas que se disponen entre las fibrillas de colágeno⁽⁷¹⁾.

La matriz ósea es la responsable de las extraordinarias propiedades biomecánicas del hueso. Las fibras colágenas le proporcionan flexibilidad y resistencia a la tensión mientras que las sales minerales le confieren dureza, rigidez y resistencia a la compresión. De hecho, esta estructura es muy similar a la que se trató de conseguir cuando se desarrolló el hormigón armado. En este material de construcción el entramado de hierro realiza un papel funcional similar al que en el hueso llevan a cabo las fibras colágenas, y el hormigón realiza el papel funcional que en el hueso lleva a cabo el mineral⁽⁷³⁾.

El componente orgánico se halla integrado por proteínas colagénicas (80-90%), colágeno tipo I (>95%) colágeno tipo IV(<5%) y una pequeña proporción de otras proteínas no colagénicas de gran importancia (10-20%). Estas proteínas no-colagénicas son importantes para la proliferación y diferenciación celular, así como para la adhesión célula-célula y célula-substrato. Se han descrito las siguientes proteínas^(78, 79, 80, 81) :

Glicoproteínas fosforiladas

Las glicoproteínas se forman de la unión de un péptido con cadenas de azúcares. Se diferencian de los proteoglicanos, entre otras cosas, en que las cadenas de azúcares son más cortas y presentan menor carga negativa.

-Colágeno tipo I. Los cristales minerales de apatita se disponen de manera paralela a lo largo de las fibras. Parece que entre las moléculas de colágeno existirían espacios (gap) en donde se acumularían las proteínas no-colagénicas y se iniciaría la mineralización. Las moléculas de colágeno se unen transversalmente por moléculas de piridina. Dos derivados de esta proteína (piridolina y desoxipiridolina) pueden ser cuantificados en la orina para cuantificar el recambio óseo.

-Osteonectina(ONN, por Osteonectin). Tiene una gran afinidad por los iones de calcio, parece que actúa como un inhibidor del crecimiento de los cristales de apatita, pero con importante acción en el inicio de la mineralización..

-Sialoproteína ósea (BSP, por Bone Sialoprotein). Implicada en la adhesión celular. Favorece la formación de cristales de hidroxiapatita (es el más potente enucleador de los cristales). Es un indicador temprano de la diferenciación osteoblástica.

-Osteopontina (OPN, por Osteopontin). Implicada en la adhesión celular, tanto de osteoblastos como osteoclastos. Inhibe el crecimiento cristalino cuando está en solución, pero parece que lo favorecería (aunque en menor medida que la BSP) cuando se adsorbe a alguna

superficie implantada. Parece que estaría producida por las MSCs en las primeras fases de su diferenciación osteoblástica.

-Fibronectina(FNN, por Fibronectin). No exclusiva del hueso. Involucrada en la fase inicial de la adhesión celular a las superficies implantarias. Promueve la mineralización mediante la fijación de los cristales de hidroxiapatita.

-Vitronectina(VNN, por Vitronectin). Involucrada en la fase inicial de la adhesión celular a las superficies implantarias

-Osteoprotegerina(OPG, por Osteoprotegerin). También denominada OCIF (por Osteoclastogenesis Inhibitory Factor) Producida por MSCs y osteoblastos. Inhibe la diferenciación osteoclástica. Forma parte de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF, por Tumoral Necrosis Factor).

Glicoproteínas gamma-carboxiladas

-Osteocalcina (OCN, por Osteocalcin). También conocida como “bone gla-protein”(BGP) o “matrix gla protein(MGP)”. Regula la maduración mineral (el tamaño y renovación del cristal) más que la formación inicial de cristales. Es el mayor producto de los osteoblastos y los osteocitos. Se ha demostrado en cultivos que es quimiotáctico para los osteoblastos⁽⁸⁰⁾.

Proteoglicanos. Se forman de glicosaminoglicanos o mucopolisacaridos (mucopolisacáridos sulfatados o mucopolisacáridos ácidos) unidos a una proteína. Normalmente suelen incorporar condroitín-sulfato aunque también dermatán- sulfato, queratán-sulfato ó heparán-sulfato.

-Biglicán. Parece que se relaciona con los preosteoblastos y con la enucleación de los cristales minerales, en ausencia de la BSP (por ejemplo en las líneas de cementación perimplantaria).

-Decorin. Importante función en la formación de la red de colágeno.

-Versicán, agregán y epiphicán. Se han visto solo asociados con los residuos de cartílago calcificado en el hueso.

Glicosaminoglicanos (mucopolisacáridos)

-Ácido hialurónico. Es un glicosaminoglicano no sulfatado que puede aparecer en el hueso sin unirse a una proteína. Parece que por su capacidad de hidratación realizaría una función de apertura de los espacios tisulares para permitir la migración celular. Está presente en las fases iniciales de la matriz extracelular no mineralizada.

Fosfolípidos y lipoproteínas

Actúan como enucleadores de los cristales de hidroxiapatita. Parece que realizan una acción de reagrupamiento de las vesículas matriciales, en las membranas celulares.

Enzimas

Se distinguen las quinasas (regulan la fosforilación de algunas proteínas matriciales), las fosfatasas (defosforilizan algunas proteínas matriciales y regulan la concentración de fosfato) y las metaloproteinasas (degradan la matriz ósea).

-Fosfatasa alcalina (ALP, por Alkaline Phosphatase). Es un marcador de la mineralización y del fenotipo osteoblástico.

-Fosfatasa ácida (TRAP, por Tartrate Resistant Acid Phosphatase). Considerada como específica de la expresión del osteoclasto.

-Metaloproteinasas (MMP, por Metalloproteinases). Se encargan de degradar el colágeno (tipo I-IV), proteoglicanos y fibronectina. Son reguladas por inhibidores tisulares de metaloproteinasas de matriz (TIMPs, por Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases).

Prostaglandinas

Tienen un efecto contradictorio. Producidas por las MSCs y osteoblastos. Aunque en un principio la Prostaglandina E2 (PGE2) tiene un efecto reabsortivo sobre el hueso, sin embargo favorecen la producción del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF, por Insulin Like Growth Factor), y de síntesis de colágeno tipo I.

Factores hormonales sistémicos

Parece ser que las hormonas sistémicas tienen un efecto celular mayor en el sistema haversiano del hueso cortical que en el hueso trabecular, avalando esta teoría se encuentra el que en procesos como el hiperparatiroidismo primario hay mayor afectación cortical^(82, 81, 83).

Paratohormona (PTH, por Parathormone) se segrega en las células principales de las glándulas paratiroides. Activaría la osteoclastogénesis por una vía indirecta activando células de linaje osteoblástico que desprendería Interleuquina-6 (IL-6), que inducirían la diferenciación osteoclástica. Sin embargo su acción sobre el hueso puede tener también un efecto anabólico (positivo) en función de otras hormonas sistémicas no calcioregulatoras, o también de la secreción o administración de esta hormona de manera continua o pulsátil. A nivel general

disminuye la eliminación urinaria del calcio, favoreciendo la calcemia, aumenta la eliminación de fosfato, y estimula la formación de la 1-25 hidroxivitamina D₃.

La 1-25 dihidroxivitamina D₃ es un derivado por doble hidroxilación de la vitamina D (colecalfiferol: se obtiene de la dieta o se sintetiza en la piel a través de sus precursores). Sobre el hueso tiene una acción activadora de la acción osteoclástica de forma indirecta (vía receptores en células de estirpe osteoblástica que activan los osteoclastos maduros) o directa (acción inmunomoduladora) sobre la diferenciación de los preosteoclastos. Su principal función a nivel general es aumentar la absorción intestinal del calcio y la disminución de la eliminación urinaria del calcio favoreciendo la calcemia.

La calcitonina es un péptido secretado por las células parafoliculares del tiroides. Tiene una acción inhibitoria sobre los osteoclastos, bien de manera directa a través de receptores de membrana o bien inhibiendo los preosteoclastos, de tal manera que se secreta cuando hay un aumento de la calcemia para reducirla y realiza un aumento de la eliminación de calcio y fosfato en la orina.

Hay que tener en cuenta la estrecha relación entre estas hormonas calcioregulatoras entre sí y con otras hormonas sistémica.

Tabla 3. Hormonas sistémicas moduladoras del metabolismo óseo

- ◆ Hormonas calcioregulatoras:
 - Parathormona (PTH)
 - Sistema hormonal de la vitamina D
 - Calcitonina

 - ◆ Hormonas sexuales:
 - estrógenos
 - andrógenos

 - ◆ Otras:
 - Hormonas de crecimiento (GH)
 - Hormonas tiroideas
 - Insulina
 - Glucocorticoides
-

FACTORES DE CRECIMIENTO

Los factores de crecimiento (GFs, por Growth Factors) son polipéptidos que mediante un proceso autocrino o paracrino van a facilitar la migración, proliferación y diferenciación de las MSCs en el proceso de regeneración ósea, así como en el control de la actividad funcional de las células de la Unidad Multicelular Básica (BMU, por Basic Multicellular Unit) que intervienen en el remodelado. En un sentido estricto se deberían denominar “factores reguladores” ya que no solo tienen una función mitogénica o proliferativa.

Factor de transformación β (TGF β , por Transforming Growth Factor): Descrito inicialmente en células que presentaban transformación maligna (sarcomas). Superfamilia que se detecta en el hematoma fracturario en las primeras 24 horas. Presentan 5 isoformas pero las formas β_1 y β_2 han sido las más investigadas por lo que de manera general se refiere de manera conjunta a las 2 isoformas como el TGF β .

Los TGF β_1 y TGF β_2 se encuentran en las plaquetas principalmente y también en los macrófagos, linfocitos, neutrófilos, MSCs, osteoblastos (que lo producen con un efecto autocrino) y la matriz ósea. Van a actuar de manera paracrina o autocrina y su principal función es la de quimiotaxis y diferenciación de las MSCs, y para la producción de colágeno por parte de los osteoblastos. Favorece también la angiogénesis. Inhiben la formación de osteoclastos y la reabsorción ósea⁽⁸⁴⁾. No es bien conocido pero parece que tiene un efecto mitogénico en las células mesenquimales e inhibitorio de la proliferación en células epiteliales, y dependiente de la presencia de otros GFs.

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs, por Bone Morphogenetic Proteins) se encuentran presentes en varias fases de la reparación y la remodelación ósea. Son un subgrupo de la superfamilia del TGF β y parece que son más selectivos con el hueso que este último y presentan hasta 16 isoformas. Son recogidas inicialmente de la matriz extracelular del hueso adyacente y posteriormente producida por las MSCs y los osteoblastos. Parece que actúan más sobre la diferenciación osteoblástica de las MSCs que en su proliferación (mitogénesis). A diferencia de otros factores de crecimiento, las BMPs solo son mitogénicas para células óseas y no para otros tipos celulares. Se diferencian claramente de los TGF β , así mientras que las BMPs inducen la producción de osteocalcina (marcador de la diferenciación osteoblástica), los TGF β la

inhibirían, además tendrían diferentes receptores de membrana y diferentes caminos citoplasmáticos⁽⁸⁵⁾.

Tienen la capacidad de inducir la formación de hueso de manera ectópica(osteoinducción estricta). No se ha demostrado que las BMPs causen oncogénesis sino que más bien su aumento de expresión sea un producto de algunos tumores osteogénicos, pero no una causa. En el ámbito maxilofacial se están utilizando las formas recombinantes humanas de la BMP-2 y de la BMP-7(también llamada OP-1, por Osteogenic Protein -1)⁽⁸⁶⁾.

Factor de crecimiento de origen plaquetario (PDGF, por Platelet Derived Growth Factor) :Presenta 3 isoformas AA, AB y BB. Actúan en las células a través de un receptor tirosina-kinasa. Que pueden ser de tipo α que se unen a cadenas A y B, y de tipo β que solo se unen a cadenas B. Principalmente producido por las plaquetas aunque también por los macrófagos, osteoblastos (isoforma BB), condrocitos, fibroblastos y las células endoteliales. Facilita la angiogénesis por vía indirecta a través de los macrófagos que actúan sobre las células endoteliales; realiza un efecto quimiotáctico y activador sobre las células de inflamación(macrófagos); favorecen la quimiotaxis y proliferación de células mesenquimales(mitogénico); y facilitan la formación de colágeno tipo I por parte de los osteoblastos. Se achaca a este factor el 50% del efecto mitogénico proveniente de las plaquetas, el resto correspondería a otros GFs⁽⁸⁷⁾. Se considera que en la sangre normal existen 0,06 ng de PDGF por millón de plaquetas o 1200 moléculas de PDGF por cada plaqueta^(84, 86).

Factor de crecimiento fibroblástico (FGF, por Fibroblast Growth Factor)(tipo I y II): Su efecto sobre los fibroblastos fue la primera de sus funciones descrita, lo que le valió el nombre. La forma II o básica parece que es la más potente en la función mitogénica. Hoy se sabe que actúa también sobre otras células. Son producidos no solo por los fibroblastos sino también por los macrófagos, osteoblastos, plaquetas y células endoteliales a lo largo del proceso de curación ósea. Parece que aumentan la proliferación y diferenciación de osteoblastos y la inhibición de osteoclastos. Actúan sobre los fibroblastos aumentando su proliferación y la producción de fibronectina. También favorecen la angiogénesis por su acción mitogénica y quimiotáctica sobre las células endoteliales.

Factor de crecimiento similar a la insulina(IGF, Insulin Like Growth Factor)(Tipo I y II): Con una semejanza del 50% con la insulina se encuentran en el torrente circulatorio unido a

proteínas de unión específicas. Producido por las plaquetas, macrófagos, osteoblastos y MSCs, también se encuentra en la matriz ósea. De manera autocrina o paracrina estimula la proliferación (mitogénesis) y diferenciación de las MSCs y de las células de revestimiento, así como la formación por parte de los osteoblastos de osteocalcina, fosfatasa alcalina, y de colágeno tipo I. Durante el remodelado óseo su liberación de la matriz, al igual que las BMPs y el TGF β , induciría la diferenciación de MSCs y las células de revestimiento⁽⁸⁴⁾.

Factor de crecimiento vascular y endotelial (VEGF, por Vascular Endothelial Growth Factor)

Proteína que presenta 4 isoformas. También llamado factor de permeabilidad vascular (VPF por Vascular Permeability Factor) Actúa sobre la quimiotaxis y la proliferación de las células endoteliales. Realiza una hiperpermeabilidad de los vasos. Producido por varias células, entre ellas las plaquetas, macrófagos, osteoblastos y las células musculares lisas, sobre todo en estados de hipoxia. Su acción parece que esta regulada por la acción de TGF β y PDGF. Existen 0,0006 ng de VEGF por millón de plaquetas^(88, 89).

Factor de crecimiento epidérmico (EGF, por Epidermal Growth Factor)

Descrito por primera vez en la glándula submaxilar, tiene una gran similitud con el TGF α lo que hace que se unan al mismo receptor. Su acción parece que también está regulada por la acción de TGF β y PDGF Su función es mitogénica, proapoptótico, migración y de diferenciación no solo de las células epiteliales, sino también sobre fibroblastos, células del cristalino, células renales y células gliales a partir de células mesenquimales⁽⁹⁰⁾.

El mecanismo de acción de los distintos GFs sobre las células es bastante similar aunque todavía no se conocen las moléculas exactas y los caminos específicos de cada factor de crecimiento. Por otro lado diferentes GFs pueden producir efectos biológicos opuestos en la misma célula (p.ej PDGF y TGF β). En el torrente circulatorio y la matriz extracelular se unen a proteínas específicas poco conocidas, que impiden su rápida degradación. De manera general los GFs actúan a nivel del membrana celular a través de receptores específicos, estos receptores se activan iniciando en el citoplasma una actividad de fosforilación del tipo tirosina-kinasa (PDGF, FGF, IGF, VEGF, EGF) o bien serina-treonina-kinasa(TGF β , BMPs) que activan específicos caminos de transducción de señal que se introduce en el núcleo, para la expresión de genes específicos. El efecto final producido es multifuncional y va a depender de la célula blanco y del

estado fisiológico de la misma, de la relación con otras células, la matriz extracelular y la presencia de otros factores^(91, 92).

Una de las **FUNCIONES** de los GFs en el tejido óseo es la **diferenciación de osteoblastos**. En el tejido óseo se ha descrito el mecanismo molecular por el que los GFs favorecen la diferenciación osteoblástica de las MSCs. Parece que interviene el factor Cbfa 1 (por Core binding factor A 1)(también llamado RUNX2, PEBP2 α A, AML3 y OSF2), un factor de transcripción nuclear (proteínas específicas que facilitan la transcripción ayudando a las RNA polimerasas) expresado por los osteoblastos que induce la expresión del gen de la OCN (gen mOG2) que es el único gen específico del osteoblasto^(93, 79). Parece sin embargo que este factor es necesario pero no suficiente para la diferenciación de los osteoblastos⁽⁹⁴⁾. La activación de esta enzima parece inducida por factores como TGF- β , las BMP o el FGF, pero también por la vitamina 1,25-D3, lo que explica que no solo hay un control autocrino y/o paracrino sino también endocrino. A nivel molecular la llegada de la BMP a la membrana plasmática hace que se asocien las 2 moléculas del receptor de membrana del tipo serina-treonina quinasa (RBMP-II se une a la BMP y fosforiliza al RBMP-I). El receptor del TGF- β parece que es distinto al de las BMPs pero también de naturaleza serina-treonina quinasa. Las proteínas a través de las cuales se realiza la transducción de señal, son una familia de 8 proteínas llamadas Smads (unión de los términos Sma y Mad), en donde se ha descrito que el tipo 2 y 3 se encargan de vehicular la señal del TGF β estricto, y las formas 1, 5 y 8 la de las BMPs. Las número 1,2,3,5 y 8 forman las R-Smad (por Receptor-activated Smad). La número 4 forma la C-Smad(por Co-activator Smad), y las número 6 y 7 la I-Smad (por Inhibitory-Smad) son moléculas que inhiben a las R-Smad^(86, 94). La asociación del GF y el receptor activa en el citoplasma ,mediante fosforilación, a las moléculas de transducción de señal R-Smad(1,5 y 8) que se unen a la C-Smad(número 4), y forman un complejo que se transloca al núcleo, actuando como co-reguladores(co-activadores). Sin embargo para contactar con el ADN estas deben unirse a un factor de transcripción o cofactor, que en el caso de las BMPs se trata del Cbfa1 que se va a unir a la Smad 1, 5 u 8⁽⁹⁴⁾. Una vez que las Smad han realizado su función vuelven al citoplasma donde se encuentran inactivas unidas a diferentes proteínas(SARA, por Smad Anchor for Receptor Activation) o bien degradarse en el núcleo (**Fig. 1**)

También intervienen otros 2 factores de transcripción nucleares como las proteínas Fos y Jun, que juntos forman el complejo activador de proteínas 1(AP-1, por Activating Protein -1),

provenientes de los proto-oncogenes c-fos y c-jun. No se conoce muy bien que tipo de citoquinas los activan y sus transductores citoplasmáticos parecen distintos a las Smads (se trata de quinasas del tipo MAPK: MKK4/JNK y MKK3/p38). Este complejo facilita la transcripción de diferentes genes como los del colágeno I, ALP, OCN y OPN⁽⁹⁵⁾.

La acción del TGF β , sin embargo ha sido contradictoria en el sentido de si favorece o perjudica la formación ósea. Se ha especulado sobre si estas proteínas (el tipo 1 y 2) favorecerían inicialmente el reclutamiento y diferenciación inicial osteoblástica con síntesis de colágeno, pero in embargo perjudicaría la diferenciación terminal con relación a la síntesis de OCN y síntesis de matriz. Spinella-Jaegle y cols⁽⁹⁶⁾ realizan un estudio in vitro con MSCs y preosteoblastos de ratón, a los que se aplicó TGF- β 1 y BMP-2. Se observó que el TGF- β 1 no solo era incapaz de inducir la expresión de OCN o ALP, sino que impedía la acción de la BMP-2 sobre la expresión de dichas proteínas. Sin embargo no inhibía la expresión de Cbfa1 ni la actividad transcripcional de Smad 1, mediadas por BMP-2. Se demostró que el efecto inhibitorio de TGF- β 1 en la diferenciación osteoblástica mediada por BMP-2 es independiente de la expresión del gen de Cbfa1. Estos datos sugieren que en la transcripción del gen de la OCN intervienen otros factores además del Cbfa1

Otra función importante de los GFs en el hueso es la [proliferación de MSCs y osteoblastos](#) (función mitogénica). La señal de transducción que llega al núcleo induce la activación de factores de transcripción como el ELK-1 que transcribe los proto-oncogenes c-fos y c-jun o fosforila directamente el factor AP-1. El AP-1 es un factor de transcripción para transcribir otros genes implicados en la mitogénesis.(p.ej el gen de la ciclina D₁ también llamado PRAD1; CCND1). En esta señal parece que cumple un factor fundamental el camino citoplasmático Ras/Raf/ MEK/MAPK, (MAPK por Mitogenic-Activated Protein Kinase ; MEK por el acronismo MAPK/ERK ; ERK por Extracelular Regulated Kinase) aunque intervienen otras quinasas específicas(JNKs por Jun N-terminal Kinase y FRKs por Fos Regulated Kinase) . Sin embargo en este camino hay una autorregulación negativa, de tal manera que cuando existe una excesiva estimulación de ras se produce inducción de p21 que frena el ciclo celular. En otras ocasiones la vía de señalización lleva a la fosforilación de factores de transcripción que están en el citoplasma en vez de en el núcleo, p.ej la proteína p91, que se transloca al núcleo y transcribe genes como el c-fos⁽⁹⁸⁾.

Mediante estudios con animales “knock out”(animales donde se suprime una (+/-) o las 2 copias (-/-) de un gen) se ha observado que la falta total (-/-) de c-jun conlleva la muerte en el periodo medio de gestación, mientras que la falta total de c-fos, conlleva que ciertos animales

puedan nacer pero con alteraciones tisulares importantes, lo que indica que su función es más importante en el correcto desarrollo de tejidos mas que en el crecimiento celular(99).

El gen c-myc también se expresa en células que proliferan, y muy poco o nada en células quiescentes o diferenciadas. Su expresión es también inducida por las vías de transducción de los GFs y su proteína c-Myc actúa regulando positivamente sobre los complejos ciclina-CDK de la fase G1(sobre ciclina D-CDK4/6 y sobre todo sobre la ciclina E-CDK2). Parece que también se activa por la vía Ras/Raf/MEK/MAPK. La proteína Myc actúa al menos por 3 vías: Inactivación funcional de inhibidores de CDK p27 y quizá p21 y p57; Inducción de la fosfatasa CDC25A que activa las CDK; se une a la ciclina E, anulando la acción inhibitoria de p16 sobre ella. En cualquier caso la inducción de esta proteína Myc sobre diferentes genes(telomerasa, CDC25A, p53, ciclina E, A y D₁.....) es todavía bastante desconocida y necesita de la unión a otras proteínas formando complejos de transcripción (Max, Mad)(98, 100).

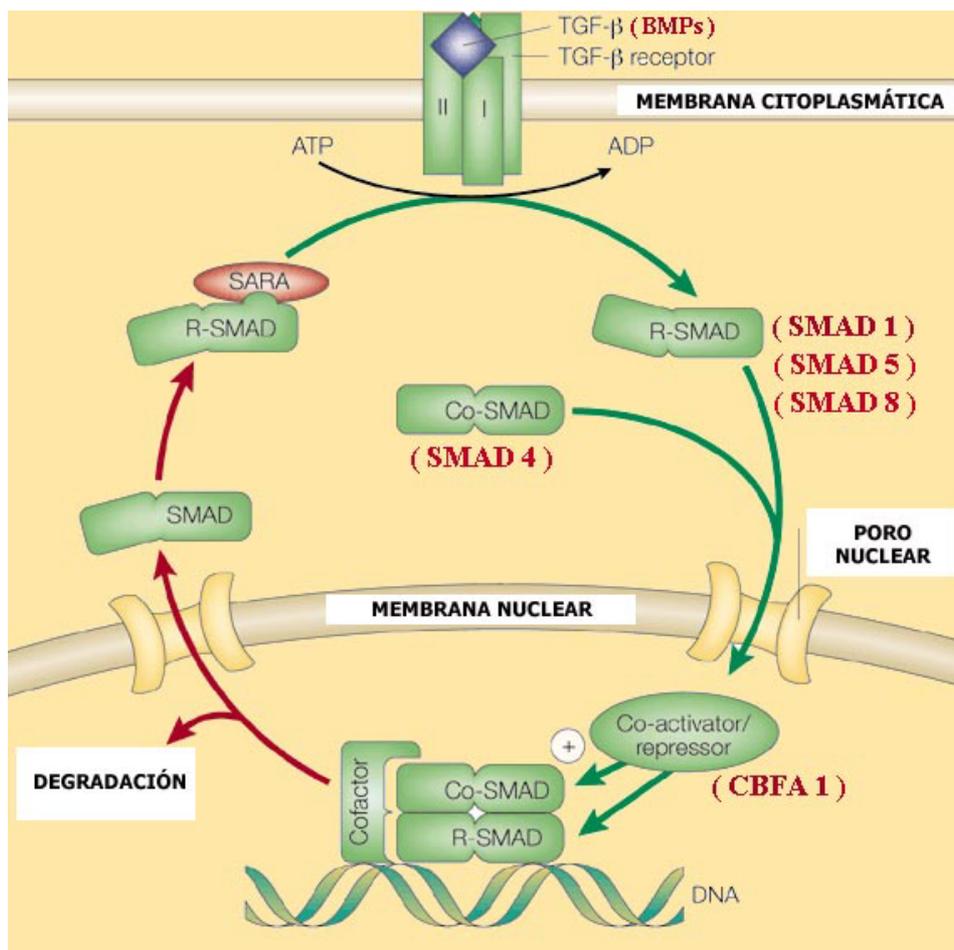


Fig. 1. Esquema simplificado de la vía de transmisión de señal de TGFβ y BMPs. Modificado de Massague(97)

1.2.-CÉLULAS ÓSEAS

Linaje osteoblástico

A partir de las MSCs se van a diferenciar los preosteoblastos, los osteoblastos, las células de revestimiento (lining cells) y los osteocitos.

Los **preosteoblastos** son células de aspecto fibroblástico cercanas a las superficies óseas pero separadas de estas por otros tipos celulares (células de revestimiento, osteoblastos). Los preosteoblastos son difíciles de identificar en condiciones normales, pero pueden observarse con facilidad si sufren una hiperplasia como por ejemplo en el hiperparatiroidismo.

Los **osteoblastos** son células de forma cúbica, de aproximadamente 10µm de diámetro, citoplasma basófilo y ricas en una isoenzima específica de la fosfatasa alcalina. Derivan de los preosteoblastos y suelen considerarse células con diferenciación terminal y por tanto incapaces de dividirse, no obstante existen datos que sugieren que, al menos en parte, conservan la capacidad de proliferar de manera limitada. Los osteoblastos se hallan en contacto directo con las superficies óseas formando grupos compactos de una sola capa de espesor. De manera característica el núcleo de estas células se sitúa en el extremo que se halla más alejado de la superficie ósea sobre la que asientan. El estudio ultraestructural permite comprobar que entre el núcleo y la superficie de contacto con el hueso se sitúan de manera sucesiva el aparato de Golgi y abundantes cisternas de retículo endoplásmico rugoso. Estas características ultraestructurales son típicas de las células con capacidad para segregar grandes cantidades de proteínas. Los osteoblastos sintetizan el componente orgánico de la matriz ósea: colágeno tipo I, proteínas no colagénicas y GFs. Su vida media se cree que está en un rango de 1-10 semanas a partir del cual desaparecerían mediante un proceso apoptótico, algunos sin embargo se convierten en células de revestimiento y un 15% en osteocitos⁽⁷¹⁾.

Los osteoblastos pueden permanecer en las superficies óseas o quedar rodeados por la matriz que sintetizan. Cuando los osteoblastos que han permanecido en la superficie finalizan la síntesis de matriz, se aplanan y se convierten en **células de revestimiento** (células del endostio o "lining cells"). Estas células, a través de la producción de IL6 e IL1 parecen desarrollar un importante papel en el control del remodelado óseo mediante la atracción de osteoclastos^(101, 73).

Los osteoblastos que quedan en el espesor de la matriz adquieren aspecto estrellado y pasan a denominarse **osteocitos**. Estas células se hallan en contacto entre sí y con las células de la superficie (células de revestimiento, osteoblastos) mediante finas prolongaciones tubulares de su

citoplasma que recorren la matriz ósea en diversas direcciones. La cavidad de la matriz ósea que contiene el cuerpo celular del osteocito se denomina laguna osteocitaria y los diminutos canalículos que albergan sus prolongaciones citoplásmicas reciben el nombre de conductos calcóforos. El estudio ultraestructural de los osteocitos revela que presentan un aparato de Golgi y un retículo endoplásmico rugoso menos desarrollado que los osteoblastos. Estas organelas se concentran en el cuerpo celular donde se disponen alrededor del núcleo. En los puntos de contacto entre las prolongaciones citoplásmicas se observan uniones tipo gap (gap junctions). En estas uniones existen pequeños canales intercelulares con un diámetro interno de 1.5 nm. Estos canales permiten el paso directo de una a otra célula de iones inorgánicos y pequeñas moléculas hidrosolubles (aminoácidos, azúcares, nucleótidos y vitaminas) por lo que posibilitan una comunicación química y eléctrica.

Los osteocitos son células con una escasa actividad metabólica pero su preservación parece necesaria para que el tejido óseo mantenga sus propiedades biomecánicas. La situación de los osteocitos es teóricamente ideal para detectar el estrés mecánico y las microlesiones de la matriz. Estas células podrían transmitir señales a las células de revestimiento que utilizarían la información recibida para modular localmente el remodelado^(74, 102, 103).

Linaje Osteoclástico

A partir de las Células Madres Hematopoyéticas se diferencian los monocitos, los preosteoclastos y los osteoclastos.

Los **osteoclastos** son células multinucleadas (10-12 núcleos), de citoplasma acidófilo y ricas en anhidrasa carbónica y TRAP, con un diámetro de unos 100 μm ⁽⁷⁷⁾. Son de mayor tamaño que los osteoblastos y se disponen sobre las superficies óseas de manera aislada o en grupos poco numerosos. Al igual que los osteoblastos son células polarizadas en la que los núcleos se sitúan en el extremo que se halla más alejado de la superficie ósea sobre la que asientan.

El estudio ultraestructural de los osteoclastos revela que sus organelas se concentran en el citoplasma perinuclear donde los complejos de Golgi son abundantes. En el resto del citoplasma se observan abundantes mitocondrias y estructuras vesiculares de diversas densidades y tamaños. Es probable que algunas de estas estructuras vesiculares correspondan a lisosomas ricos en TRAP y colagenasas. Las cisternas del retículo endoplásmico rugoso no son muy numerosas ni muy extensas. Es característico de estas células que la zona de su membrana que entra en relación con la matriz ósea se halle fruncida. Entre los plegamientos de la membrana y la matriz ósea existe un

estrecho espacio poco denso a los electrones. A ambos lados de la zona de plegamiento la membrana se aplanada y se adhiere más íntimamente a la matriz. En las tres dimensiones del espacio este segmento aplanado corresponde a un rodete que adhiere el osteoclasto a la superficie ósea de manera parecida a como lo haría el borde de una ventosa. Así, el espacio comprendido entre la membrana fruncida y la matriz ósea queda convertido en un microambiente que se halla aislado del intersticio medular.

El segmento de citoplasma adyacente a esta zona aplanada se halla libre de organelas por lo que se denomina zona clara. Esta zona contiene abundantes microfilamentos de actina que probablemente se relacionan con la capacidad de traslación de la célula. De hecho los osteoclastos a medida que reabsorben el hueso realizan un movimiento de vaivén parecido al que efectúa el cepillo de un carpintero. El territorio sobre el que se desplaza un osteoclasto durante el proceso de reabsorción es varias veces superior al de la superficie de la célula y se denomina dominio osteoclástico^(74, 104).

1.3. - TÉCNICA DE HISTOMORFOMETRÍA ÓSEA

La histomorfometría es una valoración cuantitativa que permite el recuento de células, la medición bidimensional (anchura, longitud, perímetro y área) y tridimensionales (volumen, anchura y superficie) en diferentes tejidos vivos. La evaluación histológica del hueso se ha visto limitada durante años por las dificultades técnicas, de tal manera que antes de 1960 se realizaban únicamente técnicas de decalcificación que permitían obtener un tejido lo suficientemente blando para incluirlo en parafina, sin embargo esta técnica presenta una serie de inconvenientes ⁽¹⁰⁵⁾:

- No distingue el hueso mineralizado del no mineralizado.
- En la mayoría de los casos se producen fenómenos de retracción de la interfase hueso/médula ósea que dificultan la evaluación de las células que intervienen en el remodelado.
- Imposibilita el estudio de la dinámica ósea mediante marcaje con tetraciclinas.

Con el desarrollo técnico de medios duros de inclusión (monómeros plásticos) y de microtomos especiales se ha permitido cortar el hueso sin decalcificar y de esta manera realizar nuevos estudios. En las técnicas de procesamiento del hueso existen 4 fases fundamentales a distinguir^(105, 106, 72) :

Fijación

El medio mas usado es el formaldehído por su buena capacidad para mantener las células. El problema que presenta es que se transforma progresivamente en ácido fórmico que desmineraliza el hueso. Para compensarlo, es tamponado con diferentes sustancias(carbonatos o fosfatos).

Inclusión

La primera parte de la inclusión se refiere a la deshidratación de la muestra que tiene como finalidad la eliminación completa del agua y la grasa mediante concentraciones crecientes de alcohol o acetona, y así permitir la correcta penetración del plástico.

Los medios más utilizados son las resinas epoxi (microscopía electrónica) y los derivados acrílicos(metilmetacrilato y glicolmetacrilato). La inclusión en metacrilato es de elección en el caso de microscopía óptica, y consta de 2 fases: Infiltración (inmersión en monómero con inhibidor de la polimerización) y polimerización (inmersión en polimero con catalizador o bien mediante fotopolimerización).

Sección

El microtomo debe ser lo suficientemente potente para el tamaño de la muestra. Para las muestras de gran tamaño se han utilizado los microtomos de deslizamiento (Microtomo K). Con este procedimiento la calidad del corte va a depender de 3 factores fundamentales:

-Velocidad de corte: Ha de ser muy baja.

-Ángulo de corte: Las cuchillas comerciales suelen tener un ángulo de 35-50°

-Espesor de corte: Una sección de 4-7 μm da buenos resultados. Por debajo de 3 μm la compresión de la cuchilla es demasiado grande y por encima de 10-12 μm aumenta el peligro de fracturas.

La técnica de sección y pulido descrita por Donath y Breuner⁽¹⁰⁷⁾ se ha ido incorporando de manera masiva en los procedimientos del estudio del hueso sin decalcificar. Con este método se utiliza un sistema con banda de sierra que obtiene muestras con un espesor de 30-50 μm , y va a permitir cortar muestras que incorporen metales o tejidos dentarios.

Tinción

Previamente a la tinción las secciones deben ser deplastificadas e hidratadas. No existe la tinción perfecta para visualizar todas las estructuras de interés. De esta manera, la tinción más

fiable para la distinción entre osteoide y hueso calcificado es la de Von Kossa, pero no proporciona un detalle celular óptimo. Tiñe el osteoide de rosa y el hueso mineralizado de negro. La modificación de Goldner del Tricrómico de Masson permite observar con nitidez las células óseas, pero tiene tendencia a sobreestimar el volumen de osteoide, sobre todo cuando este tiene poco espesor. Tiñe el osteoide de rojo y el hueso mineralizado de verde. La hematoxilina-eosina permite obtener una visión de conjunto y tiñe el osteoide color rosa pálido y el hueso mineralizado de rosa oscuro. El azul de toluidina presenta una buena coloración de las células del hueso de manera superior a la hematoxilina-eosina. De azul más intenso se tiñen los proteoglicanos (debido a la reacción metacromática con los mucopolisacáridos ácidos). La tinción rojo sirio se utiliza para ver la disposición de las fibras colágenas cuando se transmite luz polarizada

El procedimiento habitual de tinción requiere la obtención previa de cortes delgados, sin embargo con motivo de fines especiales existen otras modalidades. Así, la tinción se puede realizar en bloque (inmersión de toda la muestra en la tinción antes de la inclusión y corte; p.ej Villanueva) o en superficie, para observar laminas gruesas sin deplastificar, que solo tiñe el tejido en contacto con la superficie de corte y de esta manera el tejido profundo no interfiere al realizar mediciones histomorfométricas .

Evaluación

Los parámetros histomorfométricos resultan de relacionar entre sí una serie de recuentos y mediciones efectuadas en el tejido óseo, permitiéndonos definir cuantitativamente las características estructurales y funcionales del hueso en condiciones normales, patológicas o experimentales. Pueden obtenerse valores bidimensionales o tridimensionales. La histomorfometría a su vez se puede realizar con parámetros estáticos, o bien dinámicos en caso de realizar marcajes con tetraciclinas separados en el tiempo. Además, tanto en los estáticos como en los dinámicos, hay parámetros primarios y secundarios (que se obtienen a partir de los primarios) (106, 108, 72).

Los estudios histomorfométricos tridimensionales se basan en la estereología, que es la ciencia que permite obtener información cuantitativa de estructuras tridimensionales, a partir de secciones bidimensionales de las mismas. De esta manera a partir de datos bidimensionales como áreas se pueden obtener valores tridimensionales de volúmenes, a partir de anchuras se pueden obtener espesores, y a partir de mediciones de longitudes y perímetros se pueden obtener

mediciones de superficies de área. En las anchuras y las longitudes/perímetros su transformación tridimensional requiere la aplicación de un factor de corrección por la orientación tridimensional de la estructura (oblicuidad y espesor del corte). Este factor de corrección se aplica empíricamente con un valor de $4/\pi$ para obtener superficies (constante perímetro-superficie, K_{ps}) y de $\pi/4$ para obtener espesores (constante anchura-espesor, K_{wt})^(106, 108). En todo caso hay que considerar que la mayoría de las fórmulas basadas en la estereología que se aplican al hueso, requieren que la estructura tenga una distribución isotrópica, es decir que exista una disposición homogénea de los elementos que componen la muestra⁽¹⁰⁹⁾. Esta disposición isotrópica ha sido aceptada con un mínimo error para las biopsias obtenidas de la cresta iliaca, pero no está totalmente aceptado para cualquier tipo de hueso, considerando el carácter general anisotrópico del tejido óseo⁽¹⁰⁸⁾.

Para obtener datos tridimensionales más precisos de una estructura isotrópica (p.ej. el riñón) se aplica el principio de Cavalieri por el cual se obtiene el volumen total de una estructura a partir de cortes paralelos seriados. Una vez que se conoce el volumen total se puede calcular la fracción del mismo que corresponde con cada corte, y de ahí el número de estructuras que hay en cada corte y el número de estructuras que hay en el volumen total. Este procedimiento requiere un tamaño muestral adecuado que va a depender de la estructura biológica a estudiar, y una recogida de las muestras de estudio (cristales) de manera sistemática o al azar. La obtención de datos tridimensionales de una estructura anisotrópica obliga también a un tamaño muestral adecuado y a la realización de cortes con diferentes angulaciones (no seriados paralelos)⁽¹⁰⁹⁾.

III.2-BIOLOGÍA DE LA REGENERACIÓN ÓSEA

El tejido óseo es uno de los más dinámicos del organismo reconociéndose una serie de actividades biológicas atribuibles al sistema esquelético: crecimiento, regeneración, modelado, y remodelado⁽⁷²⁾. En esta sección nos vamos a dedicar a las fases de regeneración, modelado y remodelado, ya que son los 3 fenómenos óseos que a menudo se superponen en el tiempo, y que pueden intervenir en la cicatrización de la fractura ósea, en la cicatrización ósea perimplantaria y la distracción histogénica.

El tejido óseo es el único capaz de repararse a sí mismo de manera completa a través de reactivar los procesos que tienen lugar durante su embriogénesis. Se trata de uno de los procesos más complejos y apasionantes que aparecen en la biología, en el cual se producen una serie de acontecimientos celulares y bioquímicos que conducirán a la formación en la zona a reparar de un hueso con propiedades físicas y morfología similares a las del hueso normal. Dicha reparación se produce a partir de una solución de continuidad del hueso por trauma externo o bien tras osteotomía quirúrgica. Por otro lado, la fatiga mecánica puede causar microfracturas trabeculares que no modifican la morfología externa del hueso, sin embargo estas fracturas microscópicas se reparan a través de microcallos de fractura que muestran una dinámica similar a la de los grandes callos.

Hay que tener en cuenta que el término de reparación es en ocasiones confundido con el concepto de regeneración. La regeneración es un proceso por el cual el tejido originado es estructural y funcionalmente idéntico al tejido inicial mientras que la reparación genera un tejido diferente al inicial al trauma formando una cicatriz (p.ej. formación de tejido fibroso en la interfase hueso-implante, en ciertos fracasos de implantes)

Los estudios que intentan explicar los acontecimientos que aparecen en la cicatrización ósea definen los procesos a nivel espacial y temporal que relacionan las células, los factores solubles y la matriz extracelular. Se cuestiona sobre si el proceso a nivel de la cicatrización perimplantaria sería exactamente igual al proceso que ocurre en la fractura ósea, ya que hay autores que establecen que la presencia de un implante modificaría la composición y concentración de los factores de crecimiento, actuando como un " biorreactor"⁽¹¹⁰⁾.

Parece ser que el índice de regeneración y remodelado óseo va decreciendo de manera que aumenta la evolución en la escala filogenética, además existen variabilidad entre distintos individuos de la misma especie, así como según la localización anatómica, la edad del individuo, el sexo del individuo o la existencia de patología sistémica (p.ej. osteoporosis, diabetes).

Según la **especie** animal existen diferentes tiempos de regeneración y de remodelado. Existe una relación inversamente proporcional entre el índice y el potencial de regeneración ósea, y la evolución en la escala filogenética⁽¹¹¹⁾. Así en el hueso cortical del humano cada ciclo de remodelado, conocido como sigma, dura 4 meses, en el perro 3 meses y en el conejo 6 semanas^(71, 108, 76). Parece además que según las especie existen diferencias en cuanto a la producción de diferentes moléculas implicadas, de esta manera se ha observado en distracción de conejos una sobreexpresión de BMP-7, mientras que esto no ocurre en ratas⁽⁵⁷⁾. La porosidad ósea es también variable según las especies, de tal forma que perros de edad avanzada presentan una porosidad menor al 10% (en comparación a valores incluso mayores al 20% del humano anciano) y la existencia de microcraks en cantidad menor a 1 por mm² (comparado con 5 microcraks por mm² del humano anciano)⁽¹¹²⁾.

En relación con la **localización anatómica**, parece que el remodelado se presenta de manera diferente en las diversas estructuras óseas del organismo. Verna y cols⁽¹¹³⁾ realizan un estudio histomorfométrico del remodelado en cresta iliaca, foramen mandibular y ángulo mandibular, en 50 cadáveres humanos. Observaron que la porosidad cortical (parámetro histomorfométrico definido por la presencia de osteonas en fases activas de remodelado) era mayor en la cresta iliaca. El tamaño de las osteonas era mayor en la mandíbula que en la cresta ilíaca, y también mayores en los hombres que en las mujeres. Esto parece que es debido a que las regiones que soportan tensión generan unas osteonas más grandes que en zonas que reciben compresión. Se observó un aumento de la porosidad cortical mandibular según aumentaba la edad. Además, en la zona mentoniana la porosidad aumentaba cuando existía oclusión, mientras que en el ángulo era más poroso cuando no había oclusión. Esto confirma la hipótesis de que en pacientes desdentados la distribución de estrés es mayor en la región molar y en la rama ascendente donde se estimularía más el remodelado, y en los dentados en el hueso alveolar, apófisis coronoides y cuerpo mandibular.

Con la **edad** hay una disminución de las células mesenquimales indiferenciadas, y menor respuesta de los osteoblastos a las señales que les llegan de los factores solubles. Son además

unos osteoblastos tres veces menos efectivos en relación con la formación de nódulos minerales, y expresión de fosfatas alcalina. Hollinger estudio en un modelo de reparación de fractura en ratas, que a los 7 días de curación la expresión de osteopontina era evidente en los animales de 6 meses mientras que la inmunoreacción era negativa para las ratas de 24 meses⁽¹¹⁴⁾. En perros también se ha observado un aumento exponencial con la edad de los microtraumas y la porosidad, aunque con valores menores al humano⁽¹¹²⁾.

Hay también que considerar que en la mandíbula, según aumenta la edad, el aporte sanguíneo va siendo progresivamente asumido por el periostio en vez de los vasos del conducto dentario inferior, por lo que en estos pacientes se requiere un mayor cuidado del periostio⁽⁸¹⁾. Se ha observado histomorfométricamente en varones sanos que el volumen de hueso trabecular decrece en un 40% desde los 20 años a los 80 años. Esto parece que es debido a que la función osteoclástica es mantenida mientras que la función osteoblástica disminuye (se reduce el volumen de osteoide y los niveles séricos de osteocalcina)⁽¹¹⁵⁾.

El **sexo** va a influir de manera determinante en el metabolismo óseo, principalmente por la diferente influencia de las hormonas sistémicas en los hombres y en las mujeres. Parece que la función osteoclástica se mantiene constante en el hombre a lo largo de su vida mientras que en la mujer se ve incrementada en las primeras etapas postmenopáusicas. Esto se asocia al factor protector contra la reabsorción de las hormonas androgénicas que están aumentadas en el hombre⁽¹¹⁵⁾.

La existencia de **patología sistémica y hábitos perniciosos** también influye en la curación ósea:

En casos de diabetes insulino-dependiente descontrolada, se ha observado histológicamente en los alvéolos postextracción, una menor formación del andamiaje de colágeno tipo I, con un retraso de la regeneración⁽¹¹⁶⁾.

El estado osteoporótico conlleva una disminución en el número y actividad de los osteoblastos, así como de determinados factores solubles (estrógenos, hormonas calciotrópicas y TGF- β). El resultado es la obtención de un desacople de las fases de reabsorción y formación del remodelado con la aparición de un balance negativo^(114, 106). En perras ovariectomizadas se ha observado una disminución de la densidad de lagunas osteocitarias, que parece que se relaciona con el aumento de la apoptosis de los osteocitos por disminución de estrógenos, con la consiguiente disminución del remodelado y la acumulación de microcracks⁽¹¹²⁾.

El hábito de consumo de tabaco origina un deterioro de la revascularización de los injertos óseos y la regeneración ósea⁽¹¹⁷⁾. En un estudio clínico con mujeres de edad avanzada se observó que las fumadoras frecuentes (>1 paquete/día) presentaban una densidad ósea del 4 % menor que las no fumadoras. También se vió en estas fumadoras un aumento de los marcadores séricos de remodelación ósea (osteocalcina), aumento sérico de PTH, así como una disminución de la absorción de calcio⁽¹¹⁸⁾.

La regeneración ósea va a seguir una serie de fases diferenciales en cuanto al proceso biológico que se produce, pero que se superponen en el tiempo. En la reparación perimplantaria existe una cronología que se ha establecido en las observaciones experimentales, pero extrapoladas a lo que serían los tiempos en humanos por comparación de los ciclos de remodelado. En cualquier caso parece que la cronología y eventos de la fase inicial (inflamación) son similares entre el humano y los animales de experimentación⁽⁷⁶⁾.

2.1.- FASE DE INFLAMACIÓN

CRONOGRAMA: Coágulo sanguíneo: Red de fibrina y proteínas de adhesión (inicio-día 3).
Tejido granulación: Colágeno de varios isotipos (día 3-día 14).

Tras el daño inicial (fractura limpia, osteotomía quirúrgica) se produce una laceración de los vasos sanguíneos con exudado de líquidos y proteínas plasmáticas (edema) e inmediatamente después formación de **COÁGULO** de fibrina tras la cascada de la coagulación, vasoconstricción y necrosis de los bordes óseos de fractura.

Dirigiendo la cascada de la coagulación se encuentran las **plaquetas** que tienen una doble función, como control hemostático y como contenedor de señales como el PDGF, el TGF β_1 , el TGF β_2 , el IGF-I, y ciertas proteínas de adhesión como la fibronectina, que son desprendidos a través de sus membranas en forma de los gránulos α . Estos factores aparecen en la fase inicial del coágulo, y actúan quimiotácticamente sobre las MSCs y sobre los osteoblastos de revestimiento que se van acercando al foco de fractura pero en pequeñas cantidades en esta fase^(119, 84, 86). Las plaquetas van a contener también el mayor inhibidor de la plasmina, el α_2 -antiplasmina, por lo que su mayor producción retrasa la disolución de la red de fibrina creada⁽¹²⁰⁾. También aparecen IL1 e IL6 a partir de los linfocitos, y aparecen también en estas fases

tempranas las BMPs procedentes de la matriz extracelular del hueso adyacente y de los osteoblastos de revestimiento.

En este coágulo inicial, los productos de degradación producidos por la necrosis celular y los factores de crecimiento iniciales, atraen a los polimorfonucleares (PMNs neutrófilos), linfocitos y monocitos (que se transformarán en macrófagos, los cuales pueden permanecer varios meses en la zona de regeneración) que inician la fagocitosis de los productos de necrosis.

Marx⁽⁸⁴⁾ establece una extrapolación en humanos de los eventos observados experimentalmente de la regeneración en defectos óseos maxilofaciales rellenos con injertos óseos. Observaron que el ambiente que se produce en esta fase es de una disminución en el pH (4-6) y de la tensión de oxígeno (5-10 mm Hg) que atrae a los macrófagos y los PMNs al foco debido al gradiente de tensión en relación con el hueso adyacente (45-50 mm Hg). Sin embargo, esta disminución del pH también favorece la diferenciación condroblástica si se continúa en el tiempo⁽⁸¹⁾.

Entre los días 3 y 5 después del trauma inicial, va desapareciendo progresivamente la red de fibrina, se forma un **TEJIDO DE GRANULACIÓN**, que se mantiene hasta aproximadamente los 14 días. Se regeneran nuevos vasos, varios isotipos de colágeno (fundamentalmente tipo III) que forman una nueva red, y aparecen otras células (fibroblastos, linfocitos, monocitos y macrófagos) aumentando también la proporción de MSCs (fase celular del callo). Las plaquetas desaparecen como principales presentadores de GFs, siendo los **macrófagos** los principales productores de estas citoquinas. Los macrófagos, aparte del PDGF y TGF β , expresarían otros factores como el FGF y el VEGF que junto al TGF β , promoverían la angiogénesis (por la migración y proliferación de células endoteliales, y precursores de células endoteliales). El papel de los macrófagos en las fases iniciales de la osteogénesis no está bien estudiado hasta el momento^(71, 121).

Se considera que la penetración vascular en el hueso cortical es de 0,05 mm/día, y en el trabecular de 0,5 mm/día. Los FGF-2 inicialmente favorecerían la angiogénesis, pero de manera dosis dependiente, de tal manera que a dosis elevadas se promovería la fibrosis. Se ha observado que la utilización de VEGF recombinante humano estimula la neovascularización y la síntesis de DNA en conejos, pero no en primates; siendo descritas varias moléculas (angiogenina, IL8, TGF α ...) con capacidad angiogénica, aunque no se ha demostrado que todas ellas tengan alguna influencia en la formación ósea ⁽¹²¹⁾.

Otro modelo interesante para valorar la regeneración ósea es la que se desarrolla en el alvéolo postextracción. Adriens⁽¹¹⁶⁾ realizó una extrapolación al humano del cronograma de la curación postextracción observada experimentalmente. Inicialmente se produce un coágulo sanguíneo con formación de una red de fibrina, y a las 48 horas se produce hemólisis central del coágulo e inicio de la formación del tejido de granulación (migración al foco de PMNs neutrófilos, monocitos y fibroblastos). Al final de la primera semana existe un tejido con plexo vascular organizado, fibroblastos y fibras colágenas. Se inicia también la reabsorción del tejido óseo necrótico. En los bordes de la herida hay una proliferación del epitelio. Durante la segunda semana existe mayor proliferación del epitelio y mayor densidad de las fibras colágenas.

Al igual que ocurre en una herida en la piel, una herida endoósea sufre una contracción con el fin de acelerar la cicatrización reduciendo la herida. En el hueso esto es menos evidente, pero se realiza por acción de los fibroblastos al traccionar de la matriz extracelular y orientar las fibras de colágeno⁽¹¹⁰⁾.

2.2.-FASE DE PROLIFERACIÓN Y DIFERENCIACIÓN CELULAR

CRONOGRAMA: Migración, reclutamiento, adhesión y proliferación de células mesenquimales. Diferenciación de osteoblastos (14 días –final de la remodelación).

La proporción de las MSCs presentes en los canales óseos, endostio, periostio y médula ósea es variable a lo largo de la vida siendo de 1:100.000 en adolescentes, 1:250.000 a los 35 años, 1:400.000 a los 50 años y 1:2.000.000 a los 80 años, y se considera que el procedimiento de regeneración mesenquimal seguiría el mismo proceso de señales que suceden el periodo embriológico y que solo se diferenciaría la cantidad de MSCs. Estas células pueden acceder al foco de fractura desde los tejidos de alrededor(periostio y médula ósea) y la sangre. El ciclo celular de cualquier célula progenitora sigue 5 etapas de comportamiento^(122, 123):

-Activación : salida del estado quiescente de la MSC por acción de los factores reguladores.

-Proliferación: originada por factores mitogénicos.

-Migración : facilitada por diferentes factores reguladores e influenciada por factores biomecánicos y geométricos de la matriz.

-Diferenciación: progresión en el linaje en el que aparecen las diferencias morfológicas y moleculares específicas del linaje, terminando en la diferenciación celular en donde la célula

produce el tejido, que una vez formado va a indicar la maduración de esas células. Entre las variables biológicas que van a determinar el linaje celular de las MSCs se encuentran la tensión de oxígeno, el pH del fluido intersticial, la concentración de nutrientes, los estímulos mecánicos, la composición química de la matriz extracelular y por supuesto la concentración de determinados factores reguladores.

-Supervivencia o muerte: la apoptosis o muerte programada también es una forma de diferenciación.

Hay que tener en cuenta que la diferenciación celular es uno de los pilares en la reparación ósea y de hecho en enfermedades con una disminución de las células precursoras osteogénicas (p.ej. osteoporosis) influyen en la capacidad de reparación ósea. Por otro lado estas células osteoprogenitoras son indispensables en la regeneración debido a la imposibilidad de división y migración de los osteoblastos (aunque parece que tendrían una proliferación limitada) y también se considera que la movilidad de los osteoblastos está limitada a 0,4 mm (400 μ m), aunque pueden moverse a más distancia cuando existe una estructura previa de fibrina. Además, la vida media de los osteoblastos es de 8-10 días por lo que tienen que ser renovados constantemente por las MSCs. Estas células precursoras migran a través de una superficie implantada osteoconductiva o a través de las redes osteoconductivas de la matriz extracelular. En el caso de no existir un implante estas células son la vanguardia de las espículas de crecimiento óseo (p.ej. en distracción o en fractura ósea)⁽¹¹⁰⁾.

Los TGF β , PGE₂, IGF, y BMPs de la matriz extracelular actúan sobre las MSCs. Además estas MSCs producen TGF β , IGF, BMPs que de manera autocrina favorecen la diferenciación a osteoblastos y de manera paracrina la producción de proteínas óseas por parte de los osteoblastos ya existentes⁽⁸⁴⁾.

En el modelo de injertos óseos a los 14 días se equilibraría el gradiente de tensión de oxígeno entre zona de injerto y zona de hueso adyacente, disminuiría la angiogénesis y se aumentaría considerablemente la migración de MSCs y la diferenciación y proliferación de osteoblastos maduros. Parece ser que los componentes colágenos actuarían como presentadores de los factores de crecimiento moduladores a las células receptoras que llegan al sitio de fractura a partir de los bordes de fractura (espacios de médula ósea), el periostio y endostio. El TGF β inicialmente activaría la diferenciación de fibroblastos y la movilización de las células mesenquimales desde los tejidos adyacentes al foco de fractura. Parece también que inhibiría la

actividad osteoclástica y la formación de nuevos osteoclastos, limitando la reabsorción únicamente a la zona de hueso dañado por el trauma quirúrgico⁽⁸⁴⁾.

