



Ciencias de la salud

Artículo Científico

**Regeneración ósea comparando apósitos colágenos e hidroxiapatita estudio
histológico en ocho cobayos**

*Bone regeneration comparing collagen dressings and hydroxyapatite. Histological
study in eight guinea pigs*

*Regeneração óssea comparando curativos de colágeno e hidroxiapatita, estudo
histológico em oito cobaias.*

David F. Arévalo-Wazhima¹
dfarevalow1909@hotmail.com

Franklin E. Quel-Carlosama^{II}
fquel@uce.edu.ec

Recibido: 10 de noviembre de 2016 * **Corregido:** 19 de diciembre de 2016 * **Aceptado:** 10 de enero 2017

¹Especialista, Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

^{II}Docente, Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

Resumen.

Objetivo: El propósito de este estudio fue evaluar histológicamente la reparación de defectos óseos comparando apósitos de colágeno e hidroxiapatita. **Materiales y Métodos:** Se utilizaron 8 cobayos a los que se les intervino quirúrgicamente en el fémur para crear 3 defectos óseos de 2 mm de profundidad, por cada cobayo obteniendo un grupo control, un grupo tratado con apósitos de colágeno y un grupo tratado con hidroxiapatita, los mismos que fueron evaluados en periodos de 3 y 4 semanas respectivamente y que de manera posterior midió la cantidad de tejido generado en el defecto. Los datos fueron procesados por el software SPSS versión 23, se empleó la prueba estadística de Kruskal Wallis y Wilcoxon **Resultados:** El grupo tratado con apósitos de colágeno tendría una mayor cantidad de regeneración ósea obteniendo a las 3 semanas un 65% mayor al 57,5 % obtenido por los otros dos grupos y a las 4 semanas el grupo colágeno fue superior con 82,5%, siendo el valor estimado de regeneración de los otros dos grupos un 75%, aunque no sería estadísticamente significativo en ninguno de los casos, obteniendo $p = 0,09$ para las tres semanas permitiendo inferir que no existió diferencia significativa y un valor $p = 0,18$ para las cuatro semanas que también permitió determinar que no existió diferencia significativa. **Conclusiones:** No existe una diferencia importante en la regeneración ósea al comparar apósitos de colágeno e hidroxiapatita a las 3 y 4 semanas, aunque al encontrar partículas de hidroxiapatita se piensa que mantendría el volumen óseo.

Palabras clave: Regeneracion tisular guiada; sustituto osealoplastico; hemostatico; osteopromocion; osteoconduccion.

Abstract.

Objective: The purpose of this study was to histologically evaluate bone-defects repair comparing collagen and hydroxyapatite dressings. **Materials and Methods:** Eight guinea pigs were used which underwent surgically interventions to create 3 femur bone defects of 2 mm depth for each guinea pig, obtaining a control group, a collagen dressings-treated group and a hydroxyapatite -treated group. We evaluated samples in periods of 3 and 4 weeks measuring the amount of tissue generated in the defect. The software SPSS version 23 processed data with Kruskal Wallis and Wilcoxon statistical tests. **Results:** The collagen-treated group would have a higher quantity of bone regeneration in 3 weeks being 65% over the 57.5% of the other two groups; and in 4 weeks, the collagen-treated group was superior with 82.5%, over the 75% of the other two groups, with no statistical difference in $p=0,09$ for the 3 weeks evaluation, and $p = 0,18$ for the 4 weeks evaluation. **Conclusions:** There is no significant difference in bone regeneration when comparing collagen and hydroxyapatite dressings at 3 and 4 weeks, although presence of hydroxyapatite particles is thought to maintain bone volume.

Key Words: Guided Tissue Regeneration; Osealoplastic substitute; haemostatic; Osteopromotion; Osteoconduccion.

Resumo.

