

RECONSTRUCCIÓN DEL MAXILAR POSTERIOR ATRÓFICO CON CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Carles Martí Pagés

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Universitat Internacional de Catalunya

Reconstrucción del maxilar
posterior atrófico
con células madre mesenquimales

Tesis doctoral

Autor: Carles Martí Pagés
Director: Federico Hernández Alfaro
Jaume Llopis Pérez
Noviembre 2008

A Marc, Marta, María y Nunu con quienes
compartimos la vida, las ilusiones, las
alegrías y el esfuerzo del trabajo.

A mis padres por su constante apoyo y
generosidad.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Federico Hernández Alfaro, director de esta tesis, compañero de trabajo y amigo, por los años de trabajo compartidos, por sus múltiples enseñanzas, por su capacidad de convicción y de lucha para convertirnos en mejores profesionales cada día.

Al Dr. Jaume Llopis Pérez, codirector de la tesis, por sus inestimables consejos y ayuda en el tratamiento estadístico de los datos.

A la Dra. M^a Lluïsa Mariñoso Barba por el valioso trabajo hecho con la histomorfometría y por su paciencia en los muchos encuentros realizados para interpretar los resultados.

Al Dr. Eloy García Díez, buen amigo con quién comparto ilusiones y trabajo, por su generosidad y por el soporte que me ha ofrecido.

A Erundina González por todo el trabajo realizado en la paginación de esta tesis.

A los Drs. Eduard Ferrés y Lluís Giner por su constante ánimo y consejos.

A Paco Vidal por darnos la oportunidad de trabajar con las TRCs.

A muchos amigos que de forma desinteresada han participado en la finalización de esta tesis, a Kim por sus ilustraciones, a Assumpta por enviar un e-mail, a Marc por unas palabras dadas en el momento adecuado, a Antonio por unos consejos a orillas del lago Atitlán y a Nunu y a Xavier por realizar el pesado trabajo de las correcciones.

Al personal del instituto de Cirugía Maxilofacial del Centro Médico Teknon, donde se realizó el estudio, a Noelia y a Cristina por todo el trabajo de coordinación, a Rosa; Nieves y Mari por el soporte en las cirugías, y a mis compañeros M^a José, Xavi, Carlos, Jesús, Joan y Tina por la ayuda prestada en muchos momentos.

Por último expresar el agradecimiento a todas aquellas personas que han participado en mi formación como médico y cirujano, al Dr. Enric Caralt de Vic, al Dr. Guillermo Roca, a los Drs. Salvador Martí, Agustí Salavert, Joaquim Anmella y Antoni Alastrue y los compañeros de Can Ruti, a los amigos del Hospital General los Drs. Jesús Tinoco y Francesc Amorós, al Dr. Enric Vidal del Hospital de Santa Coloma y a los Drs. Lluís Tresseras, Emilio González y Xavier Mallat.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO 1:	
Introducción	13
CAPÍTULO 2:	
Objetivos	23
CAPÍTULO 3:	
Estado de la cuestión y revisión de la literatura	27
3.1. Biología ósea	30
3.1.1. Embriología	30
3.1.2. El tejido óseo	31
3.1.3. Dinámica ósea	37

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

3.2. Injertos óseos	42
3.2.1. Autoinjertos. Incorporación y curación de los injertos en bloque	44
3.2.2. Autoinjertos. Incorporación y curación de los injertos de hueso esponjoso	44
3.2.3. Autoinjertos. Incorporación y curación de los injertos en bloque vascularizados	45
3.2.4. Aloinjertos	45
3.2.5. Xenoinjertos	46
3.2.6. Materiales aloplásticos	46
3.2.7. Injertos combinados	47
3.3. Atrofia maxilar superior	48
3.4. Elevación de seno	50
3.5. Ingeniería tisular	52
3.5.1. Definición	52
3.5.2. Células para la ingeniería de tejidos óseos	53
3.5.3. Matrices (armazones)	60
3.5.4. Factores de crecimiento	66
3.5.5. Bioreactores	68
3.5.6. Reconstrucción de maxilar con células madre mesenquimales	70
 CAPÍTULO 4:	
Hipótesis	73
 CAPÍTULO 5:	
Material y Métodos	77
5.1. Diseño del estudio	79
5.1.1. Selección de pacientes	80
5.2. Evaluación de los pacientes	82
5.2.1. Historia clínica	82
5.2.2. Estudio radiológico	82

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

5.3. Obtención y preparación de las células madre mesenquimales	87
5.3.1. Técnica de la obtención de las células madre mesenquimales	87
5.3.2. Aislamiento y expansión de las células madre mesenquimales	89
5.3.3. Unión de las células madre mesenquimales con la matriz	93
5.4. Reconstrucción maxilar. Técnica quirúrgica	94
5.5. Controles postoperatorios	96
5.5.1. Postoperatorio inmediato	96
5.5.2. Postoperatorio tardío	97
5.6. Toma de biopsias y colocación de implantes	97
5.6.1. Impregnación con tetraciclinas	97
5.6.2. Toma de biopsia	98
5.6.3. Instalación de los implantes	99
5.6.4. Medición de la estabilidad mediante análisis de la frecuencia de resonancia (Ostell®)	100
5.6.5. Controles postoperatorios	102
5.7. Histología e histomorfometría	103
5.8. Análisis estadístico	106
CAPÍTULO 6:	
Resultados	109
6.1. Datos demográficos	111
6.2. Datos celulares	113
6.2.1. Recogida de células y expansión	113
6.2.2. Correlación del número de células y formación ósea	116
6.3. Datos quirúrgicos	117
6.4. Datos radiológicos	118

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

6.4.1. Relación altura clínica intraoperatoria con la altura radiológica de la reconstrucción a los 4 meses	121
6.4.2. Volumen de la reconstrucción	122
6.4.3. Densidades de la reconstrucción	124
6.5. Curso postoperatorio	126
6.5.1. Complicaciones y efectos secundarios de la obtención de células de la cresta ilíaca	126
6.5.2. Complicaciones, efectos secundarios de la reconstrucción	126
6.6. Estudio histológico	127
6.6.1. Histología descriptiva	128
6.6.2. Análisis histomorfométrico	132
CAPÍTULO 7: Discusión	151
CAPÍTULO 8: Conclusiones	179
CAPÍTULO 9: Perspectivas de futuro	183
CAPÍTULO 10: Referencias bibliográficas	189
CAPÍTULO 11: Anexos	221

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

CAPÍTULO 1:

INTRODUCCIÓN

Los defectos en la continuidad ósea en todo el organismo que requieren injertos para conseguir la unión ósea son frecuentes, debidos generalmente a defectos postraumáticos y menos frecuentemente a secuelas de cirugía oncológica y patología degenerativa.

En la región maxilofacial los defectos óseos son muy prevalentes como resultado de la enfermedad periodontal¹, de traumatismos, del tratamiento quirúrgico de tumores (Fig.1.1), de malformaciones congénitas y sobretodo de todos aquellos casos de atrofia del reborde alveolar de los maxilares después de perdidas dentales, de defectos por cirugía alveolar, de aquellos casos de atrofia por desuso y de la utilización de prótesis dentales.²⁻³ Generalmente estos defectos en la región maxilofacial se solucionan con la colocación de implantes y prótesis dentales pero en muchas ocasiones la perdida ósea es tan importante que imposibilita la correcta rehabilitación protésica, siendo estos casos los que deberán ser reconstruidos previamente a la instalación de los implantes y a la rehabilitación dental.

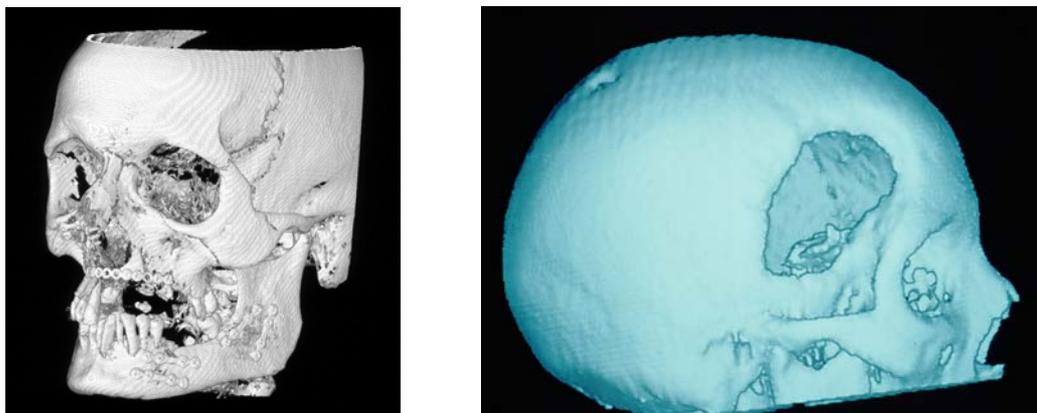


Fig.1.1. Los defectos de la región craneo-maxilo-facial son muy variados. En la primera imagen se observa la pérdida de la hemimaxila izquierda y de las piezas dentarias debido a un accidente por explosión de un mecanismo pirotécnico. En la otra imagen, el defecto frontal es secundario a complicaciones postquirúrgicas de un Astrocitoma. Ambos casos precisaron de reconstrucciones complejas para restaurar la función y la estética.

La utilización de los injertos óseos es el “gold standard” de la reconstrucción de estos defectos en la región maxilofacial⁴, pudiendo emplear también otras técnicas como la regeneración ósea guiada, la distracción osteogénica⁵⁻⁶⁻⁷ y la reconstrucción mediante colgajos óseos microvascularizados antes de realizar la colocación de implantes dentales en los casos de atrofia de los maxilares.

La regeneración ósea guiada ha sido bien documentada en defectos limitados del reborde alveolar, especialmente en defectos periodontales.⁸ Recientemente la aplicación de los principios de la regeneración ósea guiada se utiliza conjuntamente con los injertos en bloque para defectos de mayor volumen consiguiendo limitar en gran medida la reabsorción fisiológica de los injertos.⁹ (Fig. 1.2)

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

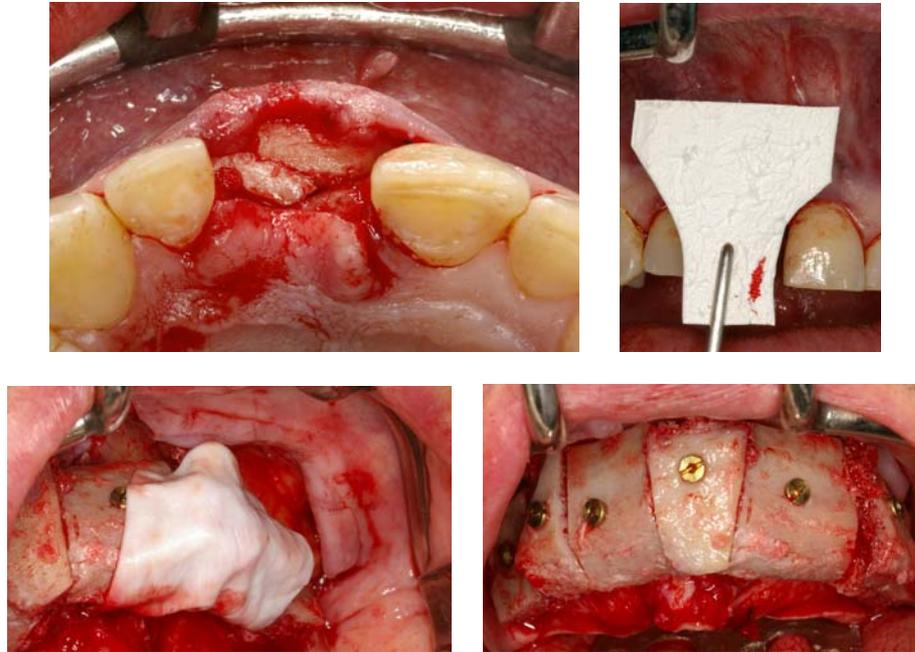


Fig. 1.2. La aplicación conjunta de una membrana sobre los injertos óseos en bloque disminuye el porcentaje de reabsorción del injerto y se consigue una integración y un remodelado más uniforme. Puede ser aplicado sobre pequeñas o grandes reconstrucciones.