La diferenciación de los osteoclastos a partir de los macrófagos va a iniciar la reabsorción y renovación de la capa de hueso necrótico (aprox. 1mm) que se ha producido tras el trauma inicial. Este proceso inicial de reabsorción se produce a los 14 días después de colocar la fijación y se continua durante varios meses. Se ha descrito que alrededor de un implante se produce un daño óseo de 1mm, y para remodelar ese hueso alterado y rellenar el gap con hueso laminar es necesario al menos un ciclo de remodelación (1 sigma). En los conejos 1 sigma es 1,5 meses, en el perro de 3 meses, y en la especie humana de 4 meses, aunque dependiendo del tamaño del gap y la capacidad de regeneración^(76, 104). Parece que en el hueso trabecular el espesor de esta zona necrótica es menor que en el hueso cortical, por lo que no necesitaría un proceso de reabsorción y la regeneración perimplantaria sería más rápida.

MECANOBIOLOGÍA ÓSEA: La diferenciación de las células mesenquimales en la estirpe osteoblástica, se va ver también influenciada por **factores biomecánicos**, de tal manera que en traumatología se ha observado que fuerzas compresivas moderadas favorecen la regeneración del callo de fractura, via osificación endocondral. Al igual que en la distracción (donde existen fuerzas de tensión), si las fuerzas son excesivas y si además no hay suficiente aporte vascular la diferenciación va a ser fibrosa o fibro-cartilaginosa y no osteogénica. Las magnitudes o el límite de esas fuerzas compresivas todavía no están bien definidas.

El efecto del estrés biomecánico sobre las células puede ser de tipo volumétrico (estrés hidrostático), en el que no hay modificación de la morfología celular sino solo una exudación de líquido intracelular con modificación de su volumen, debido a aplicación de fuerzas tensionales o compresivas moderadas o discontinuas; o de tipo distorsional (estrés de cizalla octaédrica) en el que si existe una deformación morfológica de la célula, por aplicación de fuerzas tangenciales o de cizalladura, o por unas fuerzas tensionales o compresivas elevadas y/o continuas. Parece que las fuerzas distorsionales alterarían la estructura del citoesqueleto e inducirían la diferenciación mesenquimal hacia el linaje fibroblástico-cartilaginoso, mientras que las volumétricas o hidrostáticas favorecerían y acelerarían la diferenciación hacia el linaje osteoblástico⁽¹²⁴⁾.

2.3.-FASE DE FORMACIÓN ÓSEA

CRONOGRAMA: Formación de osteoide(matriz no mineralizada). Formación de hueso inmaduro: Hueso entrelazado (2ª semana – 6ª semana). Hueso de fibras paralelas (6ª-18ª semana).

El tipo de hueso inicial es el tejido osteoide y posteriormente el hueso inmaduro entrelazado o reticular, que derivado de la terminología traumatológica forma el “callo blando” La función de este callo es la de estabilizar los fragmentos de fractura; si los fragmentos son móviles el cartílago será predominante en el hueso neoformado debido a una formación endocondral. Por otro lado, en los defectos pequeños este callo blando se forma de hueso inmaduro formado de manera intramembranosa a partir de los bordes de fractura. En el caso de defectos más amplios o de huesos largos la zona central sería avascular con formación de cartílago y el hueso entrelazado solo estaría en las zonas periféricas posteriormente ese cartílago sería sustituido por hueso por un procedimiento de osificación endocondral (125).

Extrapolando estudios experimentales podemos valorar los tiempos de formación ósea en humanos(76). El primer tipo de tejido óseo que se forma es el **osteoide**, o matriz extracelular no mineralizada formado en su mayoría por colágeno tipo I que va a formar el andamiaje fundamental para la mineralización de la matriz. A medida que se va formando este osteoide algunos osteoblastos quedan incluidos en él diferenciándose en osteocitos

El osteoide es mineralizado progresivamente por un gran número de cristales de hidroxapatita relativamente pequeños, formando el **hueso inmaduro entrelazado** (2ª semana-6ª semana) en donde se deposita el 70% del mineral del hueso maduro. Su organización y el depósito del 30% restante puede durar varios meses. La mineralización de la red de colágeno se ve influenciada por la producción de los osteoblastos de proteínas como la ALP, FNN, OPN, BSP y trombospondina(71).

Una vez formado el hueso entrelazado, se inicia un proceso de aumento de mineralización y de compactación laminar alrededor de un vaso sanguíneo. Esa ordenación ósea puede ser una variante fina (osteona primaria), o de manera más basta (hueso en espiral) dando lugar a la osteona primaria o trabécula primaria que sigue estando formada por **hueso inmaduro de fibras paralelas** (6ª-18ª semana). Esta osteona o trabécula primaria de hueso inmaduro debe

pasar por un proceso de remodelado(18ª semana –54ª semana) para pasar a osteona secundaria que sí está formada por hueso laminar o haversiano(76).

En el modelo de injertos óseos se observó que la formación de hueso inmaduro entrelazado se observa a las 4 semanas. El proceso de maduración de ese hueso dura hasta los 6 meses aunque el aspecto de hueso normal llega a tardar en aparecer tras el remodelado hasta 6 años(84).

En el modelo de alvéolo postextracción se demuestra que a partir de la 4ª semana se forma el hueso inmaduro que va creciendo desde la zona apical hacia arriba por las paredes del alvéolo, y originándose de manera intramembranosa. Existiendo menor formación en el lado bucal que en el lado palatino. Entre las semanas 5ª y 7ª aparecen las primeras trabéculas formadas de hueso inmaduro. Después de 2 meses la curación es completada y se inicia la remodelación hacia hueso laminar que durará entre 6 y 12 meses. Parte del alveolo va a ser ocupado por un tejido de reparación(tejido fibroso) en vez de hueso(116).

La investigación sobre biología ósea está dirigiendo sus objetivos para conocer mejor las características del hueso inmaduro, y determinar las cantidades más adecuadas de hueso entrelazado y hueso de fibras paralelas que podrían soportar las cargas biomecánicas de cada situación clínica.

MECANOBIOLOGÍA ÓSEA: Los factores biomecánicos van también a influir en la producción de proteínas óseas por parte de los osteoblastos, en la fase de formación de nuevo hueso en la zona de fractura. Parece que la aplicación de fuerzas hidrostáticas moderadas (tensionales o compresivas) induciría la mayor deposición de estas proteínas, lo cual sería el fundamento de la más rápida formación ósea en los procesos de distracción histogénica. También sería el fundamento de aplicación clínica de la carga inmediata o precoz. El mecanismo molecular exacto y el tipo y cantidad de fuerzas a aplicar son todavía desconocidas, aunque en distracción hay unos valores de tensión o distracción más favorables, ya establecidos.

2.4.-FASE DE REMODELADO Y MODELADO ÓSEO

CRONOGRAMA: Formación de hueso laminar(18ª semana-54ª semana)

El remodelado es una reestructuración interna mediante la cual el tejido óseo envejecido(con microfracturas)ya existente es sustituido por un tejido óseo joven, para resistir de mejor forma las cargas biomecánicas, pero sin modificar la distribución espacial del hueso. En el modelado, sin embargo, no hay un recambio sino solo un cambio de tamaño y/o forma del hueso y puede ser anabólico(aposición) o catabólico(reabsorción) de manera superficial, pero no los dos procesos acoplados en la misma localización como ocurre en el remodelado. Este proceso se produce durante el crecimiento óseo hasta la edad adulta y también ante determinadas situaciones de carga (sobrecarga o atrofia) en el paciente adulto provocando una nueva reorientación del hueso. En los huesos maxilares no existe el modelado a nivel del endostio pero sí el que ocurre en las superficies periósticas. En ocasiones ambos conceptos de modelado y remodelado han sido confundidos(106, 72).

En el adulto, cerca de un 8% del tejido óseo es renovado anualmente. Esta cifra es superior en el joven e inferior en el anciano. El remodelado óseo se lleva a cabo mediante la acción sucesiva (acoplamiento) de osteoclastos y osteoblastos sobre una misma superficie ósea. Cada ciclo de remodelado consta de tres fases: reabsorción, reposo o inversión y formación (**Fig. 2**)(71).

El conjunto de osteoclastos y osteoblastos que de manera coordinada actúan en una superficie ósea durante un ciclo de remodelado recibe el nombre de **Unidad Multicelular Básica (BMU, por Basic Multicellular Unit)**(72). Las BMU se activan de manera asincrónica, por lo que mientras unos ciclos de remodelado se hallan en fase de reabsorción, otros se encuentran en fase de reposo o de formación. La BMU cortical (cono de corte) avanza unos 4000 μm a una velocidad aproximada de 20 $\mu\text{m}/\text{día}$, llevándole aproximadamente 200 días. La BMU trabecular (hemicono de corte) avanza la mitad de la distancia que la cortical, a la mitad de velocidad, en aproximadamente el mismo periodo de tiempo(127). Parece que una parte del remodelado es dirigido (“targeted”) por las microfracturas para lograr su reparación, mientras que otro remodelado es el denominado excedente o hipotético. Para explicar este segundo tipo de remodelado se han establecido diferentes causas: 1- Remodelado dirigido para la remoción de hueso hipermineralizado. 2- Remodelado dirigido que crece mas allá de su objetivo de reparación debido a situaciones hormonales y un mayor aporte de osteoclastos. 3- Proceso hipotético no dirigido(127).

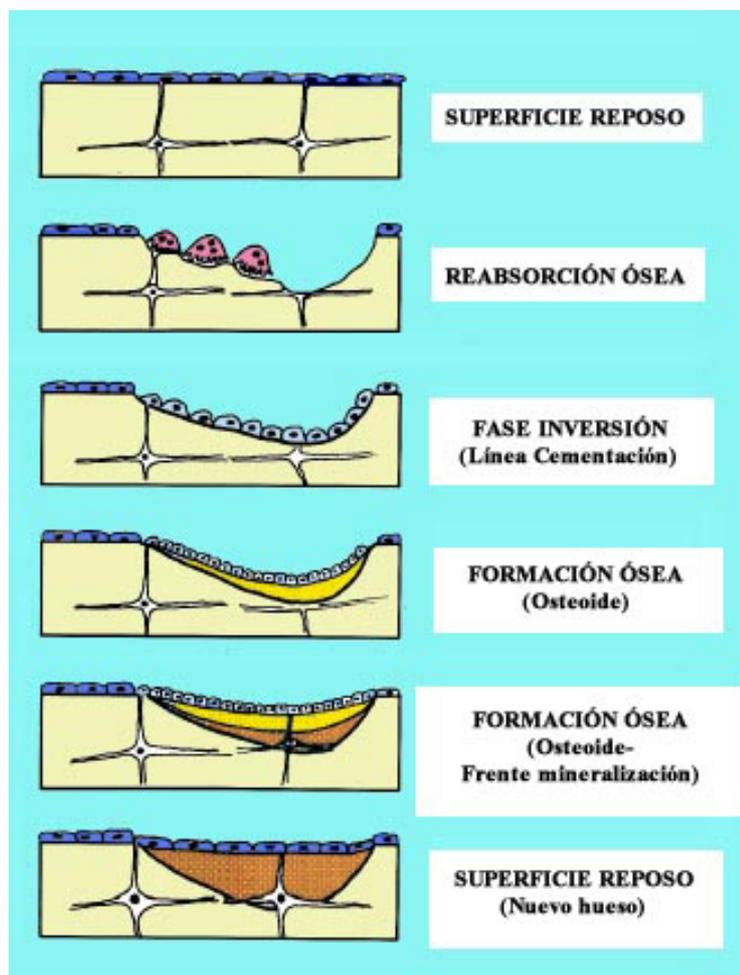


Fig. 2. Fases del remodelado óseo en trabécula ósea. Modificado de Mosekilde (126)

El nuevo segmento de tejido óseo que resulta de la acción de cada BMU se denomina **Unidad Estructural Ósea (BSU, por Bone Structural Unit)**. El límite entre el hueso preexistente y la nueva BSU es identificable morfológicamente como una línea ondulada y recibe el nombre de superficie de inversión, que indicaría el límite máximo de entrada de los osteoclastos en el hueso. La formación de tejido óseo no es continuo. La superficie que indica el límite entre el hueso depositado durante un período de actividad y el depositado durante el período siguiente se denomina superficie de parada y se distingue histológicamente como una línea basófila lisa. El número de superficies de parada aumenta con la edad. Tanto las superficies de inversión como las de parada se denominan como superficies de cementación (cement lines) (por la unión que hacen de estructuras óseas) (106).

Se denomina recambio óseo (bone turnover) al volumen total de hueso que es renovado por unidad de tiempo mediante el remodelado. El recambio óseo es directamente proporcional al número de ciclos de remodelado en curso o lo que es lo mismo, al número de BMU activas. La diferencia entre el volumen de hueso formado y el de hueso reabsorbido, por unidad de tiempo, se denomina balance óseo. Si la reabsorción y la formación son idénticas, el balance es igual a cero y el volumen total de hueso (masa ósea) no variará en función del tiempo. Si la formación y la reabsorción no son iguales, la masa ósea se modificará en sentido positivo o negativo. El balance óseo corresponde a la suma aritmética del hueso ganado o perdido en cada ciclo de remodelado. Así pues, una vez instaurado un balance positivo o negativo la velocidad a la que se perderá o ganará masa ósea será directamente proporcional al número de BMU activas. La remodelación va a ser de 5-10 veces más rápida en el hueso trabecular que el cortical.

La máxima masa ósea se alcanza a los 30 años de edad y depende de factores genéticos (p.ej. gen del receptor de la vitamina D) y ambientales (ingesta de calcio, ejercicio físico). De los 30 a los 40 años el balance óseo es igual a cero y la masa ósea permanece estable. A partir de los 40 años se instaura un balance negativo y la masa ósea disminuye de manera progresiva. En el hombre, la pérdida se realiza a una velocidad constante (un 0,5% anual) mientras que en la mujer se acelera durante los años de la menopausia. Esta pérdida "fisiológica" de masa ósea determina que al inicio de la octava década los hombres hayan disminuido su masa ósea en un 20% y las mujeres en un 30%^(74, 72).

El calcio obtenido a través de la dieta realiza varias funciones: servir como "material de construcción", como solutos de líquidos extra e intracelulares y como reguladores de ciertas enzimas. La absorción intestinal del calcio, se encuentra influida por la presencia de la vitamina D y más en concreto de sus derivados hidroxilados, como el 1-25 hidroxivitaminina D₃ considerada como una auténtica hormona esteroidea, regulada por su propia concentración, la PTH y las concentraciones plasmáticas de calcio y fósforo. Hay que considerar que el riñón tiene una limitada capacidad de ahorro del calcio, es decir que en el caso de que exista un bajo aporte dietético de calcio se produce un balance negativo que se compensará no con una menor calciuria sino con un aumento del estímulo de reabsorción ósea⁽⁸³⁾.

Regulación molecular de la diferenciación osteoclástica.

Los osteoclastos derivan de la células madre hematopoyéticas a través de células formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CFU, por Granulocyte-Macrophage

Colony Forming Units), que se diferencian para formar pre-osteoclastos (esa diferenciación fenotípica hacia osteoclastos parece que está influenciada por el factor de transcripción Pu.1, cuya activación no es bien conocida)(79). La PTH, la 1,25 dihidroxivitamina D, y también el factor de necrosis tumoral α (TNF α , por Tumoral Necrosis Factor) y la IL1 producidos por células inflamatorias actuarían sobre las células mesenquimales y preosteoblastos que producirían las IL11, IL 6, el factor de diferenciación osteoclástico (ODF, por Osteoclastic Differentiation Factor) y el factor estimulante de colonias de macrófagos(M-CSF, por Macrophage-Colony Stimulating Factor) que actuarían sobre los pre-osteoclastos para seguir la diferenciación y fusionarse con otros pre-osteoclastos y formar el osteoclasto(101, 128, 129).

En los preosteoclastos la IL6 activaría el factor de transcripción NF κ B (por Núcleo Factor Kappa B) y también los factores de transcripción Fos y Jun(AP-1) que repercute en la diferenciación de determinados genes que transforman el preosteoclasto en osteoclasto. Esta IL-6 es inhibida por los estrógenos y la testosterona. En la menopausia la disminución de estrógenos favorecería la osteoclastogénesis

El ODF, también llamado Ligando RANKL(por Receptor Activator Nuclear factor Kappa Ligand) se encuentra en las membranas de preosteoblastos, MSCs, y linfocitos T. Parece que su formación en las membranas está relacionado con la expresión del factor de transcripción Cbfa1(94). Se une en el pre-osteoclasto al receptor RANK y es también un activador del NF- κ B del preosteoclasto y puede ser bloqueado por la osteoprotegerina (OPG) evitando que se una al RANK (Fig. 3)(93).

Tanto en los preosteoclastos como en los osteoclastos existen también receptores para la calcitonina que inhibiría la reabsorción(104).

La adhesión de las células de estirpe osteoclástica a la matriz es posible porque expresan en su membrana moléculas de adhesión de la familia de las **integrinas**. La integrina $\alpha_2 \beta_1$ interacciona con el colágeno y la integrina $\alpha_v \beta_3$ con la vitronectina, osteopontina y sialoproteína ósea. Esta unión con las proteínas de la matriz se realiza a través del péptido RGD, y esta unión parece que también transmitiría señales de transducción. También intervendrían otras proteínas de adhesión en la membrana del osteoclasto como las anexinas y caderinas todavía en estudio(104).

Después de esa adhesión, la activación del gen c-*Src* provoca la formación del osteoclasto polarizado maduro, y otras proteínas como la OPG inhibirían esa diferenciación final. Para terminar la maduración es necesario la presencia exterior de moléculas inductoras(óxido nítrico, hidrogeniones, peróxido de hidrógeno) a través de las cuales la célula empieza a sintetizar enzimas proteolíticas (metaloproteinasas, catepsina K, TRAP, anhidrasa carbónica tipo II)(130).

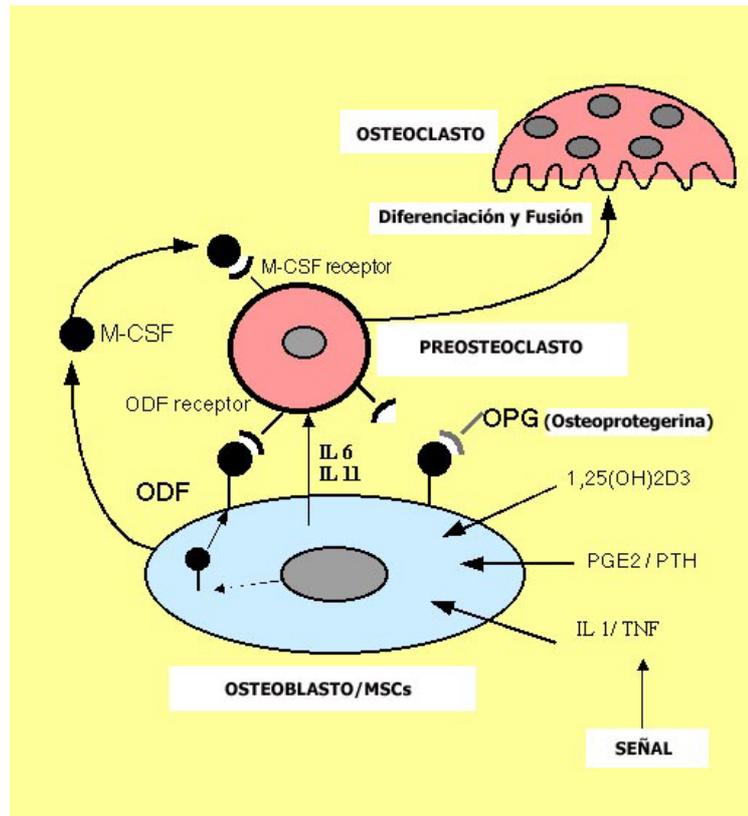


Fig. 3. Diferenciación de osteoclastos. Modificado de Forwood (129)

La remodelación ósea consta de 4 fases fundamentales:

I/ FASE DE REPOSO:

Los huesos están cubiertos por una capa delgada de células superficiales o de revestimiento, aparentemente inertes, aplanadas, con un grosor de 0.1 a 1 μm , con un diámetro de 50 μm y son representantes de la transformación terminal de osteoblastos, los cuales probablemente conservan restos de receptores hormonales y de respuesta a los estímulos, pero no pueden sintetizar colágena, impidiendo esta carencia el que se les pueda llamar osteoblastos en reposo; al parecer también pueden retener la función de precursores celulares osteogénicos.

Estas células son activadas por los osteocitos por transducción de impulsos mecánicos y piezoeléctricos y o por la liberación de factores de crecimiento, induciendo citoquinas que diferencia y atraen a los osteoclastos, de tal modo que se retraen permitiendo el acceso de los osteoclastos al compartimento de la matriz mineralizada₍₇₄₎.

II/ FASE DE REABSORCIÓN (1-2 meses). En el hueso compacto los osteoclastos, partiendo de un canal de Havers o de Volkmann, excavan un túnel de sección circular. Por esta razón las BSU corticales, llamadas también osteonas, tienen forma cilíndrica o de cono que estarán

centradas por un nuevo canal de Havers. En la remodelación del hueso esponjoso los osteoclastos labran, en la superficie de las trabéculas, excavaciones poco profundas y de base ancha. Por esta razón las BSU trabeculares llamadas también lagunas de Howship tienen forma de lente planoconvexa.

El avance del cono de corte de la osteona secundaria se realiza a una velocidad de unos $30\mu\text{m}/\text{día}$ en el hueso cortical y de $0,6\mu\text{m}/\text{día}$ en el hueso trabecular, dura de 1-2 meses en humanos. Los osteoclastos de las nuevas osteonas dejan un límite periférico ondulado a su paso que diferencian a una osteona primaria de la secundaria cuando se observan cortes histológicos⁽⁷⁶⁾.

Los osteoclastos primero solubilizan el mineral y luego se encargan de la matriz orgánica mediante enzimas ácidas lisosomales. El mineral se solubiliza acidificando el microambiente creado entre la matriz ósea y la membrana fruncida del osteoclasto. La acidificación ($\text{pH}=4$) se logra bombeando hacia el hueso los protones H^+ . En el citoplasma de los osteoclastos la anhidrasa carbónica tipo II cataliza la reacción entre el CO_2 y el H_2O dando lugar a CO_3H_2 que se disocia en CO_3H^- y H^+ . El H^+ es bombeado activamente hacia la matriz ósea a través de la membrana plegada mediante una bomba de protones dotada de una ATPasa específica. El CO_3H^- es expulsado fuera de la célula a través de la superficie opuesta donde es intercambiado activamente en la célula por Cl^- . El Cl^- no se acumula en el interior del osteoclasto puesto que es expulsado mediante canales específicos del borde plegado, hacia la matriz ósea donde se une a los H^+ , originando finalmente HCl que disuelve la matriz mineral. El bloqueo de tales canales está marcando líneas de investigación para desarrollar fármacos que inhiban la reabsorción ósea^(104, 82).

Una vez eliminado el mineral, la matriz orgánica es digerida por colagenasas ácidas y otras enzimas proteolíticas de origen lisosómico, cuyos productos migran por endocitosis al lado opuesto a la reabsorción. La TRAP es capaz de defosforilar la osteopontina y la sialoproteína ósea por lo que podría facilitar los movimientos de la célula al separarla de estas proteínas de la matriz. Cuando se ha completado el proceso de reabsorción los osteoclastos mueren por apoptosis. Los núcleos se hacen más pequeños e hiper cromáticos y se fragmentan hasta desaparecer y el citoplasma aumenta su acidofilia y se retrae. Estos restos celulares serán fagocitados por células macrofágicas. In vitro la apoptosis de los osteoclastos es promovida por factor de crecimiento tumoral beta ($\text{TNF}-\beta$, por Tumoral Necrosis Factor- β). La profundidad de la erosión de la reabsorción va a depender del tiempo a que esté predefinida la apoptosis, todavía desconocido,

aunque de manera habitual tiene un espesor de 50µm en las trabéculas, y una longitud de 100 µm en las osteonas. En las cavidades de reabsorción también se observan otras células mononucleares, que realizan el último tercio de la reabsorción y su función no está del todo clara. Parece que el calcio liberado durante la reabsorción puede penetrar en el interior del osteoclasto a través de canales de Ca^{++} situados en la membrana plegada e inhibir la actividad reabsortiva de estas células⁽¹³⁰⁾.

III/FASE DE INVERSIÓN: Es un periodo de aparente inactividad en la que se sustituyen los osteoclastos por osteoblastos(1-2semanas). Se produce el llamado "acoplamiento" en el que los preosteoblastos son transformados en osteoblastos, y sustituyen a los osteoclastos. No se conoce con exactitud el mecanismo por el cual se activan los osteoblastos y se realiza la iniciación del fenómeno de acoplamiento⁽¹⁰⁶⁾.

Mundy ha propuesto un modelo para conocer el mecanismo de activación de los preosteoblastos. Estaría mediado por el $TGF\beta$, mecanismo que probablemente siguen otros factores. El $TGF\beta$ está unido en la matriz a una proteína de unión, que lo protege contra la proteólisis en el ambiente de pH ácido, por debajo del osteoclasto. Esta proteína liberará el péptido cuando aumente el pH en el exterior del borde rugoso al desaparecer los osteoclastos. El $TGF\beta$ liberado puede estimular, entonces, el reclutamiento de osteoblastos próximos. Es inherente a este modelo un mecanismo que mantiene el equilibrio entre resorción y formación, es decir, cuanto más se eliminan los osteoclastos, más TGF -beta es liberado y más osteoblastos nuevos son reclutados para depositar hueso nuevo⁽¹³¹⁾.

IV/ FASE DE FORMACIÓN. Esta fase dura unos 3 meses en humanos y se realiza la deposición de un nuevo hueso. Los osteoblastos depositan en primer lugar una línea de cementación(superficie de inversión) y seguidamente una matriz ósea no mineralizada que forma una capa de unas 10 micras de espesor denominada ribete de osteoide. Entre el depósito de osteoide y su mineralización existe un tiempo de demora de unos 10 a 20 días (Mineral Lag Time). Durante este periodo la matriz ósea sufre cambios en su composición y estructura que la hacen apta para el depósito de mineral (maduración de la matriz). La mineralización se inicia en la interfase entre el osteoide y el hueso mineralizado preexistente y avanza hacia la superficie a lo largo de un plano de barrido de 2 a 3 micras de espesor. Este plano, integrado en parte por mineral amorfo no bien organizado, se denomina frente de mineralización. A medida que este frente se desplaza va dejando tras de sí matriz ósea mineralizada en forma de cristales de

hidroxiapatita. Una vez completado el depósito de hueso los osteoblastos que no se han incorporado a la matriz se aplanan y pasan a formar parte del endostio (lining cells). Con este proceso el hueso alcanza en pocos días un 70% de su mineralización máxima. A continuación se iniciaría una mineralización secundaria que dura de 3 a 6 meses y termina cuando el hueso ha alcanzado el 90-95% de su mineralización⁽¹⁰⁶⁾.

El frente de mineralización es la zona que queda marcada por tetraciclinas en el caso de realizar un estudio con histomorfometría ósea dinámica. Estas sustancias tienen la capacidad de unirse al mineral amorfo de los frentes pero estos antibióticos no tienen afinidad por los cristales de hidroxiapatita. Además son sustancias visibles de manera fluorescente cuando se les aplica luz ultravioleta. De esta manera y mediante dos marcajes separados en el tiempo se puede cuantificar el grado de aposición mineral tras el estudio histológico.

Aproximadamente entre 100 y 150 osteoblastos ocupan la superficie de un osteoclasto. Parece que la capacidad para rellenar totalmente la cavidad depende más de la capacidad de diferenciación osteoblástica a partir de las MSCs que del número de osteoblastos de revestimiento que estuviesen fijados a la línea de cemento antes de iniciarse el proceso de formación. Al final de la fase de formación los osteoblastos se transforman en células de revestimiento y muchos de ellos se eliminan mediante un mecanismo apoptótico⁽¹⁰³⁾.

MECANOBIOLOGÍA ÓSEA: A finales del siglo XIX Wolff estableció la relación entre la función y la morfología del hueso, de tal forma que el estrés biomecánico definiría la arquitectura ósea según leyes matemáticas. Se ha demostrado posteriormente que esto es así, aunque no se esté tan de acuerdo en que exista una correlación matemática. En cualquier caso la cantidad y morfología de hueso viene influido por su modo y cantidad de función. Hay una serie de preguntas que se establecen en relación con la asociación entre el remodelado y las cargas biomecánicas: ¿Cuál es el mecanismo exacto por el cual las células (osteocitos y células de revestimiento) detectan esas cargas biomecánicas, e inician el remodelado? ¿Qué tipo y cantidad de cargas inducen a las células a iniciar la remodelación con aumento de la aposición? ¿Qué tipo y cantidad de carga establece el umbral entre una sobrecarga moderada con aumento de la aposición ósea, y la sobrecarga patológica? ¿Cuál sería el tipo y la cantidad de carga ideal a aplicar para cada localización anatómica, y así conseguir el hueso de mejores propiedades biomecánicas?.

Las cargas aplicadas sobre el hueso se suelen establecer en medidas de deformación en microdeformaciones ($\mu\epsilon$ por microstrains), que es un ratio entre la longitud de un objeto sometido a estrés, y la longitud original del objeto. En esta escala matemática se define una deformación (definida como tensión o strain) como una teórica deformación del 100% y $1000\mu\epsilon$ una deformación del 0,1% (132). Según Frost el hueso tendría un control (similar a un termostato) mediante el modelado y el remodelado, que lo permitiría acoplarse a las condiciones de cargas que recibe del exterior (“teoría del mecanostato”). Según esta adaptación en las BMU, la diferencia entre la cantidad de hueso reabsorbido y el hueso depositado vendría expresado por la “fracción rho” (ρ) (133). Un ρ positivo indica un incremento de la deposición ósea mientras que un ρ negativo un incremento de la reabsorción. Wiskott se basó en esta teoría del mecanostato para determinar 5 categorías. Estos rangos se establecieron mediante estimaciones teóricas de la influencia de las cargas en el hueso, ya que los rangos exactos son difíciles de aplicar por influencia de diferentes parámetros (densidad ósea, frecuencia de carga, historial de las cargas aplicadas, gradientes de carga, repercusión de factores locales u hormonales...) (132):

-Desuso (mayor reabsorción ósea): Se produce con unas cargas menores a $100 \mu\epsilon$. El índice ρ es negativo por una mayor fase de reabsorción en los ciclos de remodelado.

-Carga fisiológica normal (homeostasis ósea): En el rango $100-1500 \mu\epsilon$. La fracción ρ es cero.

-Sobrecarga media (mayor aposición ósea): En el rango $1500-4000 \mu\epsilon$. El ρ es positivo.

-Sobrecarga patológica (Daño óseo irreversible): Por encima de $4000 \mu\epsilon$ (0,4% de deformación). Aparecen fenómenos de movilidad y grietas por fatiga. Aunque no está del todo aclarado, se ha establecido en estudios de elementos finitos, que se produce un aumento de la remodelación con mayor fase reabsortiva, apareciendo un ρ negativo. En el hueso perimplantario este fenómeno se traduciría en una zona radiolúcida con movilidad del implante, que previamente estaba osteointegrado.

-Fractura: La resistencia a la flexión del hueso es aproximadamente de 120 Mpa , lo que se corresponde a una deformación de $20.000 \mu\epsilon$.

Se ha establecido más definitivamente que tanto el desuso como la sobrecarga media ósea aumentarían la remodelación, en un caso con un aumento de la reabsorción y en el otro de aposición. Se ha establecido la hipótesis de que los osteocitos, como mecanosensores, mantendrían continuamente una señal inhibitoria (de naturaleza molecular desconocida) con las

células de revestimiento para que no se inicie la remodelación. Parece que las cargas normales mantendrían esa señal inhibitoria, y al tener un desuso importante desaparecería esa señal favoreciendo la remodelación. Por otro lado en casos de sobrecarga moderada existirían microfracturas que podrían inducir la apoptosis de los osteocitos, o eliminar la comunicación osteocito-célula de revestimiento, que también rompería la señal inhibitoria⁽¹⁰³⁾.

Otro mecanismo de activación local de la remodelación se produce cuando hay una necrosis de los osteocitos(p.ej. en traumatismo o en la colocación de un implante) por lo que dejarían de mandar a las células de revestimiento la señal de inhibición que impiden el remodelado, y por lo tanto activándolo⁽¹⁰³⁾. También la reducción de estrógenos(menopausia) induciría la apoptosis de los osteocitos aumentando la remodelación y haciendo que la fase de reabsorción sea más grande en extensión que en condiciones normales. Parece además que la comunicación de las células de revestimiento al “sincitio osteocitario”, evitarían que esos osteoblastos desaparezcan por apoptosis una vez que terminan de formar hueso.

Sin embargo hay estudios que demuestran la existencia de una densidad de osteocitos y ocupación lagunar elevada no solo en osteonas quiescentes sino también en osteonas en fase de remodelado(reabsorción o formación). Estos hallazgos limitarían la “teoría inhibitoria” de tal forma que los osteocitos no solo tendría un efecto inhibitor de la osteoclastogénesis sino también un efecto promotor⁽¹³⁴⁾.

La teoría inhibitoria de la comunicación osteocito-célula de revestimiento, podría ser también aplicada al proceso de modelado. Sin embargo la misma señal que puede aumentar el remodelado, puede disminuir el modelado en función de la localización anatómica o ultraestructural (p. ej. acción diferente en periostio/endostio que en un canal de Havers). Así en localizaciones periósticas, las modificaciones de esa señal podría generar un proceso de modelado en vez de remodelado, de tal forma que las células de revestimiento recibirían una señal que las induciría directamente al fenotipo osteoblástico(modelado anabólico) o a producir moléculas que diferencien osteoclastos(modelado catabólico). Por ejemplo, un aumento moderado de la carga biomecánica detectada por los osteocitos cercanos a una localización perióstica, produciría una perdida de la señal inhibitoria entre osteocitos-células de revestimiento que en esta localización no va a producir el inicio de la remodelación sino un proceso directo de diferenciación fenotípica osteoblástica, que originaría un proceso de modelado anabólico en esa zona. Por otro lado, una falta de cargas provocaría un efecto de modelado catabólico directo con reabsorción ósea⁽¹⁰³⁾.

III.3-DISTRACCIÓN ALVEOLAR HISTOGENICA

3.1.- CONCEPTO. INDICACIONES. VENTAJAS Y COMPLICACIONES

La distracción histogénica se define como la creación de hueso neoformado y tejidos blandos adyacentes, tras el desplazamiento gradual y controlado de un fragmento óseo obtenido mediante osteotomía quirúrgica. Se ha descrito que bajo la influencia de estrés tensional se han formado diversos tejidos además del hueso, como mucosa, piel, músculo, tendones, cartílago, vasos sanguíneos y nervios periféricos^(135, 26, 27).

Fue en el campo de la ortopedia y la traumatología donde se iniciaron las investigaciones en distracción histogénica. El primero en describir esta técnica fue Codivilla⁽¹³⁶⁾ en 1905, aplicándolo en las extremidades inferiores, donde después de una osteotomía femoral sometía a los fragmentos a una fuerte tensión mediante clavos fijados en el hueso. Sin embargo, el gran impulso lo realizó a partir de los años 50 el traumatólogo ruso Ilizarov^(26, 27). con el diseño de nuevos aparatos de distracción y los estudios de determinación de índices de distracción. Estableció los llamados *efectos Ilizarov*: 1/ la tracción gradual de los tejidos crea estrés que activa el crecimiento y la regeneración tisular (ley de tensión-stress) y 2/ la forma y la masa ósea va estar influenciada por la carga mecánica y el aporte sanguíneo. Ilizarov realizó distracción tibial en 120 perros. Observó que un índice de distracción de 0,5 mm/ día originaba una consolidación prematura del hueso. Un índice de 1mm/día conseguía los resultados óptimos de formación ósea, y un índice de 2 mm/día originaba un tejido fibroso. En cuanto a la frecuencia de distracción observó los mejores resultados cuando la distracción se aplicaba en 60 veces/día, con relación a cuando se aplicaba 4 veces/día o 1 vez/ día, es decir, defendía la aplicación continua de la tensión. Ilizarov también demostró que el fenómeno de distracción también se produce de manera transversal al eje longitudinal del hueso, lo cual es de relevancia en la distracción de la cresta alveolar.

En el ámbito maxilofacial, en 1973 Snyder⁽¹³⁷⁾ realiza los primeros estudios experimentales en mandíbula de perros, y es en 1992 cuando McCarthy⁽¹³⁸⁾ realiza la primera distracción mandibular en humanos mediante un distractor extraoral en casos de microsomía hemifacial. En 1996 Block⁽²⁹⁾ realiza la primera distracción alveolar en perros y en ese mismo año Chin⁽³⁷⁾ describe el primer distractor alveolar aplicado a defectos alveolares en humanos tras la pérdida dental por traumatismo. Actualmente existen distintos aparatos de distracción para

aplicación oral y maxilofacial. De tal modo que existen distractores mandibulares, maxilares, mediofaciales, craneales, y alveolares.

La tracción genera tensión que estimula la formación de nuevo hueso paralelo al vector de la distracción. Parece que esta tensión favorecería la formación de vasos sanguíneos, lo cual conllevaría la invasión del tejido fibroso creado por células mesenquimales indiferenciadas. Existen 2 tipos básicos de distracción: La callotaxis, que es la distracción del callo de fractura, y la distracción fisiológica que es la distracción epifisaria o de las plataformas de desarrollo óseo: Epifisiolisis distraccional (tracción rápida: 1-1,5 mm/día) y condrodiastasis (tracción lenta: 0,5mm/día)⁽²⁶⁾. En cirugía implantológica nos interesa el concepto de callotaxis y más en concreto el de callotaxis monofocal para regenerar tejidos de manera lineal. Cuando se reconstruyen defectos segmentarios se utiliza la distracción bifocal o trifocal. (**Fig. 4**).

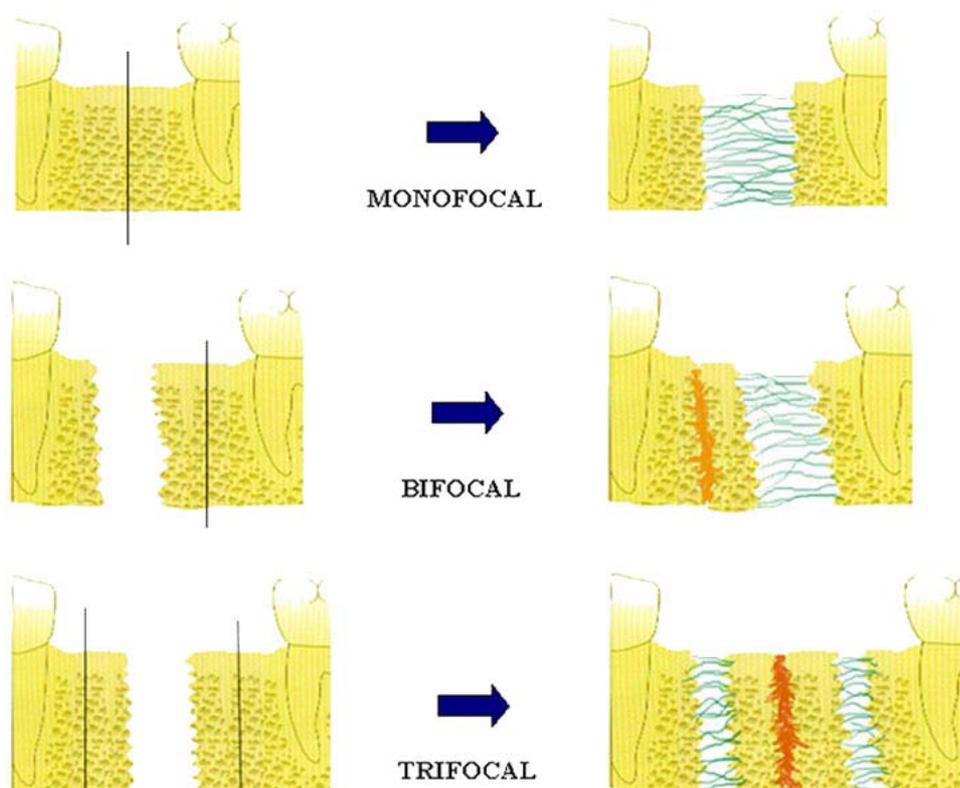


Fig. 4. Tipos de callotaxis.

El reborde alveolar puede presentar reabsorciones de diferente grado en función de diversas causas: traumatismos alveolares con pérdida de sustancia, deformidades congénitas o del desarrollo (p. ej. fisura labiopalatina), reabsorción severa por edentulismo de larga evolución, resecciones quirúrgicas etc...

Para la reconstrucción implantológica es deseable la regeneración de tejidos duros y blandos previo a la colocación de las fijaciones para posteriormente obtener unos buenos

resultados biomecánicos y estéticos. Como alternativa a la distracción hay diversas técnicas: Regeneración ósea guiada (autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos o materiales aloplásticos), injertos en onlay ,injertos de tejido conectivo, elevaciones del suelo sinusal o nasal, transposiciones del nervio dentario inferior, implantes transmandibulares o transcigomáticos etc. Todas ellas con importantes limitaciones en cuanto a los resultados clínicos. Hay una serie de **indicaciones** clínicas donde se recomienda el uso de la distracción alveolar⁽⁵³⁾.

-Atrofia severa de la cresta edéntula, teniendo en cuenta que se requieren al menos 8 mm de altura ósea para colocar implantes.

-Deficiencias segmentarias de la cresta alveolar que no ofrecen las características apropiadas para la colocación de implantes por razones estéticas o por razones funcionales (índice desfavorable corona-implante).

-Crestas alveolares estrechas, donde se puede aplicar distracción horizontal.

-Translación vertical gradual de dientes anquilosados, cuando el movimiento ortodóncico no es posible o no ha tenido éxito.

-Translación vertical gradual de un implante osteointegrado con el hueso alveolar que lo rodea.

Las **ventajas** que ha aportado la técnica de transporte de tejidos asociada al tratamiento con implantes dentales son ^(42, 139):

-Se produce una regeneración de tejidos blandos y duros, mejorando las relaciones biomecánicas y estéticas a posteriori, así como las relaciones periodontales con dientes adyacentes en defectos segmentarios.

-No existe morbilidad de zona donante, simplificando la intervención quirúrgica.

-Existe menor posibilidad de exposición de los tejidos duros, en comparación a las técnicas de injerto y menor posibilidad de reabsorción del injerto.

-Se consigue un volumen de tejidos duros y blandos más predecible que las técnicas de regeneración ósea guiada o mediante injertos tipo onlay.

-En el fragmento que se transporta se pueden incluir dientes o implantes, de tal forma que se pueden corregir defectos oclusales o estéticos.

-El período de consolidación ósea es menor que en las técnicas alternativas disminuyendo la duración total del tratamiento.

-Permite la utilización de técnicas complementarias cuando el resultado no es totalmente satisfactorio.

Hay sin embargo una serie de posibles **complicaciones y desventajas** que se han descrito en los procedimientos de distracción alveolar^(42, 69, 139):

- Infección de la cámara de distracción: Para prevenirla se requiere tratamiento profiláctico antibiótico e irrigación local de la zona.
- Fracturas del hueso transportado o el basal: En caso de ocurrir se debe suspender el proceso de distracción y fijar los fragmentos con miniplacas. Se deben utilizar escoplos muy finos o bien espátulas de cemento para realizar la osteotomía de la cortical lingual.
- Consolidación prematura. Puede ser originada por una osteotomía incompleta, por un índice de distracción lento o por aparecer un incompleto vector de distracción. Se requiere la reentrada y una nueva osteotomía.
- Retraso de consolidación y no-unión fibrosa: Posiblemente debido a una falta de estabilización. Se retrasará un tiempo la retirada del distractor en espera de la consolidación. En el caso de la no-unión fibrosa se realizará un desbridamiento de la zona y reconstrucción con otras técnicas de regeneración.
- Ligera reabsorción del fragmento transportado: Se recomienda una sobrecorrección de 1-2 mm para compensarla.
- Dehiscencias de la herida. Para prevenirlas se deben regularizar los bordes cortantes del fragmento a transportar, y en caso de producirse hay que resuturar los tejidos blandos para impedir la infección de la cámara de distracción.
- Inestabilidad del distractor: puede ser debido a la existencia de un hueso de baja densidad, dehiscencias del tejido blando, o al diseño del distractor utilizado.
- Desviaciones del correcto vector de distracción: Puede ser corregido mediante férulas o aparatos ortodóncicos de corrección. En la mandíbula la lingualización del vector de distracción que se produce por efecto de la musculatura lingual, debe ser corregido para evitar la formación ósea hacia lingual.
- Interferencias oclusales entre la parte transmucosa del distractor y la arcada antagonista. Se puede corregir mediante el corte de la estructura metálica del distractor o mediante la fabricación de férulas de aumento de mordida.
- Alteraciones neurológicas: Por compresión o sección de los ramos neurológicos mandibulares durante la realización de osteotomías o por compresión producida por los tornillos de retención. Pueden aparecer en forma de parestesias o disestesias.
- Fracturas del distractor: Por interferencias oclusales con la arcada antagonista.
- Elevado coste de los distractores.

3.2.-BIOLOGÍA TISULAR EN DISTRACCIÓN HISTOGÉNICA

En el proceso de distracción se producen una serie de mecanismos biológicos muy similares a los que ocurren en la curación o regeneración ósea normal, pero con algunas diferencias peculiares y determinantes en el resultado.

Karp y cols⁽¹⁴⁰⁾ realizaron el primer estudio histológico en un modelo de elongación mandibular de perro con valoración a los 10 y 20 días de fase de distracción y a los 14, 28 y 56 días de fase de consolidación. Observaron una serie de estadios o zonas en el proceso: desde el interior del gap a los bordes de hueso inicial, muestra una *zona de tejido fibroso* central con fibras colágenas paralelas al vector de distracción, células husiformes similares a fibroblastos y MSCs; una *zona de formación ósea* entre el tejido fibroso con formación de espículas óseas recubiertas de osteoblastos; una tercera *zona de remodelación ósea* con avance de campos de reabsorción y aposición y finalmente una *zona de hueso maduro* con formación de hueso cortical.

En el proceso de distracción, existen 3 fases secuenciales fundamentales, en las cuales se producen diferentes fenómenos biológicos, que han sido estudiados experimentalmente en huesos de origen endocondral y también intramembranoso^(71, 26, 27, 141, 61).

1-Fase de Latencia: periodo de tiempo entre la realización de la osteotomía y el inicio de la tracción, en donde se forma el callo blando. Suele aplicarse en un rango entre 0 y 7 días y coincide con los iniciales eventos que se dan en un proceso de reparación ósea normal. Histológicamente el coágulo inicial se convierte a los 3 días en un tejido de granulación (células inflamatorias y fibroblastos) y cada vez se hace más fibroso por la presencia de colágeno y más vascular por la aparición de nuevos capilares. En esta fase se inicia el reclutamiento de las MSCs a partir de la médula ósea y el periostio adyacentes⁽¹⁴¹⁾.

2- Fase de Distracción: periodo en que se aplica la tracción sobre el fragmento a transportar y se inicia la formación del nuevo hueso inmaduro (WB). Se suele realizar durante 1 ó 2 semanas y la tracción modifica el normal desarrollo del proceso de regeneración. Se forma un “microambiente dinámico” que conlleva la formación de tejido de manera paralela al vector de tracción. Hay un aumento y prolongación de la angiogénesis y un incremento en la proliferación de células

husiformes similares a fibroblastos (spindle-shaped fibroblast-like cells) que presenta una variación fenotípica (hipertrofia de los filamentos intermedios citosólicos con apariencia alargada de la célula). Este tipo de células husiformes se sitúan periféricamente y a lo largo de los vasos produciendo más colágeno de manera paralela al vector de distracción y ultraestructuralmente se caracterizan por un aumento del retículo endoplásmico en el citoplasma y aumento del nucleolo en el núcleo⁽¹⁴¹⁾. En su mayoría se trata de colágeno tipo I, que junto con el aumento angiogénico avalaría la teoría que mientras existe tensión se favorecería la osificación intramembranosa y no endocondral⁽¹⁴²⁾. Se ha visto también que estas células son capaces de expresar OCN, OPN y ALP y por tanto evidenciar cierta diferenciación osteoblástica. Se establece la hipótesis que la aplicación de tensión favorecería la transdiferenciación de condroblastos y fibroblastos a osteoblastos. Así, la tensión hace que los condroblastos expresen colágeno tipo I en vez de colágeno tipo II⁽⁵⁸⁾. Sin embargo, el colágeno tipo I, como enucleador de los cristales de hidroxiapatita es muy sensible a la cantidad de carga que recibe. De esta manera, la microarquitectura del colágeno es alterada, produciéndose un desensamblaje de las fibras y se produce menor deposición de hidroxiapatita cuando es sometido a cargas elevadas (>20.000 μE)⁽¹⁴³⁾.

En cualquier caso, hoy en día es desconocido si la aceleración en la maduración del callo óseo que se produce en la distracción es debido a una rápida maduración de la malla de colágeno y por tanto una mayor superficie para el depósito de osteoide, o bien es debido a los efectos estimuladores que mejoran la proliferación de osteoblastos. En otras palabras, no se sabe si es debido a un incremento en el número de osteoblastos reclutados, o bien es debido al aumento de la actividad de síntesis de cada célula individual, o bien es debido a ambos factores a la vez.

El incremento de crecimiento vascular es diez veces mayor que en una reparación normal, aportando a la zona fibrosa un incremento de células mesenquimales que se diferenciarán en condroblastos (más evidentes en huesos largos) y osteoblastos. Los osteoblastos presentan un aumento del número y el tamaño de las mitocondrias, así como un aumento de las cisternas del retículo endoplásmico con aumento de ribosomas. La distracción diaria alinea las fibras de colágeno en paquetes paralelos que canalizan los vasos en crecimiento y las células perivasculares en compartimentos longitudinales. El estudio histoquímico realizado por Ilizarov^(26, 27) demostró también que en esta fase existe un aumento de la ALP, aumento del ácido pirúvico, y aumento del ácido láctico (productos del metabolismo enzimático). Parece que esa tensión moderada y controlada que ejerce el distractor en el tejido de granulación produciría una mayor diferenciación de las MSCs en osteoblastos, y por otro lado favorecería la mayor producción de proteínas óseas por parte de los osteoblastos^(124, 141).

Se inicia la formación de material osteoide en forma de láminas finas y alargadas entre las fibras paralelas de colágeno y ocupando las islas cartilaginosas (en caso de áreas de formación endocondral) desde las paredes óseas hacia el centro del gap de distracción, y al final de la 2ª semana de la distracción empiezan a mineralizarse esas láminas formando hueso inmaduro (WB). Radiográficamente, en la elongación mandibular la primera evidencia de formación ósea es al final de esta fase, observándose de manera periférica a la zona radiolúcida-fibrosa y progresando hacia el gap central.

En el estudio de Karp⁽¹⁴⁰⁾ se observó que 14 días después del final de la distracción las trabéculas óseas se hacían más largas y gruesas hacia el centro del gap de distracción, y al mes después de la distracción se observaba una continuidad de puentes óseos entre ambos extremos óseos originales. A los 2 meses después de la distracción todo el gap inicial estaba ocupado por hueso mineralizado, existiendo áreas de remodelado principalmente en zonas corticales densas.

Hay que tener en cuenta que tanto en la fase de distracción como en la de consolidación es necesario la inmovilización del fragmento óseo a distraer, así como del callo blando del gap de distracción. Movimientos en la zona provocarían la interrupción de la microcirculación con lo que las células pluripotenciales se diferenciarían a condroblastos que requieren menos oxigenación en su formación. Por otro lado, es indispensable el continuo aporte sanguíneo facilitado por un manejo quirúrgico cuidadoso del periostio (y del endostio en distracción de huesos largos)^(26, 27).

Teniendo en cuenta los beneficios para la regeneración que produce la compresión en un callo de fractura, Mofid y cols⁽¹⁴⁴⁾ han modificado experimentalmente el protocolo establecido por Ilizarov. De esta manera utilizando con modelo de elongación de mandíbula de conejo, realizaron la fase de distracción alternando diariamente tensión y compresión (1mm/día) durante 3 semanas. Después de la fase de distracción el estudio histomorfométrico dinámico evidenció un mayor índice de aposición mineral en el grupo de distracción-compresión en comparación al grupo de distracción (3,2 $\mu\text{m}/\text{día}$ versus 2,1 $\mu\text{m}/\text{día}$). A las 5 semanas de consolidación el espesor de corticales fue también significativamente mayor en el grupo de distracción-compresión que en el grupo de distracción (83% versus 49%).

3- Fase de Consolidación: periodo que permite la maduración y corticalización del hueso regenerado. Se considera que en los huesos craneofaciales debe ser entre 3-5 semanas para niños y 6-12 semanas para adultos, aunque la apariencia de idénticas características al hueso inicial

puede prolongarse más de 1 año. Una vez terminada la distracción la zona fibrosa y de material osteoide centrales osifican y mineralizan gradualmente de manera intramembranosa principalmente en los huesos faciales, convirtiéndose en hueso inmaduro que pasarán a ser zonas de remodelación para convertirse en hueso maduro laminar. En los huesos maxilares la osificación es principalmente intramembranosa, aunque en algunos estudios⁽⁶²⁾ se han descrito focos de osificación endocondral que pueden ser debidos a la inestabilidad de los fragmentos óseos o el índice de distracción, y que no interfieren la regeneración final, aunque este fenómeno no está aclarado.

La aplicación de carga sobre la zona distraída también ha sido investigado experimentalmente en ratas con fémur distraído⁽¹⁴⁵⁾. Un grupo mantenía las zonas distraídas soportando el peso del animal mientras que el otro grupo no soportaba las cargas del peso debido a la amputación de las extremidades por debajo de la articulación tibio-femoral. A los 4 días de consolidación se observó mayor proporción de hueso regenerado y mayor expresión de BMP-2, BMP-4, OCN y colágeno tipo I en los grupos que soportaban carga. En los que no soportaban carga había una mayor expresión de colágeno tipo II. La carga, por tanto, también favorece el hueso regenerado por distracción, aunque se desconoce cuáles son los niveles de carga más adecuados.

En las tres fases descritas se están realizando investigaciones para describir los **MECANISMOS MOLECULARES** que se desencadenan en el hueso regenerado por distracción^(146, 147, 148, 56, 57, 58).

Mediante técnicas de inmunohistoquímica tras elongación de mandíbula de ratas⁽¹⁴⁶⁾ se ha observado la sobreexpresión de TGF- β 1 tanto en fases de latencia, distracción como hasta la 4ª semana del periodo de consolidación volviendo después a niveles basales. Este factor parece que tiene, entre otras, una función de promoción de la angiogénesis y de producción de colágeno tipo I. La expresión de osteocalcina se incrementa a partir del 4 día de latencia hasta alcanzar niveles de un incremento del 70% a las del hueso normal (a las 4 semanas de consolidación). Esta proteína de la matriz realiza una agregación del calcio y sería un marcador de la mineralización ósea del proceso de distracción, por otro lado su expresión es inhibida por el TGF- β de tal manera que sus niveles aumentan cuando descienden progresivamente los del factor. Este mismo equipo de investigación observó en otro trabajo que cuando el índice de distracción era muy rápido, se producía una unión fibrosa y esto se correlacionaba con un decrecimiento de los niveles de OCN y Colágeno I, en comparación a las muestras donde se aplicaba un índice de distracción gradual.

También se ha visto decrecimiento de OCN y ONN cuando se aplican tensiones hiperfisiológicas en elongación de mandíbula de conejo⁽¹⁴⁸⁾.

Otro estudio⁽⁵⁶⁾, sin embargo, evidenció en tibias de perro que la aplicación de tensión disminuye los niveles de OCN y aumenta los de TGF- β durante los periodos de latencia, distracción y hasta 5 semanas de consolidación en comparación al hueso normal. Atribuyéndose dicho hallazgo al efecto supresor del factor para expresar la OCN. En este estudio, los niveles de IGF-I en el hueso se incrementaron inmediatamente después de la distracción en comparación a los niveles de hueso normal. Sin embargo, los niveles séricos de IGF-I se empezaron a incrementar al inicio de la distracción, por lo que se especuló que la acumulación ósea es por una deposición del incremento sistémico más que un incremento local.