Objetivo: O propósito deste estudo foi avaliar histologicamente a reparação dos defeitos ósseos comparando curativos de colágeno e hidroxiapatita. **Materiais e Métodos:** Utilizaram-se 8 cobaias as quais foram intervindas cirurgicamente no fêmur para gerar 3 defeitos ósseos de 2mm de profundidade, assim de cada cobaia obteve-se um grupo controle, um grupo tratado com curativo de colágeno e um grupo tratado com curativo de hidroxiapatita, os mesmos que foram avaliados às 3 e 4 semanas respectivamente e, posteriormente, foi medida a quantidade de tecido gerado no defeito. Os dados foram processados pelo software estatístico SPSS versão 23, os testes estatísticos de Kruskal Wallis e Wilcoxon foram utilizados. **Resultados:** O grupo tratado com curativos de colágeno teve uma maior quantidade de regeneração óssea obtendo às 3 semanas um 65% que mostrou ser maior do que os outros dois grupos que obtiveram 57,5% obtido por os outros dois grupos; às 4 semanas o grupo colágeno foi superior com 82,5% comparado com 75% dos outros dois grupos, no entanto diferença estatisticamente significativa não foi encontrada, $p=0,09$ para as 3 semanas e $p=0,18$ para as 4 semanas. **Conclusões:** Não existe uma diferença importante na regeneração óssea ao comparar curativos de colágeno e hidroxiapatita às 3 e 4 semanas, embora a presença de hidroxiapatita poderia manter o volume ósseo.

Palavras chave: Regeneração tecidual guiada, substituto osealoplastico, hemostático, osteopromoção, osteocondução.

Introduccion.

La extracción dental sigue siendo un procedimiento frecuente, las causas más habituales serían caries, enfermedad periodontal, trauma dentoalveolar y fracasos endodonticos. (1,2) Una vez realizada la extracción se producen una serie de procesos fisiológicos que incluyen. Según Amler MH, 1969, (3) la formación del coagulo el día de la cirugía, a los dos-tres días el coágulo se mantiene pero empieza la formación de tejido de granulación, a los cuatro días todavía se encuentra la presencia de coágulo sanguíneo, tejido de granulación, tejido conectivo y epitelio, a los 7 días desapareció el coagulo, observándose tejido de granulación, tejido conectivo, osteoide y epitelio; a los 20 días tendríamos tejido conectivo, osteoide, epitelio y a los 40 días encontramos tejido conectivo, hueso y epitelio. (4) Dentro de este proceso se produce de manera normal la reabsorción del proceso alveolar con la posterior atrofia del mismo, lo cual ha sido estudiado mediante mediciones radiográficas, micro TAC, clínicamente mediante sondaje periodontal, además de ser estudiado tanto en animales como en humanos; (5,6,7,8) el resultado de esta reabsorción son rehabilitaciones orales con alteraciones estéticas y funcionales, siendo más importantes las funcionales como la alimentación, masticación y fonación sobre todo en pacientes con prótesis totales. (9,10)

El ITI(International Team For Implantology) describió cuatro tipos de tratamientos para la planificación de la terapia con implantes posterior a la exodoncia, dependiendo del tiempo clínico que va a ser utilizado, describiendo como Tipo I la colocación inmediata del implante, Tipo II de 4 a 8 semanas postexodoncia, Tipo III de 12 a 16 semanas postexodoncia y tipo IV cuando transcurren más de 6 meses para la colocación, dejando como recomendaciones que el tipo I no se emplear

como procedimiento de rutina sin antes valorar minuciosamente el caso, debido a los problemas estéticos que se pueden generar. (11,12)

Debido a los problemas mencionados, Adriaens P, 1999, (13) describió la preservación alveolar: “Preservación alveolar es un procedimiento que se realiza en el momento de la extracción y permite mantener las dimensiones y contornos alveolares”, por lo que la terapéutica estaría enfocada en la mayoría de los casos a emplear biomateriales para conservar el volumen óseo para obtener resultados estéticos y funcionales.