La distracción osteogénica, técnica basada en la elongación progresiva de los fragmentos óseos¹⁰, tiene algunas ventajas en relación al injerto de hueso autólogo: no precisa de un segundo campo operatorio de toma de injerto, se produce un alargamiento simultáneo de los tejidos blandos de los alrededores, como la piel, la mucosa, los músculos, los vasos sanguíneos, los nervios y es posible la inserción precoz de los implantes dentales (a partir de las 10-12 semanas de haber finalizado la distracción). Sin embargo, las desventajas incluyen la necesidad de un distractor apropiado, el coste elevado del distractor, peligro de infección y la dificultad del control de los segmentos durante la distracción.¹¹⁻¹²⁻¹³ (Fig. 1.3)

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales



Fig. 1.3: En esta caso el defecto vertical de la premaxila se reconstruyó con la distracción progresiva del fragmento osteotomizado (1mm al día) hasta conseguir el aumento planeado sin distorsión de las partes blandas.

Los colgajos óseos microvascularizados están especialmente indicados en aquellos casos en los que el defecto a reconstruir sea muy grande, haya problemas de cobertura de tejidos blandos, haya problemas de vascularización o en aquellos casos en los que sea prioritario recuperar rápidamente la función. Se utilizan generalmente en la reconstrucción de la cirugía oncológica (Fig.1.4) y más raramente por causas traumáticas o preprotésicas y tienen el inconveniente de la gran dificultad técnica del procedimiento, de la duración de la intervención, del potencial de las complicaciones y de la morbilidad de la zona donante¹⁴⁻¹⁵.



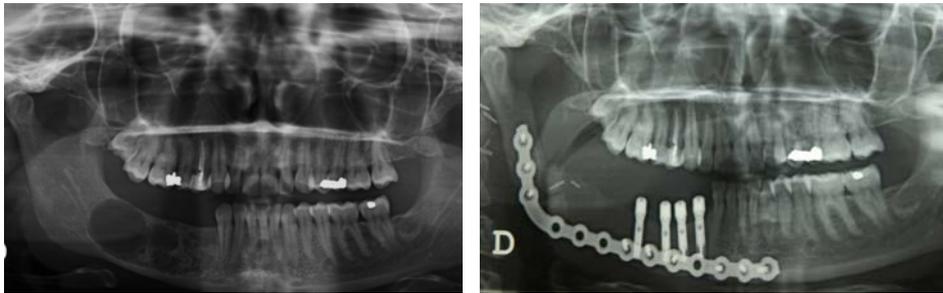


Fig. 1.4: Caso de Ameloblastoma recidivado que afectaba prácticamente toda la rama horizontal derecha de la mandíbula hasta el ángulo mandibular. La resección implicó una mandibulectomía desde la región parasinfisaria hasta la rama ascendente y apófisis coronoides. Se realizó una reconstrucción primaria con un injerto microvascularizado de cresta ilíaca anterior, lo que permitió una reconstrucción estética excelente y la instalación de los implantes para restaurar precozmente la función.

La reconstrucción de defectos maxilares y rebordes alveolares atróficos con injertos óseos en aposición fue el primer procedimiento utilizado, existiendo actualmente una amplia documentación en término de número de casos tratados y del seguimiento de los implantes colocados en las áreas reconstruidas.^{16,17,18} El hueso autólogo es considerado el mejor material para todos los tipos de reconstrucción ósea (Fig. 1-5) puesto que tiene unas óptimas propiedades osteogénicas, osteoinductivas y osteoconductoras y es inmunológicamente seguro. Sin embargo la utilización del hueso autólogo tiene algunas desventajas, como la necesidad de realizar un segundo campo operatorio, la morbilidad de la zona donante, la reabsorción no predecible, la dificultad en el manejo de la cobertura de los tejidos blandos y el volumen limitado de hueso disponible.^{19,20}

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

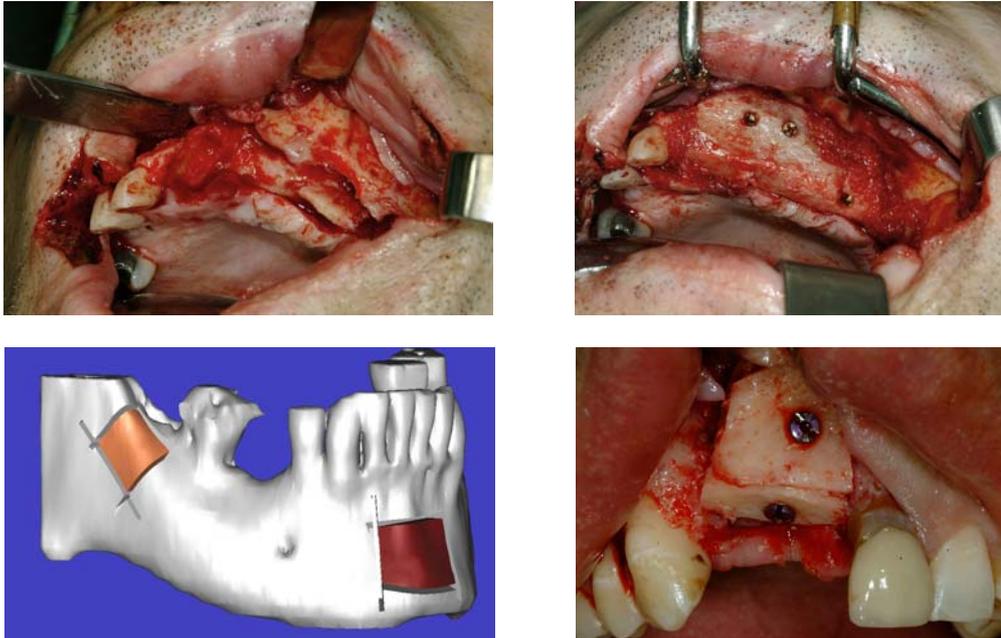


Fig. 1.5: En la primera imagen la reconstrucción del defecto de la hemimaxila del paciente de la Fig. 1.1 se realizó con un gran injerto corticoesponjoso que fue obtenido de la cresta ilíaca. Defectos más limitados del reborde alveolar pueden ser reconstruidos con injertos intraorales simplificando el procedimiento, como está reconstrucción de un defecto vertical y transversal de la premaxila.

Para evitar las principales desventajas de la utilización de autoinjertos se ha investigado y se han utilizado una amplia variedad de materiales: los aloinjertos, que mantienen las propiedades osteoinductoras y osteoconductoras, y los xenoinjertos y materiales aloplásticos que sólo mantienen las propiedades osteoconductoras. (Fig.1.6)

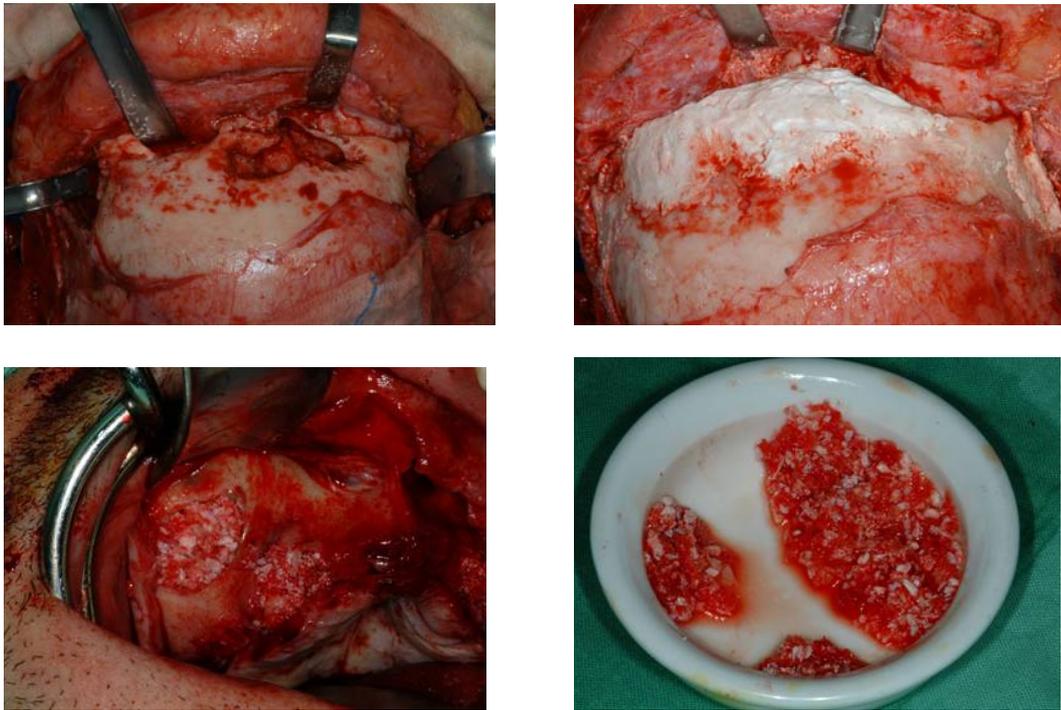


Fig. 1.6: En la primera figura se observa un defecto frontal postraumático que se reconstruyó mediante una craneoplastia modelando un β -trifosfato cálcico consiguiendo un buen resultado, estable con los años. En la otra imagen se aprecia la reconstrucción de los defectos alveolares del maxilar y de la atrofia posterior con una elevación sinusal con una mezcla de hueso autólogo y de un xenoinjerto (hidroxiapatita bovina), técnica que goza de amplia experiencia y efectividad.

Hasta la fecha, los biomateriales no han podido mejorar al hueso autólogo en relación a la osteogénesis, al no poder aportar dosis elevadas de células progenitoras a la zona reconstruida. Este es el problema que la ingeniería tisular trata de resolver.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

El término de ingeniería tisular fue definido por R. Langer y J.P. Vacanti como el proceso que realiza la morfogénesis de nuevos tejidos formados a partir de células aisladas, polímeros biocompatibles y factores de crecimiento, y nos permite moldear el tejido de acuerdo con las necesidades biológicas de cada paciente.²¹

El estudio que proponemos esta en el ámbito de la ingeniería tisular puesto que trata de conjugar los fundamentos de la regeneración ósea mediante la utilización de células madre mesenquimales adultas a altas dosis sobre una matriz osteoconductora para mejorar el tratamiento de maxilares posteriores atróficos.

El interés de este estudio está en que, hasta la fecha, es el primer ensayo clínico realizado en humanos en los que se contrastan los resultados clínicos, radiológicos e histomorfométricos, en el que cada paciente es, mediante un procedimiento de boca partida, estudio y control al mismo tiempo.