Utilizando fémur de rata, Sato y cols⁽⁵⁸⁾ observaron en fases finales de distracción que la OCN se encontraba no solo en los osteoblastos diferenciados sino también en los preosteoblastos y los fibroblastos fusiformes. La OPN se encontraba exclusivamente en los preosteoblastos y osteoblastos diferenciados mientras que la ONN aparecía en todas las células de la zona. Mediante Northern Blot observaron que tanto la OPN, OCN y ONN no daban señal en el tejido normal, empezaba a dar señal a los 7 días de las muestras con osteotomía y luego disminuía, mientras que en las muestras distraídas aumentaba su señal mientras duraba la distracción (21 días) y luego disminuía en la consolidación. Se vio también que la osificación cambiaba de endocondral a intramembranosa a medida que se aplicaba la tensión.

En tibias de ovejas⁽¹⁴⁹⁾ se observó también que los niveles séricos de OCN se incrementaban un 15% durante la fase de distracción, pero más de un 100% a los 44 días de la fase de consolidación, a partir de lo cuales se estabilizan los niveles. Esto demuestra el incremento de la actividad osteoblástica tras la aplicación de tensión.

La expresión de BMP-2, BMP-4, y BMP-7, también se incrementa durante la fase de distracción en relación con la fase de latencia y va desapareciendo durante la fase de consolidación. Esto se ha visto en tibias de conejo⁽⁵⁷⁾ donde solo las MSCs y los preosteoblastos evidenciaron estas moléculas pero no los osteoblastos.

La expresión de MMPs y TIMPs fue estudiada en un modelo de elongación mandibular en ovejas después de 3, 6, 9, y 12 meses de consolidación⁽¹⁵⁰⁾. Se observó una disminución de estas enzimas a medida que el hueso reticular era remodelado a un hueso laminar, existiendo una mayor expresión a los 3 meses. Entre los 9-12 meses los niveles eran similares a los del hueso normal, lo que indica el momento de equilibrio entre la fase de aposición y reabsorción del remodelado.

En relación con los cambios que se producen en los **músculos** adyacentes a la distracción, en un estudio de elongación mandibular en perros⁽¹⁵¹⁾ se observó una primera fase de atrofia de las fibras del digástrico(paralelas al vector de distracción) y a los 20 días de consolidación se observó una morfología hipertrófica de las fibras. En el masetero(perpendicular al vector de distracción) se observó menor periodo de atrofia durante la distracción aunque posteriormente se mantuvo una disminución en el índice RNA/DNA que indica la disminución de producción proteica de la célula, quizás debido al establecimiento de unas cargas inadecuadas sobre ese músculo por la mordida cruzada originada por la distracción. En cualquier caso parece que el tejido muscular que se ve incluido en la zona distraída parece que inicialmente sufre una atrofia que posteriormente se recupera

Los cambios que se producen en la **mucosa oral** tras la distracción han sido poco estudiados. Cope y cols⁽¹⁵²⁾ realizan un estudio de elongación mandibular en perro beagle. Se observó la mucosa en muestras después de la distracción y a las 2,4,6 y 8 semanas de consolidación. En el grupo sin consolidación se observó una atrofia del epitelio con desaparición de papilas y pérdida de las conexiones intercelulares en el estrato granuloso y espinoso. En la lamina propia aumenta la formación de capilares dilatados, hay un ligero infiltrado inflamatorio y la distribución de las fibras de colágeno de manera paralela al vector de distracción. A las 2 semanas de consolidación la mucosa empieza a tener una apariencia más normal. Empiezan a aparecer las papilas conjuntivas, se incrementa el espesor del epitelio, las células recuperan una arquitectura normal, y sigue existiendo el infiltrado inflamatorio y el bajo espesor del estrato córneo. A las 8 semanas el epitelio presenta un aspecto de normalidad completa, sin observarse en ninguna zona ningún signo de cicatrización. Parece que en un primer momento la mucosa se estira y sufre una reorganización de la nueva situación espacial, es después en el periodo de consolidación donde parece que existe una mayor proliferación celular del estrato basal.

3.3.-ESTUDIOS DE DISTRACCIÓN ALVEOLAR

La distracción alveolar se está aplicando clínicamente desde los últimos 7 años, como nueva técnica de regeneración ósea. De manera general se distinguen 2 tipos de distractores: Intraóseos y extraóseos. También pueden diferenciarse según su función en distractor, distractor-implante o pilar-distractor. Según la dirección del hueso regenerado se dividen en distractor vertical o distractor horizontal. Se están desarrollando nuevos diseños de distractores, aunque

muchos de ellos no han presentado resultados clínicos o experimentales. Los diferentes estudios publicados presentan diferentes protocolos de distracción con cada diseño de distractor (**Tabla 4**) y diferentes resultados histológicos y de complicaciones (**Tabla 5**). En este apartado vamos a presentar los trabajos publicados en la literatura en relación con los diseños de distractor alveolar verticales u horizontales y que hemos considerado más relevantes.

DISTRACTORES VERTICALES

Urbani y cols⁽⁴¹⁾ presentan un caso clínico utilizando el distractor intraóseo OGD (OsteoGenic Distractor, ACE Surgical Supply, Brockton, USA) (**Fig. 5**) en un defecto segmentario anterior mandibular. Obtienen una ganancia de 7mm y realizan una biopsia de la zona distraída a los 60 días después de la distracción observando un hueso inmaduro reticular. Observaron complicaciones con relación a la colocación del tornillo de distracción en el anclaje basal, y en la obtención de un correcto vector de distracción.

McCallister y cols⁽¹⁵³⁾ utilizan 10 distractores OGD en 7 pacientes. Observó de manera generalizada un desplazamiento lingual o palatino del fragmento transportado que fue corregido mediante férulas de corrección de vector. En los controles radiológicos se observó crecimiento óseo en la cámara desde el hueso basal hacia oclusal, y desde el hueso transportado hacia basal. El momento de la retirada del distractor y colocación de los implantes, se determinó de manera individualizada para cada paciente, según los hallazgos radiológicos. Se observó un caso con pérdida del anclaje basal que no influyó en la regeneración final del proceso, y 2 casos de defectos en la regeneración ósea que se trataron mediante xenoinjertos. En los casos en los que la cresta ósea tenía una anchura menor de 5 mm se requería de técnicas de aumento horizontal, previas a la colocación del distractor.

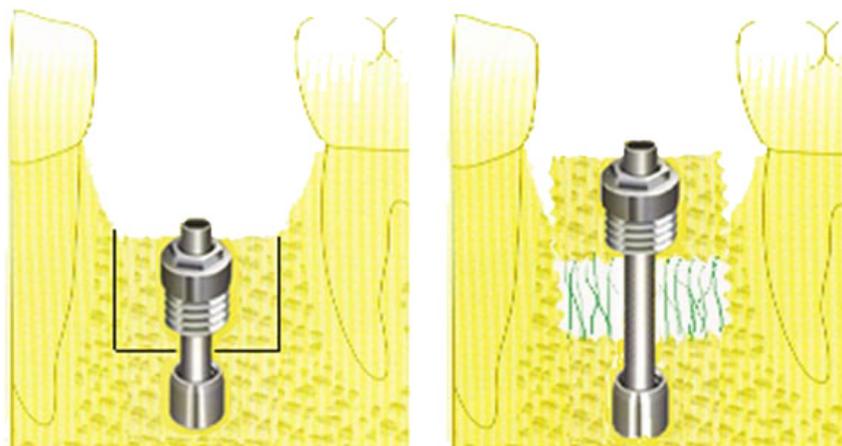


Fig. 5. Distractor OGD.

Chin⁽⁴³⁾ diseña e impulsa el distractor intraóseo LEAD (Leibinger Endosseous Alveolar Distractor, Stryker-Leibinger, Freiburg, Alemania)(Fig. 6). Realiza un estudio clínico en 45 pacientes con defectos de diferente etiología (atrofia, fisuras, trauma). Indica su utilización tanto para aumento vertical como horizontal(en anchura o anteroposterior) de cresta. Las complicaciones que encontró fueron: el incorrecto vector de distracción en la arcada superior, desplazándose el fragmento óseo hacia palatino (por la diferencia de la elasticidad entre la mucosa palatina y la vestibular); y falta de regeneración ósea en zona distraída. Indica que para evitar una consolidación prematura el índice de distracción debe ser mayor a 0,4 mm/día. En un caso, no se produjo la regeneración en zona distraída.

Rachmiel y cols⁽⁴⁴⁾ utilizan el mismo distractor para aumento vertical en 14 pacientes con defectos de cresta alveolar. Indicaron que a los 60 días de consolidación se observaron evidencias radiológicas que indicaban el inicio de la mineralización. Se colocaron 23 implantes en zonas de regeneración por distracción solo observándose 1 pérdida. Los autores aluden que una de las desventajas de este distractor es la escasa estabilidad que presenta lo cual impide mantener un vector de distracción adecuado. Establecen que el fragmento a transportar debe de tener una altura mínima de 5 mm para poder anclar las placas del distractor.

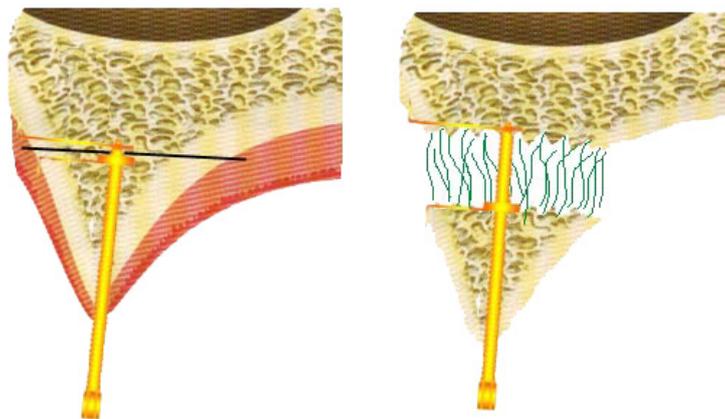


Fig. 6. Distractor LEAD

Consolo y cols⁽⁴⁵⁾ hacen un estudio clínico con 7 pacientes utilizando el distractor extraóseo TRACK 1.0 (Tissue Regeneration Alveolar Callus distraction Köln, Martin, Tuttlingen,

Alemania) (**Fig. 7**) completado por el mismo equipo en el estudio publicado por Zaffe y cols en el 2002⁽¹⁵⁴⁾.

El estudio histológico evidenció que a los 40 días después del fin de la distracción aparecía un callo blando, rico en fibras colágenas, fibroblastos y nuevos vasos. Se observaban algunas trabéculas aisladas y pequeñas con tejido inmaduro entrelazado (osteocitos globulares).

A los 60 días se observa un hueso trabecular en su mayoría formado por hueso entrelazado que ocupaba toda la cámara de distracción. La expresión de ALP era alta mientras que la TRAP es muy débil e incluso ausente (muy pocas células mononucleadas o preosteoclastos). En este periodo se observó un volumen trabecular (TBV, por Trabecular Bone Volume) del 50 %.

A los 88 días las trabéculas aparecían más ordenadas, constituidas con zonas de PFB que se combinaban con WB. La expresión de ALP disminuía respecto a los 60 días y aumentaba la expresión de TRAP revelando la presencia de osteoclastos activos. Se redujo la densidad de trabéculas y la TBV disminuyó al 37%.

A los 200 días se observó un hueso laminar ordenado con osteocitos elipsoides con el eje mayor paralelo a la lamina ósea. No se observaban osteoclastos.

Para evitar esta pérdida de densidad ósea por disfunción o desuso, estos autores recomiendan que los implantes se deberían colocar de manera más precoz que las 12 semanas, considerando que la estructura ósea observada a 8 semanas sería adecuada.

Millesi-Schobel y cols⁽⁴⁶⁾ realizan un estudio de aumento alveolar utilizando el distractor TRACK 1.0 en 4 pacientes y mediante una modificación de osteotomía en L en brechas edentulas posteriores mandibulares. La altura conseguida varió entre 6-9 mm, no observándose ninguna alteración neurológica y tomando una biopsia ósea al final del periodo de consolidación. Los autores indican que esta modificación de osteotomía permite un transporte del fragmento alveolar más fisiológico evitando el colapso del espacio oclusal. En un caso existió fractura del distractor, por lo que se recomienda el cuidado en la masticación sobre la zona transepitelial.

Este mismo equipo presentó posteriormente⁽⁴⁷⁾ una muestra mayor de pacientes (n=10) y observaron que en los primeros pacientes existía una reabsorción en la cara vestibular de la zona regenerada, debida una migración del tejido conectivo. Para evitar esto colocaron una membrana flexible de titanio fijada al fragmento a transportar en 4 pacientes, que se elevaría y protegería a la cámara de distracción a medida que se producía la elevación. En estos pacientes no observaron la reabsorción semilunar de la cortical vestibular.

Chiapasco y cols⁽¹⁰⁾ realizan uno de los estudios clínicos de distracción con mayor seguimiento clínico. Realizan distracción en 8 pacientes edéntulos mandibulares mediante el distractor vertical extraóseo MOD (Micro Osteo Distraction, Martin, Tuttlingen, Alemania)(Similar al TRACK 1.0). Se colocaron un total de 26 implantes en zonas distraídas. Se valoraron radiográficamente los implantes y el índice de placa y sangrado, la profundidad de sondaje y la estabilidad del implante mediante periotest en un seguimiento medio de 14 meses. El índice de éxito fue del 100% según los criterios de Albrektsson de 1986. La reabsorción ósea perimplantaria fue similar a la que se puede encontrar en implantes colocados en hueso normal.

El diseñador e impulsor de este distractor, el Prof. Hidding,⁽⁴⁸⁾ ha presentado una casuística de 128 pacientes tratados con distractor MOD y TRACK de defectos alveolares. En 94 pacientes se colocaron 321 implantes, de los cuales solo se perdieron 7 (2,2%).

Robiony y cols⁽⁴⁹⁾ realizan distracción en 5 pacientes con reabsorción severa de mandíbula. Modificaron la técnica con el TRACK 1.0, mediante la incorporación a la cámara de distracción de PRP+injerto autólogo en el momento de realizar la intervención. Observaron mediante ecografía que al mes de terminar la distracción aparecían nuevos vasos organizados en el gap de distracción invadiendo el injerto.

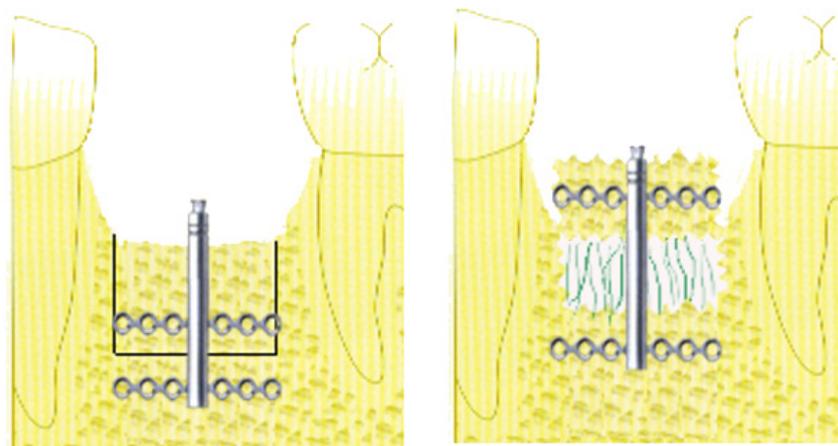


Fig. 7. Distractor TRACK 1.0

Block y cols⁽³⁸⁾ realizan un estudio experimental en mandíbula de perros utilizando un prototipo de distractor extraóseo que utiliza como anclaje 4 implantes colocados horizontalmente en la cresta alveolar sin pretensiones de colocar en humanos. Se colocaron 8 implantes con recubrimiento de hidroxiapatita y 8 pulidos tanto en crestas distraídas como en crestas normales realizando el sacrificio de los animales 52 semanas después de iniciar la carga

prostodóncica. El estudio radiológico reveló que a las 6 semanas después de terminar la distracción aumentaba la densidad del gap de distracción. La evaluación histológica al año de carga fue similar en todas las muestras, no existiendo diferencias del hueso trabecular entre zonas distraídas y no distraídas, ni el contacto hueso-implante en un tipo u otro de implantes. En relación con el espesor del hueso cortical si se observaron diferencias entre las zonas distraídas y no distraídas, y entre hueso labial y lingual (menor y mayor respectivamente), sin tener relación con el tipo de implante.

Oda y cols⁽³⁹⁾ realizan un estudio en mandíbula de 6 perros utilizando un prototipo de distractor intraóseo (**Fig. 8**) bastante sencillo y colocando 12 implantes. Se realizó un estudio radiológico con valoraciones a las 0, 2, 4, 8 y 12 semanas postdistracción, observando radiolucidez del gap de distracción a las 4 semanas, apareciendo una densidad radiológica importante a las 8 semanas que no se diferenciaba de la observada a las 12 semanas. Se realizó también un estudio histomorfométrico donde se vio unos valores de contacto hueso-implante en zona distraída de $15,7 \pm 17,8$ % y $30,2 \pm 19,1$ % y un área ósea en la zona distraída de $39,3 \pm 24,8$ % y $56,9 \pm 30,5$ % a las 8 y 12 semanas respectivamente. Se vio también que a las 12 semanas hay mayor penetración ósea de la zona distraída entre las espiras del implante así como mayor proporción de hueso laminar. Se vio también una mayor formación ósea en la zona lingual que en la vestibular achacándolo al mayor trauma de los tejidos blandos en la zona vestibular. Refieren que el tener un tiempo en comunicación con el medio oral la parte superior de los tornillos de distracción, puede contaminar el hueso neoformado al ir produciéndose la distracción, pero ese hueso es eliminado al realizar las preparaciones para los implantes inmediatamente después de terminar la distracción. Según ellos, la mucosa perfectamente adaptada al fragmento a distraer origina una estabilidad suficiente del fragmento y la base ósea. Indican que el momento ideal para la carga prostodóncica debería empezar a las 12 semanas. En un estudio anterior estos mismos autores⁽³⁵⁾ realizan distracción alveolar experimental aprovechando el proceso de inserción de implantes dentales. Observaron en un animal infección de 2 implantes (de los 10 implantes colocados), achacándolo al hecho de estar en contacto con el medio oral lo que producía contaminación del lecho óseo al producirse la distracción.

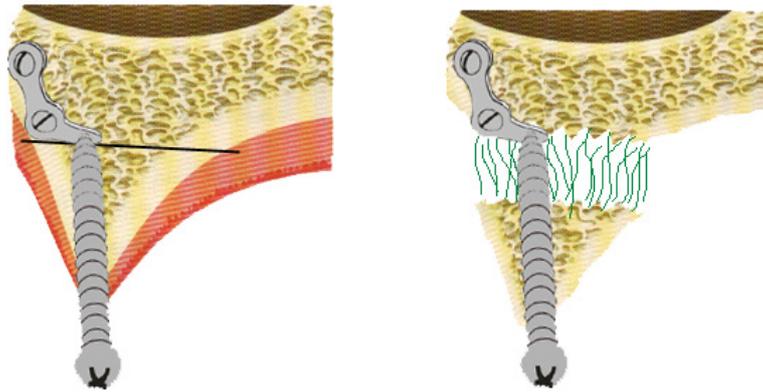


Fig. 8. Prototipo distractor de Dr. Oda.

Gaggl y cols⁽⁹⁾ describen un estudio clínico con 35 pacientes donde se colocaron 62 distractor-implante DISSIS (Distraction Implant System, SIS, Klagenfurt, Austria) (Fig. 9). Se realizaron en pacientes con atrofia severa mandibular, atrofia severa maxilar, en defectos por trauma de más de 2 dientes y defectos por pérdida de un único diente. En todos los casos existía una altura de cresta residual mínima de 7 mm.

El protocolo utilizado fue el siguiente: tiempo de latencia 7 días para los defectos de cresta y 10 días para las atrofas de cresta edéntula; el índice de distracción fue de 0,5mm/día en los defectos, y de 0,25mm/día para las atrofas desarrollado durante 8-24 días hasta obtener un incremento de 4-6 mm; tiempo de consolidación 4 meses para los defectos y 6 meses para las atrofas.

Se realizó una valoración clínica justo antes de la carga protésica y a las 12, 24 y 36 semanas postcarga donde se midió el índice de sangrado gingival, profundidad de sondaje perimplantario, movilidad del implante mediante periotest, y valoración neurológica periférica.

En 29 pacientes no existió ninguna complicación. En los casos de atrofia mandibular existió un buen número (n=5) de hipoestesis de labio y región mentoniana justo después de la intervención, pero solo un paciente mantuvo la hipoestesia mandibular. En estos casos de atrofia mandibular se perdió un implante-distractor en una paciente de 69 años en donde se desplazaba un segmento óseo de 42mm con 2 distractores. En un caso de reposición unitaria existió también una pérdida del distractor-implante, por pérdida de estabilidad.

El sondaje fue de menos de 3 mm y el sangrado postsondaje se mantuvo únicamente en un distractor-implante. Los valores de periotest estuvieron en un rango de +1 a -2 justo antes de la carga protésica y disminuyeron durante las 36 semanas siguientes.

Con el procedimiento de distracción alveolar el paquete vasculonervioso mandibular puede ser estirado gradualmente, con lo que se dan ligeras alteraciones neurosensoriales reversibles. Consideran que el índice de distracción ideal con los implantes-distractores debe ser de 0,5 mm por día, a diferencia de otros sistemas de distracción (1 mm/día) debido a que con distracciones rápidas (1mm/día) se podría alterar la interfase entre el hueso y el implante-distractor. Este índice bajo tendría el inconveniente de producir una consolidación prematura.

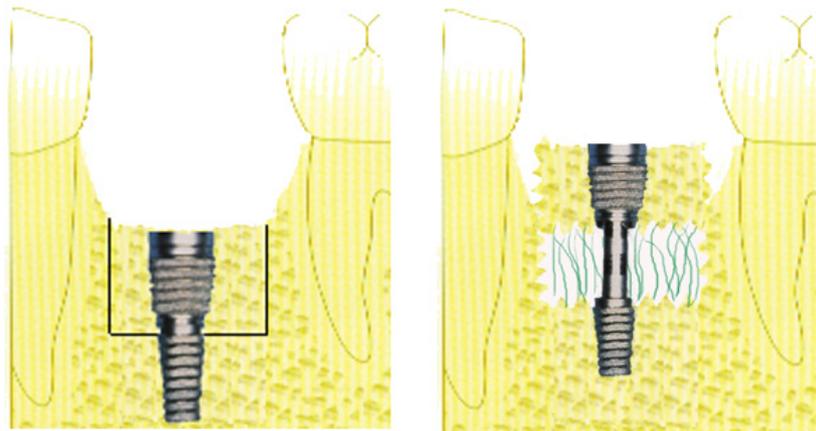


Fig. 9. Distractor-Implante DISSIS

Watzek y cols⁽⁵¹⁾ desarrollan un prototipo de pilar-distractor alveolar (**Fig. 10**) que permite la realización de la distracción de manera multidireccional (de manera vertical y horizontal) incluso con implantes ya osteointegrados. Lo utilizaron en 6 pacientes, 3 en la mandíbula y 3 en el maxilar. Se utilizaron 11 implantes donde se adaptó el pilar-distractor y se hizo un seguimiento tras carga prostodóncica de 20 semanas. Se trata en realidad de un tipo de pilar que adaptado a la plataforma de la fijación permite desplazarlo de manera vertical y horizontal, a la vez que al fragmento óseo a distraer al que se encuentra anclado. Para su estabilidad es necesario que existan dientes o fijaciones ya osteointegradas adyacentes al defecto a distraer donde se adaptará el pilar-distractor, ya que no existe fijación al hueso basal. En este caso las osteotomías verticales y horizontal se realizaron después de haber colocado el implante en el hueso, dejando un mínimo de espesor óseo de 1 mm alrededor del implante. Se obtuvo una orientación espacial de los implantes ideal en relación con el estudio preoperatorio en todos los casos, no observándose complicaciones en la cicatrización o pérdida de ningún implante. Se obtuvo una ganancia máxima en dirección vertical de 11mm, de 4 mm en dirección palatina y de 3 mm en dirección vestibular. Los autores lo consideran muy útil para corregir los casos donde se colocaron implantes en zonas muy atróficas y que se encuentran sometidas a unas cargas biomecánicas muy desfavorables, o bien en pacientes de edad joven donde se colocaron

implantes antes de terminar el crecimiento óseo, lo cual conllevó unas relaciones con los dientes adyacentes desfavorables.

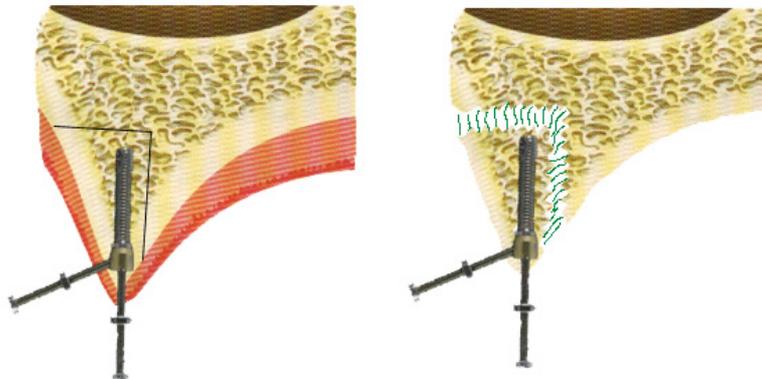


Fig. 10. Prototipo Pilar-Distractor de Dr. Watzek.

Razdolsky⁽⁵²⁾ describe un diseño de distractor extraóseo dentosoportado o híbrido, ROD5 (Oral Osteodistraction, Buffalo Grove, USA)(**Fig. 11**) que utiliza como anclaje los dientes adyacentes, y como sistema de tracción alambres de acero inoxidable que son traccionados con un sistema de rodillo. Los autores refieren que obtuvieron suficiente hueso en la zona interincisiva inferior mandibular para alojar implantes de 3,25×15 mm.

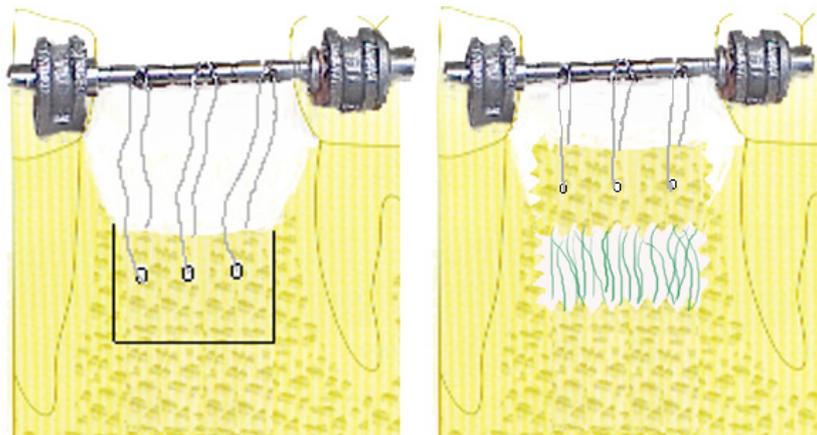


Fig. 11. Distractor ROD5

Raghobear y cols⁽³⁶⁾ realizan un estudio clínico en 3 pacientes utilizando el distractor extraóseo GDD (Groningen Distractor Device, Martin, Tuttlingen, Alemania) (**Fig. 12**). Observaron hueso laminar a los 2 meses después de terminar la distracción, colocando los implantes en ese momento. Establecen como desventajas de la distracción alveolar la necesidad de la colaboración del paciente o sus familiares para las activaciones, o en su defecto las continuas visitas a la consulta, y la imposibilidad de llevar prótesis alguna hasta que se retire el

distractor. Este distractor requiere un tornillo de estabilización intraóseo del fragmento, independiente del distractor. Establecen como posibles complicaciones la fractura mandibular, dehiscencias de herida, alteraciones nerviosas, osteomielitis, falta de formación ósea o y necrosis del fragmento de transporte.

Este mismo equipo⁽¹⁵⁵⁾, realiza un estudio con 10 pacientes. La valoración histológica realizada a las 8 semanas de consolidación evidenció trabéculas paralelas al vector de distracción. Describieron que en su mayoría se formaba de hueso laminar, con algunas zonas con hueso inmaduro entrelazado y una zona central sin hueso rica en fibras colágenas longitudinales con fibroblastos husiformes.

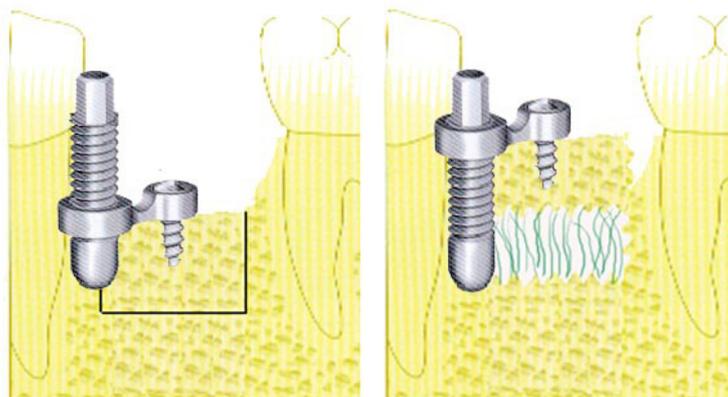


Fig. 12. Distractor GDD

Urbani y cols⁽⁵³⁾ utiliza el distractor intraóseo CAD (Compact Alveolar Distractor, Plan 1 Health, Udine, Italia) (**Fig. 13**) en 2 casos clínicos. Establecen que si en el momento de colocar los implantes los orificios del distractor no corresponde con la de los implantes habría que esperar otras 4 semanas de cicatrización. Refieren complicaciones en el vector de distracción por la fuerza de la musculatura lingual y la tensión de la mucosa lingual en la zona inferior, o por la menor flexibilidad de la mucosa palatina con relación a la vestibular en la arcada superior. Esto fue corregido con férulas de corrección de vector (arco ortodóncico).

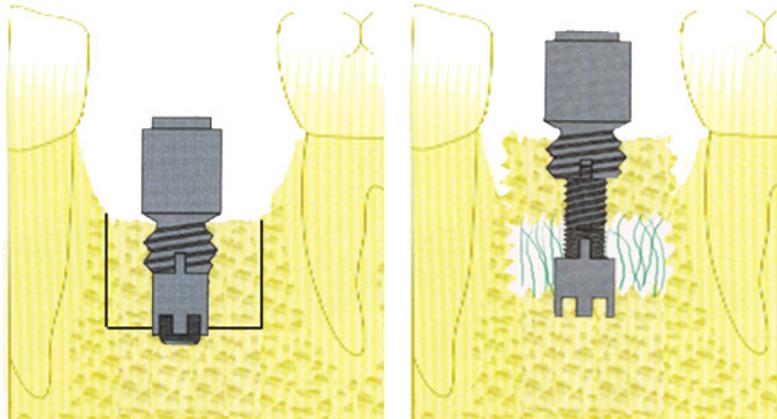


Fig. 13. Distractor CAD

DISTRACTORES HORIZONTALES

Son los diseños de distractores donde se han descrito menos resultados y se han realizado menos estudios tanto clínicos como experimentales.

Gaggl y cols⁽⁵⁰⁾ describen un nuevo prototipo de distractor alveolar para ganancia horizontal. Se utilizó en 7 pacientes donde se consiguió una ganancia media de 6,2 mm. De los 14 implantes colocados solo fracasaron 2. Consideraron que a los 3 meses después de la distracción el hueso regenerado no era totalmente maduro.

Nosaka y cols⁽¹⁵⁶⁾ también describen un prototipo de distractor alveolar horizontal utilizando como biomodelo la mandíbula del perro beagle. En el estudio radiológico se observó radiolucidez de la zona a los 12 días de consolidación, momento en el que se colocaron los implantes. A las 8 semanas después de colocar los implantes existía un radiodensidad de la cámara y ligera reabsorción del hueso transportado. A las 12 semanas después de colocar los implantes se observaba hueso laminar en contacto con el implante pero en menor cantidad que a las 24 semanas. Consideran que las 24 semanas sería el momento propicio para iniciar la carga prostodóncica, ya que en este momento observaron proporciones similares de BIC en comparación a los implantes control. En ese momento vieron que el fragmento transportado se había reabsorbido totalmente.

Tabla 4 Estudios clínicos/experimentales en distracción alveolar					
Estudio	Modelo distractor	Tiempo de latencia	Índice de distracción	Tiempo de consolidación	Ganancia media obtenida
Urbani y cols.1999(41)	Distractor OGD (ACE)	5 días	1mm/ día/10 días	Distractor 4 semanas. Implantes a 4 semanas. Carga —	7 mm
Chin.1999(43)	Distractor LEAD (Leibinger)	7 días	2x0,8 mm/día/6 días	Distractor 4 semanas. Implantes a 6 semanas. Carga —	—
Consolo y cols.1999(45)	Distractor TRACK 1.0 (Martin)	7 días	1 mm/día/7 días	Distractor 8 semanas. Implantes inmediatos. Carga —	8,4 mm
Oda y cols.2000(39)	Distractor (prototipo)	7 días	1mm/día/7días	Distractor retirado postdistracción. Implantes inmediatos. No Carga	6,1 mm
Millesi-Schobel y cols.2000(46)	Distractor TRACK 1.0 (Martin)	7 días	3x0,3mm/día/ 10 días	Distractor 10 semanas. Implantes inmediatos. Carga —	6-9 mm
Block y cols.2000(38)	Distractor (prototipo)	7 días	2x0,5mm/día/ 10 días	Distractor 8 semanas. Implantes inmediatos. Carga a 16 semanas	8,8 mm
Gaggl y cols.2000(9)	Distractor-implante DISSIS (SIS)	7-10 días	0,25-0,5 mm/día/ 8-24 días	Distractor-Implante. Carga a 16-24 semanas.	6 mm
Watzek y cols.2000(51)	Pilar-distractor (Prototipo)	5 días	—	Pilar-distractor. Carga a 8 semanas	11 mm
Razdolsky y cols.2000(52)	Distractor ROD5(Oral Osteodistraccion)	9 días	1mm/día/4 días	Distractor 4 semanas. Implantes inmediatos. Carga —	—
Raghobear y cols.2000(29)	Distractor GDD (Martin)	5 días	2x0,5mm/día/ variable	Distractor 8 semanas. Implantes inmediatos. Carga a 12 semanas.	—
Chiapasco y cols.2001(10)	Distractor MOD (Martin)	7 días	2x0,5mm/día/ variable	Distractor 8-12 semanas. Implantes inmediatos. Carga a 16-24 semanas.	8,5 mm
Urbani y cols.2001(53)	Distractor CAD (Plan 1 Health)	5 días	1mm/día/ 9-15 días	Distractor 4 semanas. Implantes a 8 semanas. Carga —	6,5 mm

Tabla 4 (Continuación) Estudios clínicos/experimentales en distracción alveolar

Estudio	Modelo distractor	Tiempo de latencia	Índice de distracción	Tiempo de consolidación	Ganancia media obtenida
Hidding y cols.2001(48)	Distractor TRACK 1.0 (Martin)	7 días	2x0,5mm/día/ variable	Distractor 12 semanas. Implantes inmediatos Carga —	10,2 mm
McCallister.2001 (42)	Distractor OGD (ACE)	7 días	1mm/día/variable	Variable	7 mm
Gaggi y cols.2001(50)	Distractor horizontal (Prototipo)	7 días	0,35mm/día/18 días	Distractor 12 semanas Implantes inmediatos Carga a 16 semanas	6,2 mm
Klug y cols.2001(47)	Distractor TRACK 1.0 (Martin)	7 días	3x0,3mm/día/ 10 días	Distractor 10 semanas. Implantes inmediatos. Carga —	7.5 mm
Rachmiel y cols. 2001(44)	Distractor LEAD (Leibinger)	4 días	2x0,4/día/variable	Distractor 4 semanas Implantes a 4 semanas Carga a 24 semanas	10,3 mm
Robiony y cols. 2002(49)	Distractor TRACK 1.0 (Martin)+PRP+ hueso autólogo	15 días	0,5mm/día/ variable	Distractor 8 semanas Implantes inmediatos Carga —	10,3mm
García y cols.2002(69)	Distractor LEAD (Leibinger)	7 días	2x0,5mm/día/ 5 días	Distractor 12 semanas Implantes inmediatos Carga a 2 semanas	—
Uckan y cols.2002(157)	Distractor LEAD (Leibinger)	7 días	2x0,4/día/variable	Distractor 5-8 semanas Implantes a 4-7 semanas Carga —	8,7mm
Nosaka y cols.2002(156)	Distractor horizontal (Prototipo)	7 días	1mm/día/5 días	Distractor 12 días Implantes inmediatos Carga —	5 mm
Zaffe y cols.2002(154)	Distractor TRACK 1.0 (Martin)	7 días	2x0,5mm/día/ 5 días	Distractor 8 semanas Implantes a 4 semanas Carga a 16 semanas	15 mm
Raghobear y cols.2002(155)	Distractor GDD (Martin)	5 días	2x0,5mm/día/ variable	Distractor 8 semanas. Implantes inmediatos. Carga a 12 semanas.	8 mm

Tabla 5 Estudios clínicos/experimentales en distracción alveolar					
Estudio	Biomodelo	N	Resultado histológico postdistracción	Seguimiento postcarga prostodóncica	Complicaciones
Urbani y cols.1999(41)	Clínico	1 (mandíbula)	H.inmaduro a las 8 semanas	—	1 Vector incorrecto
Chin.1999(43)	Clínico	45	—	—	1 No-unión
Consolo y cols.1999(45)	Clínico	7 (mandíbula)	H.inmaduro a las 8 semanas H.laminar a las 24 semanas	—	Ninguna
Oda y cols.2000(39)	Mandíbula de perro	6	H.inmaduro a las 8 semanas H.laminar a las 12 semanas	—	Ninguna
Millesi-Schobel y cols.2000(46)	Clínico	4 (mandíbula)	—	—	1 Fractura distractor
Block y cols.2000(38)	Mandíbula de perro	8	H.laminar a las 48 semanas	48 semanas	Ninguna
Gaggi y cols.2000(9)	Clínico	37 (18 mandíbula) (17 maxilar)	—	36 semanas	2 Perdidas distractor-implante. 1 Hipoestesia permanente
Watzek y cols.2000(51)	Clínico	6 (3 mandíbula) (3 maxilar)	—	20 semanas	Ninguna
Razdolsky y cols.2000(52)	Clínico	1 (mandíbula)	—	—	Ninguna
Raghobear y cols.2000(29)	Clínico	3 (mandíbula)	H.laminar a las 8 semanas	12-24 semanas	Ninguna
Chiapasco y cols.2001(10)	Clínico	8 (7 mandíbula) (1 maxilar)	—	56 semanas	Ninguna
Urbani y cols.2001(53)	Clínico	2 (1 mandíbula) (1 maxilar)	—	—	2 Vector incorrecto

Tabla 5 (Continuación) Estudios clínicos/experimentales en distracción alveolar					
Estudio	Biomodelo	N	Resultado histológico postdistracción	Seguimiento postcarga protodóncica	Complicaciones
Hidding y cols.2001(48)	Clínico	128 (90 mandíbula) (38 maxilar)	—	24-48 semanas	13 Dehiscencias mucosas
McCallister.2001(42)	Clínico	7 (mandíbula)	—	—	1 Pérdida anclaje basal 2 Reabsorción lateral
Gaggi y cols.2001(50)	Clínico	7 (5 mandíbula) (2 maxilar)	—	24 semanas	2 Pérdidas distractor- implante
Klug y cols.2001(47)	Clínico	10 (10 mandíbula)	H. Inmaduro a las 10 semanas	—	6 Reabsorciones laterales 2 Dehiscencias mucosa 1 Fractura distractor
Rachmiel y cols. 2001(44)	Clínico	14 (8 mandíbula) (6 maxilar)	—	46 semanas	1 Pérdida implante 1 Pérdida anclaje basal 1 Hipoestesia temporal
Robiony y cols. 2002(49)	Clínico	5 (mandíbula)	—	—	1 Fractura del hueso basal
García y cols.2002(69)	Clínico	5 (mandíbula)	—	—	4 Reabsorciones laterales 2 Vector incorrecto 3 Dehiscencias mucosa
Uckan y cols.2002(157)	Clínico	10 (8 mandíbula) (2 maxilar)	—	80 semanas	5 Vector incorrecto 1 Fractura fragmento 1 Hemorragia lingual
Nosaka y cols.2002(156)	Mandíbula de perro	6	H.laminar a las 14 semanas	—	6 Reabsorciones laterales
Zaffe y cols.2002(154)	Clínico	10 (mandíbula)	H.inmaduro a las 8 semanas H.laminar a las 24 semanas	—	1 Vector incorrecto
Raghobear y cols.2002(155)	Clínico	10 (mandíbula)	H.laminar a las 8 semanas	45 semanas	1 Dehiscencias mucosa

3.4. -FACTORES CONDICIONANTES

Los estudios registrados en la literatura científica que hacen referencia a la distracción alveolar siguen siendo escasos. Los factores que influyen en el resultado de un proceso de distracción histogénica han sido sin embargo, más estudiados en otros ámbitos de aplicación, como son los estudios de elongación craneomaxilofacial y mandibular, o los trabajos de alargamiento de extremidades, propios del campo de la traumatología-ortopedia. Siguiendo a Cope y cols⁽¹³⁵⁾ hemos recopilado los aspectos o factores condicionantes comunes al fenómeno de distracción y que pudieran ser extrapolables a los procedimientos que se están utilizando en la cresta alveolar.

3.4.1.- FACTORES BIOLÓGICOS

Entre estos factores se incluirían: La magnitud y el procedimiento de osteotomía; el tiempo de latencia; el índice de distracción; el tiempo de consolidación; la incorporación exógena de factores farmacológicos o agentes físicos; la edad y el estado general del paciente⁽¹³⁵⁾.

Osteotomía

Se considera necesario el mínimo espacio necesario para realizar las osteotomías por lo cual es preferible el uso de sierras oscilantes al uso de piezas de mano con fresas de fisura, así como el menor despegamiento de tejidos blandos que sea necesario. Las osteotomías verticales deben ser ligeramente divergentes hacia oclusal con el fin de facilitar el desplazamiento vertical del fragmento. Tsunokuma y cols⁽¹⁵⁸⁾ realizan un estudio de elongación mandibular en perros en el que describen la importancia de mantener el aporte sanguíneo, sin dañar el paquete vasculonervioso del conducto dentario inferior realizando únicamente corticotomías. Observaron que a la semana de terminar la distracción se veían capilares que se extendían desde los lados óseos de la distracción pero sin llegar al centro del espacio. A las 2 semanas los capilares se entrecruzaban en la zona central y empezaba la reparación ósea. En esta línea, Hu y cols⁽¹⁵⁹⁾ compararon en un modelo de elongación mandibular en cabras los efectos de realizar corticotomía u osteotomía. A las 2 semanas de consolidación se observó mayor radiodensidad ósea y mayor formación de callo perióstico en el grupo con corticotomía. También se observaron resultados más favorables en este grupo en relación con los datos histológicos y de índice Ca/P.

Los resultados del estudio sugieren la preservación de los vasos del tejido intramedular favorecen una mineralización más rápida con menor formación endocondral en la cámara de distracción.

Se ha descrito la utilización de técnicas endoscópicas para la realización de osteotomías y colocación de distractor para elongación mandibular⁽¹⁶⁰⁾. Con este método experimental se utilizaron endoscopios de 2-3 mm de diámetro sin apenas despegamiento de los tejidos adyacentes mediante un abordaje submandibular.

Se considera importante en distracción alveolar el no realizar el despegamiento mucoperióstico lingual, y permitir que el segmento de transporte no sea demasiado pequeño por el riesgo de necrosis.

En sectores posteriores mandibulares Millesi-Schobel y cols⁽⁴⁶⁾ proponen el uso de una modificación de osteotomía en L, en la que el fragmento óseo transportado gira de manera vertical sobre una miniplaca posterior. Está técnica fue utilizada en 4 pacientes sin observarse ninguna afectación neurológica y permitiendo una regeneración más fisiológica del sector posterior mandibular evitando la interferencia en la oclusión del fragmento alveolar desplazado.

Se ha observado en tibias de conejo⁽¹⁶¹⁾ una mayor regeneración ósea cuando se desarrollaba distracción tras una osteotomía de 30°, que cuando se hacía de manera perpendicular al hueso. Se teorizó sobre si el aumento del cizallamiento podría estimular de mayor manera a los osteoblastos y a los centros de osificación.

Tiempo de latencia

Los tiempos de latencia utilizados actualmente en distracción maxilofacial (entre 4 y 10 días) están basados en las experiencias con distracción de huesos largos. Parece que la buena vascularización del macizo maxilofacial permite reducir este tiempo e incluso anularlo. De esta forma Troulis y cols⁽¹⁶⁰⁾ observaron en un modelo de elongación mandibular de minipig similares resultados en los casos que se empezaba directamente la distracción que en los casos que se esperaban 4 días. Tavakoli y cols⁽¹⁶²⁾ también estudiaron los resultados de elongación mandibular en ovejas, tras periodos de latencia de 0, 4, y 7 días y después de 20 días terminada la distracción. No observaron diferencias con relación a la densitometría ósea, de resistencia biomecánica, y característica histológicas entre los 3 grupos.

En un estudio de revisión en 3278 casos clínicos de distracción craneofacial⁽¹⁶³⁾, se observó que no existían diferencias significativas entre el grupo que eliminaba el tiempo de latencia y los que lo utilizaban, en relación a aparición de consolidación prematura(0,76% de los casos, Vs 2%) o no-unió fibrosa(0,25% Vs 0,4%).

En distracción alveolar clínica, parece que un periodo de latencia de 4-7 días estaría justificado para evitar exposiciones prematuras del hueso al medio oral⁽¹⁶⁴⁾.

Índice de distracción (cantidad y frecuencia de distracción)

Se ha comprobado que la cantidad (grado de distracción) y la frecuencia (ritmo de distracción) de distracción influye en el tipo de hueso neoformado, así Ueda⁽¹⁶⁵⁾ demostró en tibia de ratas que un índice bajo (0,5 mm/día/5 días) origina un tejido condroide, mientras que un índice mayor (1mm/día/5días) produce una osificación intramembranosa, con formación de nuevo hueso más rápido.

Ilizarov^(26, 27) ya describió que la frecuencia ideal de distracción debería ser continua. De esta forma se han diseñado distractores de elongación mandibular para posibilitar este fenómeno mediante mecanismos hidráulicos o con resorte de memoria^(54, 166). Para intentar asemejar esta distracción continua, hay autores que en estudios de distracción alveolar clínica dividen la cantidad total de distracción a lo largo del día en diferentes cantidades, como puede ser 2x0,5 mm/día^(36, 10) o incluso 3x0,3 mm/día⁽⁴⁶⁾.

Meyer y cols⁽¹⁶⁷⁾ observaron en elongación mandibular de conejos que una cantidad de distracción elevada (2-3mm) al día, es decir el número de vueltas que se aplica al distractor, afecta negativamente a la diferenciación de células osteoblásticas y a la producción de proteínas de matriz extracelular, en mayor medida que la frecuencia o ritmo de distracción, es decir los intervalos de tiempo en que se activa el distractor, en controversia con los postulados de Ilizarov que sí diferencia resultados en relación con la frecuencia de distracción. La cantidad de distracción va a influir en la diferenciación celular y la producción de matriz extracelular. Así, cantidades grandes (>20.000 $\mu\epsilon$) van a originar una diferenciación fenotípica fibroblástica, ya que en estos casos se observa un predominio de estas células y de matriz colagénica no mineralizada, así como una disminución de la diferenciación osteoblástica con una menor expresión en las células de OCN y ONN⁽¹⁴⁸⁾.

Troulis y cols⁽¹⁶⁸⁾ observan tras elongación mandibular en minipigs mejores resultados de estabilidad clínica y de densidad radiológica ósea en los casos en que se aplicaba un índice de 1mm/día/12 días, que cuando se aplicaban índices de 2mm/día/6 días o de 4mm/día/3 días. Otro estudio de elongación mandibular en ovejas⁽⁵⁹⁾ presentaron mejores resultados de resistencia biomecánica y de densidad ósea, en índices de 1mm/día (resistencia a la fractura de 689 N) que en índices de 2, 3 y 4 mm/día (505,472 y 384 N respectivamente). El estudio histológico tras 5

semanas de consolidación evidenció formación de hueso en todos los grupos aunque según se aumentaba el índice de distracción existía mayor desorganización de la matriz ósea.

Gaggl y cols⁽⁹⁾ después de un importante estudio clínico de distracción alveolar consideran que el índice de distracción ideal debe ser de 0,5 mm por día, a diferencia de otros sistemas de distracción debido a que con distracciones rápidas(1mm/día) se puede alterar la interfase del hueso con el implante-distractor, aunque destacan una posible desventaja de este índice bajo por posible anquilosis prematura.

En el estudio de revisión de Mofid y cols⁽¹⁶³⁾ recopilaron que no había una mayor proporción de casos de no-unión fibrosa cuando se aplicaba 1 mm/ día en una sola sesión (0,3% de los casos), que cuando se aplicaba esa misma cantidad en varias sesiones a lo largo del día (0,5%). Además, se observó un incremento en la consolidación prematura cuando se aplicaba 1mm/día en 4 sesiones(2,4%) que cuando se aplicaba en una única sesión(0,3%).

Tiempo de consolidación

Diversas teorías en estudios de huesos largos han establecido los tiempos de consolidación en función de la longitud de distracción obtenidos(índice de distracción-consolidación). Así, en alargamiento de extremidades se establecieron 2 días de consolidación por cada mm conseguido por distracción⁽¹⁶⁹⁾. Este método, que en muchas ocasiones es válido en la distracción de huesos largos no es apropiado cuando se desplazan distancias pequeñas como ocurre en el área maxilofacial, debido a que en los huesos largos hay unos periodos de distracción largos (unos 50 días) en los que al finalizar ya se ha producido una mineralización importante⁽⁶⁰⁾.

El estado de remodelado y consolidación del hueso se ha estudiado principalmente en biomodelos de elongación mandibular y se ha valorado y cuantificado con diversas técnicas de monitorización:

Densitometría: Mediante absorciometría de rayos X por energía dual (DEXA por Dual Energy X-ray Absorptiometry) utilizada habitualmente para valorar riesgos de fracturas en pacientes osteoporóticos, se han descrito estudios que correlaciona los resultados de densidad ósea obtenidos con este método con relación a las propiedades biomecánicas que presenta el hueso mandibular regenerado por distracción. De esta manera en un estudio de elongación mandibular en ovejas, tras un periodo de consolidación de 5 semanas, se observó una resistencia a la fractura de 689 N que se correlacionaba positivamente con una densidad de 0,332 g/cm² ⁽⁵⁹⁾.

Tomografía computerizada: Smith y cols⁽⁶⁰⁾ realizan un estudio de elongación mandibular en perros, con valoración mediante tomografía computerizada de los valores equivalentes de densidad ósea. Se observó una asociación significativa entre las situaciones de no unión con los valores más bajos de equivalentes de densidad ósea. Los valores de densidad fueron mayores a las 6ª y 8ª semanas (sin diferencias entre ellas) en relación con las mediciones tomadas a las 4 semanas, aunque siempre inferiores a las mediciones preoperatorias. Este método, que tiene enormes ventajas a nivel experimental, presenta algunos inconvenientes a nivel clínico, por el alto coste, la exposición de radiación y las distorsiones por metales.

Radiología convencional: Cope y Samchukov⁽⁶³⁾ realizan un estudio en perros de valoración radiológica en la consolidación del hueso regenerado por distracción tras elongación mandibular. Después de la distracción solo el 27% de las muestras presentaban algún signo de osificación en forma de finas espículas que crecen desde el hueso original mientras que el 73% restante no presentaba ningún signo. A las 2 semanas de consolidación el 54% de las muestras presentaban signos de osificación y mineralización con finas espículas unidas al hueso original y espículas en “isla” en el centro del gap, el 46% restante presentaba mineralización con 2 zonas bien definidas unidas a los huesos originales con interzona radiolúcida central. A las 4 semanas se observó en el 69% de las muestras 2 zonas de regeneración con una interzona radiolúcida central, mientras que el 31% restante presentaba una zona continua de mineralización sin interzona central. A las 6 semanas se observa mayor densidad y el 69 % de las muestras presentaba una mineralización continua sin observarse zonas radiolúcidas. Se considera en cualquier caso que entre el 30-60% de la mineralización ósea puede ser ganada o perdida sin que se observe radiológicamente, lo que indica que la interzona radiolúcida central puede tener un porcentaje de mineralización importante sin que sea detectado. En todos los periodos de consolidación observados se vio que la estabilidad clínica de la zona regenerada se relacionaba directamente con la existencia de una interzona central, y de la anchura de la zona regenerada con relación a la anchura del hueso original.

Histomorfometría e Inmunohistoquímica: Carls y cols⁽⁶⁷⁾ realizaron una valoración histomorfométrica dinámica con fluorocromos en elongación de paladar en perros. Observaron que la mineralización del hueso neoformado se produjo entre las 4 semanas y los 3 meses después de la distracción. Sugirieron que la aplicación de los fluorocromos no debe separarse mucho en

el tiempo del momento de la toma de biopsia por riesgo de remodelación y pérdida de los niveles de marcaje.

Cope y cols realizan también un estudio experimental de elongación en mandíbula de perro para observar la histología en huesos intramembranosos⁽⁶¹⁾. Observaron en las muestras recogidas inmediatamente después de la distracción que solo el 2-5% de la cámara de distracción eran de trabéculas óseas. Tras periodos de consolidación de 2, 4, 6 y 8 semanas se observó un porcentaje de área de hueso trabecular de 12,03 %, 26,87%, 44,16% y 46,26% en el centro del gap y en la zona cortical para cada grupo de consolidación respectivamente. A las 8 semanas de consolidación todo el gap estaba relleno de trabéculas óseas (sin especificar si eran trabéculas inmaduras o laminares), teniendo en cuenta que la zona que más tardaba en osificarse fue la cortical oclusal. Mediante marcaje con fluorocromos se observó que el índice de aposición mineral se incrementó hasta la 4ª semana de consolidación, luego se mantuvo estable hasta la 6ª semana y posteriormente decreció ligeramente hasta la 8ª semana. Esto indica que a partir de la 6ª semana el proceso de remodelado para formar hueso laminar, empieza a ser predominante al proceso de neoformación ósea.

Sawaki y cols⁽⁶²⁾ utilizan el mismo biomodelo para valoración histológica y observa que a las 2 semanas de consolidación solo hay hueso entrelazado en la zona cercana al hueso original mientras que el centro del gap se forma de fibras colágenas. A las 4 semanas el hueso entrelazado cercano al hueso original se transforma en hueso laminar, y el hueso neoformado crece en trabéculas hacia el gap de distracción intercalándose con las fibras colágenas. A las 6 semanas todo el gap está relleno de nuevo hueso observándose 2 tipos de maduración (inmaduro y laminar) y de osificación (intramembranosa y endocondral). A las 8 semanas todo el gap estaba relleno de hueso laminar. Similares resultados histológicos fueron obtenidos por este equipo al realizar distracción de elongación maxilar⁽³¹⁾.

Albanese y cols⁽⁶⁴⁾ realizan un estudio clínico de biopsias mandibulares en tejido óseo neoformado, al año después de la distracción de elongación. El estudio histológico reveló que el proceso de neoformación ósea es una combinación de osificación intramembranosa y endocondral.

Con relación al tiempo óptimo de consolidación para poder colocar los implantes Nosaka y cols⁽⁶⁵⁾ realizan un estudio en perros en los que coloca implantes en zona distraída tras elongación mandibular con distractor extraoral (protocolo: latencia 7 días; distracción 1mm/día/14 días; consolidación: 3 semanas y colocación inmediata) y obtienen las muestras a los 3 y 6 meses de colocar los implantes. Observaron que a los 6 meses hay mayor proporción de hueso laminar y una unión más íntima hueso implante que a los 3 meses. Indican que a las 3 semanas de

consolidación se inicia la formación de hueso inmaduro en forma de columnas desde los bordes del área distraída, siendo el momento apropiado de colocar los implantes y a los 6 meses se inicia la rehabilitación prostodóncica.