La Hidroxiapatita es descrita como un biocristal, biocompatible, que se encuentra en huesos y dientes, se lo emplea como sustituto óseo en medicina y odontología. En estudios realizados en ratas y conejos se encontraron partículas de hidroxiapatita lo cual retardaría la formación ósea, (14,15) siendo este retraso importante para la preservación del alveolo

El colágeno es una proteína que constituye los tejidos conectivos corporales, además que el conocimiento de esta molécula, ha permitido la síntesis de esponjas colágenas, las mismas que proveen a los fibroblastos un “andamio” para su migración, el colágeno es un material biocompatible, biodegradable generando desechos fisiológicos, además de presentar una adecuada interacción con células, estos materiales tienen una favorable influencia en la infiltración celular y la cicatrización de heridas. (16)

Magro-Érnica N; et al, 2003, (16) empleó colágeno microfibrilar hemostático en alveolos postextracción de ratas, encontrando a las tres semanas una regeneración ósea mayor que en los sitios de control y a las cuatro semanas no existiría una diferencia marcada, Piaggio-Bravo LA; et al, 2008, (17) obtuvo datos similares encontrando regeneraciones similares con sulfato de calcio.

El propósito de este estudio fue evaluar la diferencia en la regeneración ósea entre apósitos de colágeno e hidroxiapatita.

Materiales y métodos.

En el estudio cuyo protocolo fue aprobado por el comité de Ética de la Universidad Central del Ecuador, se utilizaron 8 cobayos, hembras de 1 año, 1 a 2 kg de peso, los cuales fueron divididos en dos grupos de experimentación: Grupo A) evaluados a las 3 semanas de la intervención, Grupo B) valorados a las 4 semanas, además de subgrupos 1) Grupo Control, 2) tratados con apósitos de colágeno, 3) Tratados con Hidroxiapatita. Todos los animales fueron intervenidos quirúrgicamente en el miembro inferior izquierdo, para lo cual fueron sometidos a anestesia general con , se rasuró la zona quirúrgica y se realizó la antisepsia con yodo povidona, se procedió a realizar la incisión con hoja de bisturí N°15, divulsión de tejidos con tijera metzembaun curva hasta llegar al hueso, se mantuvo separado el tejido blando con separadores quirúrgicos mientras se procedió a realizar las perforaciones con rotor eléctrico(MARATHON-3) y con fresa redonda de carburo tungsteno N°6 a 20000 RPM y bajo abundante irrigación, la primera a 1 cm de la cabeza del fémur y las otras dos a una distancia de 5-7 mm cada una, las cavidades medial y distal fueron tratadas con apósitos de colágeno e hidroxiapatita respectivamente, se procedió a suturar el plano muscular con Vycril 3-0 y el plano cutáneo con nylon 3-0. Los animales fueron sacrificados a las 3 y 4 semanas.

Procedimiento Histológico.

A los animales sacrificados se les removi6 el fémur que fue sumergido por 24 horas en formol, luego por 5 días en ácido cítrico y sometido a procedimientos de rutina para obtener cortes

de 5µm con tinción de hematoxilina y eosina. Los cortes fueron observados en microscopio óptico OLYMPUS

Análisis Histológico.

Se realizó por un experimentado Anatomopatólogo con amplia experiencia clínica, el procedimiento fue de ciego simple y se midió en los cortes corticoesponjosos la cantidad de hueso neoformado que se dividió por tercios, apical, medio y coronal (hueso cortical).

Una vez obtenidos los datos fueron introducidos en una hoja de cálculo de Excel, y procesados en un software SPSS versión 23. Se calcularon los promedios de regeneración por biomaterial, la desviación estándar, se empleó la prueba de Kruskal Wallis para probar si existió diferencia significativa entre los subgrupos

Se desarrolló además la prueba de Wilcoxon para comparar la regeneración de un mismo subgrupo al compararlo entre las tres y cuatro semanas.

Resultados.