Tratamos casos de atrofia posterior de maxilar superior bilateral mediante la técnica de elevación sinusal, realizando la reconstrucción con células madre mesenquimales expandidas en un seno y en el contralateral practicamos la reconstrucción con un xenoinjerto, Bio-Oss® (BO), material muy contrastado en la literatura por su gran efectividad.²²

La evaluación de la efectividad del tratamiento se realizará a partir del estudio del metabolismo óseo de las zonas reconstruidas, confrontándolo con los datos obtenidos del mismo individuo de zonas no reconstruidas en los que el metabolismo óseo es normal.

CAPÍTULO 2:

OBJETIVOS

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Objetivo general:

Evaluar la regeneración ósea mediante ingeniería tisular en humanos.

— Objetivos específicos:

Estudiar la unión de células madre mesenquimales con biomateriales osteoconductores, y su actividad celular regeneradora de hueso mediante técnicas de histomorfometría.

Valorar la relación entre la cantidad de células madre y la formación de hueso.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Analizar los resultados radiológicos de la reconstrucción de la atrofia posterior del maxilar superior con métodos de ingeniería tisular con células madre.

Valorar la seguridad del tratamiento y analizar la evolución y complicaciones postoperatorias de los pacientes.

Estudiar la morbilidad de la zona dadora en la obtención del material celular.

CAPÍTULO 3:

**ESTADO DE LA CUESTIÓN Y
REVISIÓN DE LA LITERATURA**

El hueso es un tipo de tejido conectivo, dinámico y muy vascularizado, con capacidad única de curar completamente y remodelarse sin dejar cicatriz, por regeneración celular y por la producción de una matriz mineral en vez de por depósito de colágeno.²³

Los injertos óseos pueden regenerar el tejido óseo siendo, por este motivo, el material de primera elección en la reconstrucción de defectos de hueso que, en la región maxilofacial, son muy frecuentes. Esta alta prevalencia de los defectos maxilares junto con la morbilidad de la zona dadora en la obtención de los injertos y el tener un volumen limitado de hueso para transplantar en el organismo, hace que diversos biomateriales se hayan propuesto para sustituir al hueso autólogo.²⁴⁻²⁵⁻²⁶

En situaciones de edentulismo en los sectores posteriores del maxilar superior se produce una atrofia ósea severa, frecuentemente bilateral, que imposibilita la

rehabilitación con implantes si no se trata con técnicas de regeneración. En este contexto aparecen con fuerza las diversas estrategias de la ingeniería tisular como un método ideal para sustituir el tejido óseo al aportar los elementos necesarios para activar los mecanismos de la regeneración ósea.

Este capítulo se ha organizado en secciones que revisan los distintos puntos de interés del estudio. Inicialmente se realiza un análisis básico del metabolismo óseo para poder comprender aquellos fenómenos que acontecen en el proceso de regeneración ósea. A continuación los distintos tipos de injertos, así como su proceso de integración. Estos dos apartados son revisiones básicas de temas bien establecidos, para ello, se han utilizado unos pocos textos de referencia como material.

También se han abordado dos temas muy conocidos, puesto son el objetivo del tratamiento de los pacientes del estudio, como son la atrofia del maxilar posterior y su tratamiento mediante la elevación sinusal. La literatura sobre estos dos temas es muy extensa. Se ha resumido de forma importante el texto de estos apartados, para dar paso a una revisión más exhaustiva del tema que es objetivo del trabajo, la ingeniería tisular.

3.1. Biología ósea

3.1.1. Embriología

Los huesos del cráneo, los huesos faciales, los maxilares y la clavícula son de origen intramembranoso, que derivan de células mesenquimales que migraron de la cresta neural adyacente a la notocorda. Estos huesos se desarrollan,

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

crecen y se curan por osificación directa del mesénquima. En contraste, el resto de huesos del organismo son de origen endocondral, realizando la osificación a partir de la osificación de cartílago preformado.

El maxilar y la mandíbula derivan del primer arco braquial. Estos arcos están constituidos por cartílago, el cartílago palatopterigoc cuadrado en el maxilar²⁷ y el cartílago de Meckle en la mandíbula, pero este cartílago no se transforma por si mismo en hueso sino que sirve de matriz sobre el cual el mesénquima de la cresta neural se transforma en hueso. Estos cartílagos desaparecen antes del nacimiento. A los huesos de un mismo origen embriológico se les atribuye un comportamiento biológico similar, que es importante considerar en la cirugía de injertos, en base a una evidencia clínica que no ha podido ser demostrada de una forma objetiva.²⁸⁻²⁹

También se cree que la BMP-4 tiene un rol muy importante en la orientación de la migración de la cresta neural y en la morfogénesis ósea, mientras que la BMP-2 tiene un papel más importante en la ventralización de la creta neural hacia los maxilares y la aleja de los huesos del cráneo, pero tiene un papel escaso en el desarrollo óseo²⁷. Por este motivo se especula que la BMP-4 recombinante es la mejor BMP para ser utilizada en la reconstrucción de los huesos maxilares y faciales³⁰ aunque este aspecto no se ha podido demostrar desde un punto de vista clínico ni experimental.³¹

3.1.2. El tejido óseo

El hueso esta constituido por una matriz extracelular que esta mineralizada en su mayor parte, con un componente inorgánico y otro orgánico, y por células, principalmente las células madre hematopoyéticas, las células madre no

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

hematopoyéticas (mesenquimales), y tres tipos de células óseas diferenciadas, los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos.

La principal función del hueso es proveer el soporte estructural al organismo, así soporta la carga, posibilita la acción mecánica de la musculatura para que se realice el movimiento, protege los órganos internos y alberga la medula ósea hematopoyética. El esqueleto también tiene una importante función metabólica, sirve como reservorio mineral de calcio, fósforo y otros iones, es capaz de movilizar rápidamente los depósitos minerales en caso de demanda metabólica³².

El tejido óseo del esqueleto adulto está organizado estructuralmente de dos formas: el hueso trabecular o esponjoso que corresponde al 20% del esqueleto y el hueso cortical o compacto que corresponde al 80% del esqueleto. La proporción de estas dos formas estructurales varía según las diferentes localizaciones del esqueleto.

El hueso cortical es casi completamente sólido siendo sólo en un 10% poroso, y puede dividirse en varios subgrupos: huesos largos, huesos cortos y huesos planos. En el interior del hueso compacto existen unos finos canales longitudinales (canales de Havers) y transversales (canales de Volkmann) que transportan los nervios y los vasos que posibilitan su nutrición. El hueso compacto es adecuado para resistir la flexión, la torsión y el cizallamiento.

El hueso trabecular presenta una alta porosidad, entre un 50-90%. El hueso trabecular está dispuesto en forma de esponja, con un entramado de tabiques en forma de panal de abejas, que se orientan en líneas paralelas a las líneas de

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

fuerza que son las trabéculas. Este hueso es adecuado para resistir las fuerzas de compresión y tensión.³³

La formación, el mantenimiento y reabsorción de este tejido resulta de la interacción de los tres tipos celulares con la matriz ósea. Cada uno de ellos, los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos, tiene su función y todos son imprescindibles para el mantenimiento de un tejido óseo sano.

a. Células óseas:

Los osteoblastos, forman parte del linaje osteoblástico, que son los preosteoblastos, los osteoblastos y los osteocitos. Los preosteoblastos derivan de las células madre mesenquimales (unidad formadora de colonias de fibroblastos –CFU-F-) y constituyen el compartimiento proliferativo del linaje osteoblástico. Son células de aspecto fibroblástico, cercanas a la superficie ósea, pero separadas de ella por células del endostio y por osteoblastos. Con su evolución formaran osteoblastos, consideradas éstas, células de diferenciación terminal.

Los osteoblastos son células mononucleares de forma cuboidea, citoplasma basófilo, ricas en una isoenzima de la fosfatasa alcalina, polarizadas y localizadas con sus precursores en la superficie ósea, donde forman grupos compactos de una sola capa de espesor. Su función es la síntesis y regulación del hueso mediante la formación, depósito y mineralización de la matriz extracelular.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Los osteoblastos pasan por tres estadios funcionales: el de proliferación celular y síntesis de los componentes orgánicos de la matriz ósea, el de maduración de la matriz ósea, y el de depósito de mineral.

Los osteoblastos pueden quedar en la superficie o quedar rodeados por la matriz que han formado, llamándose entonces osteocitos. Las células que han quedado en la superficie cuando han terminado su función se aplanan y se convierten en células de revestimiento, las *lining cells*, que tienen un papel importante en la remodelación ósea al producir interleuquinas.

Los osteocitos son células de forma estrellada, con menos organelas que los osteoblastos. Estas células están en contacto entre sí y con las células de la superficie mediante prolongaciones tubulares de su citoplasma que recorren la matriz ósea en forma de estrella. Los espacios donde se localizan los osteocitos se llaman lagunas osteocitarias y los espacios por donde transcurren las prolongaciones se llaman conductos calcóforos. Las prolongaciones se unen entre ellas a través de unas uniones tipo *gap*, que permiten comunicaciones químicas y eléctricas.

Los osteocitos son las células mecanosensoras del hueso necesarias para mantener las propiedades biomecánicas puesto que detectan el estrés mecánico y las lesiones de la matriz y modulan los procesos de remodelado enviando señales a las células de revestimiento.

Los osteoclastos son células multinucleadas, de citoplasma acidófilo, ricas en anhidrasa carbónica y en fosfatasa ácida. Se disponen sobre la superficie ósea en forma aislada o formando pequeños grupos, de forma polarizada. Derivan de

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

las células madre hematopoyéticas a partir de las células formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos (CFU-GM)³⁴.

La CFU-GM al ser estimulada por interleuquinas (IL-1, IL-6, IL-11) dará lugar a los preosteoclastos. Los preosteoclastos son células mononucleadas que al estimularlas, por las caderinas, se unen entre si formando los osteoclastos. La adhesión de los preosteoclastos a la matriz ósea tiene lugar en aquellos puntos en donde queda expuesta porque se han separado las células de revestimiento. Esta adhesión a la matriz es posible porque son células que expresan en la membrana moléculas de la familia de las integrinas. La zona de actuación del osteoclasto se llama dominio osteoclástico y es mayor que la célula, puesto que ésta tiene un movimiento oscilante. Su función es la reabsorción ósea y por tanto la remodelación ósea. Primero solubilizan el mineral y después digieren la matriz orgánica. Cuando se ha terminado el proceso de reabsorción los osteoclastos mueren por apoptosis^{33- 35}.

b. Matriz ósea:

La mayoría de las propiedades más relevantes del hueso son debidas a la constitución de su matriz que presenta depósitos de mineral en un 99%. La matriz que no esta mineralizada es aproximadamente menos del 1% y se llama osteoide. La matriz que no esta mineralizada es aproximadamente menos del 1% y se llama osteoide.

La matriz ósea tiene dos componentes que están combinados:

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

- Una parte inorgánica o mineral: constituida por fosfato cálcico en forma de cristales de hidroxiapatita la cual contribuye en un 65-70% a la matriz.