Gaggl y cols⁽⁴⁰⁾ realizaron un estudio de distracción alveolar en mandíbulas de ovejas, en el que mediante el distractor-implante alveolar DISSIS observaron que a partir del 3 mes de consolidación aparecía mayor radiodensidad y presencia de hueso laminar en el centro del gap que no aparecía al mes y a los 2 meses de consolidación. A los 6 meses de consolidación se observó una aposición hueso-distractor del 70-80% sin que se considerara que había terminado la reestructuración ósea. Establecieron que a partir del 3 mes de consolidación había una estabilidad del distractor-implante suficiente (valores de periotest < 3) y se podría iniciar el tratamiento prostodóncico.

Un estudio experimental de elongación mandibular en ovejas⁽⁶⁶⁾ reveló mediante inmunohistoquímica a los 20 días de consolidación un incremento de expresión del FGF-II mientras que factores como el IGF-I y el TGF- β no presentaban una expresión importante, lo cual no significa que no pudieran tener más actividad en fase iniciales de la distracción, aunque parece que el TGF- β tiene un papel menos importante en la osificación intramembranosa que en la endocondral. La presencia de FGF-II fue más acusada en los osteoclastos lo cual establece su papel importante en la remodelación ósea además de su acción angiogénica en el momento de la reparación. También en ovejas, mediante análisis de metaloproteinasas (enzimas activas en el periodo de remodelación), que el hueso distraído es remodelado hasta los 9 meses postdistracción. A partir de ese momento el hueso sigue un patrón de remodelado estable similar al del hueso no distraído⁽¹⁵⁰⁾.

Mediante microanálisis de rayos X de dispersión de electrones (EDX, por Electrón Dispersive X-ray microanálisis) en elongación de maxilar en oveja se ha visto un contenido de calcio respecto al hueso normal, del 24,3% después de la distracción, de 77,8% a las 6 semanas de consolidación y del 95% al año y 6 semanas de consolidación. Con relación al índice Ca/P se observó al año y 6 semanas de retención un valor de 1,92 en comparación a valores de 1,97 del hueso no distraído⁽⁶⁸⁾.

Aplicación de agentes físicos y agentes farmacológicos

Con la finalidad de reducir los tiempos de tratamiento se están buscando procedimientos que aceleren la neoformación y maduración ósea.

Se ha descrito que la estimulación eléctrica favorece la consolidación de fracturas óseas. El mecanismo de acción parece que es multifactorial: se produciría un aumento del pH con aumento de la vascularización, se aumentaría la permeabilidad de los canales del calcio y parece que existe también un estímulo hacia la diferenciación y proliferación osteoblástica. Hagiwara y Bell⁽¹⁷⁰⁾ estudian en un modelo de elongación mandibular de conejos el efecto de una corriente continua de $10\mu\text{A}$ durante los 10 días que duró la fase de distracción. El estudio radiológico no reveló diferencias con el grupo control a los 10 días de consolidación, aunque sí existía mayor radiodensidad en el grupo de estimulación a los 20 días de consolidación. El estudio con densitometría evidenció diferencias a los 10 días existiendo un índice del 89,8% en el grupo de estimulación frente a un 78,8% del grupo control, y también a los 20 días. La valoración histológica también evidenció mayor formación ósea en el grupo de estimulación tanto a los 10 como los 20 días. Las valoraciones a los 30 y 60 días no evidenciaron diferencias en ninguna de las mediciones realizadas a ambos grupos.

Shimazaki y cols⁽¹⁷¹⁾ utilizan los ultrasonidos de baja intensidad (30 mW/cm^2) para estimular la formación ósea de tibias de conejo distraídas. Se realizó una valoración con radiología convencional, valoración de la densidad mineral, test de resistencia mecánica y estudio histológico. Se observaron mejores resultados en el grupo donde se aplicaron los ultrasonidos en todas las mediciones realizadas. El mecanismo de acción de los ultrasonidos sobre el hueso no está aclarado, pero parece que a través de los canales del calcio estimularía a los osteoblastos a sintetizar matriz extracelular.

Stewart y cols⁽¹⁷²⁾ han estudiado en elongación mandibular de conejos la incorporación de dosis de IGF-1 recombinado en zona distraída a dosis de $0,24\text{ mg/kg/día}$ durante 28 días, mediante bombas de infusión osmótica implantadas. Observaron una mayor actividad osteoblástica en los grupos que lo incluían aunque no diferencias significativas con relación a un mayor índice de aposición mineral o mayor resistencia mecánica. Según los autores esta administración tendría enmascarado su efecto por la producción endógena de este factor que se ve aumentada cuando se realizan las osteotomías y en el periodo de distracción y se estabiliza en la consolidación. Sin embargo la asociación de ese aporte exógeno de IGF-1 si apareció beneficioso para mejorar el índice de aposición mineral en el caso de utilizar índices de aposición más rápidos (3 mm/día), lo cual habilita vías de investigación para realizar protocolos más rápidos y así favorecer los factores de estabilidad y colapso de fragmentos óseos.

Teniendo en cuenta el potencial diferenciador de las células progenitoras medulares Richards y cols⁽¹⁷³⁾ utilizaron un modelo femoral de rata donde se realizó distracción y a la vez inyección en la zona de concentrado de células progenitoras derivadas de médula ósea, en el inicio, a la mitad o al final de la distracción. Observaron mediante tomografía microcomputerizada un mayor volumen óseo en las muestras inyectadas, aunque no influía el momento de inyección. Parece sin embargo, que cuando la aplicación de células se realiza en la fase de consolidación no hay efecto en la mejoría de la osificación.

Otro estudio utilizan las tibias de conejo distraídas mejoradas con aplicación sistémica de un análogo sintético de 1,25-dihidroxitamina D₃ (ED-71)⁽¹⁷⁴⁾. Los animales mejorados presentaban muestras con resultados significativamente mejores con relación a la densitometría y la histomorfometría ósea.

Utilizando tibias de conejo, Li y cols⁽¹⁷⁵⁾ valoraron la aplicación de un índice de distracción rápido (2mm/día) compensado por la aplicación de rhBMP-2 al finalizar la fase de distracción. Se valoraron también dos maneras de aplicación, por un lado la aplicación de rhBMP-2+ esponja de colágeno y por otro la inyección subcutánea en la zona de 75µg de rhBMP-2. Se observaron diferencias de densidad radiológica y de densidad mineral entre los grupos tratados de los no tratados tanto a los 5 y 14 días postconsolidación, pero no a los 28 días de consolidación, no observándose diferencias entre el método de aplicación.

Edad y estado general del paciente

La velocidad de regeneración ósea es más rápida cuanto menor es la edad del individuo. En sujetos jóvenes un tiempo de latencia muy largo o un índice de distracción lento, podrían originar una consolidación prematura. De esta manera Chin y Toth⁽³⁷⁾ establecieron en pacientes de 2,5-17 años un tiempo de latencia máximo de 5 días para elongación mandibular. En cualquier caso la determinación de las variables que influyen en la distracción en relación con la edad, todavía no se han descrito.

Aronson y cols⁽¹⁶⁹⁾ observaron una diferencia significativa en la radiodensidad de tibias de rata distraídas, de tal manera que las ratas de 4 meses presentaban un 95 % de hueso mineralizado, mientras que las de 24 meses solo el 36%.

En cuanto al estado general del paciente, se sabe que el hueso irradiado es hipovascularizado, hipocelular e hipóxico. Sin embargo, se ha visto en mandíbulas de perros irradiadas que la distracción se desarrolla de manera similar a mandíbulas no irradiadas⁽¹⁷⁶⁾.

El hábito del consumo de tabaco parece que también afecta la regeneración por distracción. Ueng y cols⁽¹¹⁷⁾ demostraron que conejos que inhalaban humo de tabaco durante la

distracción, presentaban muestras de tibia con valores densitométricos y biomecánicos menores que en los animales sin exposición al tabaco. Los autores establecen como posible causa la alteración en la vascularización aunque el mecanismo molecular exacto es desconocido.

3.4.2.- FACTORES BIOMECÁNICOS

Aunque sean los condicionantes menos estudiados, se han valorado factores biomecánicos extrínsecos: Diseño del distractor (número, diámetro y longitud de los tornillos de distracción y fijación, material del distractor) y la orientación del vector de distracción; y factores biomecánicos intrínsecos o tisulares: Formas geométricas anatómicas, densidad del área a distraer, longitud que se quiere obtener y tipo de tejidos blandos adyacentes⁽¹³⁵⁾.

FACTORES BIOMECÁNICOS EXTRÍNSECOS

Diseño de distractor

Actualmente existen diseños alveolares de anclaje extraóseo e intraóseo, y modelos que actúan únicamente como distractores y los que actúan como distractor-implante. El diseño del distractor va a influir en varios factores: dificultad para colocación o retirada después de finalizar la consolidación; mala estabilidad de los bloques óseos por déficit de anclaje del distractor; tamaños adecuados que no interfieran con la oclusión o los tejidos blandos adyacentes. Urbani y cols⁽⁴¹⁾ refieren tras utilizar el distractor OGD la necesidad de esperar un tiempo tras retirada de distractor (4 semanas) para que regenere los tejidos blandos y duros, ya que el defecto que deja el distractor al retirarlo no suele coincidir con la posición ideal de los implantes.

Bavitz y cols⁽¹⁷⁷⁾ realizaron un estudio experimental en perros para regenerar defectos periodontales vestibulares. Se utilizó un sistema de férula ortodoncia de anclaje dental para producir una distracción mediante elásticos que ejercen fuerza durante 8 semanas. Con este diseño se produjo un ligero aumento en la regeneración de cemento dental, pero no se consiguió regenerar hueso alveolar. Los autores lo achacan a que no existía una fuerza adecuada de distracción.

El distractor debe ser estable en todo momento hasta que se regenera el hueso en la zona de deficiencia que hemos creado. Si no hay una estabilidad suficiente, se producen microcizalladuras de los vasos nuevos que provoca una hemorragia y consecuentemente un fibrocartílago.

En distracción alveolar se están ampliando las aplicaciones de los mini-distractores. Se están desarrollando varios modelos de distractores horizontales que han obtenido resultados preliminares positivos tanto en estudios experimentales⁽¹⁵⁶⁾ como en estudios clínicos⁽⁵⁰⁾.

Kessler y cols⁽⁵⁴⁾ describen un nuevo distractor microhidráulico para elongación mandibular, que permiten realizar una distracción a presión continua las 24 horas del día (protocolo: latencia 7 días; distracción 1,5 mm/día/8 días; consolidación 1 mes). Observaron en minipigs la inexistencia del callo blando de fractura inmediatamente después de la distracción y orientación paralela de las fibras de colágeno del área distraída con inicio de la mineralización de la matriz osteoide. Mediante ultrasonografía se evidenció una mejor consolidación del gap de osteotomía con relación al método discontinuo de distracción. Este mismo equipo presentó en otra publicación⁽¹⁷⁸⁾ resultados histológicos obtenidos con este biomodelo. A las 2 semanas de consolidación se observó con microscopía de fluorescencia una importante actividad de mineralización en el grupo de distracción continua, pero no en el grupo de distracción discontinua. A las 4 semanas de consolidación solo se observó formación cartilaginosa en el grupo con distracción discontinua. El grupo de distracción continua evidenció una osificación intramembranosa con formación de hueso laminar enlazado en toda la longitud del gap.

En esta misma línea Ploder y cols⁽¹⁷⁹⁾ desarrollan un distractor eléctrico para elongación mandibular continua. Lo probaron en mandíbula de ovejas y observaron en el estudio histológico a las 6 semanas islas cartilaginosas en la zona regenerada, con presencia de hueso reticular sin enlazar totalmente a lo largo de todo el gap. Atribuyeron estos resultados a las altas y permanentes fuerzas masticatorias de las ovejas.

En el caso de distractores de elongación mandibular, existen también diseños elásticos y con memoria de forma que permiten una distracción continua, con los cuales el paciente debe tener cuidado de no ingerir líquidos o alimentos por encima de los 50° C, ya que podría provocar un aumento de las tensiones que el muelle ejerce sobre los segmentos óseos lo cual podría influir sobre el resultado del tratamiento final. Estudios in vitro con este tipo distractor han valorado las dimensiones teóricas que debería tener el muelle de distracción en función del tamaño y la densidad del fragmento óseo a distraer, tales estudios serían extrapolables a futuros diseños de distractores alveolares continuos⁽¹⁶⁶⁾.

Vector de distracción

La aplicación clínica de la distracción en el campo de la ortopedia ha revelado la importancia de la dirección de distracción. De esta forma, el eje de distracción puede ser paralelo al eje anatómico del fémur pero no paralelo al eje biomecánico de carga del hueso lo que puede producir diferentes deformidades en la rodilla al terminar la elongación. Este mismo principio ha

sido aplicado en los casos de elongación mandibular, observándose que en 1 mm de elongación mandibular existe un desplazamiento lateral del distractor de 0,25 mm, que clínicamente se manifiesta como distorsión de los distractores, reabsorción del hueso adyacente a los tornillos de anclaje o transmisión de fuerzas inadecuadas a los cóndilos. Esto debe ser evitado con la colocación de diseños de distractores que se mantengan lo más paralelamente posible como se pueda a la dirección de distracción durante todo lo que dure la elongación⁽¹⁸⁰⁾.

En distracción alveolar el tejido distraído debe ser situado en una posición final que favorezca la estética y funcionalidad del tratamiento protodóncico dental. Chin⁽⁴³⁾ describe que en el maxilar un incorrecto desplazamiento del fragmento puede producir una deficiencia ósea labial, que no permitiría una correcta colocación de los implantes. Utilizando el distractor LEAD y en función de la distracción requerida habría que inclinar el distractor hacia palatino. Con el distractor OGD se ha descrito la inclinación hacia lingual del vector de distracción debido a la tensión del colgajo lingual. Esto puede ser corregido mediante férulas dentosoportadas de corrección de vector ^(42, 53).

La planificación preoperatoria del vector de distracción, va a determinar la correcta colocación del distractor, y así facilitar la colocación posterior de implantes y el tratamiento protodóncico. Gaggl propone la planificación prequirúrgica en distracción alveolar mediante la creación de modelos en 3D estereolitográfico⁽¹⁸¹⁾. Herford y cols⁽¹⁸²⁾ establecen una serie de técnica para corregir el vector de distracción:

- Cadeneta elástica anclada en brackets adheridos en dientes adyacentes, para llevarlo a vestibular
- Férula de alambre anclada a dientes adyacentes con composite, que se puede conectar al distractor mediante alambre o elástico, para llevarlo a vestibular. Hay que tener cuidado que no se produzca la movilidad de los dientes hacia el espacio edéntulo. Se recomienda un anclaje mínimo en 2 dientes adyacentes.
- Bandas de ortodoncia en molares, arco transpalatino y elástico que conecta con el distractor, para llevarlo a palatino.
- Férulas acrílicas, cuando no hay dientes adyacentes al distractor. Aunque deben ser retenidas en algún diente o implante.
- Presión manual sobre el fragmento a transportar durante la fase de distracción o en las 2 primeras semanas de consolidación (“moldear la regeneración”). Se puede fijar el segmento en la posición deseable con sutura reabsorbible.

-Osteotomía después del periodo de consolidación, y reposicionar el segmento en una nueva posición. Es mejor solución que colocar los implantes en posición comprometida.

Jensen y cols realizaron un estudio clínico prospectivo a 5 años en 28 pacientes, donde principalmente utilizaron un procedimiento de distracción alveolar mediante anclaje ortodóncico en maxilar. Este anclaje facilita un movimiento de distracción tanto vertical como horizontal. Observaron que a los 2 meses de consolidación la mayoría de los casos presentaba zonas de pobre osificación con formación de tejido blando, aunque con existencia de estabilidad del fragmento, que precisaron de injertos óseos o mucosos secundarios. Los autores establecen que la fuerza bidireccional podría alterar la fragilidad del isotropismo de la zona regenerada. Para evitar esta bidireccionalidad recomienda que inicialmente se realicen procedimientos de ganancia ósea horizontal mediante injertos en onlay, y posteriormente se realice la ganancia vertical mediante distracción⁽¹⁶⁴⁾.

En casos donde se desplaza un fragmento de mayor longitud se han utilizado la colocación de dos distractores en vez de uno⁽¹⁸³⁾. De esta manera se ha demostrado que se controla el balanceo mesiodistal pero no el movimiento en sentido bucolingual. Se ha propuesto la utilización de un tercer distractor o bien un anclaje ortodóncico para controlar el vector de distracción.

FACTORES BIOMECÁNICOS INTRÍNSECOS

Densidad y morfología del área ósea a distraer

Cho y cols⁽¹⁸⁴⁾ realizan un estudio de elongación en mandíbula de perro, donde previamente se colocó un injerto onlay de hueso membranoso. Se observó que en la zona de injerto onlay se producía regeneración por distracción cuando el onlay había consolidado previamente durante 4 semanas, pero no cuando había consolidado 1, 2 o 3 semanas.

También se ha desarrollado distracción alveolar vertical en injertos de peroné para reconstrucción mandibular. Marchetti⁽¹⁸⁵⁾ describe un caso clínico al que se aplicó distracción alveolar (distractor TRACK) al año de la reconstrucción mandibular, observando hueso laminar a los 70 días de consolidación. Klesper y cols⁽¹⁸⁶⁾ utilizan esta misma técnica en 9 pacientes, observando hueso laminar a las 12 semanas de consolidación.

III.4-NUEVAS TERAPIAS DE REGENERACIÓN ÓSEA

En el proceso de ingeniería tisular ósea tanto en una reparación normal como en una reparación de zona distraída nos moveríamos en un triángulo en donde en cada vértice estarían las siguientes estructuras: las células osteoprogenitoras(osteogénesis) que permitan la diferenciación en células osteocompetentes; la matriz extracelular(osteokonducción) que sirve de andamiaje para la migración celular y el crecimiento de ese nuevo tejido; y los factores solubles(osteoinducción) que inducen la diferenciación de esas células progenitoras en osteoblastos, y la producción por parte de los osteoblastos de proteínas óseas⁽¹⁸⁷⁾. Hay que considerar que no se puede conseguir un nuevo tejido si no es a través de la actividad de células vivas, por lo que la existencia de células osteocompetentes se hace indispensable.

El propósito de esta sección no es una descripción detallada de todas las terapias de regeneración ósea, sino de hacer una actualización de los diferentes procedimientos que pudieran complementar a la distracción histogénica. De esta forma existirían terapias basadas en las células, terapias basadas en la matriz, y terapias basadas en los factores.

4.1.-TERAPIAS BASADAS EN LAS CÉLULAS

Las estrategias utilizadas en este sentido se han basado en la implantación de:1-médula ósea fresca.2-cultivos purificados y expandidos de MSCs.3-osteoblastos y condrocitos diferenciados.4-células que han sido modificadas genéticamente para expresar proteínas osteocompetentes.

Médula ósea fresca

Se han desarrollado estudios clínicos en los que se obtiene médula ósea de la cresta iliaca y se coloca con materiales de injerto en el lugar de fractura. Sin embargo la médula ósea fresca solo tiene una MSC por 100.000 células nucleadas. Se tiende a métodos más selectivos y concentrados de obtención de células⁽¹⁸⁸⁾.

Cultivos de MSCs

Se ha demostrado la capacidad osteogénica y condrogénica de cultivos expandidos y purificados de MSCs incluso en defectos óseos de un determinado tamaño en los que no habría regeneración sin la existencia de un agente promotor. Estudios desarrollados con cultivos de MSCs humanos en defectos de fémur en ratas atímicas (sin linfocitos T, por lo que no rechazan el material xenogénico). Se colocaron injertos cerámicos con MSCs y sin ellas, observándose que en las muestras donde se utilizaba esta terapia había histológica y radiológicamente mayor formación de hueso a las 4 y 8 semanas de curación, existiendo un incremento de resistencia al torque y de rigidez de 212% y 245% mayor en comparación a las muestras sin promotor (188).

Cultivos de condroblastos y osteoblastos diferenciados

Cultivos de MSCs con dexametasona, ácido ascórbico y β -glicerofosfatos inicia el linaje ostogénico de las células. Teóricamente estos preosteoblastos pueden ser utilizados para tratar varios defectos óseos. Breitbart y cols⁽¹⁸⁹⁾ utilizaron células obtenidas de periostio de conejos para posteriormente cultivarlas y obtener diferenciación osteoblástica. Estas células obtenidas se vehiculizaron en fibras de ácido poliglicólico y se utilizaron en la regeneración de defectos de bóveda craneal. A las 12 semanas de evaluación las muestras enriquecidas con osteoblastos presentaron una formación de hueso significativa.

Transfección génica y células modificadas genéticamente

El complejo entramado que afecta al metabolismo óseo hace pensar que la regulación o determinación genética tiene que ser múltiple, que probablemente existe una gradación en el determinismo de diferentes genes y que deben existir interacciones o modulaciones entre ellos. Se han estudiado mutaciones deletereas, anuladoras o disminuidoras de la función génica sobre todo en patologías endocrino metabólicas con afectación ósea. Así por ejemplo, mutaciones del gen del receptor de la vitamina D (VDR) observado en el raquitismo, mutaciones del gen de la cadena del colágeno tipo I (COL1A1) en la osteogénesis imperfecta, o mutaciones del gen del receptor al estradiol (ER) en la osteoporosis masculina. Otros genes han sido estudiados: los del TGF β , de la IL-6, del receptor de la calcitonina (CTR), del antagonista del receptor de la interleucina-1 (IL-1-RA), del receptor del calcio (CaSR), de la osteocalcina, de la PTH etc...⁽¹⁹⁰⁾.

Las recientes investigaciones de terapia celular génica están encaminadas en la modificación de ciertas moléculas de ADN para incorporar la secuencia de determinados genes o promotores de factores o proteínas implicadas en la formación ósea (normalmente BMPs). Una técnica es la transfección o entrega in vivo, por la cual se incorpora una secuencia exógena al

ADN celular mediante vectores o lanzaderas virales o no virales, que van a originar que las células mesenquimales se diferencien hacia el linaje osteoblástico y aumenten su proliferación. Estas técnicas permiten una producción de factores de crecimiento de una manera más prolongada que cuando se realiza una aplicación exógena, teniendo en cuenta la corta vida media de los factores.

Sin embargo, los vectores virales actuales pueden originar reacciones inmunológicas, debido a la “fuga” en la expresión de proteínas del genoma vírico además del gen diana; por otro lado no se integran en el genoma de la célula en las divisiones por lo que su actuación es limitada. Se han utilizado como vectores los retrovirus, herpes virus, adenovirus y virus adeno-asociados. Los virus adeno-asociados (adeno-associated viruse AAV) no expresan el genoma vírico y se incorporan a la duplicación del genoma, pero siguen presentando un efecto potencialmente mutagénico, ya que el virus y su “pasajero” pueden incorporarse a una zona donde existen oncogenes u oncosupresores y alterar su expresión⁽¹⁹¹⁾.

Utilizando la técnica in vivo con adenovirus, Baltzer y cols⁽¹⁹²⁾ incorporan cDNA con BMP-2 en defectos de fémur de conejos. Observaron radiológicamente una radiodensidad evidente en el grupo cDNA-BMP-2, mientras que en el grupo control permanecía el defecto. Histológicamente y biomecánicamente se observó una completa osificación del grupo experimental. Se cuestionó si el objetivo que alcanza la transfección fueron las células de la médula ósea o bien células musculares adyacentes.

También hay técnicas de entrega ex vivo que sacan las células osteocompetentes, son transducidas con el vector fuera del organismo y son de nuevo introducidas en la zona a regenerar⁽¹⁹³⁾.

La utilización del tipo de terapia in vivo parece que tiene una serie de ventajas^(194, 195):

-Se trata de moléculas de DNA estables que podrían ser almacenadas durante largo tiempo.

-Se trata de un procedimiento de producción más barato que en el caso de las proteínas extraídas o recombinadas.

-Se pueden utilizar con otros materiales de injerto o técnicas de regeneración (RTG, distracción).

-Una vez incorporado el ADN en las células competentes se produce una expresión durante 2-6 semanas, aumentando la proporción de moléculas inductoras en la zona de fractura/lesión.

Para evitar los inconvenientes de los adenovirus se han utilizado vectores no virales (plásmidos, lisosomas..), aunque parece que su capacidad de transporte no es todavía suficiente. Khisimoto y cols⁽¹⁹⁶⁾ han investigado en músculo de ratón la incorporación de plásmidos que incorporen el gen de la BMP4. La entrada de este plásmido en las células se facilitó utilizando aplicación eléctrica que origina un apertura temporal de poros en la membrana celular (electroporación). Observaron que las muestras donde se incluyó el plásmido con electroporación presentaban formación de hueso reticular ectópico, en comparación a las muestras con plásmido sin electroporación, o con inyección de suero salino.

En cualquier caso la terapia génica se encuentra actualmente en fase experimental, iniciándose los primeros ensayos clínicos en oncología y enfermedades degenerativas. Como estableció recientemente un director de la Food and Drug Administration (FDA) “La terapia génica son construcciones derivadas de la naturaleza, pero no son de la naturaleza”⁽¹⁹⁷⁾.

4.2.-TERAPIAS BASADAS EN LA MATRIZ

Aunque el concepto de osteoconducción, es derivado de la terapia reconstructiva de injertos, hay que tener en cuenta que este concepto de “andamiaje” para el crecimiento óseo ocurre también de manera habitual en la regeneración ósea normal, tanto en procesos de fractura, de distracción, como en la unión hueso-implante. En estos casos la matriz osteoconductiva estaría formada inicialmente por la red de fibrina y posteriormente por el entramado de colágeno⁽⁷¹⁾.

Basado en la regeneración ósea en materiales de injerto la matriz osteoconductiva ideal debería cumplir los siguientes requisitos ⁽¹⁹⁸⁾:

- Fomentar la uniforme distribución y retención de las células.
- La estructura debería permitir una rápida invasión vascular. De esta manera favorecer la existencia de una adecuada tensión de oxígeno para que prolifere la formación ósea y no la formación cartilaginosa.
- El material debe permitir una unión directa y resistente al hueso adyacente (bioactividad).
- La estructura tridimensional debe permitir un correcto crecimiento del hueso para originar unas formas anatómicas adecuadas.
- Los materiales que lo componen tendrían que ser reabsorbidos y sustituidos por el hueso neoformado, sin producir ninguna reacción inflamatoria (no inmunogénico).
- Tendría que ser radiolúcido para distinguirlo del hueso neoformado.
- Fácil manipulación clínica.

La utilización de estructuras osteoconductoras o matrices se están realizando en diferentes materiales preformados a modo de injerto (aloinjerto, xenoinjerto, hidroxiapatita, colágeno tipo I, fosfato tricálcico, sulfato cálcico, polímeros(ácido poliláctico, ácido poliglicólico) o bien inyectables (polímeros fotopolimerizables o autopolimerizables) y desarrollados para distintos fines: Como estructuras para guiar el crecimiento del hueso adyacente al defecto; como vehículo de transplante de células(MSCs, osteoblastos); o como vehículo de factores solubles (BMPs, TGF- β , hormonas).

Las propiedades de estas estructuras o carriers osteoconductivos van a tener una función importante en la función de los GFs o citoquinas que pueden vehicular. De esta manera van a influir en la manera en que se liberan las proteínas que contienen y también van a ser el substrato donde las células se van a proliferar y diferenciarse. Se distinguen 4 propiedades que influyen en el resultado de estos carriers: físicas, químicas, biomecánicas y geométricas. Kuboki y cols⁽¹⁹⁹⁾ utilizaron bloques de hidroxiapatita+rhBMP-2 para determinar el tamaño del poro adecuado para la diferenciación fenotípica ósea, implantados subcutáneamente en ratas. Observaron que túneles de 90-120 μm producía una formación cartilaginosa, mientras que túneles entre 300-400 μm producían una formación ósea intramembranosa directa. Los túneles estrechos permitían la migración de las MSCs pero no de los vasos sanguíneos, lo cual creaba un medio hipóxico que favorecía la condrogénesis. Estudios como este establecen la posibilidad de que ciertas matrices puedan llegar a ser osteoinductivas además de osteoconductivas.

Se ha observado experimentalmente que la aplicación de ácido poliglicólico-láctico (PGLA, por Polyglycolic co-Lactic Acid) es un vehículo adecuado para transportar BMP recombinadas, en la regeneración de resecciones mandibulares. Se trata de un polímero sintético reabsorbible que ha demostrado su seguridad en la composición de suturas reabsorbibles⁽²⁰⁰⁾.

4.3.-TERAPIAS BASADAS EN LOS FACTORES

La aplicación de factores solubles puede ser mediante aplicación de factores de crecimiento heterólogos (extraídos y purificados), recombinantes, o autólogos (PRP, por Platelets Rich Plasma).

La aplicación de las dosis adecuadas de estas proteínas en cada situación clínica es todavía desconocido⁽¹⁹⁵⁾ y también se desconocen los posibles efectos adversos a nivel molecular o genético⁽²⁰¹⁾. La utilización clínica de PRP ha sido descrita en diferentes especialidades médicas,

sin embargo, la aplicación en humanos de factores recombinantes aparece descrita en escasos estudios, principalmente del ámbito de la traumatología. En cualquier caso, los resultados clínicos e histológicos con la aplicación de factores reguladores son muy positivos en comparación a cuando no se utilizan, y actualmente se está investigando cual serían los factores más beneficiosos, los vehículos o “carrier” más favorables para transportarlos, y cuales son las dosis adecuadas y seguras.

En uno de los escasos estudios de aplicación clínica de rhBMP-2 en el ámbito maxilofacial, Boyne y cols₍₂₀₂₎ colocaron rhBMP-2 + esponja de colágeno para elevación del suelo sinusal en 12 pacientes. La dosis aplicada fue de 0,43 mg/ml observándose un aumento medio en altura de 8,51 mm. No se observaron efectos adversos sistémicos y se observó un hueso laminar a los 4 meses de consolidación.

En la aplicación de estos factores de crecimiento cumple un factor fundamental el vehículo o carrier que los transporta. Teniendo en cuenta que de manera fisiológica, las BMPs se liberan en el callo de fractura durante 1-2 semanas, se intenta buscar un carrier que libere el factor de manera prolongada y continua a lo largo de ese periodo. En este sentido se están sustituyendo los hidrogeles basados en gelatinas, por microesferas de espuma biodegradables(foamspheres PGLA). Un estudio en cráneo de ratas evidenció que las muestras de microesferas cargadas con rhBMP-2 tenían un mayor espesor óseo que las muestras donde se aplicó hidrogel cargadas con rhBMP-2₍₂₀₃₎.

Seto y cols₍₂₀₀₎ observaron en resección mandibular de monos adultos que la mezcla de rhBMP2+PGLA+Medula ósea presentaba mayor capacidad de regeneración ósea que la medula sola o el rhBMP2+PGLA solo. La combinación de factores externos con el injerto autólogo, parece que favorecería la regeneración de grandes defectos y de esta manera evitar la morbilidad de la zona donante. En cualquier caso, parece que la aplicación de factores de manera aislada, es decir con poco soporte de células progenitoras, no consigue los resultados de regeneración que se obtiene cuando se acompañan de injertos de medula ósea, sobre todo en individuos de cierta edad. Por otro lado, la capacidad osteoinductiva de las BMPs de manera ectópica parece que solo se obtiene en animales de corta edad₍₂₀₀₎.

En un modelo de tibia de rata se comparó la respuesta de regeneración de fracturas tras fijación con alambres de Kirschner sin recubrimiento, con recubrimiento de PDLA (Poly-D,L-Lactic Acid), y con recubrimiento de PDLA más formas recombinantes de IGF-1 y TGF- β . En el tercer grupo se obtuvieron los mejores resultados radiológicos, histomorfométricos y de

resistencia mecánica. No se observaron efectos adversos sistémicos. Sorprendentemente también se obtuvieron mejores resultados en las muestras con recubrimiento de PDLLA sin GFs en clínica en comparación a los sistemas de incorporación sistémica de GFs o mediante bombas de infusión, que pueden crear efectos adversos o infecciones secundarios; o también en comparación a los sistemas que incorporan esponjas como carrier donde se necesitaría separar los bordes de fractura para incorporarlos⁽²⁰⁴⁾.

Utilizando el biomodelo de mandíbula de perro, Sigurdsson y cols⁽²⁰⁵⁾ colocaron un injerto en onlay de rhBMP-2+ Hueso alogénico liofilizado. En esa zona inducida se colocaron implantes después de 8 y 16 semanas. A las 24 semanas después de colocar el onlay se realizó el estudio histológico, observándose similares porcentajes de BIC (55%) tanto en el hueso basal original como en la zona inducida.

IV-MATERIALES Y METODOLOGÍA



Este estudio experimental, longitudinal y prospectivo fue realizado con la colaboración del Servicio de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Militar Central “Gómez Ulla” (Madrid) y del Laboratorio de Anatomía Microscópica del Departamento de Ciencias Morfológicas y Cirugía, de la Facultad de Medicina (Universidad de Alcalá de Henares).

MATERIALES

Recursos animales: Se utilizaron 11 perros beagle machos de aproximadamente 2 años de edad y un peso de 10-15 Kg procedentes de una granja de producción de perros autorizada para animales de experimentación (Distrizoo, Madrid, España). El estudio fue aprobado por el comité ético para experimentación animal del Hospital Militar Central “Gómez Ulla”, y se llevo a cabo siguiendo las normas de la Directiva Europea 86/609 y del Real Decreto 223/1988 del 14 de marzo, sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. B.O.E. N°68 de 18 de marzo de 1988: P. 8509-8512.

El proyecto experimental se incluye en la categoría C, siguiendo la clasificación de la Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) de los Estados Unidos, en la cual se encuentran los procedimientos que incluyen el mantenimiento crónico de animales con un déficit funcional y/o procedimientos que potencialmente incluyen dolor moderado, malestar o estrés que será eliminado con los anestésicos o analgésicos apropiados⁽²⁰⁶⁾.

Las intervenciones quirúrgicas se realizaron en el quirófano del Servicio de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital Militar “Gómez Ulla” de Madrid. Los animales se mantuvieron postoperatoriamente en la unidad de vigilancia postoperatoria (**Fig. 13**) durante 2 semanas y después en jaulas de 2-3 animales en el animalario de dicho hospital hasta el momento de su sacrificio. La alimentación consistió en dieta blanda (Holand Elite, Distrizoo Animales, Madrid, España) a demanda, que consistía en mojar el pienso en agua. A lo largo de todo el experimento los animales fueron asistidos y vigilados por personal veterinario de dicho hospital.



Fig. 13. Unidad de vigilancia postoperatoria.

Material farmacológico: Se utilizaron los siguientes fármacos: Metedomidina (Domtor® Pfizer, Madrid, España); Butorfanol (Torbugesic®, Fort Dodge veterinaria, Gerona, España); Atropina (Servicios Farmacéuticos de la Defensa, Burgos, España); Atipamezol (Antisedan®, Smithkline Beecham, Madrid, España); Isoflurano (Forane®, Abbott, Madrid, España); Pentotal sódico (Tiopental sódico®, Abbott, Madrid, España); Estreptomicina+Penicilina G (Vetione®, Schering-Plough, Segre, Francia); Flunixin (Finadyne®, Schering-Plough, Segre, Francia). Clorhexidina en spray (0,12%) y en gel (0,2g) (Lacer, Barcelona, España).

Material quirúrgico: Para la realización de las intervenciones quirúrgicas se utilizó el instrumental quirúrgico convencional de cirugía oral que fue necesario (botador recto, fórceps de raíces inferiores, separador de Langenbeck y Farabeuf, mango de bisturí, hojas de bisturí nº 15, periostotomo, escoplo fino, portaagujas, tijeras, pinzas de Adson). Se requirió de sutura reabsorbible a base de poliglactin de 3-0 con aguja de 1/2 círculo y sección triangular (Vicryl, Ethicon, Bruselas, Bélgica) y sutura de 3/0 a base de nylon monofilamento con aguja de 1/2 de círculo de sección triangular (Laboratorio Aragón, Barcelona, España). Se utilizó un equipo de perforación (Controller Set, Nobel Biocare, Goteborg, Suecia) que permitía una velocidad máxima de 2000 r.p.m, necesario para la preparación de los lechos donde se colocaron los tornillos de retención así como para la realización de las osteotomías. Se utilizaron 10 unidades del prototipo de distractor extraóseo (Impladent, Barcelona, España), 30 tornillos de fijación, de 6 mm de longitud y 1,4 mm de diámetro. Se utilizó un atornillador para los tornillos de fijación (punta activa en cruz) y un atornillador para activar el tornillo de distracción (punta activa hexagonal), cuyo proveedor fue la misma casa comercial. Para realizar las osteotomías se usó

una pieza de mano de sierra oscilante (OMS 5000, Nouvag, Gouldach, Suiza) a la que se acoplaron hojas de sierra de 32mm de tallo, 14 mm de largo, 10mm de ancho en zona activa, y 1 mm de espesor (Ace Surgical Suply, Brockton, Estados Unidos). Se utilizó una pieza de mano 1:1 (HA-43, W&H, Bürmoos, Austria) donde se acoplaron fresas de tungsteno tipo Lindeman de 1,1 de diámetro y 9 mm de longitud (Komet, Lemgo, Alemania) , y fresas de tungsteno con forma lanceolada de 4 mm de diámetro y 9 mm de longitud (Komet, Lemgo, Alemania). Se utilizaron 10 chinchetas de fijación de membranas (Frios Fixation Set, Friatec, Mannheim, Alemania) para orientar las muestras. Para la toma de biopsias se utilizó una sierra sagital (ELAN-E, Aesculap, Tuttlingen, Alemania) con hojas de sierra de 3 cm de ancho en parte activa (Aesculap, Tuttlingen, Alemania)

El prototipo de distractor fue diseñado por nuestro equipo de investigación y desarrollado por la casa comercial Impladent (Impladent, Barcelona, España) (**ANEXO I**). Se trata de un diseño extraóseo fabricado en titanio grado 5 con superficie mecanizada que se compone de un cuerpo de distracción de 12 mm de longitud, 3 mm de diámetro, y 2 miniplacas de anclaje de 0,8 mm de espesor; una inferior con 2 orificios y otra superior con 1 orificio. En cada orificio se introducen tornillos de retención de 6,8 mm de longitud y 1,7 mm de diámetro. El distractor contenía un tornillo de activación con rosca de 9,5 de longitud y 1,8 de diámetro, con una dirección inversa de rosca en cada mitad del tornillo. Este tornillo era activado por un destornillador de cabeza hexagonal de 0,88 mm de anchura. Cada giro de 360 grados del tornillo de distracción conlleva una ganancia en altura de 0,66 mm. La distracción máxima que se consigue con este distractor es de 6,6 mm (10 giros), antes de que se desmonte y separe el fragmento superior del fragmento inferior del distractor (**Fig. 14**).

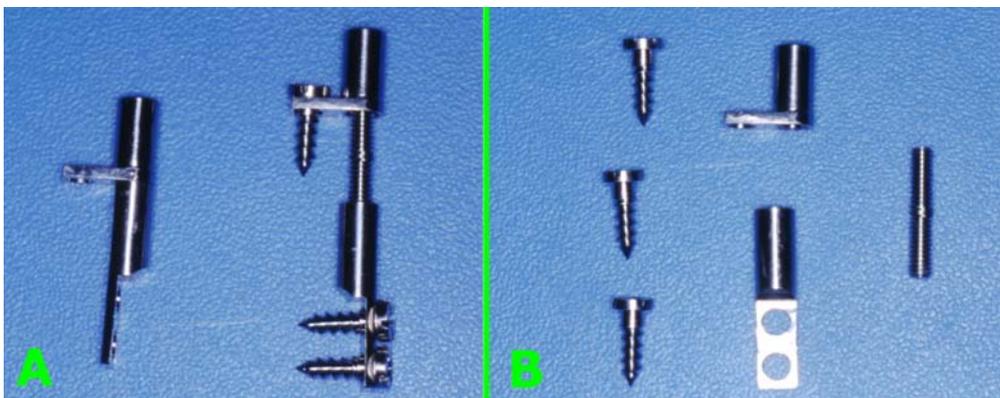


Fig. 14. Prototipo de distractor utilizado. A-Abierto y cerrado. B-Desmontado.

Material para estudio histológico e histomorfométrico:

Para el procesado de las muestras se utilizó el siguiente material, instrumental y maquinaria:

- 500 ml de formaldehído al 35-40% (Panreac Química, Barcelona, España)
- 3750 ml de etanol al 96% ((Panreac Química, Barcelona, España)
- 1500 ml de Glicolmetacrilato (GMA) (2 hydroxiethyl methacrylate, Sigma, Steinheim, Alemania).
- 1250 ml de GMA (Technovit 7200 VLC Embedding Media, Heraeus-Kulzer, Wehrheim, Alemania)
- 15 ml de resina de metilmetacrilato fotopolimerizable (Technovit 7210 VLC Adhesive, Heraeus-Kulzer, Wehrheim, Alemania).
- Maquinaria del sistema EXAKT (EXAKT Vertriebs, Nordestedt, Alemania), que incluye:
 - *Unidad de corte (Cutting Grinding System), con sierra diamantada de 0,2 mm de espesor.
 - *Unidad de pulido (Micro Grinding System)
 - *Unidad de polimerización (Light Polymerization Unit)
 - *Unidad de prensado adhesivo (Precision Adhesive Press)
- Calibrador micrométrico.
- Hojas de pulido de grano grueso P500 (Carbo Schröder, Dusseldorf, Alemania) y grano fino P2000 (Carbo Schröder, Dusseldorf, Alemania).
- Líquidos para tinciones según demanda para cada muestra.
- Cámara de vídeo SICOLOR C810 (Siemens, Munich, Alemania).
- Cámara de fotografía digital QV-2300UX (Casio, Tokio, Japón)
- Microscopio óptico III RS (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania) con conexión de cámara de video, y cámara de microfotografía .Aumentos 4x ,10x, 20x y 40x.
- Lupa de aumento WILD M7A (Leica, Hildesheim, Alemania) con conexión de cámara de video.
- Objetivo fotográfico de 55 mm (Nikon, Tokio, Japón)
- Soporte para fotografías macroscópicas.
- Software para procesado y análisis de imagen MIP 4 Advanced (Consulting de Imagen Digital S.L., Barcelona, España).
- Software para procesado de fotografía Adobe Photoshop 5.5 (Adobe, San Jose, USA)
- Ordenador con procesador Pentium IV y sistema operativo Windows XP (Microsoft, Redmond, Estados Unidos)

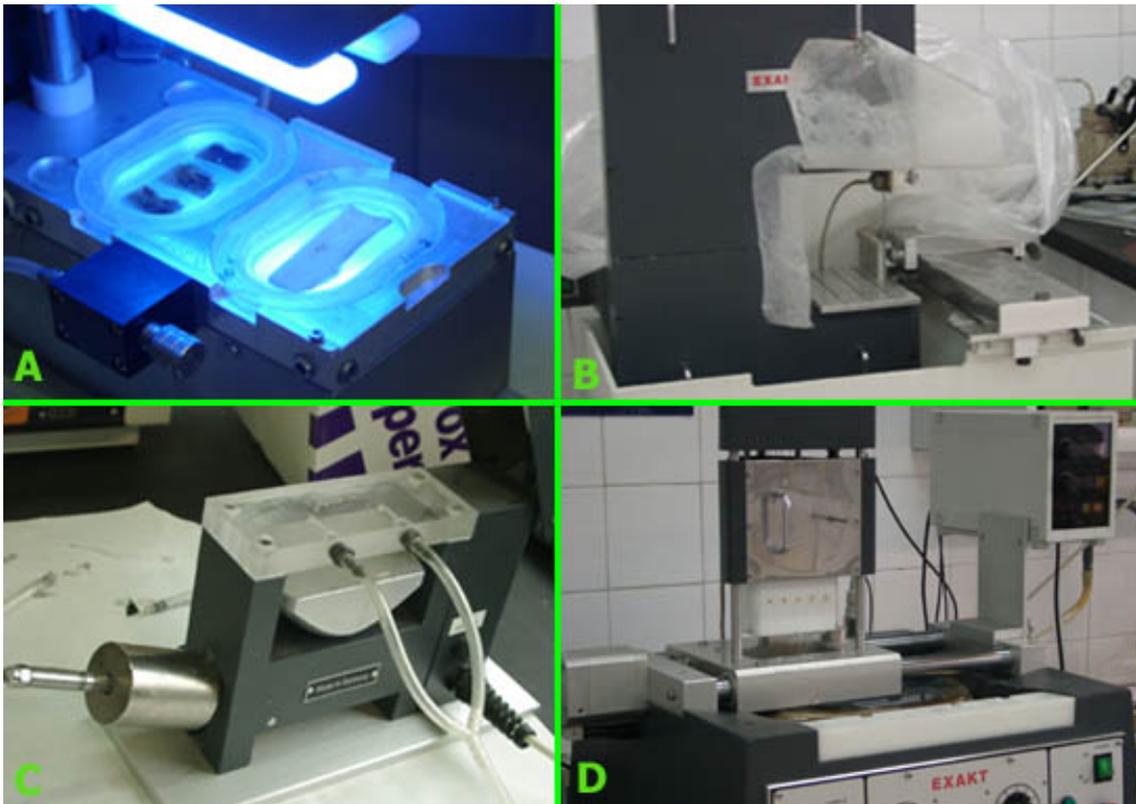


Fig. 15. Maquinaria del sistema EXAKT. A- Unidad de polimerización. B- Unidad de corte. C- Unidad de prensado adhesivo. D- Unidad de pulido.



Fig. 16. Maquinaria para histomorfometría. A- Microscopio óptico con cámara para microfotografía. B- Lupa de aumento y soporte para macro con objetivo y cámara de video instalados.

METODOLOGÍA

La metodología planteada en nuestro estudio se desarrolló en 8 fases. La fase del experimento en la que se utilizaron los animales se visualiza en el cronograma de la figura 17. A lo largo de todas las fases se tomaron las fotografías y videos clínicos necesarios.

1- Anestesia de los animales:

A cada animal se le sometió a anestesia general para llevar a cabo la primera intervención y la toma de biopsias. Para el acto anestésico se inició con premedicación e inducción con administración i.m medetomidina (20-40mg/kg) y butorfanol(0,2-0,4ml/kg). Se mantuvo con intubación endotraqueal administrando isofluorano a 1,5-2% y NO₂ + O₂(60% de NO₂ y 40% de O₂) a un volumen tidal de 12 ml/kg.

Para las activaciones del distractor se realizó una sedación mediante dosificación de medetomidina (20-40mg/kg) y butorfanol (0,2-0,4mg/kg). Se revertía con atipamezol(20-40mg/kg).

2-Intervención quirúrgica:

Para sistematizar los procedimientos dividimos la muestra experimental en 3 grupos. Los dos primeros grupos incluían 5 animales, y a cada animal se le colocó 1 distractor en la hemimandíbula derecha, por lo que en cada grupo se iban a obtener 5 muestras. El tercer grupo incluía un único animal que se utilizó como control.

Grupo I (n=5): Incluyeron las muestras obtenidas de los animales que tuvieron 4 semanas de fase de consolidación desde que termina la distracción.

Grupo II (n=5) Incluyeron las muestras obtenidas de los animales que tuvieron 8 semanas de fase de consolidación desde que termina la distracción.

Grupo III (n=1): Incluyó la muestra obtenida de un animal al que se le realizó exodoncia de premolares superiores e inferiores derechos pero no se le colocó el distractor. Este animal se sacrificó a las 22 semanas después de la exodoncia de premolares.

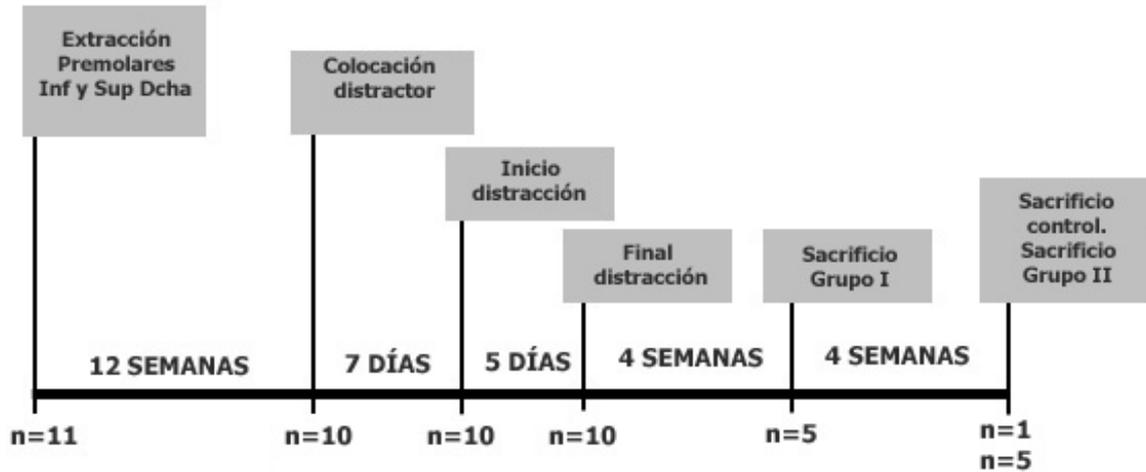


Fig. 17. Cronograma planificado para la fase experimental con animales.

A su vez en cada grupo, y con el fin de valorar y cuantificar los distintos parámetros que se establecieron en las diferentes zonas de la zona de distracción, se distinguieron 3 zonas (**Fig. 18**):

-Zona A: Parámetros y valoraciones realizadas en el fragmento óseo que se desplaza o transportado, es decir el más superior u oclusal.

-Zona B: Parámetros y valoraciones realizadas en la cámara de distracción, es decir en el área a regenerar.

-Zona C: Parámetros y valoraciones realizadas en el fragmento óseo que no se desplaza, es decir el más inferior o basal.

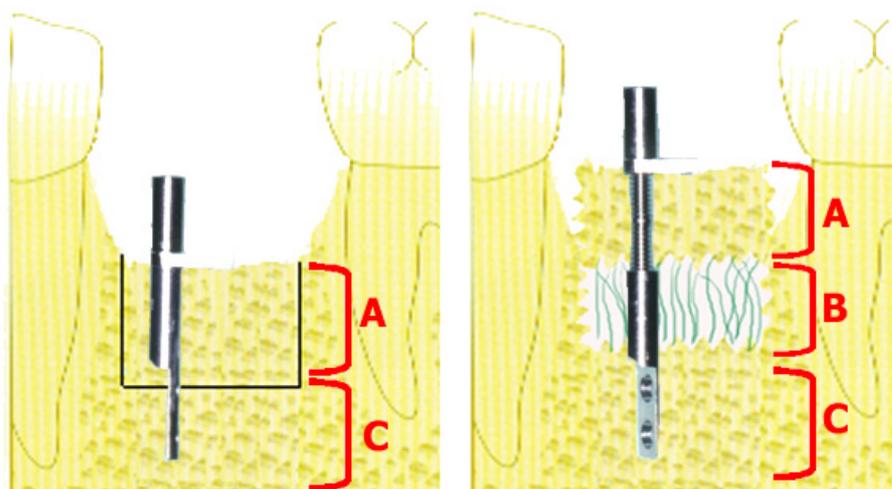


Fig. 18. Zonas óseas a estudiar.

El procedimiento quirúrgico que se llevó a cabo fue el siguiente:

Se realizó inicialmente una exodoncia de los cuatro premolares superiores e inferiores del lado derecho, realizando un despegamiento mucoperióstico vestibular cuidadoso, odontosección mediante fresa de Lindeman y extracción de las raíces de manera individual mediante botador recto y fórceps de raíces inferiores y superiores. La mucosa vestibular y lingual fue aproximada y suturada con sutura reabsorbible con puntos interrumpidos de colchonero modificado (**Fig. 19**). Se esperaron 12 semanas para conseguir una curación adecuada de los tejidos duros y blandos y posteriormente se realizó la intervención de colocación del distractor .

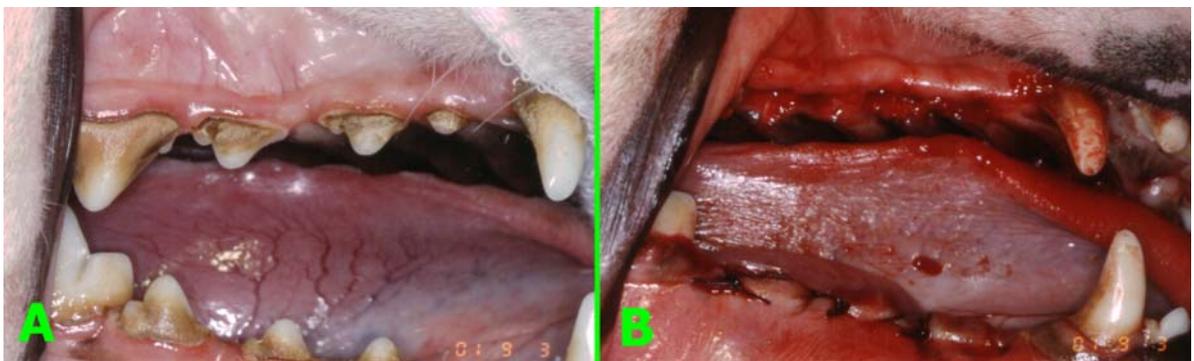


Fig. 19. Hemimaxilar y hemimandíbula derecha. A- con premolares. B- Después de la exodoncia de premolares.

La colocación del distractor se realizó en la cresta ósea alveolar mandibular derecha que se encontraba edéntula en la zona inmediatamente distal al canino inferior derecho. Se realizó una incisión mucoperióstica a espesor total supracrestal entre el canino y el primer molar e intracrevicular en la zona vestibular de ambos dientes. Se procedió al despegamiento mucoperióstico vestibular y a la visualización del nervio mentoniano, que no se seccionó en los casos que su posición no coincidía con la osteotomía horizontal. Mediante sierra oscilante a 2000 r.p.m e irrigación profusa con suero fisiológico se llevó a cabo la osteotomía horizontal a una distancia de 5 mm del reborde superior alveolar y con una longitud mesio-distal de 20 mm. Comprobamos que la osteotomía era completa a nivel lingual mediante un escoplo fino con palpación en zona lingual. Posicionamos el distractor y realizamos lechos óseos mediante una fresa de tungsteno Lindemann e irrigación a una medida de 6 mm de profundidad para poder colocar los tornillos de retención. En primer lugar se atornilló manualmente el tornillo basal-superior, posteriormente el oclusal y después el basal-inferior. Mediante fresa de tungsteno

lanceolada e irrigación se realizaron 2 osteotomías de socavado de unos 2 mm de profundidad en la zona superior de la cresta alveolar, separadas entre sí por 20 mm, y de manera equidistante al eje mayor del distractor, con el fin de posicionar posteriormente las osteotomías verticales, y evitar bordes cortantes del hueso del hueso a transportar. A continuación se realizaron las 2 osteotomías verticales con sierra oscilante e irrigación sobre las zonas marcadas previamente, y cuidando evitar el corte de la mucosa lingual (**Fig. 20**).

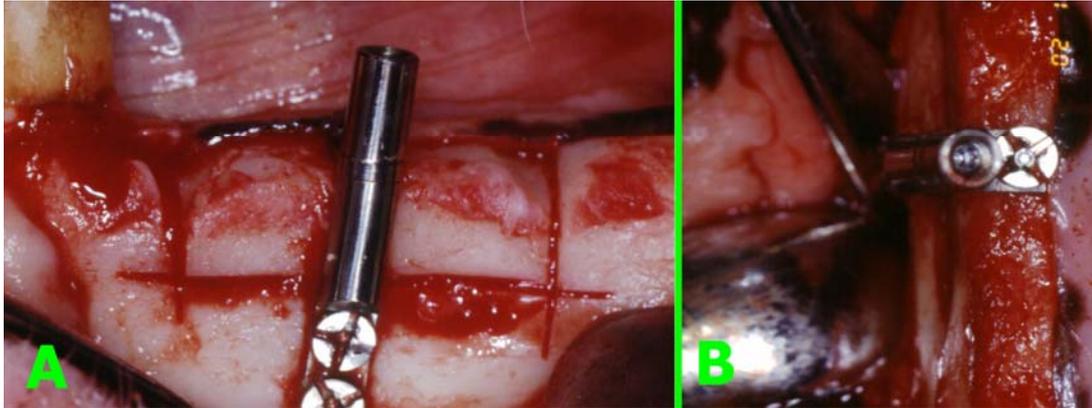


Fig. 20. Colocación de distractor . A-Visión vestibular. B- Visión oclusal.