Los apósitos de colágeno presentan un mayor porcentaje de regeneración con un 65% a las tres semanas, superior al grupo control y al grupo hidroxiapatita (57,5%). A las cuatro semanas se mantendría la mejor reacción de los apósitos de colágeno con un 82,5 de regeneración comparado con un 75% de los otros grupos, aunque estadísticamente no representa un valor significativo.

Regeneración ósea comparando apósitos colágenos e hidroxiapatita estudio histológico en ocho cobayos

Elemento	Grupo	3 SEMANAS			4 SEMANAS		
		Inflamación	Material	Regeneración %	Inflamación	Material	Regeneración %
1	GRUPO A	No	No	60	No	No	70
2	GRUPO A	No	No	60	No	No	80
3	GRUPO A	No	No	50	No	No	80
4	GRUPO A	No	No	60	No	No	70
5	GRUPO B	No	No	70	No	No	80
6	GRUPO B	Si	No	60	No	No	80
7	GRUPO B	No	No	70	No	No	90
8	GRUPO B	No	No	60	No	No	80
9	GRUPO C	No	Si	50	No	Si	70
10	GRUPO C	No	Si	60	No	Si	70
11	GRUPO C	No	Si	50	No	Si	80
12	GRUPO C	No	Si	60	No	Si	80

Tabla N° 1.- Resumen de los resultados descriptivos

Tie mpo	Grupo	Media	Desviacion Estándar
Tres semanas	Sin relleno	57,5	5,0
	Colágeno	65,0	5,8
	Hidroxiapatita	57,5	5,0
Cautro semanas	Sin relleno	75,0	5,8
	Colágeno	82,5	5,0
	Hidroxiapatita	75,0	5,0

Cuadro N° 1.- Estadística de la Regeneración ósea por grupo y por periodo de análisis

		Shapiro-Wilk		
	Grupo	Estadístico	gl	Significancia (p)
Regeneración	Sin relleno (3)	,630	4	,001
	Colágeno (3)	,729	4	,024
	Hidroxiapatita (3)	,630	4	,001
	Sin relleno (4)	,729	4	,024
	Colágeno (4)	,630	4	,001
	Hidroxiapatita (4)	,630	4	,001

Tabla N° 2.- Significancia para el criterio de normalidad según Shapiro Wilks

Se usó Kruskal Wallis para probar si existió diferencia significativa entre los grupos, obteniéndose un valor $p = 0,09$ para las tres semanas permitiendo inferir que no existió diferencia significativa en el porcentual de regeneración. El valor $p = 0,18$ para las cuatro semanas que también permitió determinar que no existió diferencia en la regeneración hacia las 4 semanas.

Se desarrolló además la prueba de Wilcoxon para comparar la regeneración de un mismo grupo al compararlo entre las tres y cuatro semanas, obteniéndose en todos los casos $p < 0,05$, que permitió inferir que si existió diferencia en el porcentual de regeneración en relación al tiempo.

Discusion.

El propósito de este estudio fue comparar la regeneración ósea en defectos óseos comparando apósitos colágenos e hidroxiapatita. Tras la exodoncia existiría una resorción ósea marcada lo cuál sería perjudicial para una rehabilitación oral implanto asistida debido a que ha sido ampliamente estudiado en modelos animales, así como en humanos mediante radiografías, micro TAC, sondajes periodontales entre otros métodos, que el proceso alveolar sufre reabarcion tras la exodoncia. (5,6,7,8) Adriaens P, 1999, (13) definió la técnica de preservación alveolar como un procedimiento que se realiza en el momento de la extracción y permite mantener las dimensiones y

contornos alveolares, esto debido a que no en todos los casos se deben emplear implantes inmediato postexodoncia debido a los problemas estéticos que pueden surgir por un mal diagnóstico. (12,13)

Brandão AC; et al, 2002, (14) encontró una mejor regeneración en las zonas donde no se emplearon biomateriales, hallando una regeneración ósea mayor que en el grupo tratado con hidroxiapatita, nosotros encontramos un porcentaje similar de regeneración en el grupo Hidroxiapatita y grupo control, aunque las descripciones histológicas son similares, sin embargo nosotros encontramos un número reducido de partículas de hidroxiapatita por lo cual la regeneración ósea no sufrió retrasos, encontrándose niveles de regeneración similares con el grupo Control.