- Una parte orgánica: que comprende el 25-30% restante de la matriz ósea²³. Ésta compuesta en un 85-90% por colágeno tipo I y en un 10-15% por otras proteínas: glicoproteínas, proteoglicanos, sialoproteínas, proteínas óseas “gla” y factores de crecimiento³³, que tienen diversas funciones:
 - Colágeno I: provee el almacén para la estructura esquelética. Permite la calcificación de la matriz
 - Byglican Decorin: es un proteoglicano. Estimula el crecimiento de las fibras de colágeno en diámetro. Está envuelto en los procesos de mineralización de la matriz.
 - Osteonectina: es una glicoproteína. Une el ion calcio con el colágeno y nuclea la hidroxiapatita.
 - Trombospondina: es una glicoproteína. Une el calcio, la hidroxiapatita, la osteonectina y otras proteínas celulares de superficie. Es un mediador de la adhesión celular.
 - Fibronectina: favorece la unión de los osteoblastos al sustrato.
 - Osteopontina: es una sialoproteína. Es un componente de la línea del cemento.
 - Sialoproteína ósea: es un componente de la línea de cemento. Une dos áreas de formación ósea diferentes.
 - Osteocalcina: es una proteína esquelética “gla”. Marcador tardío del fenotipo osteogénico. Esta implicado en el remodelado óseo y en el control de la mineralización a través de su inhibición.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

- Proteínas morfogenéticas, citoquinas y factores de crecimiento : diversas proteínas morfogenéticas (BMPs), factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento transformante beta (TGFB), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento insulínico I y II (IGF I - II), el factor de necrosis tumoral (TNF), citoquinas como las IL-1, IL-6, IL- 11 se liberaran de la matriz ejerciendo un papel regulador muy importante en los ciclos de remodelado^{35_36_37_38}.

La matriz es la responsable de las propiedades biomecánicas del hueso. Las fibras colágenas le dan flexibilidad y resistencia a la tensión mientras que las sales minerales le dan dureza, rigidez y resistencia a la compresión.³³

3.1.3. Dinámica ósea

A pesar de estar formado mayoritariamente por matriz extracelular, la dinámica del hueso solo puede ser explicada mediante la interacción de las células óseas con el hueso preexistente, siendo el hueso uno de los sistemas más dinámicos del organismo, presentando fenómenos de crecimiento, modelado, remodelado y de reparación.

— Crecimiento óseo:

Se inicia en la vida embrionaria y sigue hasta la pubertad. Esta condicionado por unos factores genéticos e influenciado por unos factores sistémicos y locales. El

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

crecimiento en longitud se realiza a partir de de la adición de hueso en la placa de crecimiento fisaria. El crecimiento en anchura se realiza a partir de la aposición de hueso de forma concéntrica subperióstica.

— Modelado óseo:

Permite mantener la forma ósea durante el crecimiento a partir de fenómenos de reabsorción ósea en la parte externa y de formación en la parte interna.

— - Remodelado óseo:

En el adulto cerca del 8% del hueso es renovado anualmente. El remodelado óseo se realiza a partir de la acción sucesiva de los osteoblastos y osteoclastos sobre una misma superficie ósea³³. El hueso es habitualmente inhibido de su reabsorción gracias a la osteoprotegerina, una proteína liberada por los osteoblastos, que regula la reabsorción al ser una señal inhibitoria para los osteoclastos.³⁹ Como los osteoblastos maduran y se transforman en osteocitos pierden la habilidad para producir osteoprotegerina y el hueso se vuelve vulnerable a la reabsorción osteoclástica normal. Así, el hueso que se reabsorbe es el hueso viejo, el hueso lesionado y el hueso muerto.³⁰

Cada ciclo de remodelado tiene tres fases: reabsorción, reposo y formación.³³

En la fase de reabsorción un grupo de osteoclastos se diferencian de sus precursores circulantes en respuesta a señales de la hormona paratiroidea y a la ligandina activadora del receptor nuclear kappa-b (RANKL), que es una ligandina

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

segregada localmente por los osteoblastos³⁰, y erosionan una superficie ósea, formando imágenes en sacabocados llamadas lagunas de Howship.⁴⁰ Una vez han terminado la reabsorción los osteoclastos son eliminados por apoptosis.

La fase de reposo o de inversión es una fase de inactividad.

En la fase de formación un grupo de osteoblastos se diferencia de sus precursores, en respuesta a la BMP y a la IGF 1-2, segregadas durante el proceso de reabsorción de la matriz³⁰, y rellena la cavidad creada por los osteoclastos de nuevo hueso formado. Los osteoblastos depositan inicialmente la matriz no mineralizada, que forma una capa de unas 10 µm de espesor llamado ribete de osteoide. Entre el ribete de osteoide y su mineralización existe un tiempo de demora de unos 10-12 días (mineral lag time)⁴⁰.

Durante este tiempo la matriz sufre cambios que la hace apta para el depósito de mineral (maduración de la matriz). La mineralización se inicia entre la superficie de osteoide y el hueso mineralizado ya existente y avanza hacia la superficie a lo largo de un plano de barrido de 2-3 µ de espesor. Este plano, integrado por mineral amorfo, se llama frente de mineralización. A medida que este frente se desplaza va dejando tras de sí la matriz ósea mineralizada en forma de cristales de hidroxapatita. Una vez terminado el depósito de hueso mineralizado, los osteoblastos que no se han convertido en osteocitos, se aplanan y forman parte del endosito en forma de células de revestimiento (*lining cells*)⁴⁰.

El conjunto de osteoblastos y osteoclastos que actúan de forma coordinada en una superficie ósea por unidad de tiempo en un ciclo de remodelado recibe el nombre de “unidad multicelular básica” (BMU). Las BMU se activan de forma

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

asincrónica, de forma que los ciclos de remodelado se encuentran en distintas fases. El nuevo segmento de hueso formado a partir de cada BMU se llama “unidad estructural ósea” (BSU). En la remodelación de un hueso compacto, los osteoclastos labran, a partir del interior de los canales de Havers y de Volkmann, unos túneles de sección circular. Así, las BSU corticales tienen forma circular y se llaman osteonas. En la remodelación del hueso esponjoso, los osteoclastos excavan en la superficie de las trabéculas unas depresiones planas, anchas y poco profundas, llamadas paquetes trabeculares. Se llama recambio óseo (*bone turnover*) al volumen total de hueso que se renueva por unidad de tiempo durante el remodelado. El recambio óseo es proporcional al número de BMU activas. La diferencia entre el volumen de hueso formado y el hueso reabsorbido por unidad de tiempo se llama balance óseo. El balance óseo puede ser igual a 0, cuando la masa ósea no varía, ser positivo o ser negativo⁴⁰.

El remodelado está sometido a unos mecanismos de control, que pueden ser sistémicos o locales. Los mecanismos de acción sistémicos regulan el ritmo de activación de las BMU y son la hormona paratiroidea (PTH) y la vitamina D como las más importantes, y también las hormonas tiroideas, las hormonas sexuales, los glucocorticoides, la hormona de crecimiento y la insulina³³. El factor sistémico que de forma más potente produce la diferenciación de las células del linaje osteoblástico es la PTH, estimulando la producción de factor de crecimiento relacionado con la insulina tipo I (IGF-I).⁴¹

El mecanismo de control local se lleva a cabo a través de los factores de crecimiento y citoquinas de acción autocrina y paracrina. Éstos son: IGF 1-2, TGF- β , factores de crecimiento fibroblástico (FGF) y PDGF entre los factores de crecimiento, y entre las citoquinas las IL-1, IL-6, IL-11, TNF y factores estimulantes de las colonias. Estos factores locales son producidos por las células óseas y por las células medulares adyacentes (hematopoyéticas,

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

linfocitos y macrófagos)³³. Los factores locales intervienen en la activación local de las BMU y son claves para el acoplamiento entre osteoblastos y osteoclastos. Las células de linaje osteoblástico, son capaces a partir de la producción de factores locales como la IL-6 y la IL-11, la osteoprotegerina, y la RANKL activar a los osteoclastos y contribuir así al inicio del ciclo de remodelado³⁰. También ciertos factores liberados por los osteoclastos o por la matriz bajo la acción de los osteoclastos, como la BMP y la IGF 1 y 2, son capaces de activar a los osteoblastos³⁸. De esta manera se consigue la regulación entre la reabsorción y la formación en los ciclos de remodelado³⁰.

— Reparación ósea:

El tejido óseo es el único capaz de repararse de forma completa generando nuevo tejido óseo y no tejido fibroso cicatricial, a través de activar los procesos que tienen lugar en la embriogénesis.

En un foco de fractura primero aparece un hematoma y se desencadena una respuesta inflamatoria atrayendo macrófagos y monocitos que liberan FGF y VEGF en el lecho de la fractura así como plaquetas que tienen la doble función de formar el hematoma y de liberar factores de crecimiento (PDGF, TGF, VEGF) iniciando la cascada de curación de la fractura. Durante los primeros días la baja tensión de oxígeno y el bajo pH favorece la acción de limpieza de los neutrófilos polimorfonucleares en el desbridamiento y eliminación de los detritus celulares de la fractura y la acción inicial de los macrófagos.

Entre el tercer y quinto día se inicia la revascularización con la formación de nuevos vasos, el aporte de células y colágeno en el foco de fractura. La unión

del colágeno con los factores de crecimiento favorece la interacción celular y la diferenciación condroblástica y osteoblástica de las células indiferenciadas del endostio y del periostio sobre la matriz provisional de colágeno, formando un fibrocartílago que estabiliza los fragmentos de la fractura. Es el callo fibrocartilaginoso de la fase de urgencia. A continuación se inicia la revascularización que posibilita el despliegue de una trama colágena sobre el fibrocartílago blando pero que ya proporciona cierta estabilidad y posibilita la formación de hueso nuevo entre la red capilar, a partir de células osteoblásticas de ambos lados de los bordes de la fractura. Estas células forman puentes óseos de tejido inmaduro, sin ninguna orientación espacial, que unen ambos lados de la fractura (callo de fractura). Después los osteoclastos, en labor de reabsorción, abren vía a los retoños vasculares que atraviesan el foco. Los osteoblastos siguen esta vía conformando las nuevas osteonas en las que irán quedando incluidos los osteocitos (fase de normalización). A medida que va mineralizándose este nuevo hueso adquiere solidez (fase de solidificación). La remodelación del callo que protagoniza el osteoclasto, ya se realiza desde las fases más iniciales pero tiene su expresión plástica a lo largo de los meses que siguen a la solidificación, sustituyendo el nuevo hueso formado por otro de tipo laminar orientado según las líneas de fuerza que actúan en la zona.⁴²

3.2. Injertos óseos

Los injertos óseos de cualquier tipo sólo pueden regenerar hueso a través de tres mecanismos posibles: osteogénesis directa, osteoconducción y osteoinducción⁴. Los injertos pueden desarrollar hueso a partir de uno, de dos o a partir de los tres mecanismos a la vez.

— Osteogénesis:

Es la formación de osteoide a partir de osteoblastos. En los niños se produce la “osteogénesis espontánea” que es la formación de osteoide a partir de los osteoblastos del endostio y del periostio del hueso adyacente y permite el crecimiento del niño. En la “osteogénesis transplantada” de los injertos los osteoblastos del endostio supervivientes de la médula ósea o derivados de las células madre son las fuentes del nuevo hueso formado³⁰.

— Osteoconducción:

Es la formación de nuevo hueso a partir del hueso adyacente o del periostio a través de una matriz o andamio que actúa como una guía para el crecimiento óseo. En este caso la matriz debe unirse a moléculas que promueven la adhesión celular como la fibrina, fibronectina y vitronectina o bien ser de colágeno³⁰.