Comprobamos la distracción, mediante la activación del tornillo de distracción (**Fig. 21**) y se reposicionó el distractor en la posición inicial. Se procedió a la sutura mediante suturas interrumpidas de colchonero modificado con nylon 3-0. Se dosificó de manera intramuscular a cada animal durante 3 días estreptomycin + penicilina G (2ml/animal/día) y flunixin (1,1mg/kg/día) .

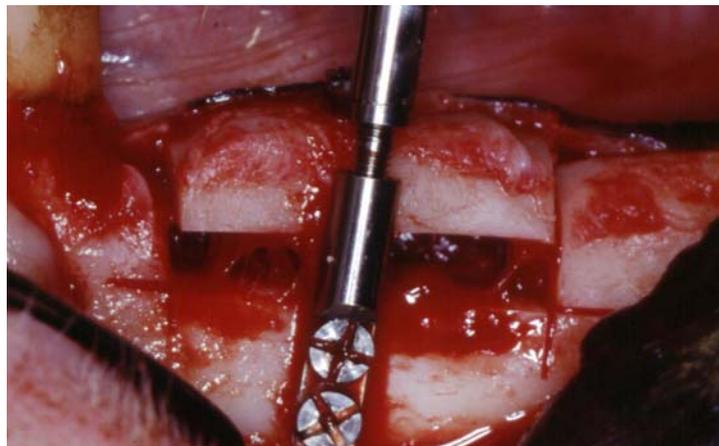


Fig. 21. Comprobación de la distracción (Visión vestibular).

3- Protocolo de distracción y controles postoperatorios:

Se esperó un periodo de latencia de una semana, se procedió a la retirada de la sutura, y se inició el índice de distracción a 1,5 vueltas/día (1 mm en longitud/día) durante 5 días. Al final de la distracción se obturó el acceso al tornillo de distracción con algodón y material de obturación provisional. Durante todos los días de activación valoramos el estado de la zona quirúrgica, así como aplicación de clorhexidina en gel y en spray (Lacer, Barcelona, España). Se realizó resutura de los tejidos en el caso de dehiscencias mediante sutura simple interrumpida con sutura reabsorbible de 3-0, así como de tratamiento antibiótico y analgésico cuando aparecía alguna complicación en la zona intervenida. Durante el periodo de consolidación se realizaron revisiones una vez por semana realizando una aplicación en la zona de estudio de clorhexidina en spray.

4- Toma de biopsias y recogida de muestras:

Se realizó en el quirófano del servicio hospitalario. En las zonas a estudiar realizamos una incisión supracrestal a espesor total, con despegamiento mucoperióstico vestibular y lingual en toda la zona edéntula. Se desatornillaron los 3 tornillos de fijación y se retiró el distractor. En la zona vestibular del hueso basal se colocó una chincheta de fijación de membranas (Frios Fixation Set, Friatec, Mannheim, Alemania) para orientar espacialmente la muestra. Mediante sierra sagital e irrigación con suero salino se realizaron osteotomías transversales de todo el cuerpo mandibular con un margen distal y mesial de aproximadamente 3 mm al fragmento transportado, de tal forma que los bloques óseos incluían la totalidad de las zonas óseas distraídas y el hueso mandibular subyacente. Las muestras se incluyeron en una dilución tamponada de formaldehído al 4%.

Antes de fijar las muestras, se midió con una regla milimetrada la altura del hueso transportado y de la cámara de distracción.

5- Sacrificio del animal:

Después de la toma de biopsia se procedió al sacrificio de los animales mediante administración de tiopental sódico (1g/ animal vía I.V.). Los cadáveres se almacenaron en un frigorífico tipo arcón y la eliminación de los mismos fue llevada a cabo por el servicio de recogida de residuos orgánicos del Ayuntamiento de Madrid mediante incineración.

6- Procesado de las muestras

Las muestras se fijaron en una solución de formaldehído al 4% tamponado con HCO_3Na y HCl que se mantuvo a un pH 7 durante 7 días. Se procesaron las muestras según la técnica de Donath⁽¹⁰⁷⁾ para obtener secciones de hueso sin descalcificar.

Las muestras fueron deshidratadas mediante la inmersión en las siguientes soluciones de etanol :

- 5 días en Etanol al 60%.
- 5 días en Etanol al 60%.
- 5 días en Etanol al 60%.
- 5 días en Etanol al 80%.
- 5 días en Etanol al 96%.
- 5 días en Etanol al 100%.
- 5 días en Etanol al 100%.

Durante la fase de infiltración e inclusión en glicolmetacrilato, las muestras fueron inmersas en las siguientes soluciones, y fueron mantenidas dentro de un recipiente opaco a la luz:

- 5 días en solución al 50% de etanol (100%) y 50 % de GMA(Sigma).
- 5 días en GMA(Sigma)
- 5 días en GMA(Sigma)
- 5 días en solución al 50% de GMA(Sigma) y 50 % de GMA(Technovit 7200 VLC)
- 10 semanas en GMA (Technovit 7200 VLC)

Las muestras fueron polimerizadas en la unidad de polimerización durante 2 horas con luz blanca (intensidad reducida) y 4 horas con luz azul (intensidad elevada), mediante refrigeración con agua que mantuvo la temperatura por debajo de 40 °C.

Los bloques polimerizados fueron recortados en bloques de paredes paralelas y adheridos a dos portaobjetos de metacrilato de aproximadamente 1,5 mm de espesor (sándwich) mediante resina fotopolimerizable, utilizando la unidad de prensado y fotopolimerizando con luz azul durante 15 minutos.

Los cortes se realizaron a 180 μm por medio de la unidad de corte con una sierra de 0,2 mm de espesor. Los cortes en cada muestra se realizaron de manera transversal al eje longitudinal

de la muestra (perpendicular al cuerpo de la mandíbula) (**Fig. 22**) en las zonas donde existía simultáneamente mayor cantidad de hueso en la cámara de distracción y el hueso transportado suprayacente. Se realizaron cortes en cada zona de la muestra donde se daban estas dos circunstancias iniciándose por las zonas más distales.

Las muestras fueron pulidas en la unidad pulidora, utilizando inicialmente con control automático una hoja de pulir de grano P500 hasta obtener un espesor de la muestra entre 30-90 μm y después mediante control manual con una hoja de grano P2000, hasta conseguir la mayor transparencia posible en la muestra.

Las muestras fueron teñidas mediante técnica de azul de toluidina, Modificación de Goldner del tricómico de Masson, hematoxilina-eosina y rojo sirius. Se realizaron según el procedimiento de Donath especial para hueso calcificado incluido en metacrilato⁽¹⁰⁷⁾. El procedimiento para cada tinción son descritos en el **ANEXO II**.

Las muestras teñidas fueron deshidratadas mediante alcohol al 96% y al 100%, tratadas con citrosol (Panreac química SA, Barcelona, España) como disolvente y posteriormente cubiertas con un cubre-portaobjetos mediante el medio de montaje Depex (Panreac química SA, Barcelona, España).

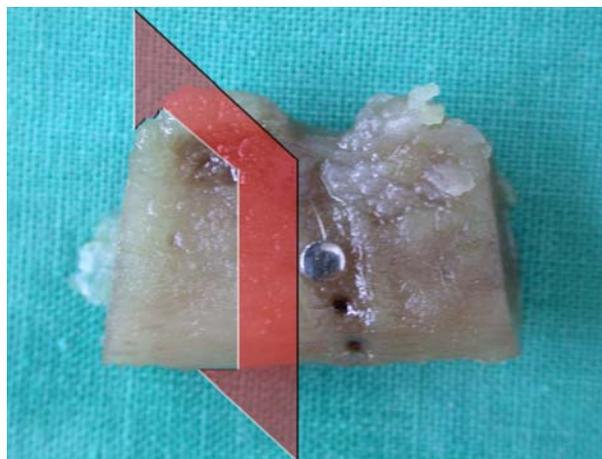


Fig. 22. Esquema de la dirección de los cortes histológicos.

7- Evaluación histológica e histomorfométrica:

La valoración histológica se realizó en un microscopio óptico observando la muestra a 40, 100, 200 y 400 aumentos, y utilizando filtros para polarizar la luz. Con esta valoración se obtuvieron las siguientes variables cualitativas obtenidas en la cámara de distracción (zona B):

hueso reticular, hueso de fibras paralelas, hueso laminar, estructura trabecular, estructura cortical, continuidad de superficie lingual y continuidad de superficie vestibular. Se consideraron 4 grupos de porcentaje: <25 % (+); 25-50% (++); 50-75% (+++) y >75%(++++).

También se estudiaron varias variables cuantitativas histomorfométricas estáticas y bidimensionales^(106, 72). Los distintos parámetros se midieron en las 3 zonas óseas de estudio o únicamente en la cámara de distracción: Hueso transportado (zona A), cámara de distracción (zona B) y hueso basal (zona C). La nomenclatura y abreviaturas se establecieron siguiendo las recomendaciones de la American Society for Bone and Mineral Research (1987)⁽¹⁰⁸⁾.

Para el estudio histomorfométrico las imágenes de las muestras se capturaron utilizando 2 métodos en función de las variables a estudiar. Mediante el software MIP4 se obtuvieron los resultados de todas las variables cuantitativas estudiadas.

El primer método de captación de imagen se realizó mediante la cámara de video y el objetivo fotográfico de 55 mm sujetos al soporte de macroscópica a una altura constante de 43 cm, y colocando las muestras sobre la fuente de luz de la lupa de aumento, a una intensidad constante número 4. Dicha captación equivalía a 5 aumentos de la lupa de la lupa de aumento. Con este sistema de captación se realizó el estudio de la densidad de área ósea, el perímetro óseo y la altura de hueso, mediante una calibración previa utilizando una regla transparente milimetrada.

El segundo método de captación se realizó utilizando la cámara de video y la lupa a 30 aumentos y una fuente de luz a intensidad constante número 4. Con las imágenes capturadas de esta manera se estudió la anchura trabecular vestibular y lingual en la cámara de distracción, y la densidad de osteoide vestibular y lingual en la cámara de distracción. Para la calibración de estas imágenes se utilizó una placa de calibración para microscopio con una cuadrado máximo de 1000x1000 μm , y un cuadrado mínimo de 50x50 μm .

El procedimiento para medir las variables cuantitativas estudiadas fue el siguiente:

- **Densidad de Área Ósea (por Bone Area per Total Area, B.Ar/Tt.Ar)**. Determina la cantidad de hueso mineralizado dispuesto tanto en trabéculas como osteonas con relación a la zona de tejido total. Nos va a indicar la densidad de hueso que se encuentra en el área regenerada y la densidad remanente en el hueso basal y el hueso transportado después de la distracción. Expresado en mm^2/mm^2 o bien en porcentaje. Obtenida en la zona A, zona B y zona C dividiendo el área de hueso y el área total (área ósea y el área no ósea).

La imagen capturada fue convertida en tonos de grises y se realizó una delimitación con líneas y segmentación de tonos de grises de cada zona de estudio (**Fig. 23**). Se consideraron las

zonas como hueso mineralizado en función de las diferencias de tonos de grises que presentaban y comparándolas a la imagen con el color de la tinción original. El valor final se obtuvo realizando la media entre los valores obtenidos de todos los cortes de cada muestra.

$$\text{B.Ar/Tt.Ar} = \frac{\text{área ósea}}{\text{área total}} \times 100$$

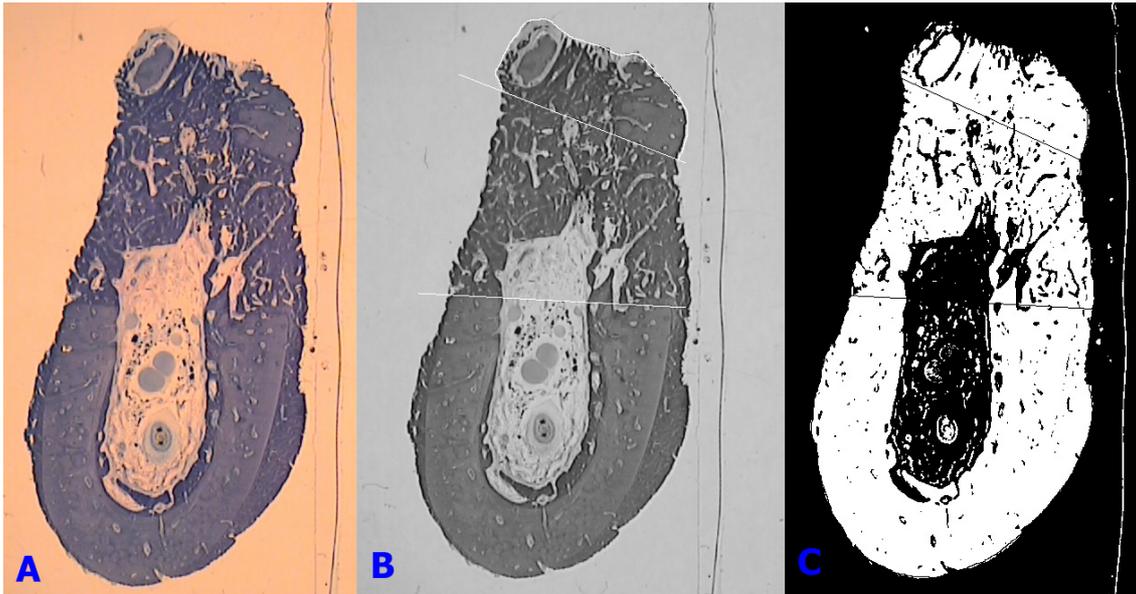


Fig. 23. Morfometría de Densidad de Área Ósea. A- Muestra capturada (x 5). B- Delimitación con líneas de zonas de estudio y conversión en grises.C- Segmentación.

- **Perímetro óseo (por Bone Perimeter, B.Pm).** Determina el perímetro de todo el hueso trabecular o cortical mineralizado. Expresado en mm. Nos va a indicar la porosidad del hueso que se encuentra en el hueso basal, la cámara de distracción y el hueso transportado. Expresado en mm. Obtenido en la zona A, la zona B y la zona C mediante delimitación con líneas y segmentación de niveles de grises. El valor final se obtuvo realizando la media entre los valores obtenidos de todos los cortes de cada muestra.

- **Altura ósea (Por Bone Width, B.Wi).** Determina la anchura o altura ósea que se ha obtenido en la cámara de distracción, y queda remanente en el hueso basal y el hueso transportado, así como en la altura total de la muestra. Expresado en mm. Se obtuvo en la zona A, la zona B, la zona C y en la totalidad de la muestra. Las 3 zonas de estudio se delimitaron con líneas y se realizaron 3 mediciones equidistantes en cada una de ellas, así como en la muestra total, siguiendo la dirección ocluso-basal. En cada muestra se realizó una media entre los 3

valores obtenidos, y el valor final se obtuvo realizando la media entre los valores obtenidos de todos los cortes de cada muestra.

- **Anchura trabecular en zona vestibular y lingual de la cámara de distracción (Por Vestibular Trabecular Width, Tb.Wi(V) y Lingual Trabecular Width(L).** Determina la formación y grosor de las trabéculas de la zona regenerada. Expresado en μm . Realizado en un campo de $1800 \times 1800 \mu\text{m}$ en la zona vestibular de la cámara adyacente al hueso basal, y en un campo de $1800 \times 1800 \mu\text{m}$ en la zona lingual de la cámara adyacente al hueso basal (**Fig. 24**). Se realizaron 5 mediciones en la zona de anchura intermedia (ni la zona más ancha ni la más estrecha) de 5 trabéculas aisladas equidistantes y resolviendo la media aritmética. El valor final se obtuvo realizando la media entre los valores obtenidos de todos los cortes de cada muestra.



Fig. 24. Delimitación de campos de estudio vestibular y lingual en la cámara de distracción.

- **Densidad de Área de Osteoide en zona vestibular y lingual de la cámara de distracción (Por Vestibular Osteoid Area (O.Ar/Tt.Ar(V) y Lingual Osteoid Area (O.Ar/Tt.Ar(L).** Determina la cantidad de osteoide dispuesto tanto en trabéculas como osteonas en relación con la zona de tejido total en el campo estudiado. Determina la fase de neoformación ósea y la función osteoblástica en la cámara de distracción. Expresado en $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^2$ o bien en porcentaje. Obtenido en un campo de $1800 \times 1800 \mu\text{m}$ en la zona vestibular de la cámara adyacente al hueso basal, y en un campo de $1800 \times 1800 \mu\text{m}$ en la zona lingual de la cámara adyacente al hueso basal (**Fig. 25**). Se consiguió dividiendo el área de osteoide por el área total en el campo

estudiado (área total en campo de $1800 \times 1800 \mu\text{m} = 3200 \mu\text{m}^2$). El área de osteoide se obtuvo mediante delimitación del osteoide con líneas continuas y segmentación de niveles de grises en el campo estudiado. El valor final se obtuvo realizando la media entre los valores obtenidos de todos los cortes de cada muestra.

$$\text{O.Ar/Tt.Ar: } \frac{\text{área osteoide}}{3200} \times 100$$

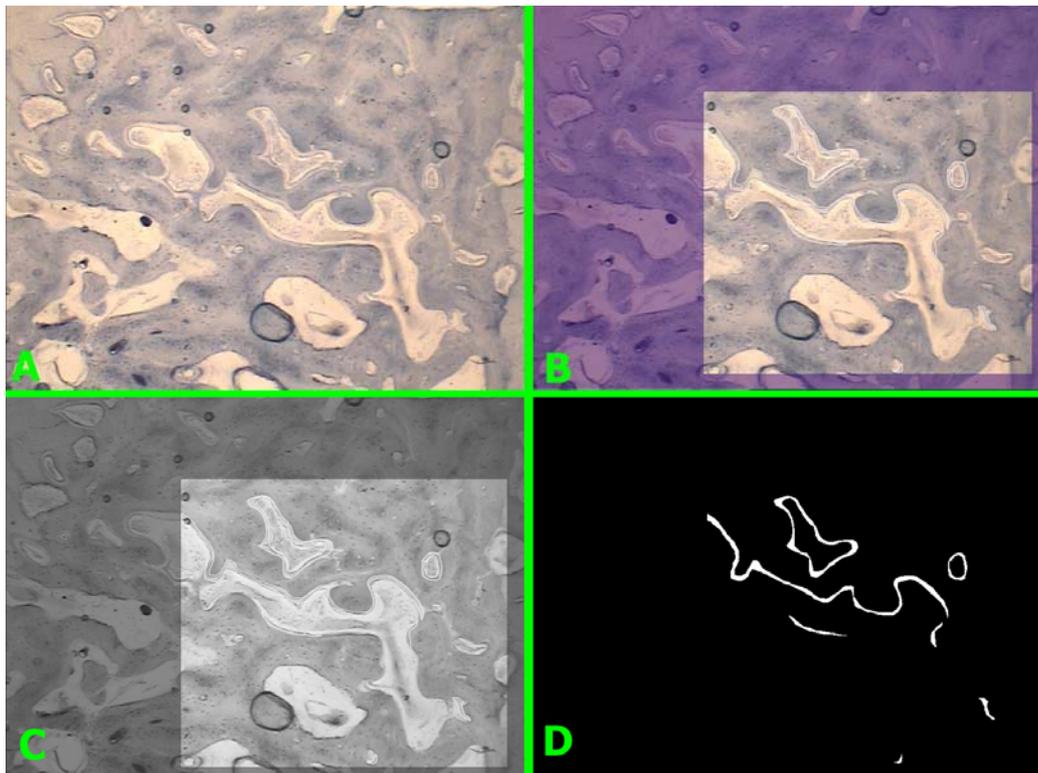


Fig. 25. Morfometría de Densidad de Área de Osteoide Lingual. A- Imagen capturada (x 33). B- Delimitación del campo y del osteoide con líneas. C- Conversión en grises. D- Segmentación.

8-Análisis estadístico

Se realizó en el Centro de Proceso de Datos de la UCM. Se realizó una estadística descriptiva con el establecimiento en cada variable de las medias y las desviaciones estándar a la media entre los diferentes cortes de cada muestra. No se realizó ninguna estadística inferencial por considerar muy escasos el número de animales (1 animal por cada grupo de estudio) en los que se podían comparar de manera fiable los resultados histomorfométricos óseos tras un proceso de distracción alveolar.

V-RESULTADOS



EVALUACIÓN CLÍNICA Y MACROSCÓPICA

Los 11 animales se recuperaron bien de la cirugía. La alimentación y el estado general fue bueno a lo largo de todo el experimento. En todos ellos se realizaron las extracciones sin complicaciones de los premolares derechos maxilares y mandibulares, observándose a las 12 semanas una brecha de cresta edéntula redondeada y homogénea en su superficie desde el canino al primer molar tanto en el maxilar como la mandíbula (**Fig. 26**)



Fig. 26. Brechas edéntulas maxilar y mandibular, tres meses después de las exodoncias de premolares.

En 6 animales se consiguieron obtener las muestras en el momento que se había planificado inicialmente, mientras que en los otros 5 animales no se recogieron muestras por pérdida prematura de distractor y el fragmento óseo a transportar. Solo en un animal se retiró el distractor en el momento de consolidación que se había proyectado inicialmente (**Tabla 6**).

Tabla 6. Número de animales de estudio en cada fase experimental				
	Colocación Distractor	Inicio Distracción	Final Distracción	Evaluación Histológica
GRUPO I (n)	5	3	2	2
GRUPO II (n)	5	4	3	3

Tabla 7. Altura de hueso medido tras la toma de biopsia						
		GRUPO I		GRUPO II		
		Animal 6	Animal 7	Animal 8	Animal 9	Animal 10
Altura de hueso transportado (mm)		5	4	3	3	2
Altura de cámara de distracción (mm)		5	2	3	6	5

En 3 animales se produjo una dehiscencia de la herida quirúrgica con exposición del fragmento óseo a transportar en el momento de iniciar la fase de distracción (Fig. 27). Se realizó irrigación con suero y clorhexidina en spray de la zona y resutura con sutura reabsorbible 3-0. En los días siguientes se volvía a exponer la zona con lo que se decidió retirar el distractor y el fragmento óseo a transportar (Fig. 28). La mucosa fue de nuevo suturada y no se sacrificó el animal.



Fig. 27. Dehiscencia ósea y exposición de fragmento óseo tras fase de latencia.



Fig. 28. Retirada de distractor y fragmento óseo.

En otros 2 animales se consiguió iniciar la fase de distracción pero se observó dehiscencia de la mucosa y exposición del fragmento transportado a lo largo de la fase de distracción y en la primera semana de la fase de consolidación (**Fig. 29**). La cámara de distracción se observaba invadida por la mucosa, lo que se presentaba incompatible con la regeneración ósea. Se decidió retirar el distractor con el fragmento óseo transportado, se irrigó la zona con suero y se resuturó la herida con sutura reabsorbible 3-0. No se sacrificó el animal.



Fig. 29. Dehiscencia mucosa y exposición de fragmento óseo en primera semana de consolidación.

En los 5 animales restantes se terminó la fase de distracción observando en todos los animales un aumento vertical de la cresta alveolar de aproximadamente 5 mm. Este aumento se observaba a la exploración tanto para los tejidos duros como la mucosa suprayacente (**Fig. 30 y Fig. 31**). Durante la fase de distracción, observamos que en los 2 primeros días de activación no se observaba una resistencia en el momento de activar el distractor. Del tercer al quinto día se observaba una mayor resistencia a la activación, posiblemente debido a la mayor tensión ejercida sobre la mucosa suprayacente.

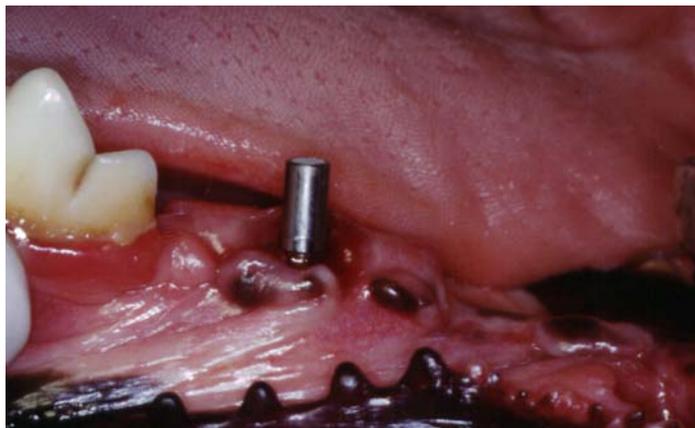


Fig. 30. Aumento de cresta alveolar después de finalizar la fase de distracción (Animal n°7).

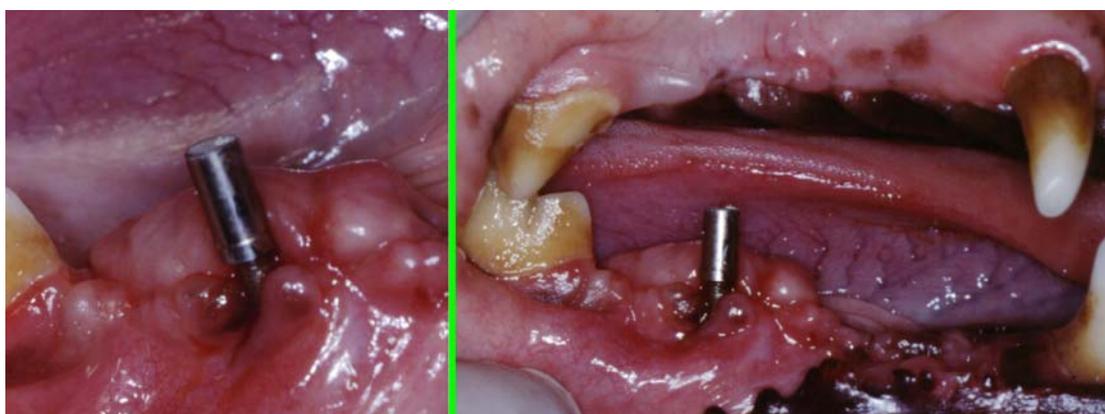


Fig. 31. Aumento de cresta alveolar después de finalizar la fase de distracción (Animal n° 9)

En el **animal n° 6** se observó una dehiscencia mucosa en la zona mesial de la zona distraída en la primera semana de consolidación. La zona fue tratada semanalmente con clorhexidina en spray y se mantuvo al animal hasta las 4 semanas de consolidación. La dehiscencia fue incrementándose en tamaño gradualmente observándose una migración de la mucosa en la zona mesial hacia la cámara de regeneración. El distractor se mantuvo estable durante las 4 semanas (**Fig.32**).

La muestra obtenida se incluyó en el Grupo I. En la toma de la muestra se observó que la cámara de regeneración se presentaba invadida por la mucosa en la mitad mesial, mientras que en la otra mitad distal se observaba a la palpación con sonda de exploración un tejido duro pero con menor dureza a la del hueso basal. La superficie ósea de la cámara de regeneración presentaba cierta depresión en la cara vestibular, y menor depresión en la cara lingual. El fragmento transportado presentaba vascularización y un redondeado en su mitad distal, mientras que en la mitad mesial se observaba con el borde agudo y sin presencia de vascularización (**Fig. 33**).

La observación de la muestra tras polimerización del glicolmetacrilato y los cortes transversales más distales demostró la existencia en la cámara de distracción de un tejido de diferente coloración a la del hueso cortical basal y el hueso transportado. Se vio una altura de 5 mm en la cámara de distracción y de 4 mm en el fragmento transportado. Se observó una regeneración de la cortical lingual pero no de la vestibular (**Fig. 34**). En el corte transversal-central de la muestra se observaba regeneración de la cortical lingual de la cámara de distracción pero una zona más translúcida en la zona central y en la zona vestibular de dicha cámara (**Fig. 35**).

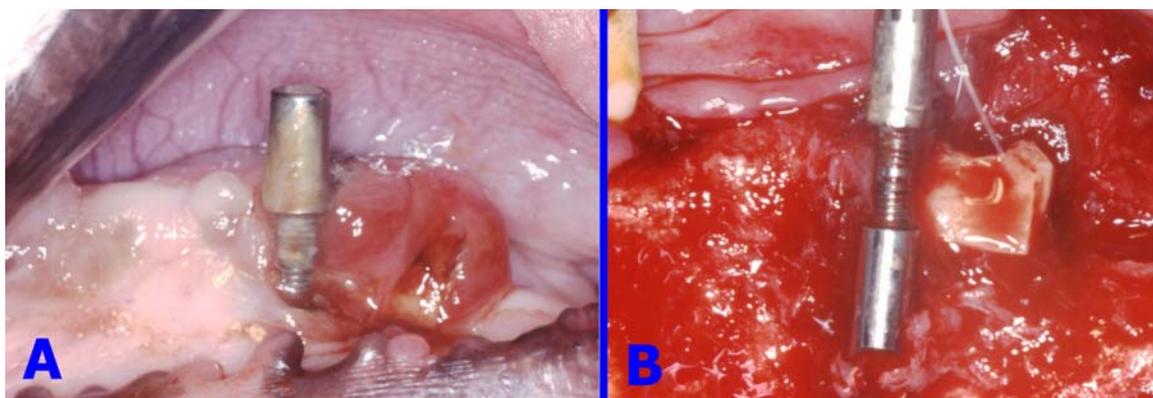


Fig. 32. Aumento de cresta alveolar después de finalizar la fase de consolidación(Animal nº6). A-Dehiscencia en la zona mesial a la primera semana de consolidación. B- Previo a la biopsia.

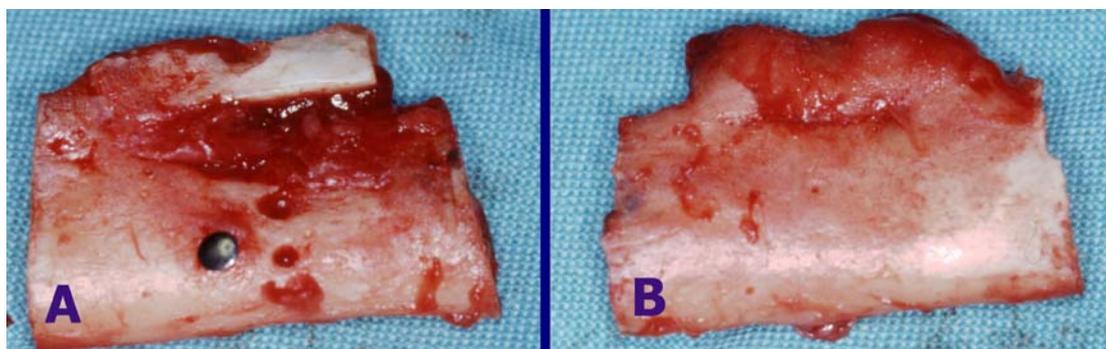


Fig. 33. Muestra después de 4 semanas de consolidación (Animal nº 6) . A-Visión vestibular. B- Visión lingual.

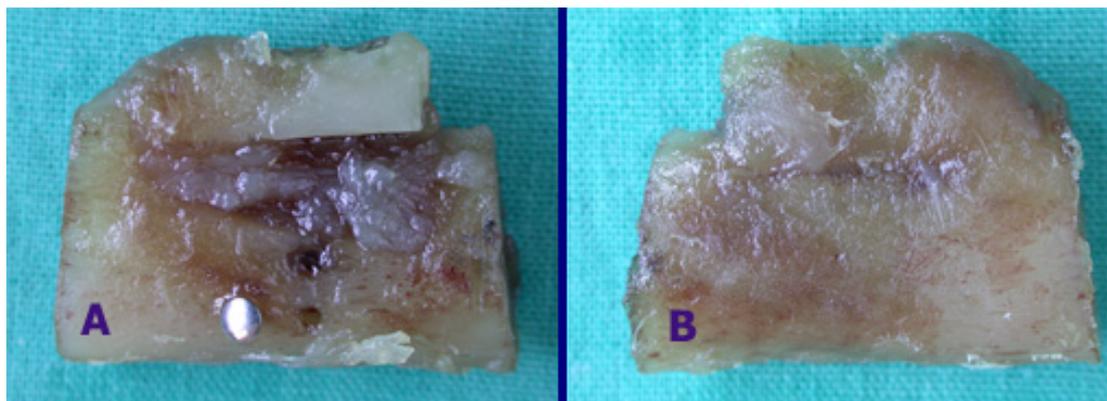


Fig. 34. Muestra después de 4 semanas de consolidación (Animal nº6). Inmersión en glicolmetacrilato líquido. A-Visión vestibular. B- Visión lingual).

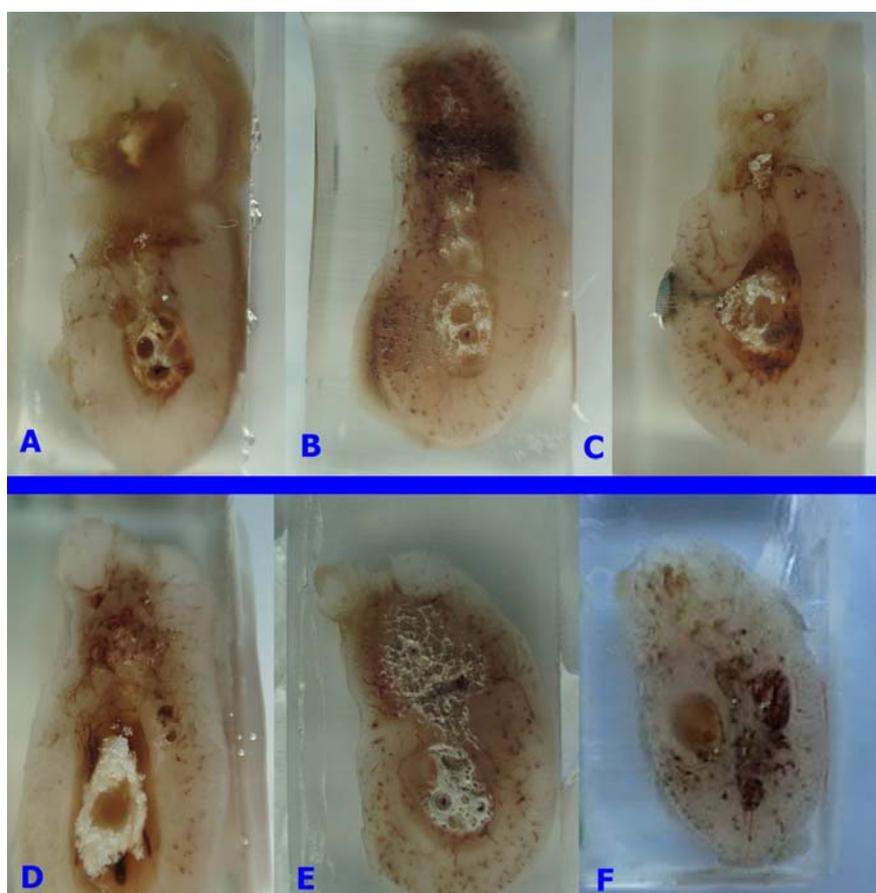


Fig. 35. Cortes transversales de las muestras polimerizadas. A- Corte mesial en muestra de animal nº 6. B- Corte mesial en muestra de animal nº 7. C- Corte distal en muestra de animal nº 8. D- Corte distal en muestra de animal nº 9. E- Corte distal en muestra de animal nº 10. F- Corte distal en muestra de animal nº 11(control).

En el **animal n° 7** se observó en la primera semana de consolidación una inflamación en la mucosa adyacente al tornillo de fijación oclusal. Esta inflamación provocó una dehiscencia mucosa que permitía la comunicación de dicho tornillo con el medio oral (**Fig. 36**). Se observó una desinserción y movilidad de dicho tornillo por lo que en este momento se retiró el tornillo de retención oclusal y el fragmento superior del distractor, observándose una reabsorción en crater del fragmento óseo transportado. Se retiró el tejido de granulación de la zona y se irrigó con suero y clorhexidina en spray. Se resuturaron los tejidos de nuevo mediante sutura reabsorbible de 3-0 y se esperó a las 4 semanas de consolidación. Al retirar el tornillo oclusal y el fragmento superior del distractor, se perdía la estabilidad del fragmento óseo transportado con lo cual se observó en las semanas siguientes un prolapso inferior del fragmento transportado con lo cual se perdían prácticamente los 5 mm de la altura vertical conseguida inicialmente.

La muestra obtenida se incluyó en el Grupo I y se observó que había un cierre importante de la cámara de distracción por prolapso del fragmento transportado, quedando de ella únicamente unos 2 mm en la zona más mesial (**Fig. 37**). La observación de las muestras tras polimerización del glicolmetacrilato y los cortes transversales más mesiales demostró la existencia en la cámara de distracción de un tejido con diferente coloración a la del hueso cortical basal y el hueso transportado. Se vio una altura de 2 mm en la cámara de distracción y de 3 mm en el fragmento transportado. Se observó cierta regeneración de la cortical lingual pero ninguna en la cortical vestibular. (**Fig. 35**).



Fig. 36. Inflamación de mucosa adyacente a tornillo de fijación oclusal en la primera semana de consolidación (Animal n° 7).

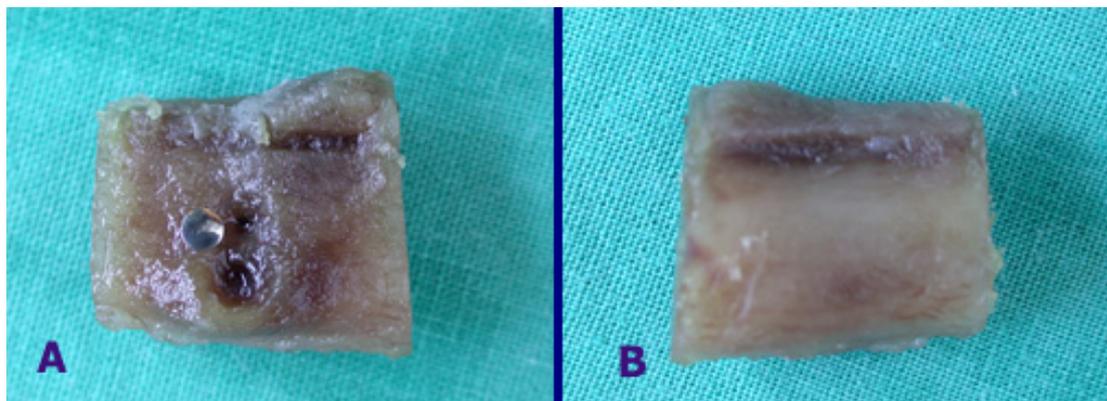


Fig. 37 Muestra después de 4 semanas de consolidación (Animal n°7). Inmersión en glicolmetacrilato líquido. A-Visión vestibular. B Visión lingual.

En el **animal n° 8** se observó en la segunda semana de consolidación una inflamación en la mucosa adyacente al tornillo de fijación oclusal al igual que en el animal n° 7. Se procedió de la misma manera que en el animal n° 7 y se esperaron hasta las 8 semanas de consolidación. Al retirar el tornillo oclusal y el fragmento superior del distractor, se perdía la estabilidad del fragmento óseo transportado con lo cual se observó en las semanas siguientes un prolapso inferior del fragmento transportado perdiéndose unos 2 mm de la altura vertical conseguida inicialmente.

La muestra obtenida se incluyó en el Grupo II y se observó que había un cierre importante de la cámara de distracción por prolapso del fragmento transportado, quedando de ella únicamente unos 3 mm (**Fig. 38**). En la superficie vestibular de la cámara de distracción se podía palpar un tejido de similar dureza al hueso basal, aunque con ligera depresión en comparación a la superficie cortical del hueso basal. En la superficie lingual de la cámara de distracción se observaba un mayor espesor de la cortical, con menor depresión de la superficie. La observación de las muestras inmersas en el glicolmetacrilato líquido permitió distinguir el hueso regenerado en la cámara de distracción tanto en la cara vestibular como en la cara lingual. Se vio una altura de 3 mm en la cámara de distracción y de 3 mm en el fragmento transportado (**Fig. 35**).

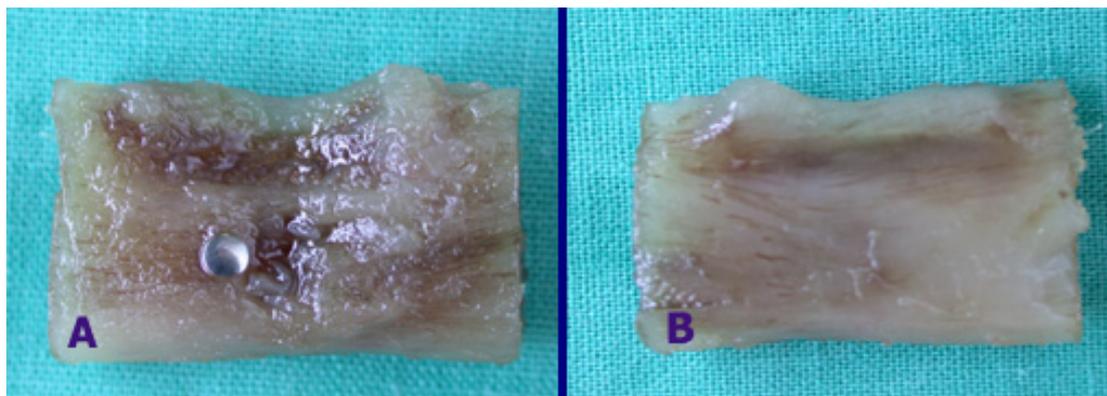


Fig. 38. Muestra después de 8 semanas de consolidación (Animal nº 8). Inmersión en glicolmetacrilato líquido. A-Visión vestibular. B-Visión lingual.

En los animales nº 9 y 10 se observó durante la cuarta semana de consolidación una inflamación en la mucosa adyacente al tornillo de fijación oclusal, al igual que ocurrió con el animal nº 7 en la primera semana y el animal nº 8 en la segunda semana (**Fig. 39**). Se procedió de la misma manera que en los 2 animales anteriores y se esperaron a las 8 semanas de consolidación para la toma de biopsia.

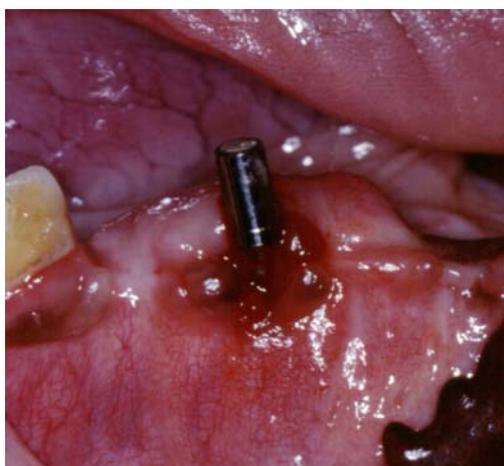


Fig. 39. Inflamación de mucosa adyacente a tornillo de fijación oclusal a las 4 semanas de consolidación (Animal nº 9).

Las muestras de estos 2 animales se incluyeron en el grupo II. Se observó una reabsorción en altura del fragmento óseo desplazado de unos 2 mm pero no se vio un prolapso inferior de dicho fragmento hacia la cámara de distracción (**Fig. 40**). Se observaba un redondeado de los bordes mesial y distal del fragmento óseo transportado. En la zona donde se colocó el tornillo oclusal se observaba una reabsorción en toda la profundidad del fragmento óseo

transportado, que en el caso del animal n° 10 prácticamente abarcaba todo el fragmento transportado.

En la superficie vestibular de la cámara de distracción se podía palpar un tejido de similar dureza al hueso basal, aunque con ligera depresión en comparación a la superficie cortical del hueso basal. En la superficie lingual de la cámara de distracción se observaba un mayor espesor de la cortical, con menor depresión de la superficie de la cámara de distracción. La observación de las muestras inmersas en el glicolmetacrilato líquido permitió distinguir el hueso regenerado en la cámara de distracción en la cara vestibular y en menor medida en la cara lingual. También se distinguía el hueso transportado remanente después de la reabsorción (**Fig. 41 y Fig 42**).

La observación de las muestras tras polimerización del metacrilato y los cortes transversales más distales demostró la en la cámara de distracción de un tejido de coloración diferente a la del hueso cortical basal y el hueso transportado pero sin distinguirse bien los límites de la osteotomía como ocurría en las muestras del grupo I. Se observó una regeneración importante de la cortical lingual, y aunque en menor medida, también de la cortical vestibular, lo cual tampoco fue observado en las muestras del grupo I (**Fig. 35**). En el animal n° 9 se vio una altura de 4 mm en la cámara de distracción y de 3 mm en el hueso transportado (**Fig. 35**). En el animal n° 10 de 4 mm en la cámara de distracción y 2 mm en el hueso transportado (**Fig. 35**).

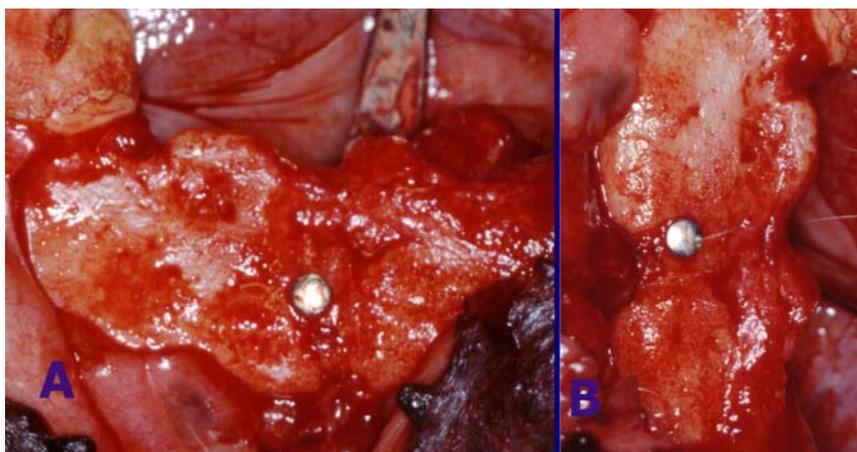


Fig. 40. Hemimandíbula derecha a las 8 semanas de consolidación (Animal n° 9) .A-Visión vestibular .B-Visión oclusal

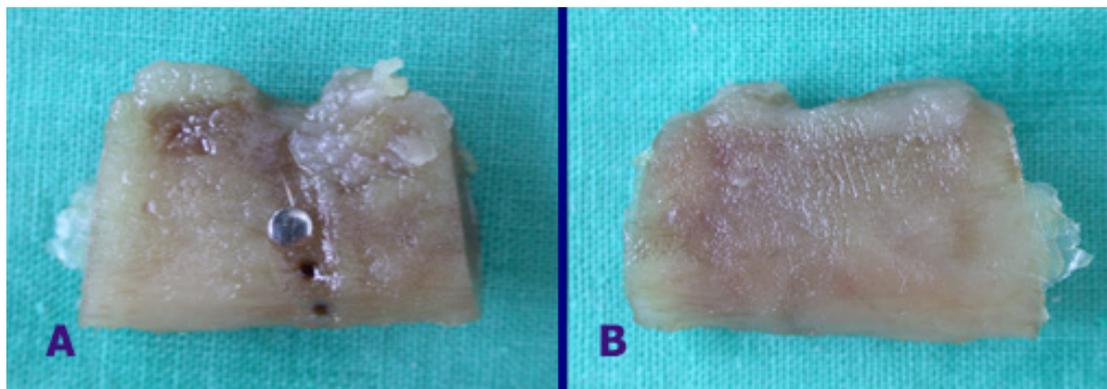


Fig. 41. Muestras después de 8 semanas de consolidación (Animal n°9). Inmersión en glicolmetacrilato líquido. A-Visión vestibular. B-Visión lingual.

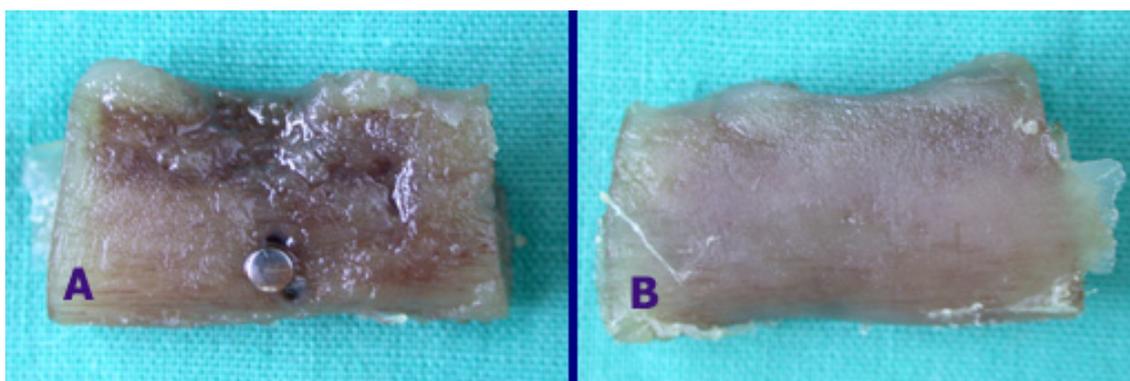


Fig. 42. Muestra después de 8 semanas de consolidación (Animal n° 10). Inmersión en glicolmetacrilato líquido (Visión vestibular y lingual)

VALORACIÓN HISTOLÓGICA

Fue realizada independientemente por 2 operadores. Para la valoración histológica se utilizaron cortes mesiales y distales de todas las muestras. El resultado de las variables histológicas cualitativas estudiadas se muestra en la **Tabla 8**. La valoración y descripción histológica se realizó de manera individual para cada animal del estudio.

Tabla 8. Variables histológicas en cámara de distracción

Nº ANIMAL	HUESO ENTRELAZADO (WB)	HUESO FIBRAS PARALELAS (PFB)	HUESO LAMINAR (LB)	ESTRUCTURA TRABECULAR	ESTRUCTURA CORTICAL	CONTINUIDAD SUPERFICIE LINGUAL	CONTINUIDAD SUPERFICIE VESTIBULAR
6	++++	+	+	++++	+	+++	+
7	++++	+	+	++++	+	+++	+
8	+	++++	+	+++	++	++++	+++
9	+	++++	+	+	+++	++++	++++
10	+	++++	+	+	+++	++++	+++
11	+	+	++++	+	++++	++++	++++

Tabla. Variables histológicas tras valoración histológica en cámara de distracción (zona B).

(+) <25%; (++) 25-50%; (+++) 50-75%; (++++) >75%.

ANIMAL Nº 6

Debido a la evolución clínica en este animal, hay que distinguir entre los cortes obtenidos en la mitad distal de la muestra y los cortes obtenidos en la mitad mesial (Figs. 43, 44 y 45).

Tanto en los cortes distales como mesiales, en el **hueso basal** a 40 aumentos se observa que el hueso de esta zona es en su gran mayoría un hueso cortical laminar, maduro o tipo II (LB, por Lamellar Bone) formando por osteonas centrales y hueso circunferencial externo e interno. El grosor del circunferencial externo es mucho menor que el interno y en ocasiones es sustituido por osteonas.

Se observa neoformación ósea a nivel del periostio y el endostio que se engrosa según se acerca a la cámara de regeneración (Fig. 46). En el periostio se observa en el tercio superior, y en el endostio en la mitad superior de la cavidad medular.

A 100-400 aumentos se ve que la mayor parte del hueso neoformado presenta las características de un hueso inmaduro entrelazado (WB, por Woven Bone): presencia de osteoblastos con producción de osteoide, gran número de osteocitos redondeados, con núcleo muy visible y lagunas grandes, distribución de células y matriz extracelular anárquica, desorden arquitectural de las fibras de colágeno (luz polarizada) y gran número de vasos.

La matriz extracelular se tiñe intensamente con el azul de toluidina, permitiendo diferenciar el hueso maduro de tinción más débil y la línea de cementación que lo delimita. En el hueso neoformado se observa formación de hueso inmaduro mediante osificación intramembranosa sin observar signos de condrogénesis. En algunas zonas de este hueso neoformado, la matriz extracelular y las células del hueso reticular se disponen de manera más organizada alrededor de los vasos para formar hueso inmaduro de fibras paralelas, con osteocitos elipsoidales (PFB, Por Parallel Fibered Bone) que se dispone formando osteonas primarias o hueso circunferencial primario.

La cavidad medular insinúa disponerse de manera alargada y comunicándose hacia la cámara de distracción.

En la zona perióstica, a medida que nos acercamos a la cámara de distracción, las empalizadas de osteoblastos se van disponiendo de manera alargada y paralelas al vector de distracción.

En la **cámara de distracción** de los cortes distales a 40 aumentos se observa únicamente un hueso trabecular . La zona de osteotomía está bien delimitada con la diferencia de tinción entre el hueso nativo (débil) y el hueso neformado (intensa) separados por línea de cementación (intensa).

Existen trabéculas delgadas recubiertas de osteoblastos en empalizada produciendo osteoide, que rellenan y comunican a lo largo de toda la cámara. Algunas trabéculas están dispuestas de manera paralela al vector de distracción pero no la mayoría. Se observa alguna trabécula “en isla” y una zona central unida al hueso transportado que aparece vacía de hueso. Se observa únicamente un hueso trabecular .

Se observa mayor densidad de trabéculas en la zona lingual que en la vestibular y una comunicación con la medular ósea presente en el hueso basal.

Con 100-400 aumentos, al observar la zona central sin trabéculas mediante luz polarizada se ve la presencia de haces de fibras colágenas con disposición paralela al vector de distracción (**Fig. 47**).

Las trabéculas se forman en su mayoría de hueso inmaduro con una disposición intensamente desorganizada (WB) y aparecen también zonas con PFB aunque en menor cantidad (**Fig. 48**). Las trabéculas de la zona vestibular están formadas casi en su totalidad por WB (**Fig. 49**)

En la **cámara de distracción** de los cortes mesiales a 40 aumentos, se observa una escasa cantidad de trabéculas, únicamente presentes en la zona lingual. En la zona central y vestibular se

aprecia un infiltrado inflamatorio que al observarlo con 100-400 aumentos se acompaña de la formación de un tejido fibroso.

En el **hueso transportado** de los cortes distales a 40 aumentos, se observa que la mayor parte se forma de hueso cortical laminar con cavidades internas de tejido conectivo. En la zona perióstica lingual se observa un hueso neoformado de la misma manera que se veía en el hueso basal.

A 100-400 aumentos, Aparecen algunos fragmentos de hueso necrótico: Lagunas osteocíticas con morfología y disposición anárquica, lagunas vacías, zonas de reabsorción (sacabocados) con presencia de osteoclastos, disposición anárquica y con poca birrefringencia de las fibras de colágeno (**Fig. 50**).

En la zona necrótica aparecen osteonas de remodelación con fases de reabsorción (presencia de osteoclastos) y fases de formación (vasos, osteoblastos y hueso neoformado) (**Fig. 50**).

En el **hueso transportado** de los cortes mesiales a 40 aumentos se observa menor cantidad de hueso cortical laminar remanente, con mayor porosidad. A 100-400 aumentos se observan zonas de remodelado con pocas zonas en fase de formación e invasión de la zona del infiltrado inflamatorio y formación de tejido fibroso.