A las cuatro semanas encontramos que el grupo hidroxiapatita, presentó una regeneración igual que el grupo control aunque se encontraron residuos de material coincidente con los estudios de Najjr TA; et al, 1991, (15) que encontró en estudios realizados en mandíbulas de conejos que a las 4 semanas se formaría hueso alrededor de las partículas de HAP, existirían focos activos de remodelación representados por osteoblastos y osteoclastos y algunas zonas se encontraron reemplazadas por hueso lamelar, al igual que Brandao AC, (14) que encontró una formación ósea en los bordes de los defectos creados experimentalmente, encontrando el centro tejido fibrovascular evidenciándose una cicatrización ósea retrasada aunque ellos determinan que esto sería beneficioso para mantener clínicamente los volúmenes óseos. La discrepancia que encontramos puede deberse al menor número de partículas que encontramos en relación con los otros autores, coincidente con Pagni¹⁵ quienes describieron que las partículas estarían en los espacios correspondientes a las trabéculas óseas, y al ser nuestro estudio en cortical las partículas se encontrarían en cantidades pequeñas, sin interrumpir la Regeneración ósea normal.

Por otro lado los apósitos colágenos mostraron una mejor calidad de regeneración ósea a las tres semanas encontrando un mayor porcentaje de regeneración que con el sitio control siendo similar al estudio de Magro-Ernica N, et al, 2003, (16) quienes encontraron a las tres semanas que existiría hueso trabecular en los tercios medio y apical en las zonas con colágeno microfibrilar. Esto se debe a que como describió Magro16 al colocar el apósito colágeno en los defectos alveolares no se produjo la fase donde se forma tejido de granulación mejorando el tiempo de regeneración ósea,

A las cuatro semanas encontramos que el grupo relleno con apósitos de colágeno presenta una regeneración ósea ligeramente mayor al grupo control con una cantidad ligeramente mayor de osteocitos en sus lagunas a nivel cortical aunque estadísticamente no significativo, siendo similar a lo que mencionaron Magro-Ernica N, (16) que anunció que el grupo control así como el grupo colágeno tendrían regeneraciones similares encontrando trabéculas oseas en toda la extensión del defecto y formación ósea en los tercios apical, medio y crestal. A parecer con en el transcurso del tiempo los valores se equiparan, esto lo describió también Piaggio-Bravo LA; et al, 208, (17) lo que puede deberse a la reabsorción del apósito de colágeno a los 14 días por lo que su efecto duraría ese tiempo clínico.

Al Comparar los tres biomateriales no existe diferencia significativa, los niveles óseos son muy similares con diferencias histológicas muy leves, aunque a las tres semanas la reacción celular es mucho más marcada para el apósito colágeno, que para la HAP y el grupo control, esto se debe a la reabsorción más lenta de la HAP pero a las cuatro semanas las diferencias serían mínimas, aunque esto nos puede indicar que el apósito de colágeno se debería emplear en implantes tipo II (4-8 semanas), aunque no conocemos si nos sirve como un preservador alveolar, no así la Hidroxiapatita que tiene documentación de preservar los espacios alveolares. (14,15,16)

Conclusiones.

No existen diferencias estadísticamente importantes en la regeneración ósea entre la hidroxiapatita, apósitos de colágeno y grupo control por lo cual la hipótesis es nula.

Los apósitos de colágeno producen una regeneración ósea mayor porcentualmente a las tres semanas que el grupo de hidroxiapatita sin ser estadísticamente significativo.

Los apósitos de Colágeno no dejarían residuos de material en ningún periodo del estudio, sin embargo se encontró inflamación leve en uno de los sitios.