— Osteoinducción:

Es la formación de nuevo hueso a partir de la estimulación y transformación bioquímica de las células madre en células productoras de hueso. La BMP es el factor osteoinductor más reconocido.³⁰

3.2.1. Autoinjertos. Incorporación y curación de los injertos en bloque

Los mecanismos de incorporación de los injertos en bloque son universales independientemente del origen del injerto. Los factores más importantes para el éxito y la cantidad de injerto incorporado son la cantidad de médula ósea del injerto, la vascularización del lecho óseo y la estabilidad del injerto⁴.

Los osteocitos no son viables en los injertos en bloque, al lesionarse su delicada vascularización a través de los canaliculos.⁴³ La formación de nuevo hueso se produce a partir de los escasos osteoblastos y de la diferenciación de las células indiferenciadas del hueso medular, de la osteoinducción por la liberación de BMP y de IGF 1-2 por parte de la matriz que se reabsorbe y de la osteoconducción a partir de armazón óseo del injerto, siendo estos dos últimos mecanismos los que predominan en los injertos en bloque³⁰.

3.2.2. Autoinjertos. Incorporación y curación de los injertos de hueso esponjoso

El injerto esponjoso tiene mayor cantidad de células, osteoblastos del endostio y células madre, pero mantiene el mismo mecanismo de incorporación. Se inicia con la supervivencia de las células osteocompetentes durante los primeros días gracias al oxígeno del lecho y a la circulación plasmática, que por difusión le aporta nutrientes hasta que el crecimiento capilar inicia la revascularización. Durante la primera semana, las plaquetas regulan la regeneración al liberar factores de crecimiento, que son quimotácticos, mitogénicos y angiogénicos. Al tercer día los capilares penetran en el injerto y las células osteocompetentes

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

inician la proliferación. Al séptimo día los macrófagos sustituyen a las plaquetas hasta la completa revascularización, que se produce entre los 14 y 21 días. Entonces el oxígeno y los nutrientes aportados por los vasos sanguíneos permiten formar osteoide a los osteoblastos. Este proceso, que se inicia a la segunda semana, se prolonga durante 6-8 semanas. Con la revascularización también llegan los osteoclastos y se inicia la reabsorción de la matriz con la liberación de BMP y de IGF 1-2, comenzando la maduración del injerto. A partir de la 8ª semana se inicia la reabsorción y la nueva aposición de hueso remodelado consiguiendo, un hueso más maduro y mineralizado.³⁰

3.2.3. Autoinjertos. Incorporación y curación de los injertos en bloque vascularizados

El colgajo pediculado, es el injerto que mantiene el aporte vascular mediante su pedículo natural. Si se obtiene la vascularización de un pedículo a distancia que se anastomosa a vasos regionales, será un colgajo libre microvascularizado. La incorporación de los colgajos óseos se realiza del mismo modo que en la reparación de una fractura.

3.2.4. Aloinjertos

Los aloinjertos o homoinjertos son injertos que se toman de otro individuo de la misma especie⁴⁴. Están disponibles en forma de hueso liofilizado, de hueso liofilizado y desmineralizado, y de hueso desproteinizado y por tanto libre de capacidad antigénica. La ventaja de casi todas las formas de preparación es que

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

durante el proceso se destruyen la mayor parte de las partículas capaces de actuar como antígenos, disminuyendo de esa manera la capacidad de provocar respuesta inmune por parte del injerto⁴⁵.

Los injertos alogénicos desmineralizados actúan bien como osteoconductores y además tienen poder osteoinductor por su contenido en BMP.^{46_47_48_49}

3.2.5. Xenoinjertos

Los xenoinjertos, son injertos procedentes de especies genéticamente diversas, como por ejemplo el hueso bovino. El potencial antigénico de estos injertos es mucho mayor que el de los aloinjertos ya que la matriz orgánica es antigenicamente muy diferente de la de la especie humana⁴⁵. Por ello el proceso de preparación para ser utilizados como injertos incluye la desproteización y desorganificación para eliminar todo el potencial antigénico. El producto final son matrices minerales reabsorbibles que actúan como elementos exclusivamente osteoconductores cuyo contenido principal es la hidroxiapatita (HA)⁴⁹⁻⁵⁰.

3.2.6. Materiales aloplásticos

Consisten en materiales sintéticos inertes usados comúnmente en cirugía reconstructiva. Uno de los objetivos de este tipo de materiales, es rellenar defectos y cavidades de manera que el hueso circundante se pueda adherir a la superficie exterior del injerto, infiltrar el mismo a través de sus poros, y en algunos casos, reabsorber el material antes de producir la formación de hueso

por mecanismos exclusivamente osteoconductores. Algunos de estos materiales como la hidroxiapatita sintética, el fosfato cálcico, el trifosfato cálcico (β -TCP) o polímeros reabsorbibles, como los vidrios bioactivos, los ionómeros de vidrio, y el óxido de aluminio, se consideran bioactivos por que gracias a sus propiedades osteoconductoras promueven el crecimiento de hueso a partir del lecho circundante. Idealmente estos materiales usados en cirugía reconstructiva son bioinertes pues no provocan respuesta fibrosa en los tejidos periféricos.^{49_51_52_}

53

3.2.7. Injertos combinados

La combinación de injertos ha demostrado su utilidad en la reconstrucción maxilofacial. Generalmente se combina el hueso autólogo con un aloinjerto, un xenoinjerto o bien con materiales aloplásticos. La ventaja de esta estrategia es conseguir la expansión volumétrica del injerto, sobre todo en aquellos casos en los que el autoinjerto es limitado. La combinación también disminuye la reabsorción del injerto de hueso autólogo manteniendo un mayor volumen de hueso injertado. La efectividad de combinar aloinjertos desmineralizados con autoinjertos está basada en el principio biológico de que las sustancias osteoinductivas proporcionadas por el aloinjerto, como la proteína morfogenética, actúan como estímulo potente sobre las células osteoprogenitoras del autoinjerto y de las células del lecho circundante obteniendo una respuesta sinérgica que puede producir más formación de hueso que cuando ambos materiales se usan individualmente.^{54_55_56_57_58}

3.3. Atrofia maxilar superior

Después de una extracción dental el hueso alveolar reacciona remodelando su estructura, con pérdida de hueso en su superficie externa y aposición ósea en las cavidades alveolares. Este proceso de atrofia por desuso generalmente queda limitado al contorneado de la superficie alveolar. A largo plazo, se pueden provocar pérdidas óseas que pueden afectar a todo el complejo de hueso alveolar y basal si se asocian unos factores de reabsorción que pueden ser mecánicos (la utilización de prótesis dentales), anatómicos (la calidad y cantidad de hueso previo) y biológicos (sexo femenino, dieta y enfermedades sistémicas).⁵⁹

Los cambios reabsortivos generales que se producen en crestas edéntulas siguen los siguientes estadios:

- a. Tras la pérdida dentaria se comienza con una cresta en principio suficientemente ancha como para acomodar la pieza que se acaba de perder.
- b. A continuación, dicha cresta se afila sin perder inicialmente altura.
- c. Posteriormente se aplana hasta el nivel de hueso basal.
- d. Finalmente, el hueso basal se reabsorbe hasta quedar una cresta cóncava.

Estos cuatro estadios han dado lugar a varias clasificaciones de los patrones de atrofia de los maxilares como los de Atwood (1963)⁶⁰, Lehholm y Zarb (1985)⁶¹ Mish y Judy (1987)⁶² y la de Cawood y Howell (1988).⁶³

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Los patrones y ritmo de reabsorción de la cresta alveolar maxilar son diferentes que los de mandíbula. La especificidad de las estructuras anatómicas afectadas justifica estas diferencias. La más importante de todas ellas es el paladar, que proporciona una gran extensión de soporte para las prótesis removibles y una distribución más equilibrada de las fuerzas compresivas. Como consecuencia, la cresta se reabsorbe de manera menos extensa y más pausada que en la mandíbula. El patrón de reabsorción habitual del maxilar es la reabsorción de la cara vestibular e inferior del reborde alveolar, desplazando el maxilar en una dirección superior y posterior.⁶⁴

Con la pérdida progresiva de hueso, las estructuras anatómicas de la cresta alveolar se van alterando. Frecuentemente en el sector anterior encontramos crestas muy estrechas con fusión de las corticales interna y externa. La altura de hueso alveolar disponible en la zona anterior del maxilar es generalmente mayor que en la zona posterior, pero puede reabsorberse hasta llegar al nivel de la espina nasal anterior. Además del continuo proceso de remodelado del alveolo maxilar, de la mala calidad de hueso tipo 4, muy esponjoso, sin resistencia a la compresión de la parte posterior, también existe un potencial importante de pérdida ósea del hueso basal, que es dependiente de la expansión gradual de los senos maxilares debido a la actividad osteoclástica de la membrana sinusal y del aumento de la presión intrasinusal durante la espiración. La fina membrana mucosa ciliada que recubre el seno está separada del periostio por una fina y casi imperceptible lámina propia. Esta relación tan íntima a este nivel entre mucosa y periostio parece aumentar la sensibilidad de este último a cambios discretos de presión intrasinusal. La presión intrasinusal positiva durante la espiración puede provocar el impulso para la expansión gradual del seno mediante la inducción de la actividad osteoclástica en la capa perióstica de la membrana sinusal. El resultado es una atrofia del reborde alveolar muy severa

que deberá ser reconstruida, mediante la técnica de elevación sinusal en muchas ocasiones, para poder realizar la instalación de los implantes.⁶⁵

3.4. Elevación de seno

Después de la pérdida de dientes en el maxilar posterior, el reborde alveolar disminuye por atrofia ósea y la osteointegración de los implantes en estos pacientes, con el seno maxilar neumatizado, es difícil de que se produzca.^{66- 67- 68}

Injertar en el suelo del seno maxilar es un método para conseguir la altura de hueso suficiente para la inserción posterior de implantes y está comprobada como una técnica altamente exitosa y predecible para solucionar este problema⁶⁹⁻⁷⁰⁻⁷¹ con una alta supervivencia de los implantes (90% de los 3 a 5 años).^{72- 73- 74} El procedimiento de “sinus lift” con injerto óseo fue descrito por Tatum en 1975 y publicado por primera vez por Boyne y James en 1980.⁷⁵

La técnica de elevación sinusal suele realizarse como procedimiento ambulatorio. Aunque existen numerosas descripciones de la técnica de elevación sinusal, los pasos más relevantes son:

1. Elevación de colgajo mucoperióstico suficientemente amplio.
2. Diseño de la osteotomía en forma de ventana con fresas o bisturí piezoeléctrico.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

3. Elevación cuidadosa de la membrana sinusal con curetas especiales de diversas angulaciones. En caso de rotura de la membrana el injerto particulado puede comunicarse con facilidad con el seno y será convenientemente reparado.⁷⁶
4. Instalación del injerto.
5. Instalación de las fijaciones cuando empleemos un injerto rígido, o en los casos de relleno mediante material particulado cuando exista una altura de hueso basal suficiente como para asegurar la estabilidad primaria de las fijaciones.
6. Reposición de la pared ósea o bien una membrana en la pared anterior de la ventana.
7. Sutura del colgajo.

Se han utilizado muchos materiales de relleno desde la descripción de la técnica en 1980. Inicialmente el hueso autólogo fue el material de elección para todas las reconstrucciones, pero muchos otros tipos de materiales se han utilizado con efectividad en la elevación sinusal (aloinjertos, xenoinjertos, materiales aloplásticos y combinaciones de materiales) sin que ningún material haya sido probado como el más efectivo^{58_69_77_78_79}.