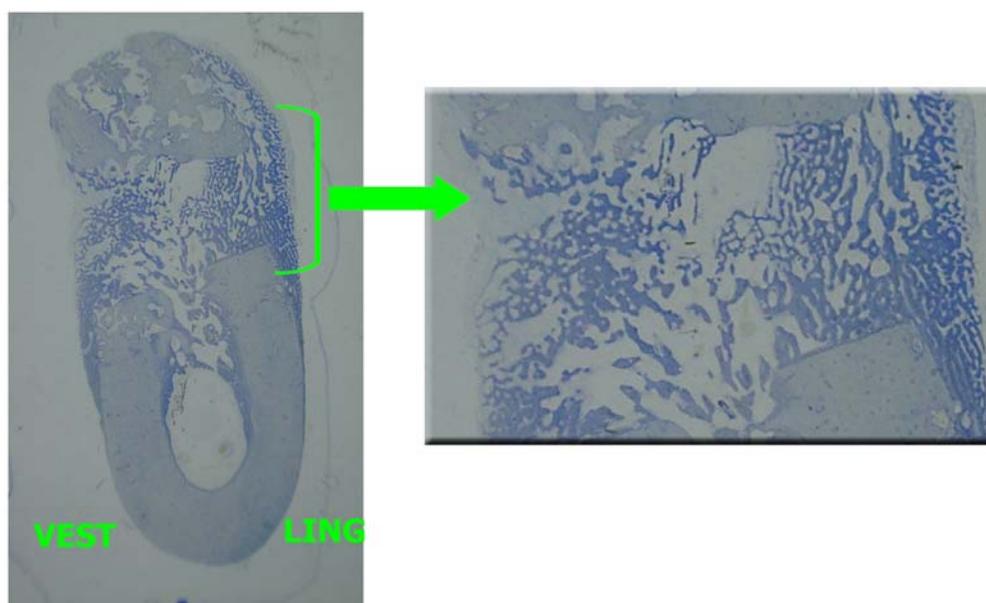


Fig. 43. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara (x10) de corte distal en muestra de animal nº 6 (Azul de Toluidina).

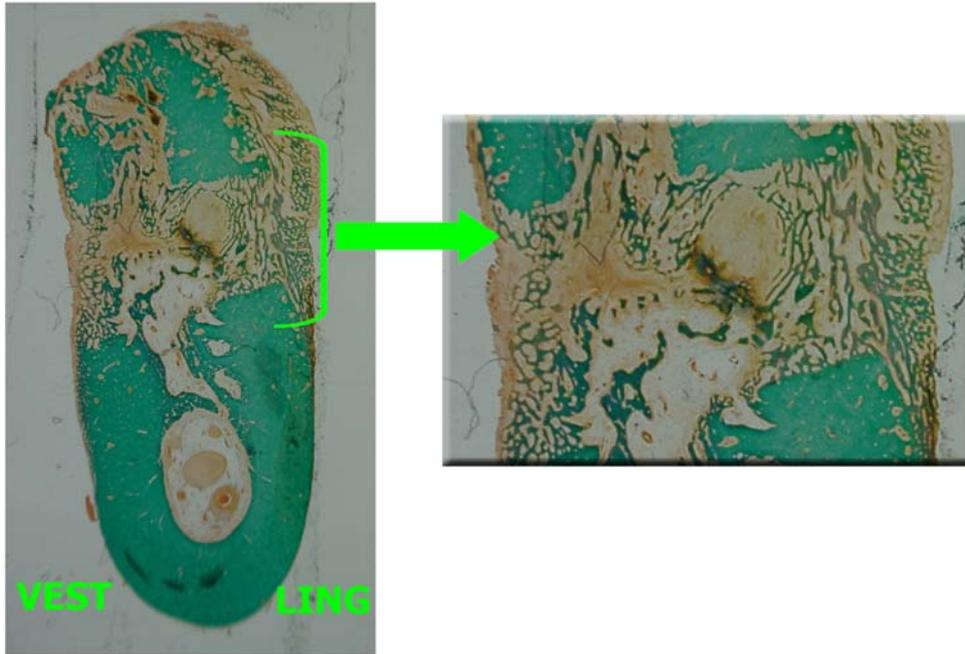


Fig. 44. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara (x10) de corte distal en muestra de animal n° 6 (Tricrómico de Goldner).

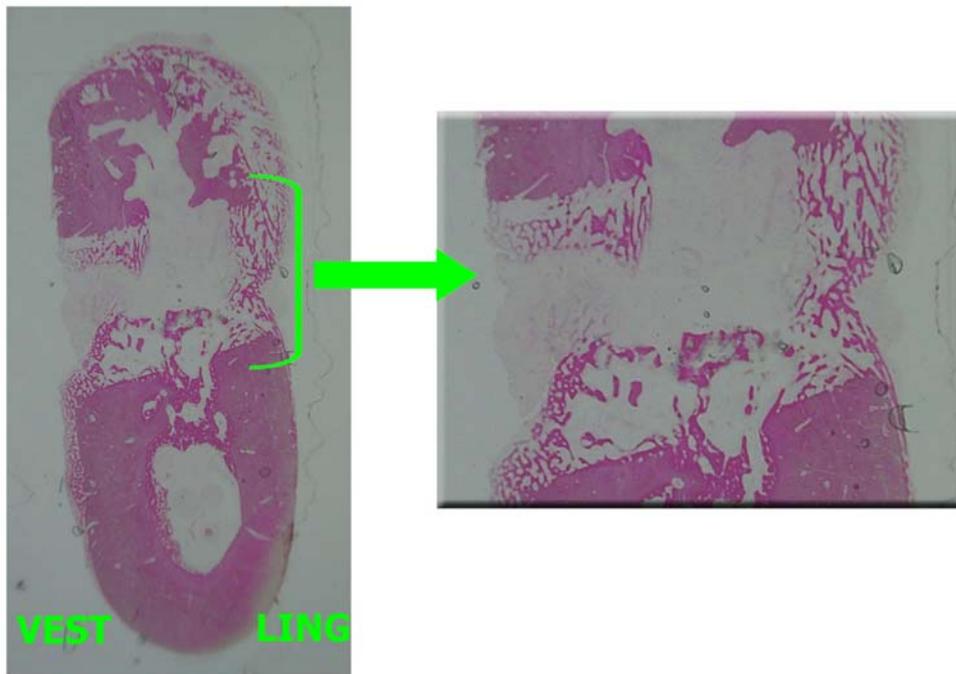


Fig. 45. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara (x10) de corte mesial en muestra de animal n° 6 (Hematoxilina-Eosina).

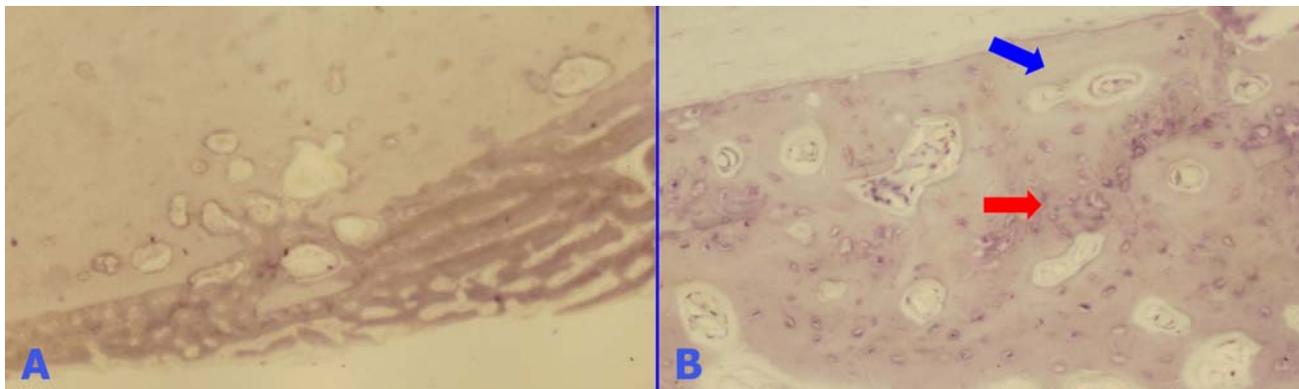


Fig. 46. Hueso basal lingual(animal n° 6). A-Hueso neoformado en zona perióstica lingual cercano a la cámara de distracción (x40, Azul de Toluidina). B- WB (flecha roja) y PFB (flecha azul)) (x200, Azul de Toluidina).

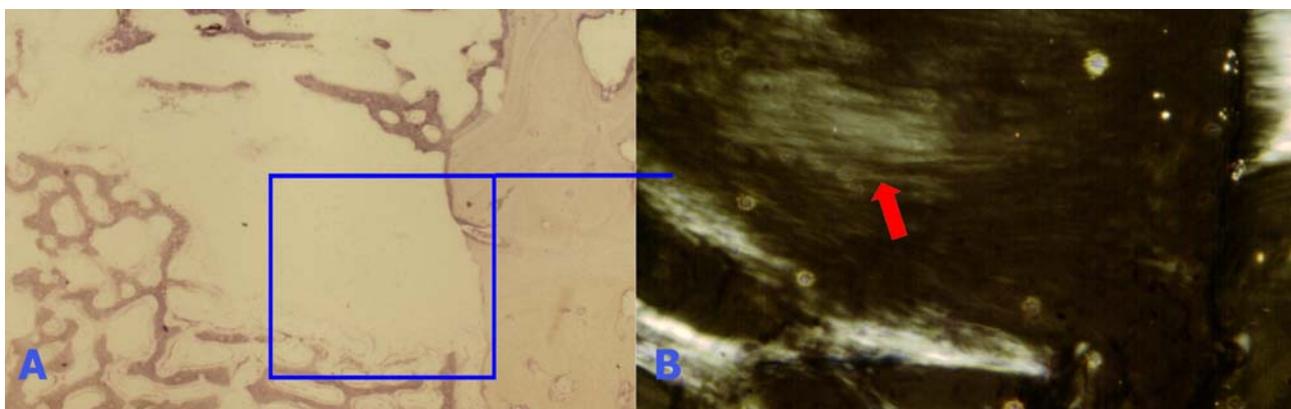


Fig. 47. Zona de cámara limitando al hueso transportado(animal n° 6).A- Zona sin formación de hueso (x40, Azul de Toluidina). B-Detalle de las fibras colágenas paralelas al vector de distracción en zona sin formación ósea (x200, Luz Polarizada).

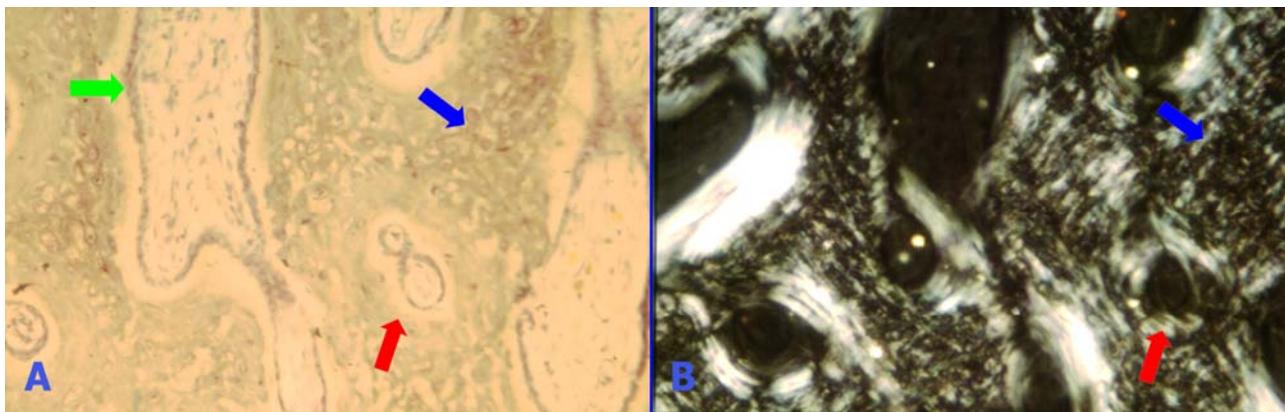


Fig. 48. Trabeculas en zona lingual de cámara (animal n° 6) A- Se observan osteoblastos en empalizada (flecha verde), WB (flecha azul) y PFB (flecha roja)(x400, Azul de Toluidina). B-Misma preparación observada con luz polarizada. Se observa la disposición orientada de las fibras de colágeno en el PFB.

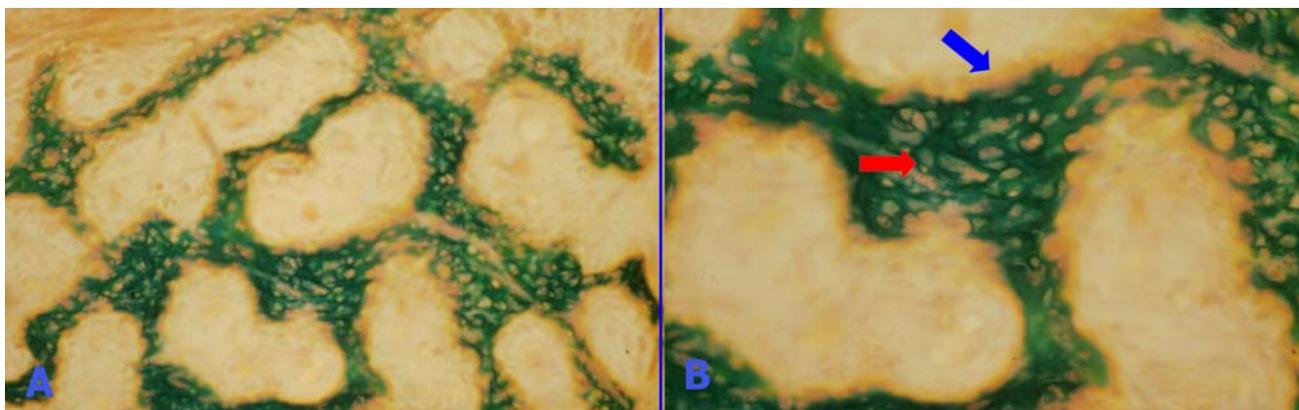


Fig. 49. Trabeculas en zona vestibular de cámara (animal n° 6). A- Trabeculas formadas por WB (x100, Tricrómico de Goldner). B- Osteocitos redondeados con disposición anárquica (flecha roja), disposición de osteoide (flecha azul)(x200, Tricrómico de Goldner).

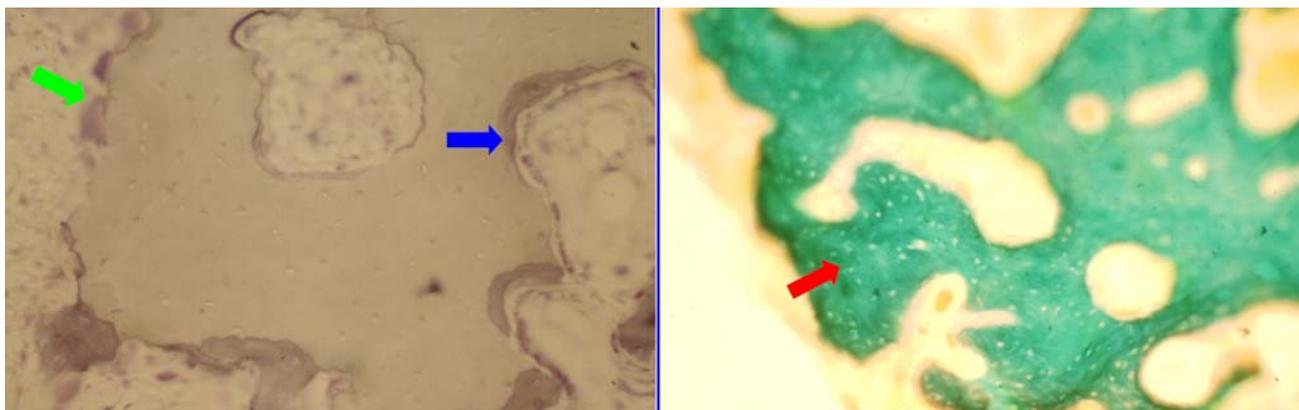


Fig. 50. Hueso transportado (animal n° 6). A- Hueso necrótico con zonas de formación ósea (flecha azul) y de reabsorción con osteoclastos(flecha verde)(x200, Azul de Toluidina). B- Zona de hueso necrótico con lagunas osteocíticas dispuestas de manera anárquica(flecha roja)(x100, Tricrómico de Goldner).

ANIMAL N° 7

En el **hueso basal** a 40 aumentos se observa un hueso laminar con gran número de vasos. La neoformación ósea se da tanto en periostio como en endostio. Es más ancha e intensa en zona vestibular que en lingual apareciendo en el periostio en los dos tercios apicales pero no en el tercio coronal a diferencia de lo que se veía en el animal n°6. En el endostio se veía en toda la cámara. Se observan mayor porosidad y osteonas en remodelación en la cortical vestibular que en la lingual (**Fig. 51**).

En la **cámara de distracción** a 40 aumentos se observan trabéculas finas que comunican toda la cámara y con morfología redondeada sin disposición paralela al vector. Mayor densidad de trabéculas en lingual. A 100-400 aumentos se distingue que son trabéculas de WB en su mayoría, con zonas intercaladas de PFB.

En el **hueso transportado** a 40 aumentos se mantiene el hueso nativo en la zona vestibular, oclusal y lingual, pero hay reabsorción interna del hueso laminar con invasión de la médula ósea. Hueso cortical laminar con muchos vasos. Zonas de remodelado con formación ósea acoplada (reabsorción y aposición). Osteoblastos en empalizada y formación de osteoide.

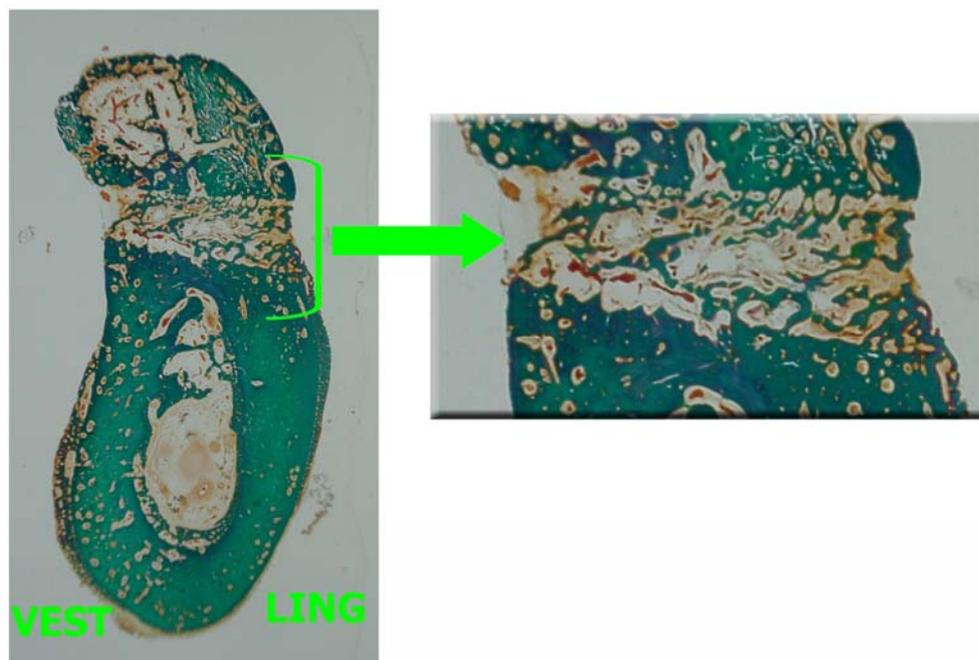


Fig. 51. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara (x10) de corte mesial en muestra de animal n° 7 (Tricrómico de Goldner).

ANIMAL N°8

En el **hueso basal** a 40 aumentos se ve un predominio de hueso cortical laminar. El circunferencial es más grueso en la zona interna que externa. Se observa menor neoformación en periostio y endostio que en las muestras anteriores. Se ve un poco de neoformación en lingual tanto en periostio como endostio. Se observan mayor número de osteonas en remodelación en la cortical vestibular que en la lingual, y las pocas que se encuentran en esta última se observan cerca de la cámara de regeneración. Se vio alargamiento de la medular ósea hacia la cámara de distracción de manera más delimitada que en el animal n° 6 (**Fig. 52 y Fig. 53**).

En la **cámara de distracción** a 40 aumentos se ve mayor densidad de trabéculas en la zona lingual que en la vestibular donde la disposición es tan densa que se disponen alrededor de los vasos para formar un hueso cortical o circunferencial y no aparecen cavidades medulares a diferencia de los animales n° 6 y n° 7. Es difícil observar trabéculas aisladas. Mayor porosidad y cavidades más grandes en zona central y vestibular. La superficie de la zona lingual aparece regenerada de manera continua mientras que la vestibular aparece más festoneada.

La cámara es más ancha en la zona vestibular que en la lingual y las cavidades medulares que contiene los osteoblastos en empalizada se ven más alargadas que en lingual. Los límites de la osteotomía se diferencian con más dificultad que en animales número 6 y 7.

A 100-400 aumentos la mayor parte son trabéculas de PFB con zonas intercaladas de WB. Gran cantidad de osteoblastos en empalizada produciendo osteoide recubriendo las cavidades medulares, sobre todo en la zona central vestibular.

En el **hueso transportado** a 40 aumentos se ve un hueso cortical laminar en su mayoría. Zona central superior con hueso neoformado . Todo el hueso parece vital . A 100-400 aumentos se observan algunas osteonas en remodelación, unas en fase de remodelación y otras en fase de formación. Menos osteonas de remodelación que en los animales n°6 y n°7.

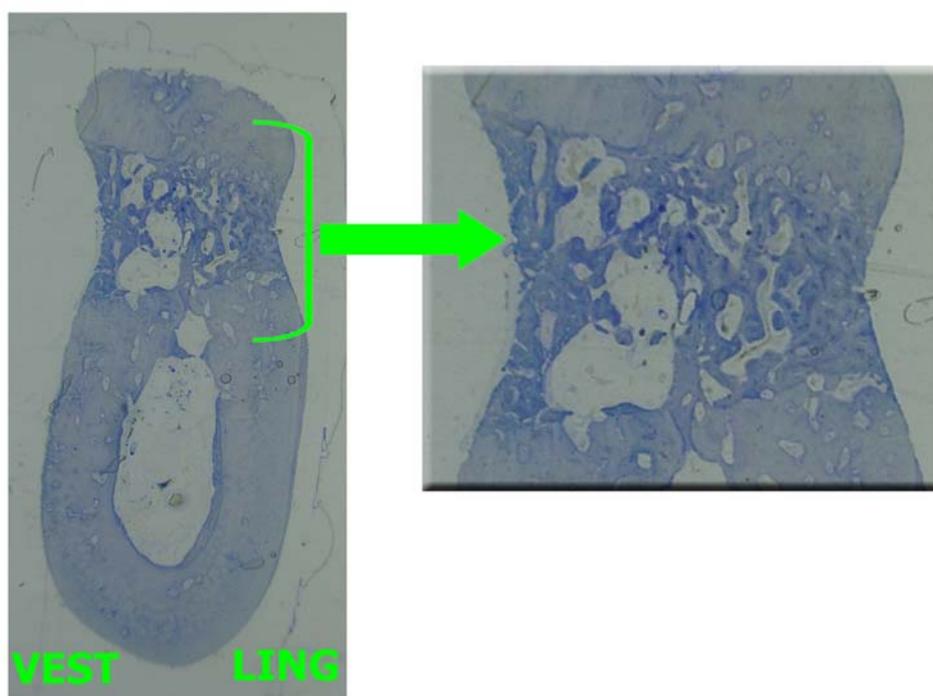


Fig. 52. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara (x10) de corte distal en muestra de animal n°8 (Azul de Toluidina).

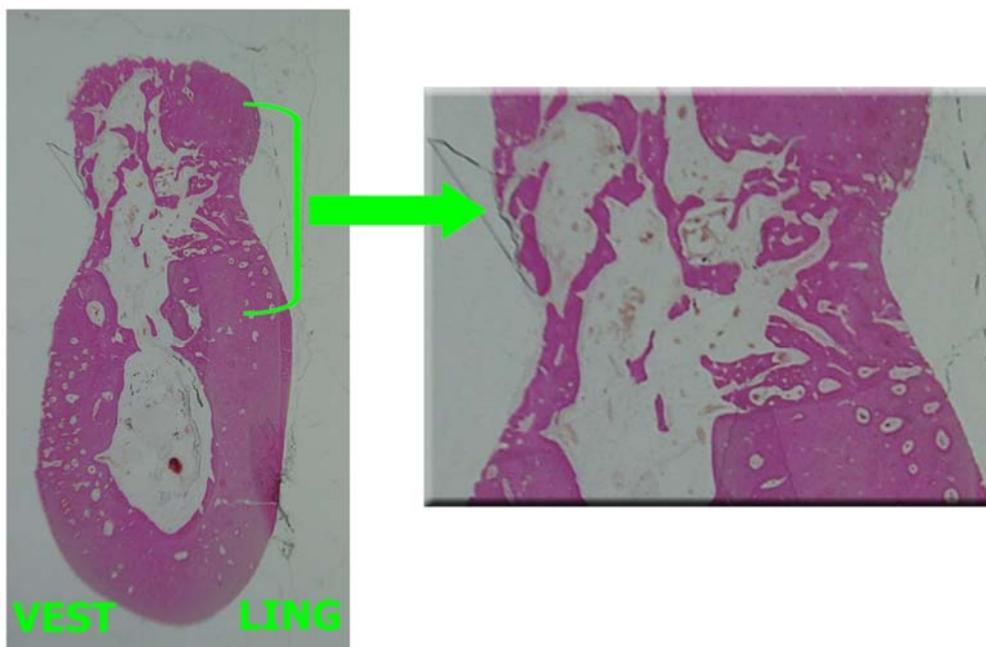


Fig. 53. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara (x10) de corte distal en muestra de animal n°8 (Hematoxilina-Eosina).

ANIMAL N° 9

En el **hueso basal** a 40 aumentos se ve hueso cortical laminar en su mayoría con gran cantidad de osteonas en remodelación, y hueso circunferencial interno más grueso que el externo al igual que en los animales anteriores. Se vio alargamiento de la medular ósea hacia la cámara de distracción de manera más delimitada que en el animal n° 6 (**Fig. 54 y Fig.55**).

Neoformación perióstica vestibular y lingual (más gruesa la lingual) que aparece en toda la longitud pero más en el tercio apical. Neoformación endóstica únicamente en el tercio apical. Medular alargada aunque más delimitada que en animal n°6.

A 100- 400 aumentos se observa que el hueso neoformado perióstico esta más organizado que en el animal n° 6, formado por un PFB dispuesto circunferencialmente (**Fig. 56**).

En la **cámara de distracción** a 40 aumentos se ve la comunicación completa de las trabéculas a lo largo de la cámara, lo cual no se veía en los animales n° 6, 7 y 8. Estas son gruesas y se van disponiendo en la zona lingual y vestibular, asemejandose mucho a una morfología de hueso cortical o circunferencial que delimita la cavidad medular central (**Fig. 57**).

Al igual que en el animal número 8 la cámara de distracción es más ancha en la zona vestibular que en la lingual.

A 100-400 aumentos se ve hueso neoforado difícil de distinguir del hueso nativo aunque presenta una tinción más intensa (**Fig. 58**). La disposición de las fibras colágenas nos reafirma que es un PFB en su mayoría, con zonas intercaladas de WB. Hueso inmaduro dispuesto en su mayoría en osteonas y trabéculas primarias. No se ven líneas de cementación festoneada lo que indica la inexistencia de actividad osteoclástica (**Fig. 59**).

En el **hueso transportado** a 40 aumentos se observa hueso cortical laminar aislado en la zona vestibular y lingual. Zona central con hueso inmaduro donde se encontraba el tornillo de retención del distractor.

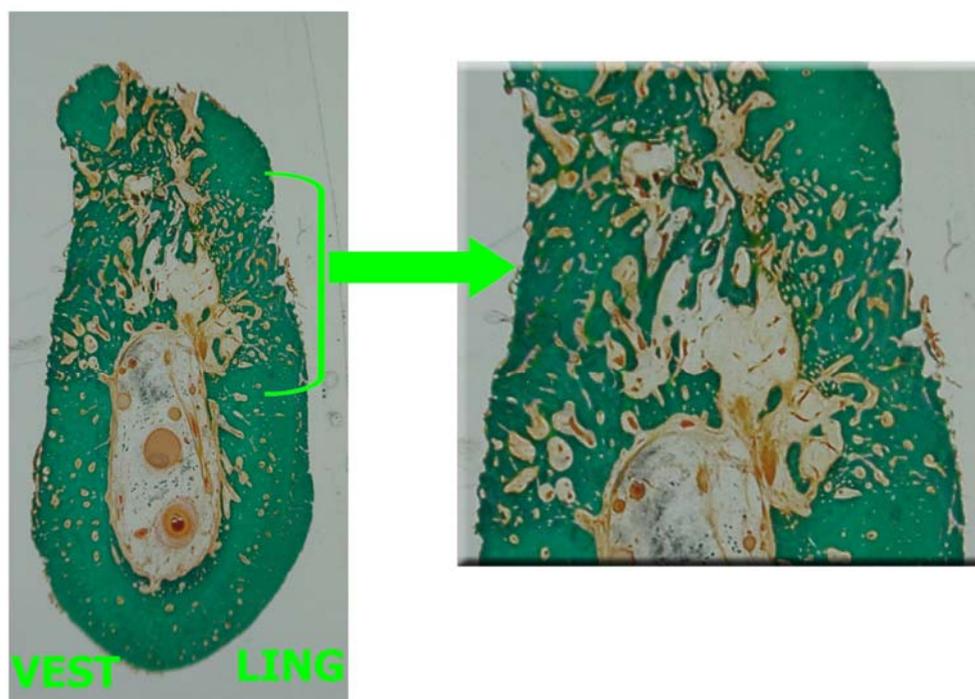


Fig. 54. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara(x10) de corte distal en muestra de animal nº 9 (Tricrómico de Goldner).

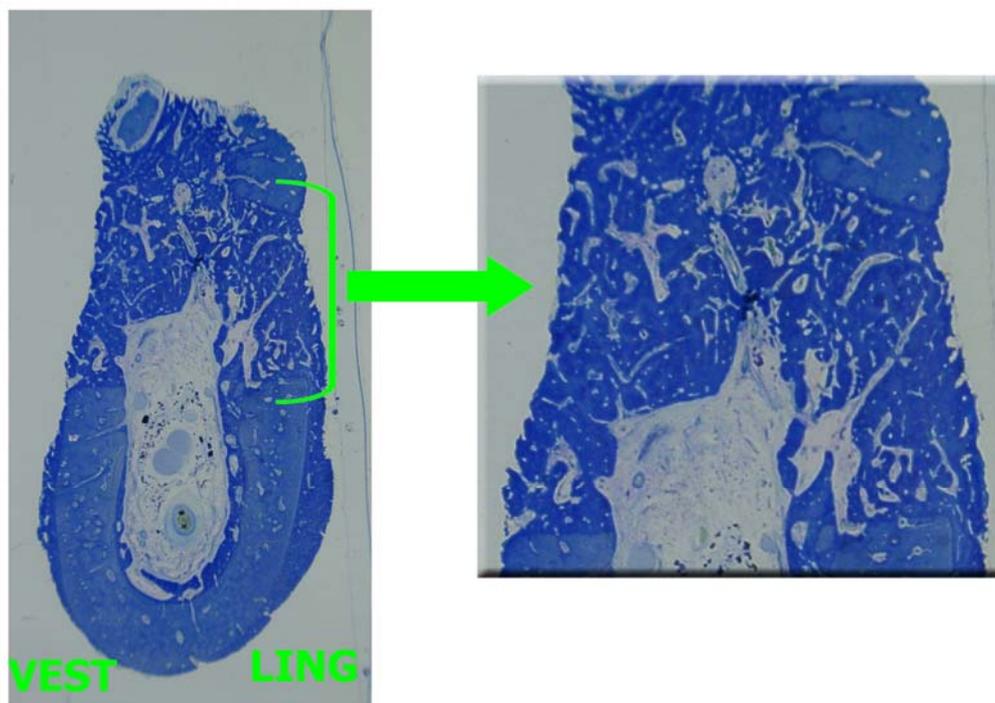


Fig. 55. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara(x10) de corte distal en muestra de animal n° 9 (Azul de Toluidina).

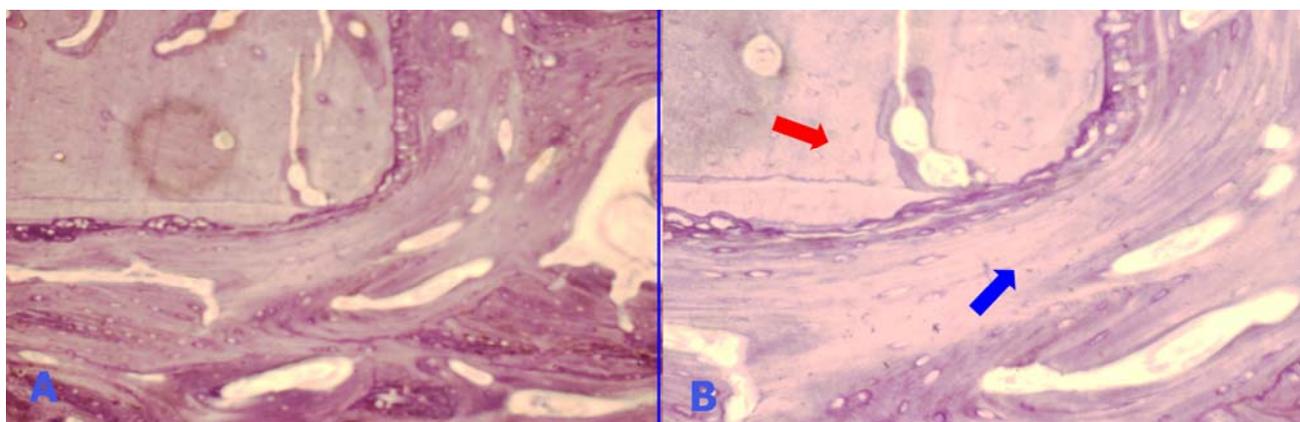


Fig. 56. Hueso neoformado en periostio lingual cercano a cámara (animal n° 9). A- Diferencia entre hueso nativo y hueso neoformado(x100, Azul de Toluidina). B- hueso laminar(flecha roja), hueso circunferencial neoformado(flecha azul)(x400, Azul de Toluidina).

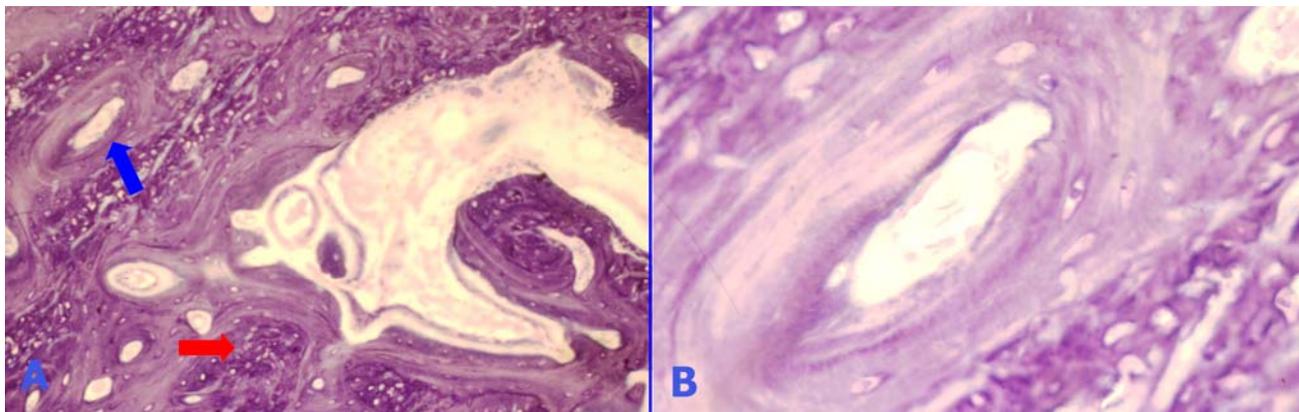


Fig. 57. Hueso neoformado en zona lingual de cámara (animal n° 9). A- WB (flecha roja) y PFB (flecha azul)(x100, Azul de Toluidina). B- osteona primaria formada de PFB. No se observa ninguna línea de inversión (x400, Azul de Toluidina).

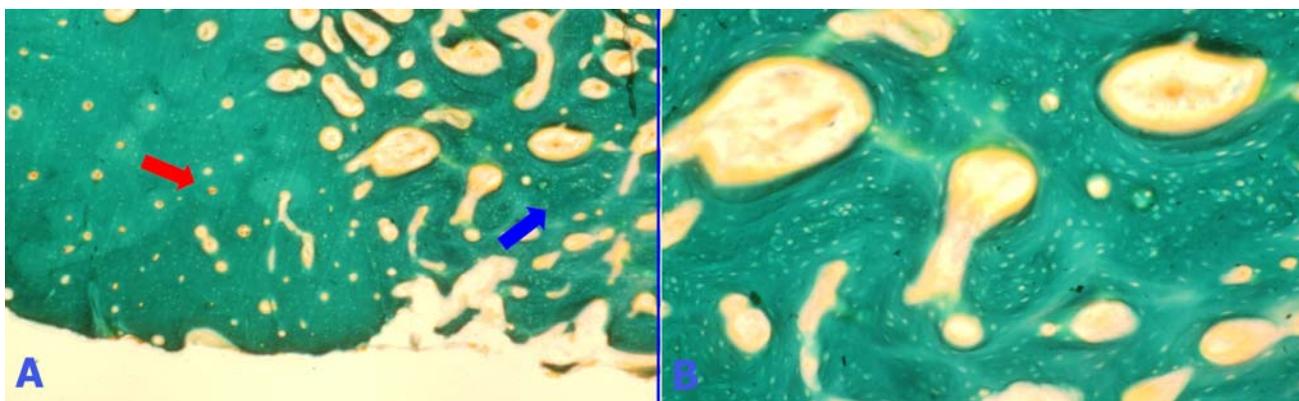


Fig. 58. Límite entre hueso basal y cámara en zona lingual (animal n° 9). A- hueso maduro nativo (flecha roja), hueso inmaduro en cámara (flecha azul)(x40, Tricrómico de Goldner). B-hueso inmaduro con predominio de PFB (x100, Tricrómico de Goldner).

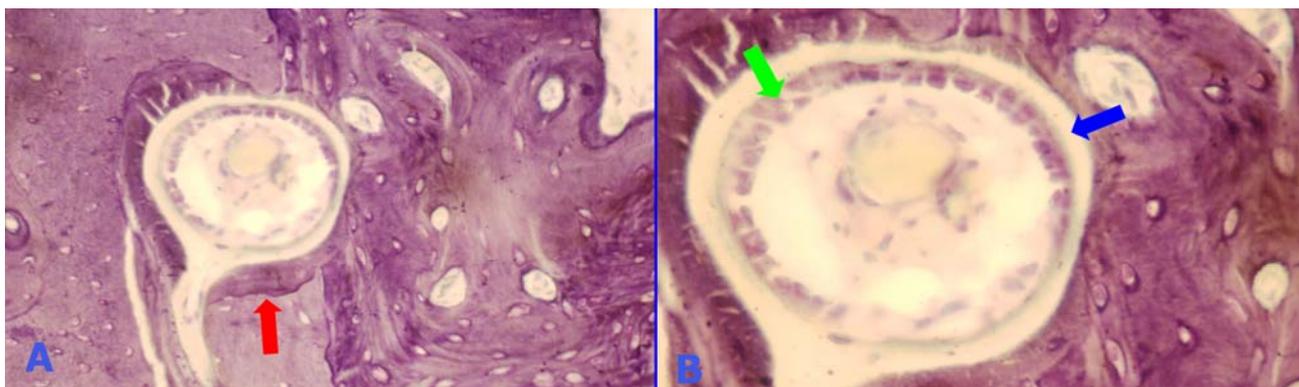


Fig. 59. Límite entre hueso basal y cámara en zona lingual (animal n° 9). A- Osteona secundaria con línea ondulada de inversión (flecha roja)(x200, Azul de Toluidina). B- Osteoblastos cuboidales en empalizada (flecha verde) y osteoide(flecha azul)(x400, Azul de Toluidina).

ANIMAL N° 10

En el **hueso basal** a 40 aumentos se ve hueso cortical laminar El circunferencial es más grueso en la zona interna que externa. Gran número de osteonas en fase de remodelación. Hueso más poroso. La cavidad medular se veía redondeada y no alargada, como en los animales anteriores.

Hueso neoformado en periostio y endostio. En el periostio se da más intenso en zona lingual que vestibular, y es mayor en los dos tercios coronales. La reacción endóstica es menos intensa y se observa únicamente en la zona apical (**Fig. 60 y Fig. 61**).

El hueso neoformado se forma en su mayoría de PFB intercalado con algunas zonas de WB. Se va disponiendo en hueso circunferencial, con disposición alineada de los osteocitos y las láminas mineralizadas.

En la **cámara de distracción** a 40 aumentos se ve mayor densidad de trabéculas en la zona lingual que en la vestibular donde la disposición es tan densa que se disponen alrededor de los vasos para formar un hueso cortical o circunferencial y sin cavidades medulares. Al igual que en el animal n° 8 y n° 9 la cámara de distracción es más ancha en la zona vestibular que en la lingual.

En la zona central y vestibular hay zonas sin hueso con tejido conectivo y se observan algunas trabéculas dispuestas de manera paralela al vector de distracción. Las trabéculas están recubiertas por osteoide en su superficie lo que indica una formación ósea en esas cavidades

medulares. A 100-400 aumentos la mayor parte son trabéculas de PFB con zonas intercaladas de WB.

En el **hueso transportado** a 40 aumentos queda muy poco hueso cortical laminar remanente. Zonas de reabsorción y remodelado con fases de formación. A 100-400 aumentos se ve un hueso inmaduro WB en la zona donde se retiró el tornillo oclusal de retención.

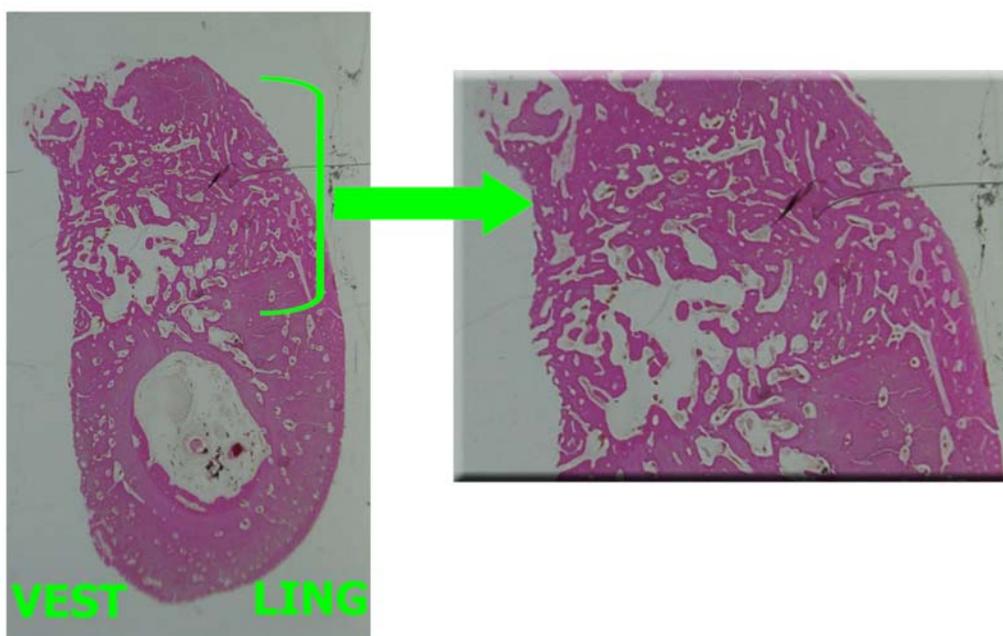


Fig. 60. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara(x10) de corte distal en muestra de animal n° 10 (Hematoxilina-Eosina).

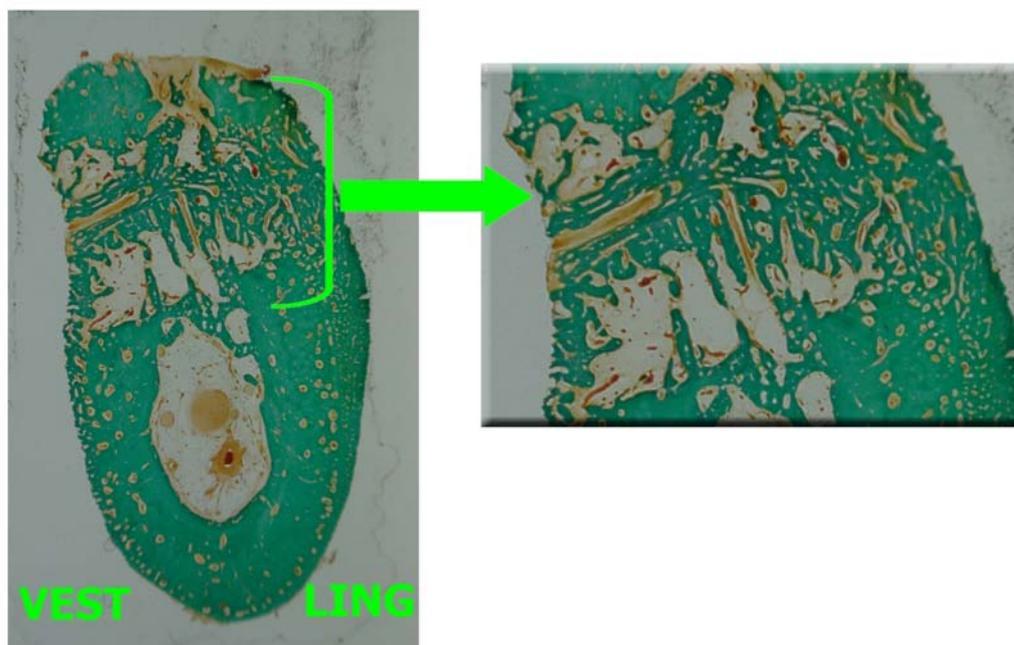


Fig. 61. Fotografía de toda la muestra (x5) y cámara(10x) de corte distal en muestra de animal n° 10 (Tricrómico de Goldner).

ANIMAL N°11 (Control)

A 40 aumentos se ve hueso cortical laminar que delimita la cavidad medular ósea con escasas zonas de hueso trabecular. El perfil del corte transversal es más ovalada que el resto de las muestras estudiadas. El hueso circunferencial interno es mayor que el externo al igual que en los animales de estudio. No se observa neoformación ni en el periostio ni en el endostio. El conducto dentario inferior se observa bien delimitado. Se observan numerosas osteonas en remodelación (**Fig. 62**).

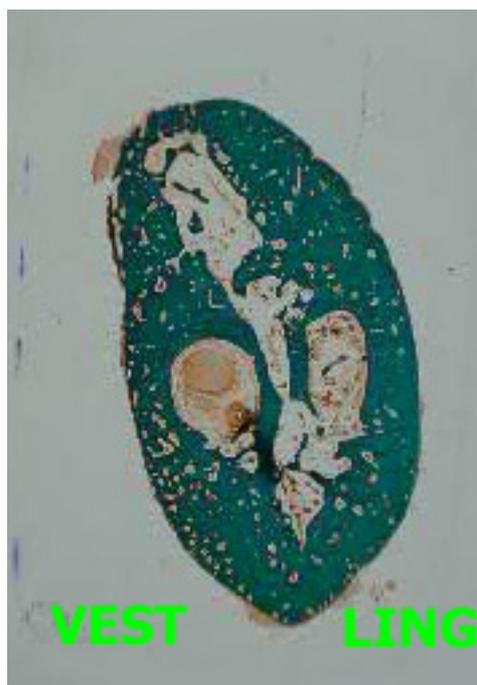


Fig. 62. Fotografía de toda la muestra (x5) de corte distal en muestra de animal n° 11 (Tricrómico de Goldner).

ANÁLISIS HISTOMORFOMÉTRICO

Fue realizado únicamente por un operador. Se utilizaron las mismas muestras que fueron utilizadas en la valoración histológica. En el animal n° 11(control) se obtuvo un único valor de densidad de área ósea y de perímetro óseo en toda la muestra que se presenta junto a los resultados de la zona C de las muestras estudio. En este animal, la anchura trabecular no fue determinada debido a que el hueso era mayoritariamente cortical. La densidad de área de osteoide se obtuvo en un campo de $1800 \times 1800 \mu\text{m}$ en la zona intermedia vestibular y la zona intermedia lingual.

Las mediciones morfométricas obtenidas para cada variable son presentadas en la **Tabla 9** y la **Tabla 10** en relación con cada uno de los cortes. En determinados zonas de varios cortes no se pudieron obtener las mediciones debido a diferentes alteraciones en el procesado técnico del corte. Las medias y las desviaciones estándar obtenidas para cada animal son presentadas en la **Tabla 11** y la **Tabla 12**.

Teniendo en cuenta los resultados clínicos obtenidos, se pueden considerar tanto al animal n° 6 como parte del grupo I, y al animal n° 9 como parte del grupo II, los únicos animales

en que se puede hacer una comparativa de los resultados histológicos y sobre todo histomorfométricos del proceso de la distracción y de la fase de consolidación. Consideramos que los resultados histológicos e histomorfométricos no pueden ser totalmente representativos del proceso de la distracción en los otros 3 animales por diferentes razones. De esta manera, en el animal n° 7 y n° 8 existió un prolapso prematuro del hueso transportado que modificaría el microambiente en la cámara de distracción. En el animal n° 10 podemos considerar adecuado el proceso en la cámara de distracción, sin embargo existió una reabsorción casi completa del hueso transportado debido a la mucositis suprayacente.

Los resultados de la densidad de área ósea en la cámara de distracción en los 6 animales se representan en la **Fig. 63**. Los resultados de la densidad de área ósea en la cámara de distracción de los 3 animales representativos de cada grupo (animales n° 6, n° 9 y n° 11) se muestran en la **Fig. 64**. Los resultados del perímetro óseo en la cámara de distracción en los 3 animales representativos se muestran en la **Fig. 65**. Los resultados de la altura total medida en los 3 animales representativos se muestran en la **Fig. 66**. La anchura trabecular vestibular y lingual en la cámara de distracción de los 2 animales representativos de cada grupo de estudio (animales n° 6 y n° 9) se muestra en la **Fig. 67**. La densidad de área de osteoide vestibular y lingual de la cámara de distracción de los 3 animales representativos se muestran en la **Fig. 68**.

Tabla 9. Variables histomorfométricas por animal y corte

Nº Animal Nº Corte	DENSIDAD ÁREA ÓSEA A (%)	DENSIDAD ÁREA ÓSEA B (%)	DENSIDAD ÁREA ÓSEA C (%)	PERÍMETRO ÓSEO A (mm)	PERÍMETRO ÓSEO B (mm)	PERÍMETRO ÓSEO C (mm)	Alteraciones muestra
Animal 6- corte 1	70,67	43,53	77,23	161,94	270,28	197,55	—
Animal 6- corte 2	62,49	29,69	77,34	230,66	255,49	155,29	—
Animal 7- corte 1	55,28	29,50	73,05	149,56	84,12	291,36	—
Animal 7- corte 2	53,30	36,36	72,78	196,74	92,15	281,93	—
Animal 8- corte 1	95,31	66,95	75,20	38,45	95,98	190,07	—
Animal 8- corte 2	76,85	39,78	69,87	63,43	85,59	240,76	—
Animal 8- corte 3	76,39	45,82	72,71	44,11	74,62	136,64	—
Animal 8- corte 4	90,10	45,24	71,28	31,32	79,78	192,33	—
Animal 9- corte 1	78,71	49,43	—	55,03	197,64	—	No se ve la zona C
Animal 9- corte 2	80,95	58,12	66,75	57,98	214,99	131,46	—
Animal 9- corte 3	82,15	69,62	71,09	57,52	171,15	102,53	—
Animal 9- corte 4	67,58	57,70	65,93	79,77	221,98	187,23	—
Animal 10- corte 1	65,03	55,42	70,59	60,47	239,12	231,01	—
Animal 10- corte 2	—	77,70	78,45	—	148,29	152,10	No se ve la zona A
Animal 10- corte 3	69,61	66,94	72,66	38,62	191,07	178,59	—
Animal 10- corte 4	63,89	63,22	—	44,91	209,91	—	No se ve la zona C
Animal 10- corte 5	75,36	67,83	65,24	37,97	178,48	188,68	—
Animal 11- corte 1	—	—	79,28	—	—	188,90	—
Animal 11- corte 2	—	—	65,16	—	—	236,67	—
Animal 11- corte 3	—	—	69,92	—	—	175,23	—

Tabla 10. Variables histomorfométricas por animal y corte

Nº Animal Nº Corte	ALTURA ÓSEA A (mm)	ALTURA ÓSEA B (mm)	ALTURA TOTAL (mm)	ANCHURA TRABECULAR VESTIBULAR (µm)	ANCHURA TRABECULAR LINGUAL (µm)	DENSIDAD ÁREA OSTEOIDE VESTIBULAR (%)	DENSIDAD ÁREA OSTEOIDE LINGUAL (%)	Alteraciones muestra
Animal 6- corte 1	4,57	4,61	21,08	87	123	4,65	3,75	—
Animal 6- corte 2	5,20	4,69	21,53	93	145	2,84	4,40	—
Animal 7- corte 1	4,39	2,21	19,83	108	101	2,5	4,18	—
Animal 7- corte 2	4,43	2,20	19,59	103	113	3,12	4,34	—
Animal 8- corte 1	2,81	3,88	18,94	205	241	1,28	2,78	—
Animal 8- corte 2	2,62	4,11	18,93	187	211	1,62	2,75	—
Animal 8- corte 3	2,80	3,77	18,78	193	202	1,90	2,62	—
Animal 8- corte 4	2,86	3,69	18,72	178	197	1,81	2,46	—
Animal 9- corte 1	2,84	6,06	—	133	256	—	—	No se ve la zona C ni el osteoide
Animal 9- corte 2	2,72	6,39	18,85	139	210	2,65	1,84	—
Animal 9- corte 3	2,75	6,33	18,40	176	199	—	—	No se ve el osteoide
Animal 9- corte 4	2,69	6,05	17,86	170	253	1,53	1,37	—
Animal 10- corte 1	2,31	4,96	17,44	164	170	—	—	No se ve el osteoide
Animal 10- corte 2	—	5,23	—	167	187	1,5	0,96	No se ve la zona A
Animal 10- corte 3	1,94	5,31	16,39	168	171	—	—	No se ve el osteoide
Animal 10- corte 4	2,05	5,09	—	166	215	—	—	No se ve la zona C ni el osteoide
Animal 10- corte 5	2,05	5,24	15,93	155	232	1,78	1,65	—
Animal 11- corte 1	—	—	15,79	—	—	1,09	0,56	—
Animal 11- corte 2	—	—	15,66	—	—	0,81	0,71	—
Animal 11- corte 3	—	—	15,72	—	—	0,46	0,84	—

Tabla 11. Variables histomorfométricas en cada animal (media y desviación estándar)

Nº Animal	DENSIDAD ÁREA ÓSEA A (%)	DENSIDAD ÁREA ÓSEA B (%)	DENSIDAD ÁREA ÓSEA C (%)	PERÍMETRO ÓSEO A (mm)	PERÍMETRO ÓSEO B (mm)	PERÍMETRO ÓSEO C (mm)
6	66,58± 5,78	36,61± 9,79	77,29±0,08	196,30±48,59	262,89±10,46	176,42±29,88
7	54,29±1,40	32,93±4,85	72,92±0,19	173,15±33,36	88,14±5,68	286,65±6,67
8	84,66±9,53	49,45±11,98	72,27±2,27	44,33±13,77	83,99±9,16	189,95±42,54
9	77,35±6,67	58,72±8,30	67,92±2,77	62,58±11,54	201,44±22,64	140,41±43,05
10	68,47±5,21	66,22±8,07	71,74±5,46	45,49±10,46	193,37±34,01	187,60±32,80
11			71,45±7,18			200,27±32,26

Tabla 12. Variables histomorfométricas en cada animal (media y desviación estándar)

Nº Animal	ALTURA ÓSEA A (mm)	ALTURA ÓSEA B (mm)	ALTURA TOTAL (mm)	ANCHURA TRABECULAR VESTIBULAR (µm)	ANCHURA TRABECULAR LINGUAL (µm)	DENSIDAD ÁREA OSTEOIDE VESTIBULAR (%)	DENSIDAD ÁREA OSTEOIDE LINGUAL (%)
6	4,89±0,45	4,65±0,06	21,31±0,32	90,00±4,24	134,00±15,56	3,75±1,28	4,08±0,46
7	4,41±0,03	2,21±0,01	19,71±0,17	105,50±3,54	107,00±8,49	2,81±0,44	4,26±0,11
8	2,77±0,10	3,86±0,18	18,84±0,11	190,75±11,32	212,75±19,70	1,65±0,27	2,65±0,15
9	2,75±0,06	6,21±0,18	18,37±0,50	154,50±21,64	229,50±29,24	2,09±0,79	1,61±0,33
10	2,09±0,16	5,17±0,14	16,59±0,77	164,00±5,24	195,00±27,54	1,64±0,20	1,31±0,49
11			15,72±0,07			0,79±0,32	0,70±0,14



Fig. 63. Densidad de área ósea en la cámara de distracción de los 6 animales estudiados.