La Hidroxiapatita presenta una regeneración igual a las cuatro semanas que el grupo control pero existen residuos de materiales sin producir reacciones de cuerpo extraño lo que concuerda con estudios histológicos similares lo cual sería beneficioso clínicamente porque esto evitaría un colapso del alveolo, ideal en tratamientos Tipo III, Tipo IV.

Los apósitos de colágeno serían útiles en casos donde la colocación de implantes se programa en periodos cortos de tiempo (Tipo II).

Bibliografía.

1. Ramírez-Balderas F, Pérez-Cervantes B, Sánchez-Rosales C, Colín-Cortés E. Causas más frecuentes de extracción dental en la población derechohabiente de una unidad de medicina familiar del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Revista ADM*. 2010 feb; 37(1): p. 21-25.
2. Darby I, Chen S, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009; 24(suppl): p. 260-271.
3. Almer M. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1969 mar; 27(3): p. 309-318.
4. Salgado-Castellanos J, Zea del Río D, González-Miranda J, Velosa-Porras J. Efectividad de las técnicas de preservación alveolar sobre alvéolos postexodoncia comparados con alvéolos sin preservar. *Revisión*

- sistemática de la literatura. *Univ Odontol.* 2014 jul; 33(70): p. 203-2016.
5. Amler M, Johnson P, Salaman L. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. *J Am Dent Assoc.* 1960 jul; 61(1): p. 32-44.
 6. Atwood D, Coy W. Clinical, cephalometric, and densitometric study of reduction of residual ridges. *Journal of Prosthetic Dentistry.* 1971 sep; 26(3): p. 280-295.
 7. Cardaropoli G, Araújo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2003 sep; 30(9): p. 809-818.
 8. Chappuis V, Engel O, Reyes M, Shahim K, Nolte L, Buser D. Ridge alterations post-extraction in the esthetic zone: a 3D analysis with CBCT. *J Dent Res.* 2013 dic; 92(12): p. 95-201.
 9. Knezović-Zlatarić D, Čelebić A, Lazić B. Resorptive Changes of Maxillary and Mandibular Bone Structures in Removable Denture Wearers. *Acta stomatologica Croatica.* 2002; 36(2): p. 261-265.
 10. Goiato M, Bannwart L, Moreno C, Dos Santos D, Martini A, Pereira L. Quality of life and stimulus perception in patients' rehabilitated with complete denture. *J Oral Rehabil.* 2012 jun; 39(6): p. 438-445.
 11. Buser D. *Veinte Años de Regeneracion Osea Guiada en Implantologia Oral.* 2nd ed. Barcelona: Quintessence; 2012.
 12. Cosyn J, Eghbali A, Hermans A, Vervaeke S, De Bruyn H, Cleymaet R. A 5-year prospective study on single immediate implants in the aesthetic zone. *J Clin Periodontol.* 2016 agos; 43(8): p. 702-709.
 13. Adriaens P. *Proceedings of the 3rd European Federation of Periodontology: Implant Dentistry.* Quintessence. 1999.
 14. Brandão A, Brentegani L, Novaes A, Márcio F, Scombatti de Souza S, Taba M, et al. Histomorphometric analysis of rat alveolar wound healing with hydroxyapatite alone or associated to BMPs. *Braz. Dent. J.* 2002; 13(3): p. 147-154.
 15. Najjar T, Lerdrit W, Parsons J. Enhanced osseointegration of hydroxylapatite implant material. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathol.* 1991 feb; 71(1): p. 9-15.
 16. Magro-Érnica N, Magro-Filho O, Rangel-Garcia I. Histologic study of use of microfibrillar collagen hemostat in rat dental sockets. *Braz. Dent. J.* 2003 jun; 14(1): p. 12-15.
 17. Piaggio-Bravo L, Sacsquispe-Contreras S. Comparación histológica de la reparación ósea alveolar post-exodoncia utilizando una membrana colágena tipo esponja y un material de sulfato de calcio. *Rev Estomatol Herdiana.* 2008 dic; 18(2): p. 93-98.