Los implantes pueden diferirse o instalarse en el mismo momento de la elevación sinusal si se consigue una buena estabilidad primaria, con un alto porcentaje de éxito en la supervivencia de los mismos.⁸⁰

Aunque la elevación sinusal esta considerada un procedimiento relativamente invasivo, tiene una incidencia relativamente baja de complicaciones intra y

postoperatorias. La complicación más frecuente es la perforación de la membrana de Schneider que ocurre entre un 7% y un 35% de todos los procedimientos de elevación sinusal y puede comportar la contaminación e infección del injerto^{72_73_74_76_81}.

3.5. Ingeniería tisular

3.5.1. Definición

Es un proceso que realiza la morfogénesis de nuevos tejidos formados a partir de células aisladas, polímeros biocompatibles y factores de crecimiento²¹ y permite moldear el tejido de acuerdo con las necesidades biológicas de cada paciente. Es un campo multidisciplinario de investigación que aplica los principios de la ingeniería y de las ciencias de la vida hacia el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función tisular. Los investigadores intentan conseguir este objetivo a partir de la unificación de conocimientos en química, física, biología, ingeniería y de la medicina.

Para la formación de nuevo hueso se necesitan células, matriz extracelular, comunicaciones intercelulares, interacciones células-matriz, y factores de crecimiento, todo ello depositado sobre una estructura tridimensional que permita a las células migrar, proliferar, diferenciarse y depositar la matriz ósea para formar hueso de una forma tridimensional^{35_82}. A estas estructuras las llamaremos armazones, moldes o matrices.

3.5.2. Células para la ingeniería de tejidos óseos

La fuente celular es el primer paso que nos planteamos en el desarrollo de la ingeniería de tejidos óseos. Una fuente ideal debería ser fácilmente aislable y expandible, ser no-inmunogénica, no-tumorigénica, tener un potencial osteogénico predecible, poder controlar la proliferación celular y tener un patrón de expresión proteica similar a los tejidos que van a ser regenerados para poder controlar su adecuada integración.⁸²

Podemos utilizar varios tipos de fuentes, células diferenciadas o células indiferenciadas, pero estas deben ser fácilmente expandibles puesto que en la ingeniería tisular se necesita la utilización de gran cantidad de células.⁸³ Entre ellas podemos utilizar los osteoblastos y las células madre, principalmente las células madre adultas.

— Osteoblastos:

La primera y la elección más obvia debido a su no inmunogenicidad es el aislamiento de osteoblastos de biopsias tomadas del paciente (células autólogas), seguidos por expansiones *in vitro*. Esta metodología tiene varias limitaciones: la expansión requiere mucho tiempo, pocas células están disponibles después de la disociación del tejido y la tasa de expansión es relativamente baja, limitándose así, el número de células disponibles que serán implantadas en las matrices³⁵.

— Células madre:

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Las células madre son células indiferenciadas que son capaces de autorenovarse y dividirse indefinidamente, con la potencialidad de comprometerse y diferenciarse a diversas líneas celulares si reciben los estímulos adecuados, pudiendo así regenerar tejidos.⁸⁴⁻⁸⁵

Las células madre tienen varios grados de diferenciación potencial. Las más primitivas derivan del cigoto (oocito fertilizado) de las dos primeras divisiones, son células totipotenciales puesto que son capaces de formar el embrión y el trofoblasto de la placenta. Alrededor del 5º día, estas células se empiezan a especializar formando el blastocito. Específicamente las células madre embrionarias derivan de la Masa de Células Interna (ICM) del blastocito. Estas células pueden autorreplicarse y son consideradas células madre pluripotenciales. Pueden diferenciarse en todas las células que deriven de las tres capas embrionarias, el endodermo, el mesodermo y el ectodermo, pero no pueden formar un embrión puesto, que no podrán formar la placenta y los tejidos de soporte. Finalmente las células madre multipotentes y unipotentes, conocidas como las células madre adultas, son células indiferenciadas que están en los tejidos plenamente diferenciados, que son capaces de autorenovarse durante toda la vida del organismo y diferenciarse a todas las células de la linaje embrionario del tejido donde se ha extraído (multipotentes) o bien a un solo grupo celular de la que son progenitoras (unipotentes).⁸⁶

Teóricamente, y contrariamente a las células madre embrionarias, éstas sólo serían capaces de producir una limitada variedad de progenitores diferenciados, relacionados con el origen embrionario de los tejidos de donde han sido extraídos. Sin embargo, estas células pueden tener un alto grado de diferenciación plástica, que se define como la diferenciación hacia otras líneas celulares que no estén relacionadas con el origen embrionario del tejido en el cual se han encontrado, dando lugar a diferentes fenotipos celulares³⁵⁻⁸⁵.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Los mecanismos biológicos del amplio potencial de desarrollo de las células madre no son totalmente conocidos. Se pone el énfasis en el entorno en el cual las células madre se depositan, el “nicho celular”⁸⁷. El nicho es aquella situación de entorno tisular y de matriz extracelular que favorece la existencia de las células madre en un estado indiferenciado. Este microambiente está regulado por unos condicionantes físico-químicos y una red de señales, paracrinas y autocrinas, que permite este estado indiferenciado y favorece la autorenovación celular. Determinados estímulos y la interacción con otros tipos celulares y con los componentes de la matriz extracelular se cree que influyen en la diferenciación de las células madre hacia los linajes encomendados.⁸⁷

— Células madre embrionarias:

Como ya se ha comentado, las células madre embrionarias se obtienen de las ICM de los blastocitos. Fueron aisladas y cultivadas del ratón en 1981 por Evans.⁸⁸ Más tarde comprobaron que podían dar lugar a cualquier tipo de célula somática, incluidas las líneas germinales.⁸⁹

En 1998 Thomson aisló células madre de la ICM de un blastocito humano y desarrollo las primeras líneas embrionarias de células madre.⁹⁰

Las células madre indiferenciadas se caracterizan por 2 propiedades únicas: su casi ilimitada capacidad de autorenovarse y de diferenciarse a células precursoras de las tres líneas embrionarias, siendo así pluripotentes. Otras propiedades son la clonogenicidad, la capacidad de producir células germinales, la alta actividad de la fosfatasa alcalina, la expresión de antígenos embrionarios específicos de estadiaje, como el SSEA-1, la expresión del factor

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

de transcripción de las líneas germinales Oct-4 (que es el que mantiene a las células madre en estado proliferativo indiferenciado), una alta actividad de la telomerasa, y la regulación de la autorregulación de las células madre por la citoquinas de la familia de la IL-6.⁹¹

El potencial de diferenciación se ha publicado por varios autores, diferenciándolas hacia miocardiocitos, células hematopoyéticas, células endoteliales, neuronas, condrocitos, adipocitos, hepatocitos, e islotes ^{35_92} También se ha publicado la diferenciación de células madre hacia osteoblastos con la presencia de dexametasona.⁹³

Sin embargo aunque las células madre tienen un gran potencial en la ingeniería de tejidos tiene importantes inconvenientes. Se necesitan métodos que permitan la diferenciación directa de las células madre embrionarias, su diferenciación selectiva e integración, así como la función específica de las células generadas después de su trasplante. También es necesario asegurar que las células somáticas derivadas de las células madre embrionarias no son tumorigénicas. Debe tenerse en cuenta la incompatibilidad inmunológica entre las células generadas por células madre embrionarias y el donante⁸³. Por último, deben tenerse en cuenta los condicionantes éticos y sociales en la utilización de células madre embrionarias para la medicina regenerativa.⁹⁴

— Células Madre Adultas:

Las células madre adultas se encuentran en los tejidos plenamente diferenciados del adulto. Hasta ahora se han encontrado células madre adultas en la mayoría de los tejidos estudiados, en la sangre, el hueso, el periostio, el

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

músculo, la grasa, en el cerebro, en la piel, en la pulpa, el periodonto y en el hueso alveolar⁸⁶⁻⁹⁵⁻⁹⁶.

La médula ósea es una fuente importante y clásica de células madre, encontrándose dos tipos diferentes de células madre, las células madre hematopoyéticas, que dan lugar a células de linaje hematopoyético, ampliamente estudiadas y utilizadas para los tratamientos de enfermedades hematológicas y las células madre mesenquimales (MSCs), que tienen mucho interés en el campo de la ingeniería tisular ósea puesto que son células multipotenciales con capacidad de diferenciarse a todos los tejidos del linaje mesodérmico, y por lo tanto también al hueso.

La idea que la médula ósea contenía algún tipo de precursores osteogénicos se inició en 1963 cuando Petrakova y colaboradores mostraron que implantando trozos de médula ósea bajo la cápsula renal era posible obtener tejido óseo. Después de esto Friedenstein publicó una serie de estudios *in vivo* que revelaron la existencia de células madre osteogénicas en la médula ósea. Para comprender mejor la naturaleza y origen de estas células desarrollaron un método para aislar células, que eran parecidas a los fibroblastos (*fibroblast-like cells*), de la médula ósea, basado en su capacidad de adherirse a los cultivos tisulares plásticos.⁹⁷ Más tarde acuñaron el término de unidades formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F) para describir estas células que eran fibroblásticas, no fagocíticas y clonogénicas en su naturaleza.⁹⁸

Casi 20 años más tarde, Caplan dio a estas células el nombre por las que se las conocen hoy en día, *Mesenchymal Stem Cell* (MSCs).⁹⁹

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Se creía que las células madre adultas estaban comprometidas y restringidas a diferenciarse hacia el linaje celular en donde se encuentra la célula. En 1994, Caplan describió que estas células, cuando son colocadas en medios de cultivo adecuados, pueden diferenciarse hacia células de origen mesenquimal y transformarse en hueso, cartílago, grasa, músculo, piel, tendón y otros tejidos de origen mesenquimal, a través de un proceso que le llamó *Messenger process*.¹⁰⁰

Sin embargo se ha visto que su plasticidad aún es más alta de la esperada pudiendo obtener diferentes tipos celulares, bien a través del fenómeno de la transdiferenciación, en la que una célula adecuadamente estimulada cambia de linaje, habiéndose descrito el cambio de células neurales a precursores de células hematopoyéticas, a músculo, que células de la dermis se han transdiferenciado a tejido nervioso, músculo, grasa y otros, o por fenómeno de la diferenciación cruzada en la que las células madre adultas de una determinada línea embrionaria pueden diferenciarse hacia tejidos de otras líneas germinales.