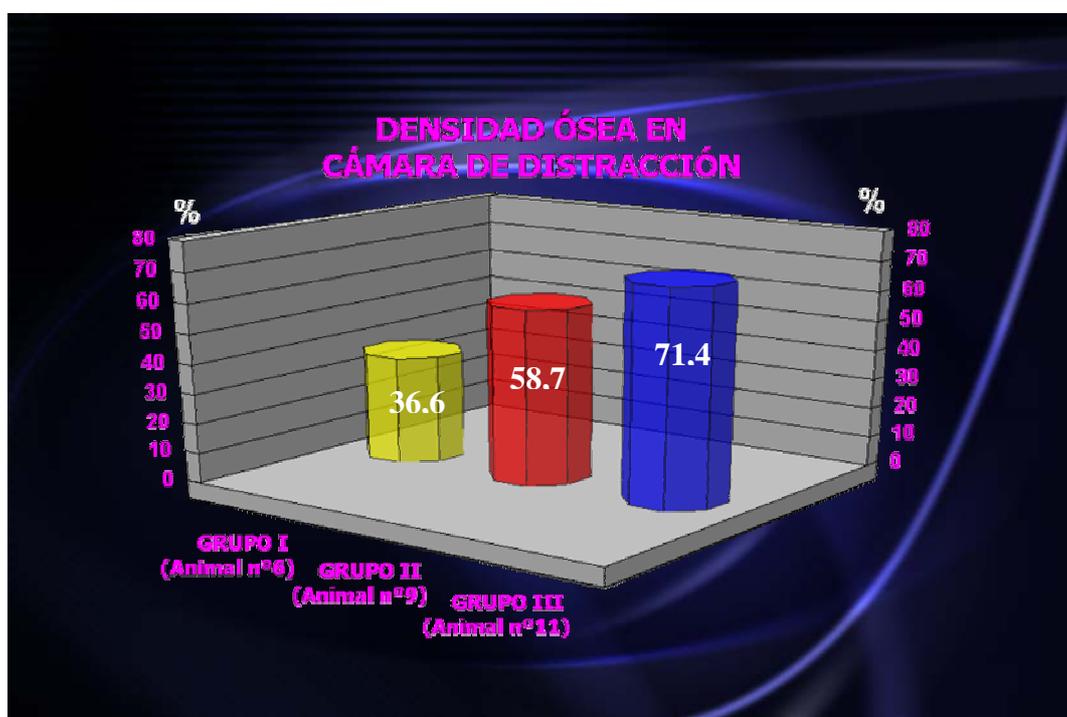


Fig. 64. Densidad de área ósea en la cámara de distracción de los 3 animales representativos.

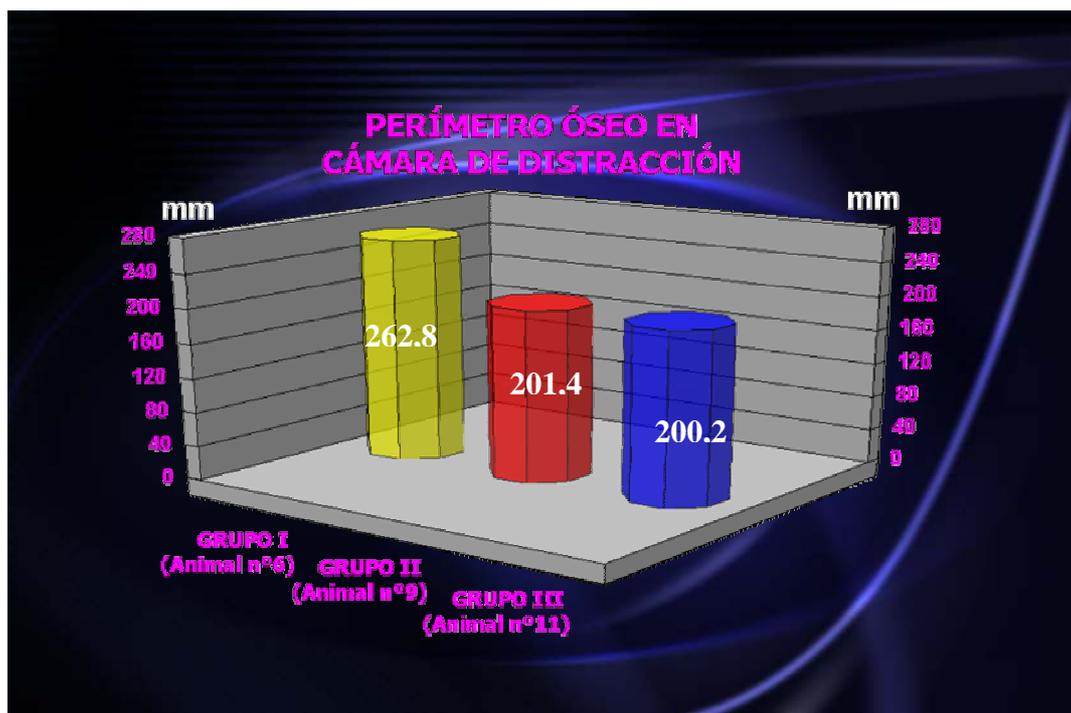


Fig. 65. Perímetro óseo en la cámara de distracción de los 3 animales representativos.

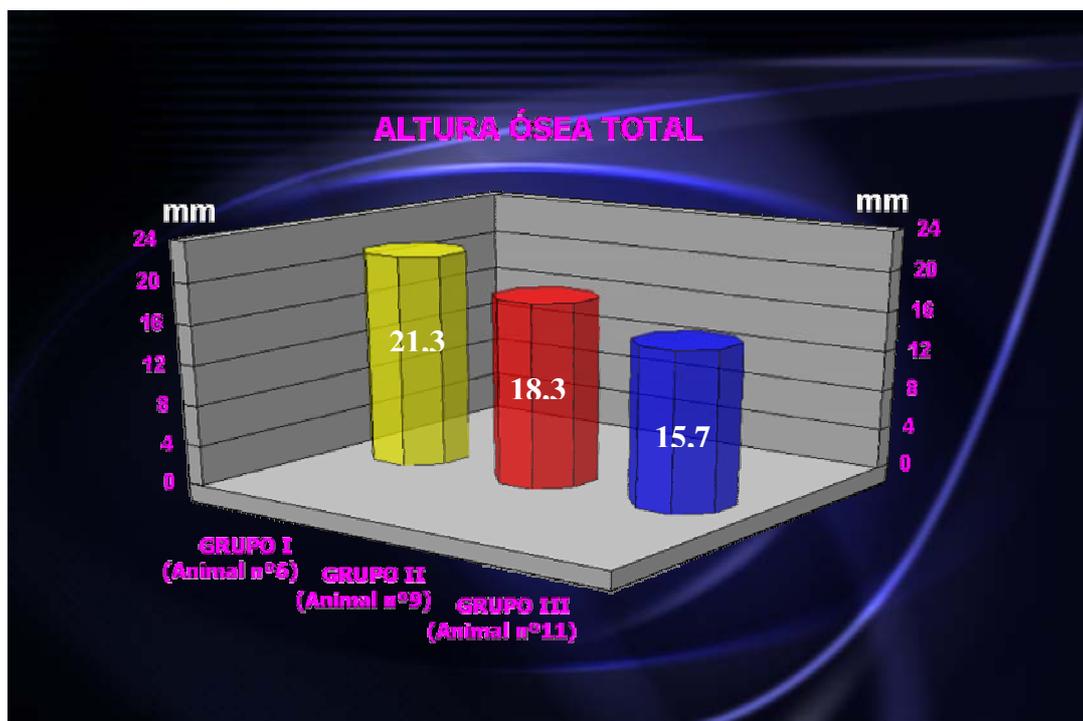


Fig. 66. Altura ósea total de los 3 animales representativos.

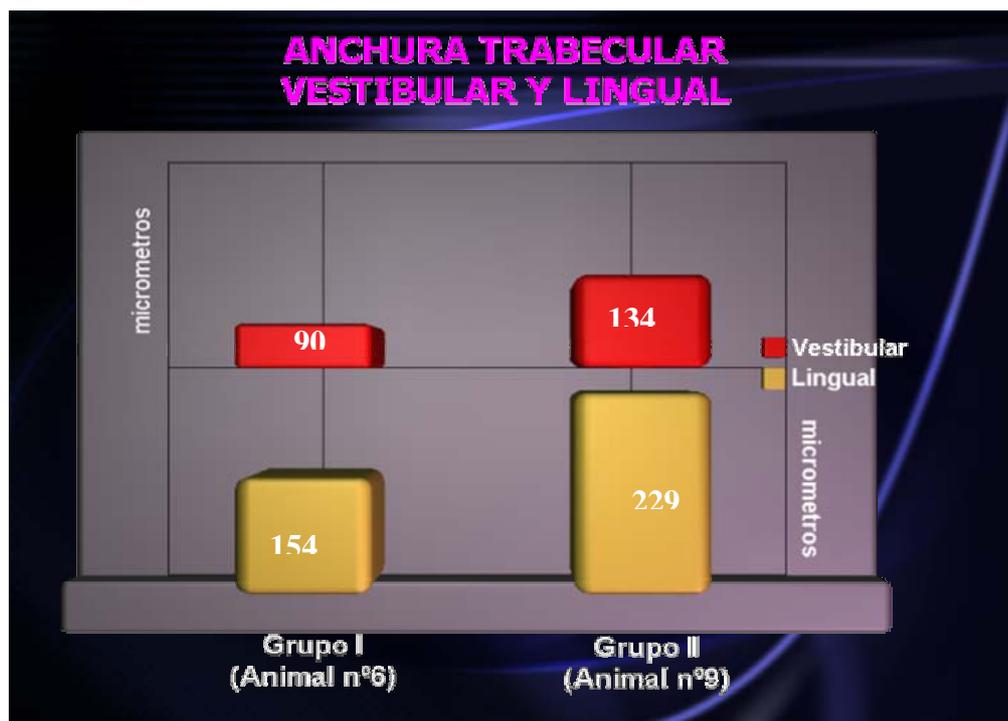


Fig. 67. Anchura trabecular vestibular y lingual en la cámara de distracción de los 2 animales representativos.

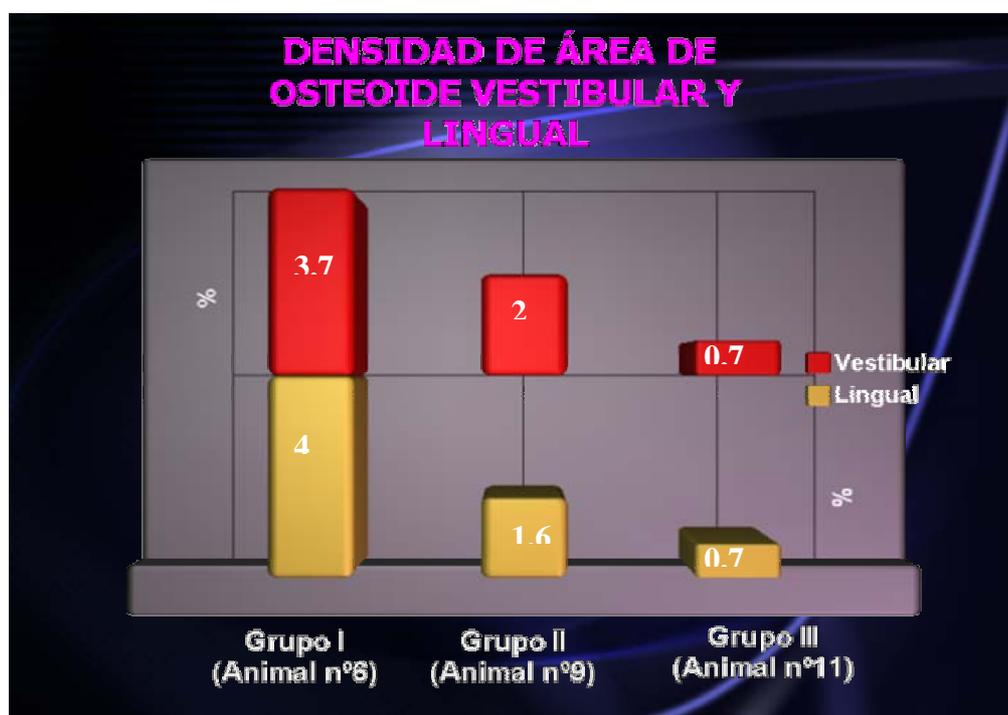
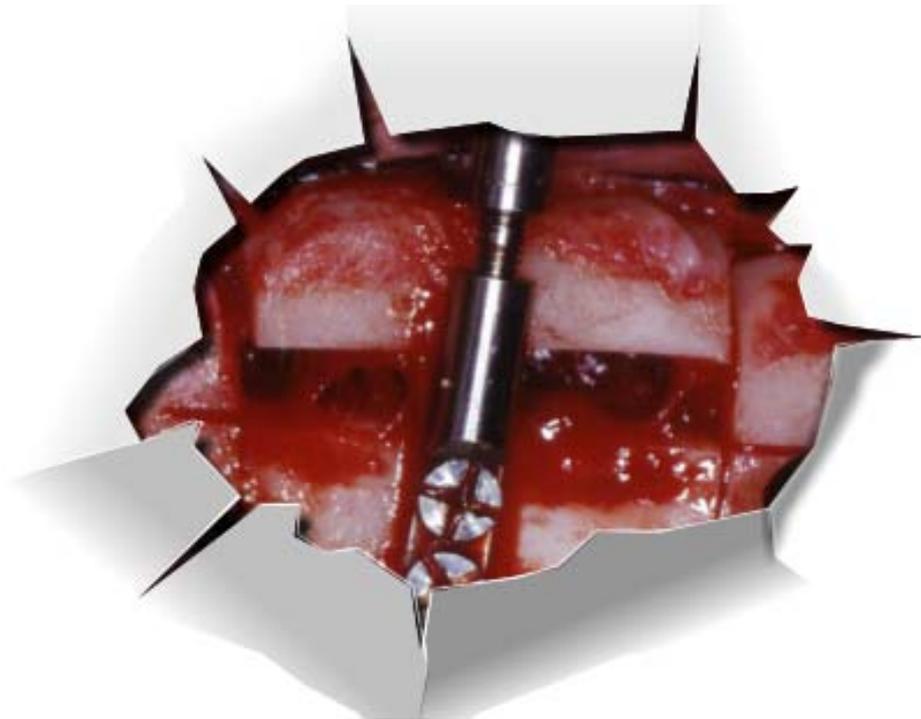


Fig. 68. Densidad de área de osteoide vestibular y lingual en la cámara de distracción de los 3 animales representativos.

VI-DISCUSIÓN



La distracción alveolar experimental ha sido estudiada en escasos estudios^(35, 39, 156, 9, 177, 29, 34, 38) utilizándose en la mayoría de ellos como biomodelo el perro de raza beagle o raza mongrel. La diferencia en el modelo de distractor utilizado y los protocolos de distracción hacen difícil la comparación de los resultados clínicos. Sin embargo el fenómeno de la distracción se produce siempre de la misma manera, lo que facilita la comparación de los resultados histológicos y/o histomorfométricos.

En el diseño de nuestro estudio se decidió estudiar un grupo con tiempo de consolidación reducido (4 semanas) teniendo en cuenta que en la mayoría de los estudios clínicos se aplica un tiempo de consolidación de 8-12 semanas^(36, 10, 47, 44, 49, 69, 157), pero sin embargo se está empezando a especular con la reducción o la eliminación del tiempo de consolidación^(154, 39, 65).

La investigación en distracción alveolar está impulsando la aparición de diferentes diseños de distractor alveolar. De manera general, se diferencian los distractores intraóseos y los distractores extraóseos. Diversas publicaciones demuestran que los distractores intraóseos requieren un alargamiento del periodo de consolidación para permitir la regeneración ósea desde que se retira el distractor hasta que se colocan los implantes^(53, 153, 44), ya que es muy difícil que el lecho dejado por el distractor coincida con la colocación ideal del implante. Por otro lado, se han descrito mayor número de complicaciones de estabilidad y de originar un vector de distracción incorrecto, que con los distractores extraóseos^(53, 153, 44, 69, 157). Sin embargo, el concepto de “hueso flotante” o de vector de distracción incontrolado sería una ventaja para ciertos autores ya que la dirección podría ser “moldeable” mediante férulas o dispositivos ortodóncicos⁽¹⁵⁷⁾. Por otro lado, con los distractores intraóseos, en el caso de realizar un protocolo con eliminación o reducción de la fase de consolidación, conllevaría gran dificultad para retirar el distractor de un hueso con muy poca resistencia biomecánica.

La ventaja del prototipo que presentamos con relación al distractor extraóseo TRACK (Martin) es la aplicación en casos de regeneración de cresta en pérdidas dentarias unitarias, para movilizar pequeños fragmentos óseos. El distractor TRACK, al tener las aletas de anclaje con una disposición horizontal respecto al eje del distractor podría dañar la raíz de los dientes adyacentes al colocar los tornillos de anclaje. Por otro lado es un distractor con un elevado coste. Consideramos que el prototipo que presentamos podría ser utilizado también en distracción alveolar horizontal.

Sin embargo, nuestro diseño presenta la desventaja de no poder movilizar fragmentos óseos más grandes y tiene una ganancia vertical limitada. Estimamos que solo podría movilizar longitudes de hasta 20 mm, y en longitudes mayores sería necesario utilizar dos distractores para un mismo fragmento, al igual que se ha utilizado con el distractor LEAD_(183, 157, 44), el GDD₍₁₅₅₎ o el DISSIS₍₉₎. Otros distractores extraóseos consiguen ganancias medias de incluso 15 mm₍₁₅₄₎ mientras que el prototipo de nuestro estudio solo consigue un máximo de 6,6 mm. Esto podría ser solventado con el aumento de la longitud del cuerpo central y el tornillo de distracción.

El único modelo existente de distractor-implante (DISSIS) ha demostrado su eficacia clínica ₍₉₎. Sin embargo, se ha descrito que se requiere de una altura ósea mínima de 7 mm mientras que con distractores extraóseos este requerimiento puede reducirse hasta los 5 mm₍₃₆₎. Por otro lado el mayor problema que puede presentar este diseño es que el vector de distracción no coincida con los más adecuados ejes de carga prostodóncica, ya que en este caso el implante-distractor no se puede retirar.

Teniendo en cuenta estos factores y los estudios clínicos publicados con muestras y seguimientos más amplios, consideramos más apropiados los distractores extraóseos_(154, 47, 48, 10) y los implante-distractor₍₉₎.

A la hora de valorar los estudios experimentales, hay que tener en cuenta la gran variabilidad entre el humano y otras especies de escasa evolución filogenética₍₁₁₁₎. De esta manera se deben valorar con mayor escepticismo los resultados que utilizan el conejo y la rata como biomodelos, que los que utilizan el perro beagle, la oveja, el minipig o los primates. Así Stewart₍₂₀₇₎ observó en elongación mandibular de conejos que no existían diferencias significativas al utilizar un índice de distracción lento(0,5mm/2 veces/día/15 días) que uno rápido(1,5mm/2 veces/día/5 días), lo que contrasta con las diferencias que sí encontraron otros estudios, utilizando animales más avanzados en la escala filogenética_(168, 59). Por otro lado los resultados histológicos encontrados tras la distracción en mandíbula de conejos demuestran una osificación más rápida que en animales superiores. En este modelo se observan signos radiológicos de osificación inmediatamente después de la distracción y a las 4 semanas el gap de distracción se encuentra totalmente conectado con trabéculas de WB y PFB₍₂₀₇₎.

Sin embargo, se ha considerado empíricamente que en estudios que se investiguen los mecanismos biológicos y mecanismos moleculares de la distracción estarían indicados animales pequeños (ratas y conejos) que se encuentran en la misma clase taxonómica que el humano(Mammalia), mientras que cuando se van a testar distractores para su localización anatómica proyectada, se necesitarán de animales mayores (preferentemente primates no

humanos, cerdos y perros), que imiten la situación en humanos⁽¹¹¹⁾. En este sentido y de acuerdo con el artículo de revisión en distracción experimental realizado por Swennen y cols⁽¹¹¹⁾ se requieren futuras investigaciones en el ámbito de la distracción craneofacial, y se necesitan mejorar los siguientes aspectos:

- Establecer claramente los parámetros biológicos (latencia, índices de distracción, consolidación, etc...) con relación a los diferentes modelos animales y su estado de crecimiento óseo.
- Descubrir los mecanismos moleculares tanto en los animales genéricos o pequeños (rata y conejo) como en los más evolucionados filogenéticamente o grandes (perro, oveja, minipig, primates no humanos)
- Desarrollo, refinamiento y predicción de las consecuencias biológicas y anatómicas de los nuevos distractores antes de su uso en humanos.
- Estudios comparativos para definir el más apropiado modelo animal, en cada situación de la distracción craneofacial.

Hay que tener en cuenta que el cerdo tiene una capacidad de regeneración del 50 % mayor a la del humano (1,2 $\mu\text{m}/\text{día}$ versus 0,8 $\mu\text{m}/\text{día}$)⁽¹⁷⁸⁾. En nuestro estudio se optó por el perro por la capacidad que presenta para imitar la cresta alveolar del humano, siendo su manejo más sencillo y su costo menor que en los otros 3 biomodelos más evolucionados en la escala filogenética (oveja, minipig, primate). Al igual que en nuestro estudio, se ha observado en otros trabajos con perros^(38, 39) que la exodoncia previa de los premolares y la espera de un periodo de curación (12 semanas) se hace indispensable para obtener una cresta alveolar edéntula que presente un hueso alveolar organizado y unos tejidos blandos cicatrizados y estables para colocar el distractor. La colocación del distractor de manera unilateral mandibular se corresponde con resultados satisfactorios en perros con desdentación o tallado en arcada antagonista^(38, 39), en ovejas⁽⁹⁾, y de manera bilateral en monos⁽²⁰⁸⁾.

Durante la intervención para colocar nuestro prototipo de distractor observamos una serie de aspectos a tener en cuenta:

Para mayor comodidad en el anclaje y posicionamiento del distractor es conveniente realizar un marcaje a nivel del orificio superior de la aleta de anclaje inferior. Por encima de esta referencia podremos realizar la osteotomía horizontal, teniendo en cuenta el espesor mínimo de 3 mm del fragmento a distraer. Hay que verificar que la osteotomía horizontal ha llegado a lingual en toda su longitud mediante un escoplo muy fino o una espátula de cemento. Luego se colocan los 3 tornillos de anclaje por este orden: Basal- superior, oclusal y basal inferior.

Antes de realizar las 2 osteotomías verticales es conveniente realizar unas pequeñas osteotomías en la zona oclusal de la cresta con fresa de tungsteno alargada, en ambas zonas equidistantes del distractor. Esto tiene 2 funciones; por un lado localizar las zonas donde se van a realizar las 2 osteotomías verticales y por otro lado redondear los bordes del fragmento transportado, para que no sea una zona traumática para el tejido blando suprayacente y así favorecer una cobertura mucosa adecuada. Esta regularización también ha sido recomendada en estudios clínicos^(69, 47). El distractor debe estar colocado de manera equidistante a lo largo del fragmento de distracción, si esto no ocurre se producirá una mayor zona regenerada en donde la distancia sea mayor.

Se realizan después las 2 osteotomías verticales, mediante la sierra oscilante con un abordaje de vestibular a lingual (mejor que de oclusal a basal) siendo cuidadoso para que la osteotomía vertical no sobrepase basalmente la osteotomía horizontal, y que además sobrepase la cortical lingual sin que desgarre la mucosa lingual. Otra opción es terminar la osteotomía vertical mediante un golpe de escoplo muy fino y afilado. Cuando el fragmento a transportar está liberado y únicamente unido a la mucosa lingual se nota perfectamente porque permite un ligero movimiento de rotación vestibulo-lingual alrededor del eje del distractor. La importancia de la integridad e inserción de la mucosa lingual ha sido también corroborado por la mayoría de los autores^(9, 39, 156, 38).

En cuanto al estado de la mucosa distraída, observamos que cuando se producía una exposición prematura del fragmento óseo en el periodo de latencia no se conseguía un nuevo recubrimiento con tejido blando, a pesar de los procedimientos de curetaje, limpieza y resutura. Al día siguiente, volvía aparecer una dehiscencia de la herida y exposición del fragmento movilizado. Se producía una migración del tejido epitelial en la cámara de distracción resultando inviable para la regeneración ósea. Esto quizá sea debido a la necrosis que se produce en el hueso transportado al no tener una cobertura mucosa y por tanto una vascularización insuficiente. También podría ser explicado por algún componente en la saliva del perro. Pensamos que clínicamente se debería revisar diariamente al paciente durante el periodo de latencia, y a la mínima dehiscencia reforzar la sutura o extremar el cuidado en la zona. Oda y cols⁽³⁵⁾ sin embargo si consiguieron resolver las dehiscencias utilizando el mismo biomodelo mediante aplicación tópica de clorhexidina. En estudios clínicos la aparición de dehiscencias han sido tratadas con éxito mediante procedimientos locales^(48, 47, 69, 155).

La sutura es fundamental en la distracción alveolar experimental para evitar la migración mucosa en la cámara de distracción. Hemos obtenido mejores resultados con sutura de colchonero modificado con nylon de 3-0, comparado con sutura simple, colchonero simple, cruzada, continua, y utilizando seda o Vycril.

Consideramos que la estabilidad del complejo fragmento óseo-distractor es también fundamental para completar y mantener la distracción y evitar la dehiscencia mucosa. El prototipo de nuestro estudio permite una correcta estabilidad mediante el anclaje con 3 tornillos de retención. Oda y cols⁽³⁹⁾ no observaron en perros ninguna complicación mucosa en ninguna de las fases del experimento. Esto contrasta con el alto porcentaje de complicaciones mucosas que nosotros observamos en nuestro estudio. Oda y cols han utilizaron la inserción de implantes para producir la distracción⁽³⁵⁾ y en otro estudio utilizaron un prototipo de distractor⁽³⁹⁾. Los dos sistemas no parecen presentar una estabilidad adecuada para mantener la cámara de regeneración durante la consolidación. La estabilidad necesaria fue conseguida mediante sutura circunmandibular en el periodo de latencia, un adecuado recubrimiento y cierre de los tejidos blandos y lo que parece más significativo fue colocación inmediata de implantes al terminar la distracción. Nosaka y cols⁽¹⁵⁶⁾ en su modelo de distracción horizontal también observaron inflamación de la mucosa que rodea al tornillo de distracción a los 12 días de consolidación, que no fue agravado porque en ese momento se retiró el distractor y se colocaron los implantes. Block y cols⁽³⁸⁾ sí consiguen una excelente estabilidad del complejo debido al anclaje del prototipo utilizado en 4 implantes previamente osteointegrados. No describieron dehiscencias o apertura de heridas en ninguno de los 8 perros que utilizaron. Sin embargo, este prototipo no es viable para la utilización en humanos.

Observamos que si se producía una exposición prematura del tornillo de anclaje superior durante la fase de consolidación se originaba una mucositis del tejido alrededor del tornillo produciendo una reabsorción del fragmento superior, con lo que en cuatro casos (animal n° 7, 8, 9 y 10) se tuvo que retirar prematuramente. El colgajo mucoperióstico debe cubrir completamente el tornillo de retención oclusal del distractor. Si el tejido blando no lo cubre, se produce una reabsorción del hueso perdiéndose el anclaje de este tornillo, e impidiendo o la completa distracción o el mantenimiento de la estabilidad durante la consolidación. Consideramos que si este fenómeno se produjera clínicamente se podría mantener ese tornillo de anclaje con una limpieza y desinfección meticulosa y diaria de la zona durante un tiempo determinado. En los animales nosotros establecemos las siguientes hipótesis para explicar este fenómeno:

1/ Que el tornillo oclusal no tuviera la suficiente superficie de anclaje para tirar del fragmento a transportar lo que produciría una sobrecarga en la interfase hueso-tornillo que induciría a la formación progresiva de una unión fibrosa. Podría ser solventado añadiendo mas tornillos a la aleta oclusal o bien cambiar el diseño de los pasos de rosca de ese tornillo. Es posible que un único tornillo no tuviera el suficiente anclaje para poder traccionar del bloque óseo transportado (20 mm de longitud x 5 mm de espesor).

2/ Que la aleta superior fuera demasiado gruesa, lo cual impediría la perfecta adaptación del tornillo oclusal al fragmento óseo a transportar lo que impediría mantener la estabilidad primaria de este tornillo oclusal. Esto se podría solventar mediante la modificación de la aleta oclusal para que fuera más fina y adaptable al tornillo.

3/ La falta de higiene oral de los animales provocara un fenómeno de mucositis y reabsorción ósea alrededor del tornillo oclusal, en el caso de que exista la más mínima comunicación con el medio oral. Esto podría agravarse por el efecto de la saliva sobre el hueso expuesto. Si esta fuera la causa, tendría difícil solución en experimentación ya que en nuestro estudio se realizó pulverización cada dos días de la zona con clorhexidina en spray y no se consiguió evitar la inflamación.

Observamos que en los 2 primeros días de distracción no se observaba una resistencia en el momento de activar el distractor. Del tercer al quinto día se observaba una mayor resistencia a la activación, posiblemente debido a la mayor tensión ejercida sobre el tejido blando suprayacente. En los 5 animales el volumen de tejido conseguido en la cresta alveolar después de la distracción se dispuso de manera vertical sobre el tejido basal y no se observaron inclinaciones o modificaciones del vector de distracción proyectado. Esto contrasta con el elevado porcentaje de casos en los que el vector de distracción aparece incorrecto tras distracción mandibular en humanos, sobre todo con el uso de distractores intraóseos^(157, 69, 53). Hay que tener en cuenta que la resistencia en la tracción va a depender de la dirección y espesor de las osteotomías, el tamaño del hueso transportado y la capacidad de tracción del distractor utilizado.

Consideramos que para utilizar un distractor extraóseo se requiere un mínimo de 3 mm de altura ósea, para poder realizar una osteotomía horizontal y tener garantías de que no va a existir una fractura del fragmento óseo a transportar. En el caso de distractores intraóseos o distractor-implante la altura ósea mínima requerida es mayor, debido a la necesidad de un espesor óseo por

debajo de la osteotomía horizontal para el anclaje de la parte inferior del distractor. Raghobear y cols⁽¹⁵⁵⁾ sin embargo, establecen que con el distractor estraóseo GDD se necesita en la zona mandibular intermentoniana una altura mínima de 5 mm, para poder obtener un espesor mínimo de hueso transportado de 2 mm para colocar los tornillos de fijación.

En nuestro modelo animal observamos que según se aumentaba el tiempo de consolidación se produjo una reabsorción vertical del fragmento transportado. Clínicamente se obtuvo en el animal nº6 una altura de 5 mm en cámara de distracción y 5 mm en hueso transportado. En el animal nº 9 se obtuvo una altura de 6 mm en cámara de distracción y 3 del hueso transportado. Pensamos que al no existir un defecto en la cresta alveolar esta reabsorción es mayor que la que se pueda producir en los casos en que la regeneración por distracción se realice en un defecto alveolar localizado (defecto de varios dientes). De la misma manera ocurre cuando se realiza distracción alveolar de maxilares atróficos totalmente edéntulos o brechas edéntulas posteriores, en los que no existe hueso nativo lateral al defecto para proteger al hueso transportado. Esta reabsorción del hueso transportado también ha sido descrito en estudios experimentales^(38, 35) y clínicos^(49, 48). En cualquier caso, parece que con los actuales protocolos de consolidación siempre existe una reabsorción del hueso transportado de unos 2mm, que puede ser compensado con sobrecorrección del defecto.

Hay que tener en cuenta que debido al desconocimiento hasta el momento de las características del hueso inmaduro, en gran número de artículos no distinguen los 2 tipos de hueso inmaduro. De esta manera el hueso entrelazado o reticular se equipara al hueso inmaduro, sin distinguir las proporciones que existen de hueso de fibras paralelas o compuesto que parece que tiene unas características biomecánicas diferentes⁽⁷⁶⁾.

Por otro lado, los estudios histomorfométricos pueden tener importantes variaciones intra e inter observador que hacen muy difícil la comparación objetiva de resultados. Estas diferencias dependerán del tipo de hueso a estudiar, variaciones en la sección, variaciones en la tinción, y diferencias en las técnicas de medición. De esta manera se ha demostrado que las variaciones en la evaluación intraobservador son mínimas, pero no así las interobservador, incluso cuando el procesado de las muestras han sido idénticas⁽²⁰⁹⁾.

Consideramos que debido al proceso clínico que se observó a lo largo de nuestro experimento, los cortes distales de la muestra del animal nº 6, y los cortes distales de la muestra del animal nº 9 serían las más fiables para realizar una valoración histológica e histomorfométrica del proceso de la distracción tras una consolidación de 4 semanas y de 8 semanas respectivamente.

Parece que la disposición ósea de las trabéculas de manera paralela al vector de distracción se da de manera mayoritaria en los cortes distales del animal n° 6 pero aparecen de manera aislada en las muestras del animal n° 9 y n° 10. Por otro lado, las fibras de colágeno dispuestas a lo largo del vector de distracción solo se observaron de manera localizada en las zonas del animal n° 6 donde no se había formado hueso. Parece que la disposición paralela de las fibras de colágeno y la aparición de células husiformes similares a fibroblastos (típicas del microambiente de la distracción) se apreciarían mayoritariamente durante la fase de distracción y en las primeras semanas de la fase de consolidación^(140, 61). Esto indicaría que a las 8 semanas la morfología del hueso neoformado por distracción no se diferenciaría ultraestructuralmente de cualquier otro proceso de regeneración ósea. Al igual que en el estudio de elongación de Karp⁽¹⁴⁰⁾ observamos que en nuestro modelo, a las 8 semanas de consolidación se ve que el gap o cámara de distracción está prácticamente conectada en su totalidad con trabéculas y no se observan zonas de fibras colágenas. El hueso regenerado a las 8 semanas presentó una disposición estructural muy similar al hueso nativo aunque seguía formándose de hueso inmaduro.

Raghobear y cols⁽¹⁵⁵⁾ sin embargo, sí observaron zonas intermedias con fibras colágenas a las 8 semanas de consolidación en su estudio clínico. También describieron al hueso regenerado como hueso laminar en su mayoría, aunque en nuestra opinión la mayoría del hueso observado por ellos en la cámara de distracción era un hueso tipo PFB, mientras que el hueso laminar solo aparecía en las zonas de hueso transportado y el hueso basal, y lo incluyeron erróneamente como hueso regenerado. Con este mismo concepto del hueso laminar, Sawaki y cols⁽⁶²⁾ establecen en el modelo de elongación mandibular y en elongación maxilar en perro⁽³¹⁾ que a las 8 semanas de consolidación existe un predominio de hueso laminar. En nuestra opinión se trataba de un hueso inmaduro tipo PFB y no un hueso laminar ya que no se observaba la misma intensidad de tinción que en el hueso nativo y no se presentaban signos de remodelado (líneas festoneadas de cementación).

Las características que presentó el hueso regenerado en el animal n°6 fue la de WB con una disposición trabecular en su mayoría, mientras que en el animal n° 9 se formó de PFB en su mayoría con una disposición más corticalizada. En ninguna de las muestras del estudio observamos una presencia evidente de un hueso laminar maduro en la cámara de distracción y en otros estudios experimentales solo se observó a partir del tercer mes de consolidación⁽⁹⁾. El momento para la colocación de los implantes no está actualmente definida teniendo en cuenta tanto el tipo de hueso como la cantidad o porcentaje de hueso mineralizado.

La disposición estructural de las trabéculas regeneradas a las 4 semanas de consolidación era similar al tipo III encontrado por Cope y cols⁽⁶¹⁾ en su modelo de elongación mandibular en perros. Se trata de una disposición que surge del hueso nativo con zonas aisladas de tejido conectivo no mineralizado (zona fibrovascular) y alguna trabécula “en isla”.

En nuestro biomodelo solo se observó una formación ósea intramebranosa sin signos de osificación endocondral al igual que otros estudios de distracción alveolar realizada en perros⁽³⁹⁾ o en humanos⁽¹⁵⁵⁾ o distracción de elongación maxilar en perros⁽⁶⁷⁾. Sin embargo otros estudios si han encontrado diferentes focos de formación cartilaginosa en distracción alveolar en ovejas⁽⁹⁾ o distracción de elongación mandibular en perros^(61, 62). La aparición de osificación endocondral parece que va a depender el índice de distracción aplicado, la estabilidad de la zona de osteotomía y de manera más cuestionable del modelo animal utilizado. De esta manera índices de distracción más bajos o más altos a 1mm/día provocan una mayor diferenciación condroide^(165, 167) y también distracción continua presenta únicamente osificación intramembranosa mientras que la distracción discontinua presenta osificación endocondral⁽¹⁷⁸⁾.

Parece que la reacción perióstica y endóstica en el hueso basal es más ancha e intensa en las zonas cercanas a la cámara de regeneración en las muestras distales del animal n° 6, mientras que en las de los animales n° 9 y 10 se dispone de manera más apical. Parece que la tensión ejercida no solo favorecería la diferenciación osteoblástica en la cámara de distracción sino también la de las células osteoprogenitoras del periostio y el endostio. Avalando estos hallazgos se encuentran los resultados obtenidos tras realizar distracción o estiramiento progresivo en mandíbula de conejos⁽²¹⁰⁾. En este estudio se elongó el periostio 7 mm y se obtuvo neoformación ósea en anchura del cuerpo de la mandíbula de $2,86 \pm 0,56$ mm. A las 4 semanas de consolidación se observó un hueso inmaduro entrelazado con estructura similar a la encontrada en nuestro estudio en la superficie del hueso basal del animal n° 6.

La cavidad medular comunicada con el conducto dentario inferior se observó alargado y comunicado con la cavidad medular en todos los animales de estudio a diferencia de lo observado en el animal control. Parece que la disposición de la cavidad medular en la mandíbula del perro originaría que al realizar la osteotomía horizontal se comunicara la cavidad medular basal y el conducto dentario inferior con la cámara de distracción lo cual originaría su alargamiento y la entrada de diferentes líneas celulares medulares.

La densidad ósea en la cámara observada en el animal n° 6 ($36,61 \pm 9,79\%$) formado en su mayoría por WB, se asemeja a los resultados encontrados por Zaffe y cols^(154, 45) en muestras de humanos que presentaban una densidad de área del 50% tras 8 semanas de consolidación. En este

mismo estudio se observó que a las 12 semanas la densidad de área se disminuía al 37% debido a la actividad osteoclástica.

Oda y cols⁽³⁹⁾ con el biomodelo de perro, eliminan el tiempo de consolidación colocando los implantes inmediatamente después de la distracción, observando en todos los casos una unión hueso implante con un porcentaje del 30,2% en zona distraída. El porcentaje de densidad de área encontrado a las 8 semanas después de colocar los implantes ($39,3 \pm 10,9\%$) fue menor que el que nosotros encontramos en el animal n° 9 ($58,72 \pm 8,30\%$), quizá debido al daño que recibió el hueso regenerado al realizar el lecho implantario. En ese momento encontraron en la cámara unas características de hueso inmaduro con predominio de PFB al igual que en nuestro estudio.

Los resultados histomorfométricos obtenidos a las 4 semanas tienen correlación con valoraciones radiológicas observadas en elongación mandibular de perros donde un 31% de los casos presentaron una radiodensidad en todo el gap de distracción⁽⁶³⁾. Es decir en el 31% de las muestras presentaban una densidad mineral importante sin encontrar zonas radiotransparentes y el 69% restante presentaba algunas zonas radiotransparentes centrales pero de muy pequeño tamaño. La mayoría de las muestras presentaban una rigidez clínica, lo cual podría ser equiparado a una resistencia biomecánica adecuada para poder colocar los implantes. Por otro lado se ha establecido en el mismo biomodelo, que las 4 semanas es el límite de aposición mineral a partir del cual existe primero una fase de 2 semanas de estabilización y posteriormente se inicia la fase de remodelado en la que la aposición mineral es mucho menor ⁽⁶¹⁾. Nosaka y cols⁽⁶⁵⁾ también comprobaron que se podían colocar implantes en zona distraída por elongación tras 3 semanas de consolidación observando radiológicamente la osteointegración de los mismos.

Nosaka y cols⁽¹⁵⁶⁾ observaron osteointegración de implantes colocados en cresta alveolar tras distracción horizontal con tan solo 12 días de consolidación. También se ha demostrado que los implantes pueden desarrollar osteointegración en hueso regenerado por distracción de elongación mandibular, después de tan solo 3 semanas de consolidación⁽⁶⁵⁾. En las muestras con mayor tiempo de consolidación de nuestro estudio (8 semanas) no observamos signos de remodelación ni aparición de hueso laminar en la cámara de distracción. En los estudios de Oda⁽³⁹⁾ y Nosaka⁽¹⁵⁶⁾ el hueso laminar se observaba a las 12-14 semanas de consolidación.

De manera similar a lo observado en otros estudios de distracción alveolar⁽³⁹⁾ en nuestro estudio se observa una mayor densidad ósea, mayor maduración y organización ósea, en la zona lingual de la cámara de distracción que en la zona vestibular. Esto es corroborado por los datos histomorfométricos; Así en el animal n° 6 se observó una anchura trabecular vestibular de $90 \pm 4,24 \mu\text{m}$ y una anchura trabecular lingual de $134 \pm 15,56 \mu\text{m}$. En el animal n° 9 se vio una

anchura trabecular vestibular de $154,5 \pm 21,64 \mu\text{m}$ y una anchura trabecular lingual de $229,5 \pm 29,24 \mu\text{m}$. Observamos además que en los animales nº6, 8, 9 y 10 que la cámara de distracción era más ancha en la zona vestibular que en la lingual esto puede ser debido a que al no despegar la mucosa lingual se retiene un poco el fragmento transportado y por tanto produce un ligero giro lingual del hueso transportado.

La actividad osteoblástica, representado por la densidad de área de osteoide fue más activa en el animal nº 6 ($4,08 \pm 0,46$) que en el animal nº 9 ($1,61 \pm 0,33$); y ambos eran superiores a la densidad en el animal control ($0,70 \pm 0,14$). Este incremento de la producción de osteoide fue también observada por Gaggl⁽⁴⁰⁾ en su valoración histológica en ovejas a los 2 meses de consolidación comparado a los 3 y 6 meses.

El hueso transportado sufre un intenso proceso de remodelado que se ha evidenciado por el aumento del número de osteonas en remodelación⁽⁴²⁾. En nuestro estudio observamos, que en el animal nº 9 el hueso cortical laminar transportado presentaba un menor proceso de remodelación y mayor reabsorción en altura que en el animal nº6. Las únicas zonas con regeneración ósea correspondían a las zonas cercanas al tornillo oclusal de retención que se retiró prematuramente. Esto se corroboró con los datos histomorfométricos en los que el perímetro óseo, es decir la porosidad del hueso transportado era mayor en el animal nº 6 que en el nº 9 ($196,3 \pm 48,59\%$ vs $62,58 \pm 11,54\%$), y la altura ósea del hueso transportado también era mayor en el animal nº 6 ($4,89 \pm 0,45 \text{ mm}$ vs $2,75 \pm 0,06 \text{ mm}$). Esto podría indicar que la colocación de implantes a las 4 semanas de consolidación en vez de a las 8 evitaría la reabsorción del fragmento transportado. Al comparar los resultados morfométricos de la altura total conseguida se observó que el animal nº 6 presentaba un incremento de 5,59 mm en comparación al animal control, mientras que en el animal nº 9 el incremento era únicamente de 2,65 mm. Aunque no podemos afirmar que la gran reabsorción del hueso transportado en el animal nº 9 se hubiera producido de la misma manera si no hubiera existido un proceso de mucositis y una retirada precoz del distractor. En el estudio de Oda y cols⁽³⁹⁾ la pérdida en altura vertical obtenida fue únicamente de 0,72 mm a las 12 semanas de consolidación. Esta pérdida tan mínima podría ser debida a la colocación precoz de los implantes.

Coincidiendo con las hipótesis de Zaffe y cols⁽¹⁵⁴⁾, Oda y cols^(35, 39), Nosaka y cols^(65, 156), Raghobear y cols⁽¹⁵⁵⁾, podríamos establecer como el momento adecuado para colocar los implantes entre las 2-4 semanas para el biomodelo mandibular del perro beagle y por

extrapolación entre las 6-8 semanas en el humano, o incluso de manera más precoz si los implantes no reciben carga. En cualquier caso estos nuevos protocolos deberían ser avalados con estudios posteriores que comparen diferentes periodos de consolidación que incluyan la colocación de implantes.

Los estudios más recientes en distracción ortopédica, oral y maxilofacial, indican dos objetivos claros en el desarrollo de la distracción alveolar: Obtener los mejores resultados histológicos en el menor tiempo posible y establecer nuevos diseños para el mayor número de situaciones clínicas posibles. Existen una serie de tendencias en cada una de las fases de la distracción.

-Fase de latencia: Teniendo en cuenta que se han presentado estudios de elongación mandibular con resultados positivos eliminando el periodo de latencia^(160, 162) tiende a reducirse teniendo en cuenta la mejor vascularización de los huesos maxilares. Sin embargo la mayoría de los estudios clínicos de distracción alveolar establecen protocolos con un periodo de latencia entre 5 y 7 días. Consideramos, que aunque la fase de latencia no sería estrictamente necesaria para la regeneración ósea, si es apropiado mantenerla para crear un cierre mucoso de la herida y evitar dehiscencias y comunicaciones en la cámara de distracción. Por otro lado se considera que es necesario un cierto tiempo para permitir la migración de las MSCs al foco de fractura⁽¹⁴³⁾. Quizá la aplicación de PRP o la aplicación de adhesivos tisulares para mejorar la migración celular y el cierre de los tejidos blandos podría reducir el tiempo de latencia.

- Fase de distracción: La mayoría de los artículos publicado presentan un índice de distracción de 1mm/ día activando el distractor 2 o 3 veces al día. Nuevos protocolos de la fase de distracción han obtenido mejores resultados con modificación de la fase de distracción alternando tensión y compresión diariamente⁽¹⁴⁴⁾.

- Fase de consolidación : Se tiende a retirar el distractor lo antes posible para evitar complicaciones infecciosas y a colocar los implantes de manera precoz antes de que se produzca la total mineralización de la cámara de distracción^(65, 156). Consideramos que el distractor debe mantenerse únicamente el tiempo necesario para conseguir un tejido biomecánicamente resistente a la colocación de los implantes. La utilización de técnicas de fresado a mayor velocidad, con estabilización simultanea del hueso transportado y regenerado podría disminuir el tiempo de consolidación hasta prácticamente eliminarlo.

En cualquier caso, parece que las características y duración de cada una de las fases de la distracción va a depender en un futuro de las circunstancias de cada individuo y teniendo en cuenta factores como la edad, el tipo de hueso, el estado general, diagnóstico genético, etc... La determinación de los protocolos más adecuados deberían basarse inicialmente en los estudios experimentales más completos seguidos por estudios clínicos prospectivos.

VII-CONCLUSIONES



1-La mandíbula del perro beagle, con desdentación previa unilateral de premolares maxilares y mandibular, es un biomodelo aceptable para el estudio experimental de la distracción alveolar histogénica, aunque es de esperar la aparición de un importante número de complicaciones.

2- El prototipo utilizado puede conseguir la altura vertical ósea y mucosa planificada tras la fase de distracción, permitiendo la regeneración ósea en la cámara de distracción.

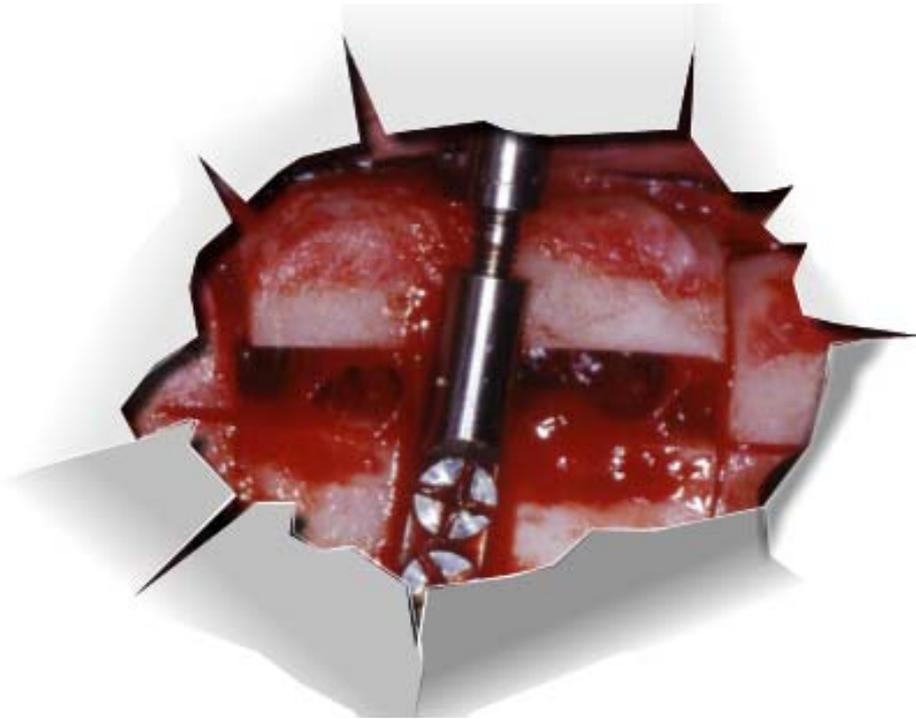
3-El prototipo de distractor utilizado no consigue mantener el aumento tisular vertical alcanzado más allá de 4 semanas después de la fase de distracción. Futuras modificaciones al diseño de este prototipo podrían facilitar dicho mantenimiento.

4- Existen diferencias histológicas del hueso regenerado por distracción tras cuatro y ocho semanas de consolidación. A las 4 semanas se observa un predominio de hueso inmaduro entrelazado mientras que a las 8 semanas existe un predominio de hueso inmaduro de fibras paralelas.

5- Existen diferencias histomorfométricas del hueso regenerado por distracción tras cuatro y ocho semanas de consolidación. A las 4 semanas existe un mayor porcentaje de perímetro óseo, de altura total y de densidad de área de osteoide, mientras que existe un menor porcentaje de densidad de área ósea, y de anchura trabecular, con respecto a las 8 semanas de consolidación.

6- La cantidad de hueso regenerado tras un periodo de consolidación de 4 semanas sugiere un momento adecuado para la colocación de implantes y así evitar la reabsorción del hueso transportado. El comportamiento de dichos implantes colocados en ese tipo de hueso debe ser investigado en futuros estudios.

VIII-BIBLIOGRAFÍA



- 1-Branemark P. Introducción a la Oseointegración. En Branemark P, Zarb G, Albrektsson T(eds). *Protesis tejido-integradas: La oseointegración en la odontología clínica*. Barcelona: Quintessence , 1987: 11-77.
- 2-Informe Organización de las Naciones Unidas. *Plan de acción Internacional de Viena sobre el envejecimiento*. Nueva York.1982.
- 3-Informe Instituto Nacional de Estadística. *Censo de la población y vivienda*. Madrid. 1991.
- 4-Roberts W, Gonsalves M. Aging of bone tissue. En Holm-Pedersen P, Loe H (eds). *Geriatric dentistry*. Copenhagen: Munksgaard, 1986: 83-93
- 5-Zarb G, Schmitt A. Implant therapy alternatives for geriatric edentulous patients. *Gerodontology* 1993; 10:28-32.
- 6-De Vicente JC. Implantología bucal en situaciones límite en los maxilares. Aplicaciones extrabucales. En Bascones A (ed). *Tratado de Odontología*. Madrid: Trigo, 1998: 3887-3895.
- 7-Guarinos J, Peñarrocha M, Sanchis JM, Gay C, Sanchez MS. La cresta alveolar atrófica en implantología oral. *Rev Esp Odontoest Imp* 1996; 4(3):138-150.
- 8-Martínez-González J.M, Barona C, Blanco L, Del Canto M, Fernandez I. Estudio a través de la ortopantomografía de las posibilidades de demanda social en implantología avanzada. *Profesión Dental* 1996; 14: 24-28.
- 9-Gaggl A, Schultes G, Kärcher H . Vertical alveolar ridge distraction with prosthetic treatable distractors: a clinical investigation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000 ;15:701-710.
- 10-Chiapasco M, Romeo E, Vogel G. Vertical distraction osteogenesis of edentulous ridges for improvement of oral implant positioning: A clinical report of preliminary results. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16(1):43-51.
- 11-Lew D, Marino A, Starzell J, Keller J. A comparative study of osseointegration of titanium implants in corticocancellous block corticocancellous chip grafts in canine illium. *J Oral Maxillofac Surg* 1994; 52: 952-958.
- 12-Jensen J, Pedersen S. Autogenous mandibular bone grafts and osseointegrated implants reconstruction of the severely athrophied maxilla: A preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg* 1991; 49:1277-1287.
- 13-De Vicente JC, Lopez JS, Junquera LM, De la Mercer I, Sicilia A, Gonzalez J. Implantes dentarios e injertos óseos. Empleo combinado en el maxilar superior. *Rev Esp Cirug Oral Maxillofac* 1995; 17(4): 220-230.
- 14-Bosker H, Djik L. The transmandibular implant: A 12 year follow up study. *J Oral Maxillofac Surg* 1989;47:442-450.

- 15-Adell R, Lekholm U, Grondal K. Reconstruction of severely resorbed edentulous maxillae using osseointegrated fixtures in immediate autogenous bone graft. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1990; 5:233-241.
- 16-Nyström E, Ahlquist J, Kahnberg KE, Rosenquist JB . Autogenous onlay bone grafts fixed with screw implants for the treatment of severely resorbed maxillae. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996;25: 351-359.
- 17-Widmark G, Andersson B, Carlsson GE, Lindvall AM, Ivanoff CJ. Rehabilitation of patients with severely resorbed maxillae by means of implants with or without bone grafts. A 3 to 5 year follow-up clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16: 73-79.
- 18-Raghoobar GM, Batenburg RHK, Vissink A, Reintsema H. Augmentation of localized defects of the anterior maxillary ridge with autogenous bone before insertion of implants. *J Oral Maxillofac Surg* 1996;54:1180-1185.
- 19-Bernhart T, Weber R, Mailath G, Ulm C, Dörtbudak O, Watzek G. Use of crestal bone for augmentation of extremely knife-edge alveolar ridges prior to implant placement: Report of 3 cases. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14:424-427.
- 20-Keller EE, Tolman DE, Eckert SE. Maxillary antral-nasal inlay autogenous bone graft reconstruction of compromised maxilla: a 12 year retrospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14: 707-721.
- 21-Parma-Benefati S, Tinti C, Albrektsson T, Johansson C. Evaluación histológica del aumento vertical guiado del proceso alveolar alrededor de implantes en seres humanos. *Rev Int Odont Rest Perio* 1999;3(5):423-435.
- 22-Wannfors K, Johansson B, Hallman M, Strandkvist T. A prospective randomized study of 1 and 2 stage sinus inlay bone grafts: a 1 year follow up. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15: 625- 632.
- 23-Rosen PS, Summers R, Mellado JR, Salkin LM, Shanaman RH, Marks MH, Fugazzotto PA. The bone-added osteotome sinus floor elevation technique: Multicenter retrospective report of consecutively treated patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14: 853-858.
- 24-Kan JYK, Lozada JL, Goodacre CJ, Davids WH, Hanish O. Endosseous implant placement in conjunction with inferior alveolar nerve transposition: An evaluation of neurosensory disturbance. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12(4): 463-472.
- 25-Hirsch JM, Bränemark PI. Fixture stability and nerve function after transposition and lateralization of the inferior alveolar nerve and fixture installation. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1995; 33: 276-281.
- 26-Ilizarov G. The tension-Stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft tissue preservation. *Clin Orthop Rel Res* 1989; 238:249-281.