35_101_102_103_104

Además de este potencial de diferenciación, las MSCs presentaron otras propiedades importantes. Pueden ser expandidas *in vitro*, a pesar de realizar varios pases de cultivos no se diferencian espontáneamente, también se ha sugerido que estas células poseen efectos inmunosupresores y que pueden ser útiles para el trasplante alogénico o xenogénico.³⁵

Compartiendo las mismas características generales que las MSCs de la médula ósea, podemos obtener MSCs del tejido adiposo. Estas han pasado a denominarse células madre del tejido adiposo (ASC) por tener algunas características diferenciales que hacen que tengan un gran interés en la

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

ingeniería de tejidos. Se encuentran en mayor número que en la médula ósea, entre 50.000 – 300.000 ASC por ml de aspirado¹⁰⁵⁻¹⁰⁶ o 2% de las células mononucleares, pueden expandirse en condiciones estándares de cultivo y tienen un potencial de crecimiento 7 veces más rápido que las de la médula ósea.¹⁰⁷

Para diferenciar las MSCs de otras células de la medula ósea o de otros tejidos mesenquimales y caracterizarlas se han aislado diversos marcadores de superficie. Sin embargo muchos investigadores en sus trabajos sobre MSCs han utilizado multitud de marcadores y de criterios para definir estas células. Con el propósito de universalizar y estandarizar los criterios para definir las MSCs el “Mesenchymal and Tissue Stem Cell Comité of the internacional Society for Celular Therapy” propuso en 2006 unos criterios mínimos para definir las MSCs humanas:

1. Primero propusieron que las MSCs deberían ser células mononucleares adherentes al plástico cuando sean mantenidas en condiciones de cultivo estándares.
2. Segundo, que expresen unos antígenos de superficie determinados, el CD105, el CD 73 y el CD90 en un 95%, y que no expresen (< 2%) los antígenos CD45, CD34, CD14, CD19 y HLA clase II.
3. El tercer criterio es que tengan una capacidad de diferenciación multipotencial, a osteoblastos, a adipocitos y a condroblastos, bajo condiciones estándares de diferenciación¹⁰²⁻¹⁰⁸.

Aunque las MSCs poseen muchas ventajas en sus usos para la ingeniería de tejidos, tienen también algunos inconvenientes. Por ejemplo, el porcentaje de

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

MSCs de la médula ósea es muy bajo (1 en cada 100.000 células mononucleares)¹⁰⁰. Este hecho hace que estas células deban ser expandidas para su utilización en la ingeniería de tejidos óseos. Las MSCs tienen una capacidad diferente según la edad, disminuyendo su potencial con la edad. Finalmente, el conocimiento de los mecanismos y vías que dirigen hacia una diferenciación osteogénica final son aún escasos.¹⁰⁹

En general podemos afirmar que en este momento las MSCs presentan muchas más ventajas para la ingeniería tisular ósea que las células madre embrionarias, con un recorrido realizado más importante y con unos resultados más ventajosos.

3.5.3. Matrices (armazones)

Cualquier tejido consiste en un matriz de varios tipos celulares. La matriz es en vivo, un almacén tridimensional para células y las provee de un ambiente estructural específico. Además sirve de reservorio para agua, nutrientes, citoquinas y factores de crecimiento. Así, con el objetivo de restaurar la función y de regenerar tejidos, se necesita un molde, un almacén, que actúe como una matriz temporal para la proliferación celular y para el depósito de la matriz extracelular, con el consecuente crecimiento intraóseo, hasta que el nuevo hueso sea totalmente restaurado o regenerado.¹¹⁰ Además, deberían actuar como guías para la vascularización del nuevo tejido²¹⁻³⁵⁻¹¹⁰. Así vemos que un almacén 3-D es esencial en la estrategia de la ingeniería de tejidos. Sin embargo es importante que éste tenga una serie de propiedades que lo hagan apto para los objetivos de la ingeniería tisular. Además de escoger el material adecuado, las propiedades bioquímicas, fisicoquímicas y geométricas del material son de

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

mucha importancia. Estas propiedades afectarán no sólo a la supervivencia, a la inducción, al crecimiento y a la reorganización celular sino también a la expresión genética y a la preservación del fenotipo.¹¹¹

— Propiedades esenciales de las matrices:

Las siguientes propiedades han sido definidas como esenciales⁸²⁻¹¹⁰⁻¹¹.

a. Biocompatibilidad:

Las matrices deberían ser integradas en el tejido receptor sin provocar ninguna respuesta inmune y no producir toxicidad.

b. Biodegradabilidad:

La velocidad de la degradación del armazón debe ser ajustada a la velocidad de crecimiento del nuevo tejido, de manera que en el momento que la lesión esté completamente reparada, el armazón esté totalmente reabsorbido⁸².

c. Propiedades mecánicas:

In vitro, los armazones deberían tener la suficiente fuerza mecánica para soportar presiones hidrostáticas y mantener los espacios necesarios para el crecimiento celular y para la producción de matriz. *In vivo*, debido a que el hueso está siempre bajo un estrés continuo, las propiedades mecánicas de la

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

estructura implantada deberían coincidir con las del hueso nativo, de manera que una movilización precoz de la zona lesionada sea posible¹¹⁰⁻¹¹¹. Sin embargo hay autores que opinan que las propiedades mecánicas son secundarias puesto que el objetivo del armazón es soportar el crecimiento óseo y no el de proveer soporte a la carga mecánica. Cuando ésta sea necesaria se pueden obtener a partir de los dispositivos ortopédicos apropiados⁸².

d. Osteoconducción:

La osteoconducción es el proceso mediante el cual las células osteogénicas migran hacia la superficie del armazón a través del coágulo de fibrina, que se ha formado justo después de la implantación del material.¹¹² Dependerá de forma importante de las propiedades del material y de su porosidad.

e. Propiedades de la superficie del material:

Las propiedades químicas, el tamaño, la forma, y la rugosidad de la superficie pueden controlar la adhesión y proliferación celular.¹¹³⁻¹¹⁴

Las propiedades químicas están en relación a la habilidad de las células de adherirse al material. Las propiedades topográficas son importantes cuando el objetivo principal es la osteoconducción.

La migración de estas células osteogénicas a través del coagulo causará la retracción temporal de la matriz de fibrina. Así, es de vital importancia que la matriz de fibrina esté muy asegurada en el armazón, si no, al producirse la

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

contracción de la fibrina, ésta se desprendería del armazón. De esta manera, superficies más rugosas retendrán mejor a la matriz de fibrina que superficies más lisas facilitando la migración de las células osteogénicas a la superficie del material.¹¹⁵

f. Porosidad:

Los armazones deben tener un poro abierto, geoméricamente interconectado en una estructura altamente porosa con una amplia superficie que permita el crecimiento celular interno y una distribución celular correcta a través de la estructura porosa, que facilite la neovascularización de la estructura creada a partir del tejido circundante.

Además deben tener la microporosidad adecuada para permitir el crecimiento interno de los capilares. Porosidad e interconectividad son también importantes para la difusión de nutrientes y gases y para la eliminación de los desechos metabólicos de las células que crecen en la armazón. También el grado de porosidad afecta a otras propiedades como la estabilidad mecánica. Así, la elección de la matriz deberá valorarse en relación a todas estas características y a las necesidades mecánicas del tejido que debe ser sustituido³⁵

g. Tamaño del poro

El tamaño del poro es muy importante, puesto que si los poros son demasiados pequeños se pueden obstruir por las células impidiendo el crecimiento de las mismas hacia el interior del armazón, impidiendo el crecimiento correcto de la

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

matriz extracelular y bloqueando la neovascularización hacia el interior del armazón. El tamaño adecuado del poro debe ser entre 200 y 900 μ .¹¹⁶

Otras propiedades secundarias a tener en cuenta son que sea radiolúcido para que permita la identificación del nuevo hueso del biomaterial; que sea fácil de manufacturar y de esterilizar con la creación de moldes personalizados del defecto a reconstruir, que actualmente se realizan con facilidad gracias a los sistemas CAD-CAM,¹¹⁷ y finalmente, que sea fácil de manipular en quirófano sobre todo para limitar el riesgo de la infección.

Tipos de biomateriales utilizados como armazones óseos:

La selección del material más apropiado para producir un armazón para la ingeniería ósea es un paso muy importante hacia la construcción de un producto de ingeniería tisular, puesto que sus propiedades determinarán, en gran manera las propiedades del armazón³⁵.

Hasta este momento se han utilizado varios materiales como metales, cerámicas y polímeros de origen natural o artificial. Sin embargo, la mayoría de metales y muchas cerámicas no son biodegradables, lo que reduce el campo de estudio de forma importante a un número pequeño de cerámicas y a los polímeros biodegradables.

Las cerámicas pueden ser de origen natural (HA coralina o bovina) o sintético (β -TCP) Debido a sus propiedades interesantes, principalmente debido a que son osteoconductoras, se ha utilizado mayoritariamente para la ingeniería tisular ósea⁸². Se ha demostrado que con la utilización de cerámicas solas o con hueso

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

autólogo se obtienen buenos resultados a nivel de la regeneración ósea⁵⁸⁻⁶⁹⁻⁷⁷⁻⁷⁸⁻⁷⁹.

Sin embargo estos materiales tienen algunos inconvenientes, son frágiles, tienen una estabilidad mecánica baja y su capacidad de reabsorberse totalmente es difícil de prever.

Una alternativa es la utilización de polímeros reabsorbibles, que posiblemente en un futuro serán el material ideal para la ingeniería ósea. Actualmente los polímeros son los más utilizados en la ingeniería biomédica para la regeneración de tejidos conectivos blandos.¹¹⁸ Éstos pueden ser naturales o sintéticos. Los polímeros naturales biodegradables son los obtenidos de fuentes naturales (animales o vegetales) entre los que se encuentran el colágeno, el fibrinógeno, el quitosán, el almidón, el ácido hialurónico y el poly (hidroxibutirato). Las principales ventajas de estos materiales son su baja inmunogenicidad, el potencial comportamiento bioactivo con la capacidad de interactuar con el tejido huésped, la versatilidad química y porque en algunos casos su fuente es casi ilimitada como en el quitosán y el almidón.

Los polímeros sintéticos biodegradables son los más comúnmente utilizados en el campo de la ingeniería biomédica. Su versatilidad química y su procesabilidad varían de acuerdo con su estructura y naturaleza, de esta manera no se pueden establecer comparaciones directas con los polímeros naturales. Los más utilizados son los poly (α-hidroxi ácidos), como el ácido poliláctico y el ácido poliglicólico,¹¹⁹ el poly (ε-caprolactone)¹²⁰ y los poly (fumaratos de polipropileno).¹²¹

3.5.4. Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son citoquinas segregadas por células que funcionan como señales moleculares. La unión del factor de crecimiento con su receptor emite la señal intracelular que inicia diferentes acciones como la estimulación o inhibición de la adhesión celular, la proliferación, la migración y diferenciación mediante la regulación de la síntesis de proteínas, factores de crecimiento y de receptores.

Estas moléculas son esenciales para la formación de tejidos y tienen un papel importante en la ingeniería tisular.

El hueso tiene una gran cantidad de factores de crecimiento. Los más importantes, con alguna aplicación en la ingeniería tisular, son: las BMPs, el TGF β , el FGFs, el VEGF, el IGF I y II y el PDGF.¹²²

Las BMPs son proteínas con gran capacidad osteoinductiva que fueron descritas por M. R. Urist.¹²³ Están agrupadas en la superfamilia de las TGF- β por su similitud en la estructura proteica. Las BMPs están generalmente atrapadas en la matriz ósea, y también se expresan en las fases tempranas de la curación de las fracturas. Hay muchas BMPs descritas, pero las más osteoinductivas son las BMP 2, 4, 6 y 7, y pueden intervenir en la regulación de otros factores de crecimiento y, a su vez, éstos pueden regular la BMP. Su papel consiste en reclutar MSCs hacia la zona de curación y diferenciarlas hacia el linaje osteogénico.¹²⁴

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Actualmente, las BMPs recombinantes se han utilizado en estudios preclínicos y clínicos con buenos resultados, aunque su evaluación es difícil puesto que las dosis varían en gran cantidad haciendo difícil establecer la dosis adecuada para su utilización en humanos, debiendo utilizar dosis más altas que las utilizadas en los estudios preclínicos³⁷.