- 27-Ilizarov G. The tension-Stress effect on the genesis and growth of tissues. Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop Rel Res* 1989; 239: 263-285.
- 28-Davies J, Turner S, Sandy JR. Distraction osteogenesis. A review. *Br Dent J* 1998 ; 185 (9):462-467.
- 29-Block M, Dire J, Stover J, Matthews M. Changes in the inferior alveolar nerve following mandibular lengthening in the dog using distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 21:92-95.
- 30-Bell W, Gonzalez M, Samchukov M, Guerrero C. Intraoral widening and lengthening of the mandible in baboons by distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 1999 ;57: 548-562.
- 31-Yamamoto H, Sawaki Y, Ohkubo H, Ueda M. Maxillary advancement by distraction osteogenesis using osseointegrated implants. *J Craniomaxillofac Surg* 1997; 25: 186-191.
- 32-Ascherman JA, Marin VP, Rogers L, Prisant N. Palatal distraction in a canine cleft palate model. *Plast Reconst Surg* 2000;105(5): 1687-1694.
- 33-Block M, Chang A, Crawford C. Mandibular alveolar ridge augmentation in the dog using distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54: 309-314.
- 34-Block M, Almerico B, Crawford C, Gardiner D, Chang A. Bone response to functioning implants in dog mandibular alveolar ridges augmented with distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998; 13:342-351.
- 35-Oda T, Sawaki Y, Ueda M. Alveolar ridge augmentation by distraction osteogenesis using titanium implants: an experimental study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1999; 28: 151-156.
- 36-Raghoobar GM, Heydenrijk K, Vissink A. Vertical distraction of the severely resorbed mandible. The Groningen distraction device. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000; 29: 416-420.
- 37-Chin M, Toth BA. Distraction osteogenesis in maxillofacial surgery using internal devices. Review of five cases. *J Oral Maxillofac Surg* 1996;54:45-53.
- 38-Block MS, Gardiner D, Almerico B, Neal C. Loaded Hydroxylapatite-coated implants and uncoated titanium-threaded implants in distracted dog alveolar ridges. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol End* 2000;89(6):676-685.
- 39-Oda T, Sawaki Y, Ueda M. Experimental alveolar ridge augmentation by distraction osteogenesis using a simple device that permits secondary implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:95-102.

- 40-Gaggl A, Schultes G, Regauer S, Karcher H. Healing process after alveolar ridge distraction in sheep. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol End* 2000; 90(4):420-429.
- 41-Urbani G, Lombardo G, Santi E, Consolo U. Distraction osteogenesis to achieve mandibular vertical bone regeneration: a case report. *Int J Perio Rest Dent* 1999;19:321-331.
- 42-McAllister BS. Vertical alveolar ridge augmentation utilizing the ACE OsteoGenic Distractor. En Samchukov ML, Cope JB, Cherkasin AM(eds). *Craniofacial distraction osteogenesis*. St Louis: Mosby, 2001: 414-422.
- 43-Chin M. Alveolar distraction: endosseous, self-retaining devices. En: Diner PA, Vazquez MP (eds). 2° International congress on cranial and facial bone distraction process. Bologna: Monduzzi, 1999: 9-16.
- 44-Rachmiel A, Srouji S, Peled M. Alveolar ridge augmentation by distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001; 30:510-517.
- 45-Consolo U, Urbani G, Bertoldi C, Zaffe D. Histologic features of osteogenesis in the alveolar bone distraction. En: Diner PA, Vazquez MP(eds). 2° International congress on cranial and facial bone distraction process. Bologna: Monduzzi, 1999 : 131-135.
- 46-Millesi-Schobel G, Millesi W, Glaser C, Watzinger F, Klug C. The L-shaped osteotomy for vertical callus distraction in the molar region of the mandible: a technical note. *J Craniomaxillofac Surg* 2000; 28:176-180.
- 47-Klug CN, Millesi-Schobel GA, Millesi M, Watzinger F, Ewers R. Preprosthetic vertical distraction osteogenesis of the mandible using and L-shaped osteotomy and titanium membranes for guided bone regeneration. *J Oral Maxillofac Surg* 2001 ; 59 :1302-1308.
- 48-Hidding J, Lazar F, Zoeller JE. The cologne concept on vertical distraction osteogenesis. En Arnaud E, Diner PA(eds). 3rd International congress on cranial and facial bone distraction proceses. 2001 distraction odyssey. Bologna: Monduzzi, 2001:65-72.
- 49-Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and platelet rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 630-635.
- 50-Gaggl A, Schultes G, Kärcher H. Widening of the alveolar ridge for preparation of implant sites by alveolar ridge distraction. En Arnaud E, Diner PA (eds). 3rd International congress on cranial and facial bone distraction proceses. 2001 distraction odyssey. Bologna: Monduzzi, 2001:179-186.
- 51-Watzek G, Werner Z, Crismani A, Zauza K. A distraction abutment system for 3-dimensional distraction osteogenesis of the alveolar process: technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15:731-737.

52-Razdolsky Y, Dessner S. Aplicación clínica del distractor dentosoportado ROD5 para la distracción de la cresta alveolar. *Rev Esp Odontoestomatológica Implantes* 2000; 8(3):173-178.

53-Urbani G, Consolo U, Lombardo G. Alveolar bone distraction for implant placement. En Samchukov ML, Cope JB, Cherkasin AM (eds). *Craniofacial distraction osteogenesis*. St Louis: Mosby, 2001: 423-432.

54-Kessler P, Wilfang J, Neukman F. A new distraction device to compare continuous and discontinuous bone distraction in minipigs: a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg* 2000; 28:5-11.

55-Cano J, Martínez-González JM, Gonzalo JC, Rivero C, Donado A. Distracción Alveolar Histogénica II: Diseños actuales y Perspectivas Futuras. *Arch Odontoestomatol* 2002; 18(3): 189-198.

56-Lammens J, Liu Z, Aerssens J, Dequeker J, Fabry G. Distraction bone healing versus osteotomy healing: a comparative biochemical analysis. *J Bone Min Res* 1998,13(2): 279-286.

57-Rauch F, Lauzier D, Croteau S, Travers R, Glorieux FH, Hamdy R. Temporal and spatial expression of bone morphogenetic protein-2, -4, and -7 during distraction osteogenesis in rabbits. *Bone* 2000;26(6): 611-617.

58-Sato M, Yasui N, Nakase T, Kawahata H, Sugimoto M, Hirota S, Kitamura Y, Nomura S, Ochi T. Expresión of bone matrix proteins mRNA during distraction osteogenesis. *J Bone Mineral Res* 1998; 13(8): 1221-1231.

59-Farhadieh RD, Gianoutsos MP, Dickinson R, Walsh WR. Effect of distraction rate on biomechanical, mineralization, and histologic properties and ovine mandible model. *Plast Reconst Surg* 2000;105(3):889-895.

60-Smith SW, Sachdeva RCL, Cope JB. Evaluation of the consolidation period during osteodistraction using computed tomography. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999; 116:254-263.

61-Cope JB, Samchukov ML. Regenerate bone formation and remodeling during mandibular osteodistraction. *Angle Orthod* 2000; 70(2): 99-111

62-Sawaki Y, Ohkubo H, Yamamoto H, Ueda M. Mandibular lengthening by intraoral distraction using osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11:186-193.

63-Cope JB, Samchukov ML. Classification of mandibular regenerate bone. En Samchukov ML, Cope JB, Cherkasin AM(eds). *Craniofacial distraction osteogenesis*. St Louis: Mosby, 2001 : 176-183.

64-Albanese M, Nocini PF, Wangerin K. Histological examination of osteogenic tissue obtained one year after distraction of the mandible. En: Diner PA, Vazquez MP(eds). *2º International congress on cranial and facial bone distraction process*. Bologna: Monduzzi, 1999: 29-34.

65-Nosaka Y, Tsunokuma M, Hayashi H, Kakudo K. Placement of implants in distraction osteogenesis: a pilot study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000;15:185-192.

66-Tavakoli K, Yu Y, Shahidi S, Bonar F, Walsh WR, Poole MD. Expression of growth factors in the mandibular distraction zone :a sheep study. *Br J Plast Surg* 1999 ;52:434-439.

67-Carls F, Jackson I, Topf J. Distraction osteogenesis for lengthening of the hard palate: part II. Histological study of the hard and soft palate after distraction. *Plast Reconst Surg* 1997; 100:1648-1654.

68-Rachmiel A, Laufer D, Jackson IT, Levinson D. Midface membranous bone lengthening: a one-year histological and morphological follow-up of distraction osteogenesis. *Calcified Tissue Int* 1998; 62: 370-376.

69-Garcia A, Somoza M, Gandara P, Lopez J. Minor complications arising in alveolar distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60:496-501.

70- Roach HI (2000). Bone anatomy and cell biology.

[http:// www.ectsoc.org/reviews/011_roac.htm](http://www.ectsoc.org/reviews/011_roac.htm).

71-Hollinger JO, Buck DC, Bruder SP. Biology of bone healing:its impact on clinical therapy. En Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). *Tissue engineering. Aplications in maxillofacial surgery and periodontics.* Illinois:Quintessence,1999:17-53.

72-Eriksen Ef, Axelrod DW, Melsen F (eds). *Bone histomorphometry.* New York:Raven Press. 1994.

73-Bostrom MPG, Yang X, Koutras I. Biologics in bone healing. *Curr Op Orthop* 2000; 11: 403-412.

74- SerranoS(1998). Estructura y función del hueso normal.

<http://www.conganat.org/iicongress/conf/018/index.htm>

75-Soleri JJ . El tejido óseo en implantodoncia(I). *Rev Esp Odont Implant* 1995; 3(1): 3-10.

76-Roberts WE, Garetto LP, Brezniak N Fisiología y metabolismo óseo. En Misch C(ed). *Implantología contemporánea.* Madrid:Mosby, 1995:324-350.

77-González J, Serrano S, Nolla JM, Carbonell J, Cannata JB, Torres A, Morales A, Valverde J, Roig D, Gomis M. Enfermedades óseas. En Farreras P, Rozman C (eds). *Medicina interna.* Madrid: Harcourt Brace, 13ª ed 1995:1064-1090.

78-Boskey AL, Paschalis E. Matrix proteins and biomineralization. En Davies JE(ed). *Bone engineering.* Toronto:em squared, 2000:45-62.

79-Karsenty G. The genetic transformation of bone biology. *Genes and Development* 1999; 13:3037-3051.

80-Ayukawa Y, Takeshita F, Inoue T, Yoshinari M, Shimono M, Suetsugu T, Tanaka T. An immunoelectron microscopic localization of noncollagenous bone proteins(osteoclastin and osteopontin) at the bone-titanium interface of rat tibiae. *J Biomed Mat Res* 1998; 41: 111-119.

81-Gotcher JE, Gerard DA. Fracture repair in the facial skeleton. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 1998; 10(4): 519-530.

82-Mundy GR. Factores locales en el control de la reabsorción y formación de hueso. En: Cannata JB (ed). *Actualizaciones en metabolismo óseo*. Madrid:Jarpyo, 1992 : 41-46.

83-Diaz JB, De la Piedra C. Reguladores hormonales sistémicos y marcadores bioquímicos del remodelado óseo. En Cannata JB (ed). *Actualizaciones en metabolismo óseo*. Madrid:Jarpyo, 1992 :29-39.

84-Marx RE. Platelet rich plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone grafts. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). *Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence, 1999:71-82.

85-Wozney JM. Biology and clinical applications of rhBMP-2. En Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). *Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence, 1999:103-123.

86-Barnes G, Kostenuik P, Gerstenfeld L, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Min Res* 1999;14(11):1805-1815.

87-Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 1986; 46(29): 155-69.

88-Lahey LA, Akella R, Ranieri JP. Angiogenesis: implications for tissue repair. En Davies JE (ed). *Bone engineering*. Toronto: em squared, 2000: 137-142.

89-Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE, Stanley A, Ingham E, Walters C, Selby PJ. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor(VEGF) from platelets: significance for VEGF measurement and cancer biology. *Br J Cancer* 1998; 77(6): 956-964.

90-Bolufer P. Factor de crecimiento epidérmico y su papel en el desarrollo tumoral. *Oncología* 1988; 11(1): 1-7

91-Martínez-Valverde AM, Lorenzo M. Transducción de señales mitogénicas y de diferenciación celular. *Rev Cancer* 1999; 13:100-9.

- 92-Martín D. Activación oncogénica de receptores tirosina quinasa. *Rev Cancer* 1995; 9: 202-18.
- 93-Marie P, Debiais F, Cohen-solal M, De Vernejoul MC. New factors controlling bone remodeling. *Joint Bone Spine* 2000; 67:150-156.
- 94-Yamaguchi A, Komori T, Suda T. Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa 1. *Endocrine Reviews* 2000; 21(4): 393-411.
- 95-Gronowicz G, Krause A, Mc Carthy MB, Cowles EA. Integrin-mediated signalling osteoblasts on implant materials. En Davies JE (ed). *Bone engineering*. Toronto:em squared, 2000:256-267.
- 96-Spinella-Jaegle S, Roman-Roman S, Faucheu C, Dunn F, Kawai S, Gallea S, Stiot V, Blanchet AM, Courtois B, Baron R, Rawadi G. Opposite effects of bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor- β 1 on osteoblast differentiation. *Bone* 2001; 29(4): 323-330.
- 97-Massague J(2000). How cells read TGF β signals.
http://www.nature.com/nrm/journal/v1/n3/slideshow/nrm1200_169a_F1.html
- 98-Caelles C, Muñoz A. Oncogenes nucleares. *Rev Cancer* 1999;13: 27-40.
- 99-Johnson RS, Van Lingen B, Papaioannou VE, Spiegelman BM. A null mutation at the c-jun causes embryonic lethality and retarded cell growth in culture. *Genes Dev* 1993; 7: 1309-1317.
- 100-Perkins AS, Stern DF. Molecular biology of cancer: Oncogenes. En DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer: principles & practice of oncology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 5ª Ed 1997:79-192.
- 101-Manolagas SC, Jilka BL. Bone marrow, cytokines and bone remodeling. *New Engl J Med* 1995; 332: 305-311.
- 102-Duncan RL, Turner CH. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcif Tissue Int* 1995; 57:344-358.
- 103-Martin RB. Toward a unifying theory of bone remodeling. *Bone* 2000;26(1):1-6.
- 104-Minkin C, Marinho VC. Role of the osteoclast at the bone implant interface. *Adv Dent Res* 1999; 13: 49-56.
- 105-Baron R, Vignery A, Neff L, Silverglate A, Santa María A. Processing of undecalcified bone specimens for bone histomorphometry. En Becker RR (ed). *Bone histomorphometry: techniques and interpretation*. CRC Press,1993: 13-37.

106-Serrano S, Mariñoso ML. Bases histológicas de la histomorfometría ósea En: Serrano S, Aubia J, Mariñoso ML(eds). Patología ósea metabólica. Barcelona:Sandoz, 1990: 56-69.

107-Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. J Oral Pathol 1982; 11: 318-326.

108-Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols and units. J Bone Min Res 1987;2(6):595-610.

109-Escolar JD(ed). Principios de morfometría.Introducción a la cuantificación de la forma de muestras biológicas. Zaragoza: Prensas Universitarias de Zaragoza. 1997.

110-Davies JE, Hosseini MM. Histodynamics of endosseous wound healing. En Davies JE(ed). Bone engineering.Toronto: em squared, 2000:1-14.

111-Swennen G, Dempf R, Schliephake H. Craniofacial distraction osteogenesis: a review of the literature. Part II: experimental studies. Int J Oral Maxillofac Surg 2002; 31: 123-135.

112-Frank JD, Ryan M, Kalscheur VL, Ruaux-Mason CP, Hozak RR, Muir P. Aging and accumulation of microdamage in canine model. Bone 2002 ; 30(1): 201-206.

113-Verna C, Melsen B, Melsen F. Differences in static bone remodelling parameters in human mandible and iliac crest. Bone 1999; 25 (5): 577-583.

114-Hollinger JO, Winn SR, Hu Y, Sipe R, Buck DC, Xi G. Assembling a bone regeneration therapy. En Davies JE (ed). Bone engineering. Toronto: em squared, 2000: 435-440.

115-Clarke BL, Ebeling PR, Jones JD, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs L, Fitzpatrick LA. Changes in quantitative bone histomorphometry in aging healthy men. J Clin Endocrinol Metab, 1996;81: 2264-2270.

116-Adriaens PA. Preservation of bony sites. En Lang NP, Karring T, Lindhe J (eds). Proceedings of the 3rd European workshop on periodontology. Implant dentistry. Berlin:Quintessence, 1999: 266-280.

117-Ueng SW, Lin SS, Wang CR, Liu SJ, Tai CL, Shih CH. Bone healing of tibial lengthening is delayed by cigarette smoking: study of bone mineral density and torsional strength on rabbits. J Trauma 1999; 46(1): 110-115.

118-Rapuri PB, Gallagher JC, Balhorn KE, Ryschon KL. Smoking and bone metabolism in elderly women. Bone 2000; 27(3): 429-436.

- 119-Ponseti IV, Morcuende JA. Introducción a las lesiones traumáticas en la infancia. En Burgos J, González P, Amaya S(eds). Lesiones traumáticas del niño. Buenos Aires:Panamericana, 1995:5-19.
- 120-Gemmell CH, Park JY. Initial Blood interactions with endosseous implant materials. En Davies JE (ed). Bone engineering. Toronto: em squared, 2000:108-117.
- 121-Glowacki J. Angiogenesis in fracture repair. Clin Orthop Rel Res 1998; 355s:82-89.
- 122-Caplan A. The mesengenic process. Clin Plast Surg 1994;21(3): 429-435.
- 123-Muschler GF, Midura RJ. Connective tissue progenitors: practical concepts for clinical applications. Clin Orthop Rel Res 2002; 395:66-80.
- 124-Carter DR, Polefka EG, Beaupre GS. Mechanical influences on skeletal regeneration and bone resorption. En Davies JE (ed). Bone engineering. Toronto:em squared, 2000:358-380.
- 125-Garces GL. Fisiopatología del callo de fractura. En De Pedro JA, Perez AJ. Fracturas. Buenos aires:Panamericana, 1999:3-12.
- 126-Mosekilde L(1999). Bone Dynamics. <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/MoreAbout/bonedynamics.html>
- 127-Parfitt AM, Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. Bone 2002; 30(1): 5-7
- 128-Yasuda H, Shima N, Nakagawa, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomayasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. Proc Natl Acad Sci 1998; 95: 3597-3602.
- 129-Forwood MR(2000). Bone remodelling: coordination of BMU's.
http://www.uq.edu.au/~anmforwo/an324/an324_2.htm
- 130-Teitelbaum SL . Bone resorption by osteoclasts. Science 2000; 289(1):1504-1508.
- 131-Mundy GR. Cellular and molecular regulation of bone turnover. Bone 1999; 24(5 suppl):35S-38S.
- 132-Wiskott HWA, Belser UC. Lack of integration of smooth titanium surfaces: a working hypothesis based on strains generated in the surrounding bone. Clin Oral Impl Res 1999; 10: 429-444.

- 133-Frost H. Wolff's law and bone's structural adaptations to mechanical usage: an overview for clinicians. *Angle Orthod* 1994; 64:175-188.
- 134-Power J, Loveridge N, Rushton N, Parker M, Revé J. Osteocyte density in aging subjects is enhanced in bone adjacent to remodeling haversian systems. *Bone* 2002; 30(6): 859-865.
- 135-Cope JB, Samchukov ML, Cherkashin AM. Mandibular distraction osteogenesis: a historic perspective and future directions. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1999; 115: 448-460.
- 136-Codivilla A. On the means of lengthening in the lower limbs, the muscles, and tissues which are shortened through deformity. *Am J Orthop Surg* 1905; 2: 353-369.
- 137-Snyder CC, Levine GA, Swanson HM, Browne EZ. Mandibular lengthening by gradual distraction; preliminary report. *Plast Reconstr Surg* 1973 ;51:506-508.
- 138-McCarthy JG, Schreiber J, Karp N, Thorne CH, Grayson BH. Lengthening the human mandible by gradual distraction. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89:1-8.
- 139-Bilbao A. Regeneración del proceso alveolar: distracción ósea. *Rev Esp Cirug Oral Maxilofac* 2002; 24: 298-303
- 140-Karp NS, McCarthy JG, Schreiber JS, Sissons HA, Thorne CHM. Membranous bone lengthening: A serial histological study. *Ann Plast Surg* 1992; 29:2-7.
- 141-Samchukov ML, Cope JB, Cherkashin AM. Biological basis of new bone formation under the influence of tension stress. En Samchukov ML, Cope JB, Cherkasin AM (eds). *Craniofacial distraction osteogenesis*. St Louis: Mosby, 2001: 21-52.
- 142-Jazrawi LM, Majeska RJ, Klein ML, Kagel E, Stromberg L, Einhorn TA. Bone and cartilage formation in an experimental model of distraction osteogenesis. *J Orthop Trauma* 1998; 12(2):111-116.
- 143-Meyer U, Joos U, Kruse-Lösler B, Meyer T. Mechanically induced tissue response during distraction. En Samchukov ML, Cope JB, Cherkasin AM(eds). *Craniofacial distraction osteogenesis*. St Louis: Mosby, 2001: 42-52.
- 144-Mofid MM, Inoue N, Atabey A, Marti G, Chao E, Manson PN, Vander Kolk CA. Callus stimulation in distraction osteogenesis. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 1621-1629.
- 145-Radomisli TE, Moore DC, Barrach HJ, Keeping HS, Ehrlich MG. Weight-bearing alters the expression of collagen types I and II, BMP2/4 and osteocalcin in the early stages of distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2001; 19: 1049-1056.

146-Mehrara BJ, Rowe NM, Steinbrech DS, Steinbrech DS, Dudziak ME, Saadeh PB, McCarthy JG, Gittes GK, Longaker MT. Rat mandibular distraction osteogenesis: II. Molecular analysis of transforming growth factor beta-1 and osteocalcin gene expression. *Plast Reconstr Surg* 1999; 103(2):536-547.

147-Longaker MT, Warren SM, Mehrara BJ, Bouletreau PJ. Understanding the molecular mechanics governing distraction osteogenesis. En Arnaud E, Diner PA(eds). 3rd International congress on cranial and facial bone distraction proceses. 2001 distraction odyssey. Bologna: Monduzzi, 2001:37-41.

148-Meyer U, Meyer T, Vosshans J, Joos U. Decreased expresion of osteocalcin and osteonectin in relation to high strains and decreased mineralization in mandibular distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg* 1999 ;27:222-227.

149-Windhagen H, Wite F, Hurschler C, Maciejewski O, Linnenberg D, Thorey F. Bone turnover during distraction osteogenesis in an experimental sheep model. *Arch Orthop Trauma Surg* 2002; 122: 279-282.

150-Marucci D, Yu, Y, McTavish F, Bonar M, Poole M, Walsh W. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in bone remodelling following distraction osteogenesis of the sheep mandible. *J Craniomaxillofac Surg* 2002; 30:208-212.

151-Fisher E, Staffenberg D, McCarthy J, Miller DC, Zeng J. Histopathologic and biochemical changes in the muscles affected by distraction osteogenesis of the mandible.*Plast Reconstr Surg* 1997; 99:366-371.

152-Cope JB, Samchukov ML, Muirhead DE. The effect of gradual traction on gingival tissue. En Samchukov ML, Cope JB, Cherkasin AM (eds). *Craniofacial distraction osteogenesis* . St Louis: Mosby, 2001: 102-109.

153-McCallister BS. Alveolar distraction using the ACE osteogenic distractor. En Arnaud E, Diner PA(eds). 3rd International congress on cranial and facial bone distraction proceses. 2001 distraction odyssey. Bologna: Monduzzi, 2001:111-116.

154-Zaffe D, Bertoldi C, Palumbo C, Consolo U. Morphofunctional and clinical study on mandibular alveolar distraction osteogenesis. *Clin Oral Impl Res* 2002; 13: 550-557.

155-Raghobear GM, Liem RSB, Vissink A. Vertical distraction of the severely resorbed edentulous mandible. A clinical, histological and electron microscopic study of 10 treated cases. *Clin Oral Impl Res* 2002; 13: 558-565.

156-Nosaka Y, Kitano S, Wada K, Komori T. Endosseous implants in horizontal alveolar ridge distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 846-853.

- 157-Uckan S, Haydar SG, Dolanmaz D. Alveolar distraction: Analysis of 10 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94: 561-565.
- 158-Tsunokuma M, Nosaka Y, Hayashi, Haeniwa H, Hamamoto K, Nakajima M, Kakudo K. Neovascularization during distraction osteogenesis of the mandible in dogs. En Diner PA, Vazquez MP(eds). 2° International congress on cranial and facial bone distraction process. Bologna:Monduzzi , 1999:345-351.
- 159-Hu J, Li J, Wang D, Buckley MJ. Differences in mandibular distraction osteogenesis after corticotomy and osteotomy. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31: 185-189.
- 160-Troulis MJ, Perrott DH, Kaban LB, . Endoscopic mandibular osteotomy, and placement and activation of a semiburied distractor.*J Oral Maxillofac Surg* 1999;57:1110-1113.
- 161-Richards M, Goulet JA, Weiss JA, Waanders NA, Schaffler MB, Goldstein SA. Bone regeneration and fracture healing. Experience with distraction osteogenesis model. *Clin Orthop Rel Res* 1998; 355S: 191-204.
- 162-Tavakoli K, Walsh WR, Bonar F, Smart R, Wulf S, Poole MD. The role of latency in mandibular osteodistraccion. *J Craniomaxillofac Surg* 1998; 26:209-212.
- 163-Mofid MM, Manson PN, Robertson BC, Tufaro AP, Elias JJ, Vander Kolk CA. Craniofacial distraction osteogenesis: A review of 3278 cases. *Plast Recons Surg* 2001; 108: 1103-1117.
- 164-Jensen OT, Cockrell R, Kuhlke L, Reed C. Anterior maxillary alveolar distraction osteogenesis: A prospective 5-year clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 52-68.
- 165-Ueda M. Biological basis of distraction osteogenesis. En Diner PA, Vazquez MP, (eds). 2° International congress on cranial and facial bone distraction process. Bologna:Monduzzi ,1999:3-8.
- 166-Gil FJ, Raspall G, Arcas A, Planell JA. Diseño de un osteodistractor mandibular intraoral con resortes de memoria de forma. *Rev Esp Cirug Oral Maxillofac* 1999; 21(2):88-95.
- 167-Meyer U, Meyer T, Wiesmann HP, Stratmann U, Kruse-Lösler B, Mass H, Joos U. The effect of magnitude and frequency of interfragmentary strain on the tissue response to distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg* 1999; 57-1331-1339.
- 168-Troulis MJ, Glowacki J, Perrot DH, Kaban LB. Effects of latency and rate on bone formation in a porcine mandibular distraction model. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58:507-513.
- 169-Aronson J, Gao G, Shen X, McLaren S, Skinner R, Badger T, Lumpkin Jr C. The effect of aging on distraction osteogenesis in rat. *J Orthop Res* 2001; 19: 421-427.

170-Hagiwara T, Bell W. Effect of electrical stimulation on mandibular distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg* 2000; 28:12-19.

171-Shimazaki A, Inui K, Azuma Y, Nishimura N, Yamano Y. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits. *J Bone Joint Surg(Br)* 2000; 82B(7):1077-1082.

172-Stewart KJ, Weyand B, Van Hof RJ, White SA, Lvoff GO, Maffulli N, Poole ND. A quantitative analysis of the effect of insulin-like growth factor-1 infusion during mandibular distraction osteogenesis in rabbits. *Br J Plast Surg* 1999;52:343-350.

173-Richards M, Huibregtse BA, Caplan AI, Goulet JA, Goldstein SA. Marrow-derived progenitor cell injections enhance new bone formation during distraction. *J Orthop Res* 1999; 17(6):900-908.

174-Yamane K, Okano T, Kishimoto H, Hagino H. Effect of ED-71 on modelling of bone in distraction osteogenesis. *Bone* 1999; 24(3):187-193.

175-Li G, Boussein ML, Luppen C, Li X, Wood M, Seeherman HJ, Wozney JM, Simpson H. Bone consolidation is enhanced by rhBMP-2 in a rabbit model of distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2002; 20: 779-788.

176-Gantous A, Phillips JH, Catton P, Holmberg D. Distraction osteogenesis in the irradiated canine mandible. *Plast Reconstr Surg* 1994;93(1):164-168.

177-Bavitz JB, Payne JB, Dunning D, Glenn A, Koka R. Empleo de la osteogénesis por distracción para incluir nueva fijación supraósea periodontal en un perro beagle. *Rev Int Odont Rest Perio* 2000; 4(6):617-623.

178-Kessler P, Merten H, Neukman F, Wiltfang J. The effects of magnitude and frequency of distraction forces on tissue regeneration in distraction osteogenesis of the mandible. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 171-180.

179-Ploder O, Kanz F, Randl U, Mayr W, Voraceck M, Plenk H. Three dimensional histomorphometric analysis of distraction osteogenesis using an implanted device for mandibular lengthening in sheep. *Plast Reconstr Surg* 2002; 110: 130-137.

180-Samchukov ML, Cope JB, Harper RP, Ross JD. Biomechanical considerations of mandibular lengthening and widening by gradual distraction using a computer model. *J Oral Maxillofac Surg* 1998 ; 56: 51-59.

181-Gaggl A, Schultes G, Santler G, Kärcher H. Three-dimensional planning of alveolar ridge distraction by means of distraction implants. *Comp Aid Surg* 2000; 5(1): 35-41.

182-Herford A, Audia F, Stucki-McCormick S. alveolar distraction osteogenesis and vector control. A preliminary report. En Arnaud E, Diner PA (eds). 3rd International congress on cranial and facial bone distraction proceses. 2001 distraction odyssey. Bologna: Monduzzi, 2001: 125-130.

183-García A, Somoza M, Gándara P, Lopez J. Alveolar ridge osteogenesis using 2 intraosseous distractors: Uniform and nonuniform distraction. J Oral Maxillofac Surg 2002; 60:1510-1512.

184-Cho BC, Seo MS, Baik BS. Distraction osteogenesis after membranous bone onlay grafting in a dog model. J Oral Maxillofac Surg 2001; 59: 1025-1033.

185-Marchetti C, Degidi M, Pieri F, Piatelli A. Vertical distraction osteogenesis of fibula free flap in mandibular prosthetic rehabilitation: report of two cases. En Arnaud E, Diner PA(eds). 3rd International congress on cranial and facial bone distraction proceses. 2001 distraction odyssey. Bologna: Monduzzi, 2001:545-549.

186-Klesper B, Lazar F, Siebegger M, Hidding J, Zöller JE. Vertical distraction osteogenesis of fibula transplants for mandibular reconstruction. A preliminary report. J Craniomaxillofac Surg 2002; 30: 280-285.

187-Lang NP, Becker W, Karring T. Formación de hueso alveolar. En Lindhe J (ed). Periodontología clínica e implantología odontológica. Madrid:Panamericana, 2000 :916-948.

188-Bruder SP, Kurth AA, Shea M, Hayes WC, Jaiswall N, Kadiyala S. Bone regeneration by implantation of purified culture-expanded human mesenchymal stem cells. J Orthop Res 1998;16:155-162.

189-Breitbart AS,Grande DA, Kessler R . Tissue engineered bone repair of calvarial defects using cultured periosteal cells. Plast Reconst Surg 1998;101:567-574.

190-Audí L. Regulación genética de la masa ósea. Endocrinología y nutrición 1999;46(3):79-83.

191-Salyapongse A, Billiar T, Edington H. Gene therapy and tissue engineering. Clin Plast Surg 1999; 26(4): 663-676.

192-Baltzer AW, Lattermann C, whalen JD, Ghivizzani S, Wooley P, Krauspe R, Robbins PD, Evans CH. Potential role of direct adenoviral gene transfer in enhancing fracture repair. Clin Orthop Rel Res 2000; 379S: 120-125

193-Niyibizi C, Baltzer A, Lattermann C, Oyama M, Whalen JD, Robbins JD, Evans CH. Potential role for gene therapy in the enhancement of fracture healing. Clin Orthop Rel Res 1998;355S:148-153.

194-Goldstein SA, Bonadio J. Potential role for direct gene transfer in the enhancement of fracture healing. Clin Orthop Rel Res 1998; 355s:154-162.

- 195-Boden SD. Bioactive factors for bone tissue engineering. *Clin Orthop Rel Res* 1999; 367S: 84-94.
- 196-Khisimoto KN, Watanabe Y, Nakamura H, Kokubun S. Ectopic bone formation by electroporatic transfer of bone morphogenetic protein-4 gene. *Bone* 2002; 31(2):340-347.
- 197-Noguchi P. Risks and benefits of gene therapy. *N Engl J Med* 2003; 348(3): 193-194.
- 198-Bruder SP, Fox BS. Tissue engineering of bone . *Clin Orthop Rel Res* 1999;367s:68-83.
- 199-Kuboki Y, Jin Q, Takita H. Geometry of carriers controlling phenotypic expression in BMP-induced osteogenesis and chondrogenesis. *J Bone Joint Surg (Am)* 2001 ; 83A S1 : 105-115.
- 200-.Seto I, Asabina I, Oda M, Enomoto S. Reconstruction of the primate mandible with a combination graft of recombinant human bone morphogenetic protein2 and bone marrow. *J Oral Maxillofac Surg* 2001; 59:53-61.
- 201-Martínez-González JM, Cano J, Campo J, Gonzálo JC, Esparza G, Seoane J .¿Existen riesgos al utilizar los concentrados de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) de uso ambulatorio?. *Medicina Oral* 2002; 7(5):375-390.
- 202-Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly LC, Alder M, Nummikoski P. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17(1):11-25.
- 203-Weber FE, Eyrich G, Grätz KW, Maly FE, Sailer HF. Slow and continuous application of human recombinant bone morphogenetic protein via biodegradable poly(lactide-co-glycolide)foamspheres. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31: 60-65.
- 204-Schmidmaier G, Wildemann B, Bail H, Lucke M, Fuchs T, Stemberger A, Flyvbjerg A, Haas, NP, Raschke M. Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor- β 1) from a biodegradable poly (d,l-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats. *Bone* 2001; 28(4): 341-350.
- 205-Sigurdsson TJ, Nguyen S, Wikesjo UM. Alveolar ridge augmentation with rhBMP-2 and bone to implant contact in induced bone. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2001;21(5):461-73.
- 206-Cano MJ, García P. Elaboración de un proyecto de investigación en animales. En Perez CC, Diaz MI, García P (eds). *Introducción a la experimentación y protección animal*. León:Universidad de León, 1999: 175-185.
- 207-Stewart KJ, Lvoff GO, White SA, Bonar SF, Walsh WR, Smart RC, Poole MD . Mandibular distraction osteogenesis: a comparison of distraction rates in the rabbit model. *J Craniomaxillofac Surg* 1998;26:43-49.
- 208-Chin M, Boyne PJ, Eftimie LF. Distraction osteogenesis with bone morphogenetic protein enhancement in the extension of edentulous alveolar bone. En Arnaud E, Diner PA(eds). *3rd International congress on cranial and facial bone distraction proceses*. 2001 distraction odyssey. Bologna: Monduzzi, 2001:19-22.

209-Compston JE, Stellon VA. Inter-observer and intra-observer variation in bone histomorphometry. *Calcif Tissue Int* 1986;38-67-70.

210-Schmidt BL, Kung L Jones C, Casap N. Induced osteogenesis by perostal distraction. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 1170-1175.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ALP: Alkaline Phosphatase. Fosfatasa Alcalina.

B.Ar: Bone Area . Área ósea.

BIC: Bone Implant Contact. Contacto hueso-implante

BMD: Bone Mineral Density. Densidad ósea mineral.

BMPs: Bone Morphogenetic Proteins. Proteínas óseas morfogenéticas.

BMU: Basic Multicellular Unit. Unidad multicelular básica.

B.Pm: Bone Perimeter. Perímetro óseo

BSP: Bone Sialoprotein. Sialoproteína ósea.

BSU: Bone Structural Unit. Unidad estructural ósea.

B.Wi: Bone Width. Anchura ósea (referido en el estudio a la altura ósea).

DEXA: Dual Energy X-ray Absorptiometry. Absorciometría de rayos X por energía dual

EFG: Epidermal Growth Factor. Factor de crecimiento epidérmico.

FGF: Fibroblast Growth Factor. Factor de crecimiento fibroblástico.

FNN: Fibronectin. Fibronectina.

GFs: Growth Factors. Factores de crecimiento.

GTR: Guided Tissue Regeneration. Regeneración tisular guiada

IGF: Insulin like Growth Factor. Factor de crecimiento similar a la insulina.

IL: Interleukin. Interleuquina.

LB: Lamellar Bone. Hueso laminar

LIAN: Lateralization of Inferior Alveolar Nerve. Lateralización del Nervio Dentario Inferior.

MMPs: Metalloproteinases. Metaloproteinasas

MSCs: Mesenchymal Stem Cells

O.Ar: Osteoid Area. Area de osteoide.

OCN: Osteocalcin. Osteocalcina.

ONN: Osteonectin. Osteonectina.

OPG: Osteoprotegerin. Osteoprotegerina.

OPN: Osteopontin. Osteopontina.

PDGF: Platelet Derived Growth Factor. Factor de crecimiento de origen plaquetario.

PFB: Parallel Fibered Bone. Hueso de fibras paralelas.

PG: Prostaglandin. Prostaglandina.

PRP: Platelet Rich Plasma. Plasma rico en plaquetas

PTH: Parathormone. Parathormona.

TBV: Trabecular Bone Volume. Volumen trabecular óseo.

Tb. Wi: Trabecular Width . Anchura trabecular.

TGF: Transforming Growth Factor. Factor de transformación.

TIMPS: Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases. Inhibidores tisulares de metaloprotinasas de matriz.

TIAN: Transposition of Inferior Alveolar Nerve. Transposición del Nervio Dentario Inferior.

TNF: Tumoral Necrosis Factor. Factor de necrosis tumoral.

Tt. Ar: Total Area. Área total.

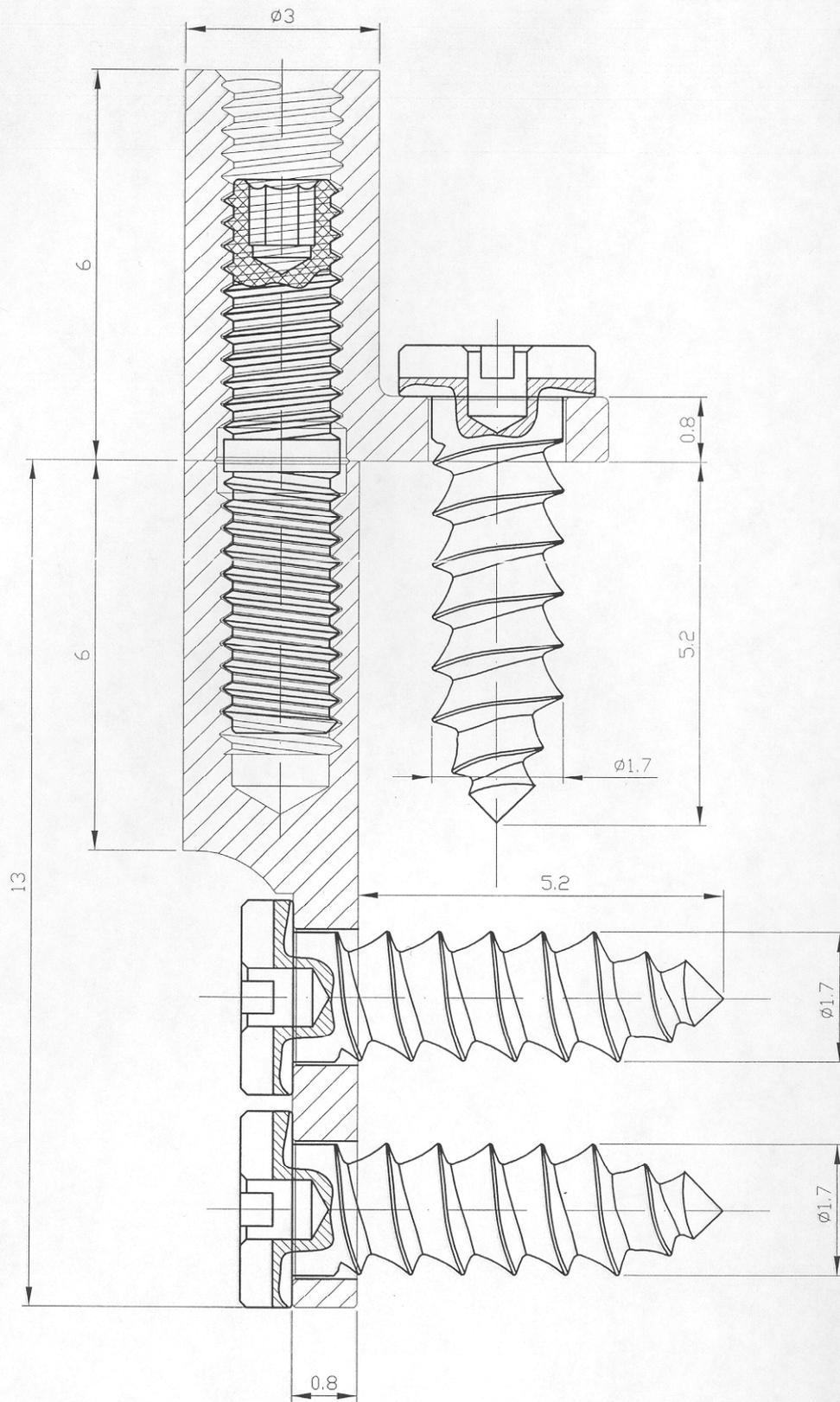
TRAP: Tartrate Resistant Acid Phosphatase.

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor. Factor de crecimiento vascular y endotelial.

VNN: Vitronectin. Vitronectina.

WB: Woven Bone. Hueso entrelazado.

ANEXO I



Impladent
DEPARTAMENTO DISEÑO

DEFCON
IMPLANTS

MATERIAL:
Titanio grado 5

DIBUJADO POR:
J.J.G

FAMILIA:

TRATAMIENTO:

FECHA:
08-01-2003

DENOMINACIÓN:
Distractor oseo

ESCALA:
1/1

PLANO:
Conjunto montado

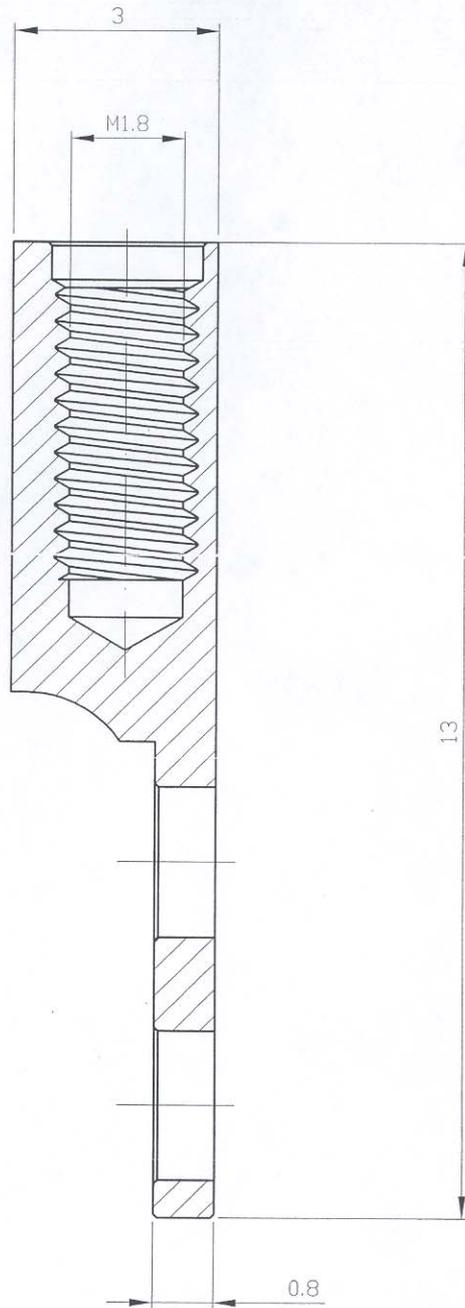
COTAS CRÍTICAS:

TOLERANCIAS NO INDICADAS
LINEAL $\pm 0,10$ / ANGULAR $\pm 1^\circ$

HOJA: 1 de 1 REVISIÓN:



TODOS LOS DERECHOS DE ESTE DOCUMENTO SON PROPIEDAD EXCLUSIVA DE IMPLADENT S.L., SU INFORMACIÓN ES CONFIDENCIAL Y NO PUEDE SER REPRODUCIDA, NI REVELADA, EXCEPTO CON PERMISO ESCRITO DE IMPLADENT S.L.



Impladent
DEPARTAMENTO DISEÑO

MATERIAL:
Titanio grado 5

TRATAMIENTO:

COTAS CRÍTICAS:

DIBUJADO POR:
J.J.G

FECHA:
08-01-2003

ESCALA:
1/1

TOLERANCIAS NO INDICADAS
LINEAL $\pm 0,10$ / ANGULAR $\pm 1^\circ$

HOJA: 1 de 1 REVISIÓN:

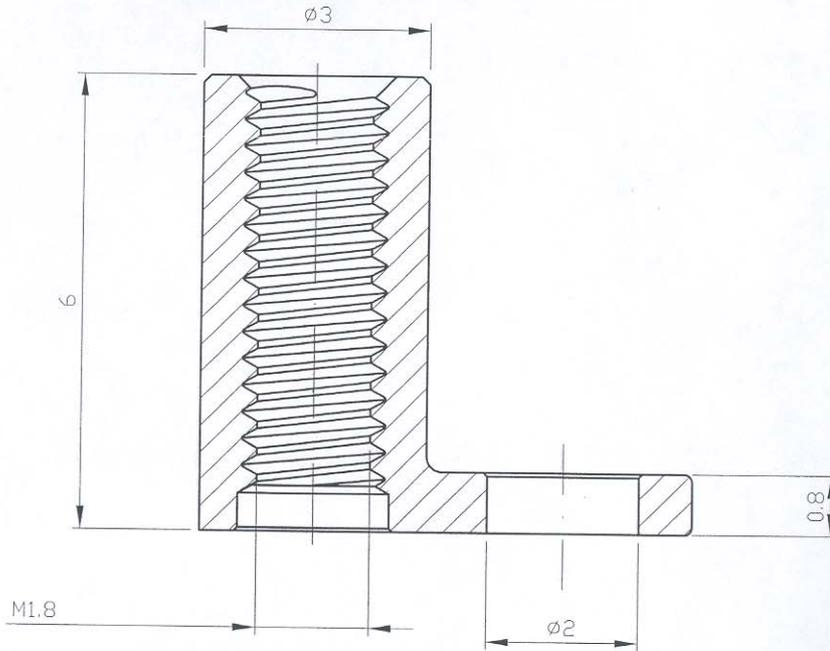
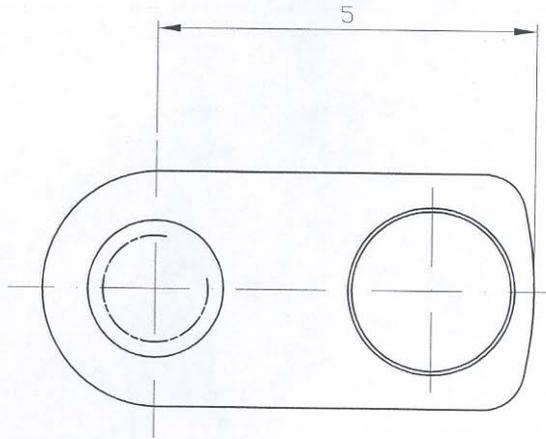
DEFCON
IMPLANTS

FAMILIA:
DENOMINACIÓN:
Distractor oseo

PLANO:
Extractor inferior



TODOS LOS DERECHOS DE ESTE DOCUMENTO SON PROPIEDAD EXCLUSIVA DE IMPLADENT S.L., SU INFORMACIÓN ES CONFIDENCIAL Y NO PUEDE SER REPRODUCIDA, NI REVELADA, EXCEPTO CON PERMISO ESCRITO DE IMPLADENT S.L.



Impladent
DEPARTAMENTO DISEÑO

MATERIAL:
Titanio grado 5

TRATAMIENTO:

COTAS CRÍTICAS:

DIBUJADO POR:
J.JG

FECHA:
08-01-2003

ESCALA:
1/1

TOLERANCIAS NO INDICADAS
LINEAL $\pm 0,10$ / ANGULAR $\pm 1^\circ$

HOJA: 1 de 1

REVISIÓN:

DEFCON
IMPLANTS

FAMILIA:

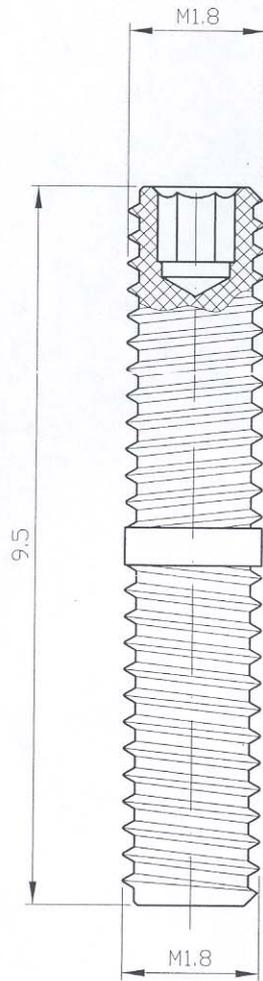
DENOMINACIÓN:
Distracto oseó

PLANO:

Extractor superior



TODOS LOS DERECHOS DE ESTE DOCUMENTO SON PROPIEDAD EXCLUSIVA DE IMPLADENT S.L., SU INFORMACIÓN ES CONFIDENCIAL Y NO PUEDE SER REPRODUCIDA, NI REVELADA, EXCEPTO CON PERMISO ESCRITO DE IMPLADENT S.L.



Impladent
DEPARTAMENTO DISEÑO

MATERIAL:
Titanio grado 5

TRATAMIENTO:

COTAS CRÍTICAS:

DIBUJADO POR:
J.J.G

FECHA:
08-01-2003

ESCALA:
1/1

TOLERANCIAS NO INDICADAS
LINEAL ± 0.10 / ANGULAR $\pm 1^\circ$

DEFCON
IMPLANTS

FAMILIA:

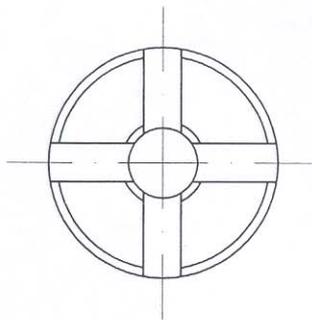
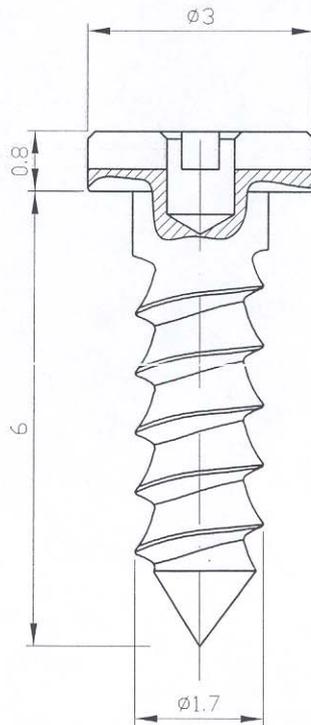
DENOMINACIÓN:
Distracto oseó

PLANO:
Tornillo

HOJA: 1 de 1 REVISIÓN:



TODOS LOS DERECHOS DE ESTE DOCUMENTO SON PROPIEDAD EXCLUSIVA DE IMPLADENT S.L., SU INFORMACIÓN ES CONFIDENCIAL Y NO PUEDE SER REPRODUCIDA, NI REVELADA, EXCEPTO CON PERMISO ESCRITO DE IMPLADENT S.L.



Impladent
DEPARTAMENTO DISEÑO

MATERIAL:
Titanio grado 5

TRATAMIENTO:

COTAS CRÍTICAS:

DIBUJADO POR:
J.J.G

FECHA:
08-01-2003

ESCALA:
1/1

TOLERANCIAS NO INDICADAS
LINEAL $\pm 0,10$ / ANGULAR $\pm 1^\circ$

HOJA: 1 de 1 REVISIÓN:

DEFCON
IMPLANTS

FAMILIA:

DENOMINACIÓN:
Distractor oseó

PLANO:

Tornillo fijación



TODOS LOS DERECHOS DE ESTE DOCUMENTO SON PROPIEDAD EXCLUSIVA DE IMPLADENT S.L., SU INFORMACIÓN ES CONFIDENCIAL Y NO PUEDE SER REPRODUCIDA, NI REVELADA, EXCEPTO CON PERMISO ESCRITO DE IMPLADENT S.L.

ANEXO II

TINCIÓN CON AZUL DE TOLUIDINA

Reactivos:

- Hematoxilina Weigert (la misma que se utiliza en el tricrómico de Masson)
- Solución acetona/alcohol 1/1
- Agua oxigenada al 30 % p/v de 110 volúmenes (tal como viene en la botella)
- Solución al 1% de azul de toluidina en agua, a pH = 4

Técnica:

- Hematoxilina Wigert 1 minuto
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Acetona/alcohol 3 segundos
- Agua oxigenada 5 minutos
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Azul de toluidina 3-7 minutos
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Acetona/alcohol 3 segundos
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Montar

TINCIÓN CON TRICRÓMICO DE MASSON (MODIFICACIÓN DE GOLDNER)

Reactivos:

- Hematoxilina Weigert

Se prepara mezclando a partes iguales las siguientes soluciones:

Solución A: 1g de hematoxilina en 100 ml de etanol absoluto (mantener 20 días a la luz hasta que envejezca).

Solución B: Cl₃Fe al 20% 4 ml
HCl al 35 % 1 ml
H₂O hasta 100 ml

- Solución de Fucsina ácida y Ponceau

Fucsina ácida 0'1 g
Ponceau de xilidina 0'2 g
H₂O 300 ml
Ácido acético glacial 0'6 ml

- Solución de Orange G

Orange G 2 g
H₂O 100 ml

- Solución de Ácido fosfomolibdico

Ácido fosfomolibdico 5 g
H₂O 100 ml

- Solución de verde luz

Verde luz 0'3 g
Ác. acético al 1 % 300 ml

Técnica:

- Hematoxilina Weigert 10 minutos
- Lavar con agua corriente 5 minutos

- Fucsina ácida-ponceau 10 minutos
- Aclarar con acético al 2%
- Orange G 5-10 minutos
- Aclarar con acético al 2%
- Ácido fosfomolibdico 3-5 minutos
- Aclarar con acético al 2%
- Verde luz 15-30 minutos
- Aclarar con acético al 2%
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Montar

TINCIÓN CON ROJO SIRIO

Reactivos:

- Solución de Rojo Sirio
 - Rojo sirio 1g
 - Solución saturada de ácido pícrico en H₂O 100 ml

- Hematoxilina de Harris

Solución A:

- Hematoxilina 1g
- Etanol absoluto 10 ml

Solución B:

- Sulfato aluminico-potàsico 40 g
- H₂O 400 ml

Calentar B y añadir A, hervir y añadir 0'5 g de óxido de mercurio en agitación constante. Enfriar por inmersión en agua fría.

Técnica:

- Rojo Sirio 15 minutos
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Hematoxilina de Harris 4-6 minutos
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Montar

TINCIÓN CON HEMATOXILINA-EOSINA

Reactivos:

- Hematoxilina Weigert
- Solución de eosina
 - Eosina 1g
 - H₂O 100 ml

Técnica:

- Hematoxilina Weigert 10 minutos
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Eosina 4-5 minutos
- Lavar con agua corriente 5 minutos
- Montar