Las acciones de la TGF-b1 y TGF-b2 son diversas, pero son las menos específicas de la familia de las TGF-b. Son mitogénicas y angiogénicas, estimulan la producción de la matriz y estimulan la diferenciación hacia hueso o cartílago.¹²⁵

Los IGF tienen acciones similares sobre el metabolismo óseo, aunque el IGF I es más potente que el IGF II. Se encuentra en el callo de fractura y se sabe que estimula la síntesis de colágeno tipo I y aumenta los porcentajes de aposición de la matriz. Mantiene la integridad del colágeno en el microambiente óseo disminuyendo la síntesis de colágeno o disminuyendo la expresión de la colagenasa intersticial por los osteoblastos³⁵.

El VEGF es un factor angiogénico potente que se expresa en una amplia variedad de tejidos altamente vascularizados.¹²⁶ Se encuentra habitualmente en los focos de fractura y en la placa de crecimiento y regula la vascularización a través del reclutamiento de las células endoteliales con receptores de membrana específicos para la VEGF hacia el lugar de la cicatrización.¹²⁷ También juega un importante papel en la regulación de la interacción entre la osteogénesis y angiogénesis.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Los FGFs, principalmente el FGF-2, son otras citoquinas implicadas en el proceso de remodelado óseo. Se cree que están implicadas en la regulación del mantenimiento del delicado equilibrio entre los osteoblastos y los osteoclastos. También estimulan el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos¹²².

El PDGF también tiene un papel en el proceso de regeneración ósea y en la curación de las heridas. Es producido por osteoblastos, plaquetas y monocitos/macrófagos. Es mitogénico y estimula de forma importante la quimiotaxis, induciendo la división celular en aquellas células con receptores específicos. Mejora la curación de las heridas al estimular la migración de MSCs a la herida,¹²⁸ la regeneración ósea al aumentar la población de osteoblastos, aumenta la vascularización al estimular la proliferación de las células endoteliales y la regeneración del tejido conectivo replicando y estimulando a los fibroblastos¹²⁵.

Recientemente se ha sintetizado el PDGF recombinante (rh-PDGF). Ha demostrado su efectividad en estudios preclínicos y clínicos en la regeneración de defectos óseos periodontales.¹²⁹

3.5.5. Bioreactores

La ingeniería tisular precisa de gran cantidad de células para poder regenerar los tejidos⁸³. Podemos obtener células madre de varios tejidos, en una cantidad escasa, 0,001% de células mononucleares en médula ósea y un 2% en tejido adiposo, por lo que éstas deberán ser expandidas si queremos que el procedimiento sea efectivo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Los medios de cultivo tradicionales permiten sólo el crecimiento de un pequeño número de células. Son cultivos en una estructura bidimensional, son engorrosos de realizar, lentos y laboriosos.¹³⁰ En estos cultivos bidimensionales, en los que la relación tridimensional normal de la matriz extracelular con las células está distorsionada, se puede alterar el comportamiento celular. Los métodos de cultivos tradicionales requieren el empleo de profesionales altamente especializados para controlar los cultivos de forma rutinaria y precisa.

El análisis de las interacciones celulares en medios tridimensionales nos permite acercarnos más a las condiciones que ocurren en el organismo en vivo¹³¹ y es lo que se intenta reproducir en los bioreactores.

Los bioreactores son aparatos en los que las condiciones operacionales y ambientales pueden ser monitorizadas y controladas para permitir o inducir los procesos biológicos o bioquímicos deseados.¹³² Se han utilizado para la expansión celular,¹³³⁻¹³⁴ para la generación de tejidos tridimensionales a partir de células aisladas y matrices *in vitro*¹³⁵⁻¹³⁶ y para recrear las condiciones mecánicas de los tejidos en desarrollo.¹³⁷

Se ha desarrollado tecnología para obtener suficiente número de células madre indiferenciadas funcionantes. Ésta incluye un bioprocesamiento de un solo paso (*single pass bioprocess*) que permite la perfusión del medio y la monitorización directa de la viabilidad celular y de la producción de metabolitos. También evita la agregación de las células madre y permite la purificación de tipos celulares específicos con la perfusión del medio de forma controlada por el bioreactor. Hay varios tipos de bioreactores, pero en general aportan un sistema de cultivo

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

dinámico, con un medio controlado que permite la expansión de las poblaciones celulares.¹³⁸

La expansión de las células madre hematopoyéticas y sus progenitoras es más efectiva en bioreactores de agitación (*stirred*) o en cultivos suspendidos.¹³⁹ Por el contrario, las células madre mesenquimales se cultivan generalmente en bioreactores de perfusión porque consiguen una distribución más uniforme y la expansión se produce sin la pérdida del potencial de diferenciación multilinaje. Los bioreactores de perfusión permiten que las células empapen una matriz tridimensional.¹⁴⁰⁻¹⁴¹

Mirando al futuro la aportación de los bioreactores automatizados es fundamental para el desarrollo de la terapia celular. La ausencia de manipulación humana aumenta la fiabilidad y asegura la reproducibilidad de los procesos de cultivo celular. Los procedimientos de bioprocesamiento pueden aportar células en un número clínico relevante, con una estandarización biológica completa.¹⁴² La tecnología de los bioreactores permitiría crear auténticas factorías celulares capaces de elaborar cultivos a gran escala.

3.5.6. Reconstrucción de maxilar con células madre mesenquimales

Hasta la fecha se han publicado escasos artículos de la aplicación de la ingeniería tisular ósea en la reconstrucción de los maxilares en humanos. El primer caso, fue publicado por R. Schmelzeisen y R. Schimming en el 2003, en que realizaron la elevación sinusal en dos pacientes y la reconstruyeron con polímeros reabsorbibles embebidos de células osteoblásticas obtenidas de cultivo de periostio mandibular.¹⁴³ Un año más tarde, publicaron su experiencia

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

sobre 27 pacientes en los que realizaron elevaciones sinusales. En casi un 30% de los casos no obtuvieron una regeneración ósea correcta.¹⁴⁴ En 2007, C. Zizelmann, de la misma Universidad de Freiburg, confirmó estos resultados sobre un grupo de 20 pacientes en los que realizó la reconstrucción de maxilar posterior con la misma técnica de cultivo, en los que no detectó tejido óseo en un 50% de los casos.¹⁴⁵

F.P. Strietzel en 2005 publicó un caso de una reconstrucción transversal de mandíbula a partir de cultivos de periostio con polímeros reabsorbibles como matriz, mostrando la formación de hueso con un estudio histológico a los 6 meses.¹⁴⁶

El grupo de M. Ueda, de la Universidad de Nagoya en Japón, realizó varios estudios en animales antes de aplicar su técnica en humanos. Utiliza en sus aplicaciones lo que él denomina hueso inyectable, que es la mezcla del cultivo de células madre mesenquimales con plasma rico en plaquetas polimerizadas con cloruro cálcico y con trombina, de forma que la matriz es la propia malla de fibrina. En 2005 publicó la reconstrucción en 6 pacientes realizando injertos de recubrimiento y elevaciones sinusales.¹⁴⁷ En 2006 realizó la reconstrucción de una fisura alveolar con hueso inyectable soportado con técnica de regeneración ósea guiada.¹⁴⁸ El mismo año publicaron la misma técnica para mejorar los resultados de una osteodistracción vertical de un colgajo de peroné en mandíbula para la colocación de implantes.¹⁴⁹ En 2008 presentó 14 pacientes en los que realizó 6 elevaciones sinusales y 8 injertos onlay con la misma técnica.¹⁵⁰

C. Beaumont en 2008, publicó los resultados de la misma técnica de la Universidad de Freiburg sobre 3 pacientes en los que realizó elevaciones sinusales bilaterales.¹⁵¹

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Y.S. Shayesteh presentó en Agosto del 2008 a 6 pacientes en los que realizó elevaciones sinusales bilaterales y los reconstruyó con células madre mesenquimales cultivadas y expandidas durante 1 mes, unidas a una matriz de β -TCP y HA, realizando a los 3 meses, al colocar los implantes, estudios histológicos e histomorfométricos.¹⁵²

Aunque es lo más novedoso e importante, el tratamiento con células madre no es el único campo de trabajo en la ingeniería tisular de la reconstrucción ósea. Se están desarrollando importantes líneas de investigación en el ámbito de los biomateriales con el desarrollo de nuevas hidroxiapatitas sintéticas, de proteínas sintéticas que favorecen la osteopromoción, de polímeros reabsorbibles⁵⁴⁻¹⁵³⁻¹⁵⁴ y también acerca de los elementos inductores.

Los elementos inductores protagonizaron un impulso muy importante de la mano de R.E. Marx¹⁵⁵ y de E. Anitua¹⁵⁶ en España, popularizando la utilización del plasma rico en plaquetas (PRP), sobretodo en casos de reconstrucción de maxilar¹⁵⁷⁻¹⁵⁸ y provocando la publicación de muchos estudios con resultados dispares. Recientemente las publicaciones de J.O. Hollinger y otros autores sobre la utilización de la rh-PDGF en los maxilares¹⁵⁹⁻¹⁶⁰ y las primeras publicaciones de A.S. Herford y P.J. Boyne de reconstrucciones exitosas con rh-BMP, de defectos complejos de maxilar y de mandíbula,¹⁶¹⁻¹⁶² hacen que un nuevo y prometedor camino en las reconstrucciones óseas de los maxilares se abra ante nosotros.

CAPÍTULO 4:

HIPÓTESIS

Hipótesis 1

H0: el seno reconstruido con BO + MSCs tiene la misma actividad formadora de hueso que el seno reconstruido sólo con BO.

H1: el seno reconstruido con BO + MSCs tiene una mayor actividad formadora de hueso que el seno reconstruido sólo con BO.

Hipótesis 2

H0: la cantidad de células formadoras de hueso obtenidas es independiente de la cantidad MSCs aportadas a la reconstrucción.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

H1: el aporte de una mayor cantidad de MSCs a la reconstrucción aumentará el número de células formadoras de hueso.

Hipótesis 3

H0: el seno reconstruido con BO + MSCs tiene los mismos parámetros radiológicos óseos que el seno reconstruido sólo con BO.

H1: el seno reconstruido con BO + MSCs tiene unos mejores parámetros radiológicos óseos que el seno reconstruido sólo con BO.

Hipótesis 4

H0: el seno reconstruido con BO + MSCs tiene la misma morbilidad que el seno reconstruido sólo con BO.

H1: el seno reconstruido con BO + MSCs tiene una menor morbilidad postoperatoria que el seno reconstruido sólo con BO.

CAPÍTULO 5:

MATERIAL Y MÉTODOS

Es un estudio fase 1 / 2 que evalúa la utilización de MSCs en los injertos de aumento del seno maxilar, para la reconstrucción de la atrofia posterior del maxilar superior, y la posterior colocación de implantes para la rehabilitación con prótesis.

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Centro Medico Teknon de Barcelona (anexo 1).

5.1. Diseño del estudio

Es un estudio controlado, randomizado, en el que 5 pacientes serán estudio y el propio control en forma de procedimiento “de boca partida”, realizado por el

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

mismo equipo de cirujanos del Instituto de Cirugía Maxilofacial e Implantología del Centro Medico Teknon de Barcelona.

Estos 5 pacientes aportarán el material equivalente a 10 pacientes (al doble de pacientes) al ser un mismo paciente experimento y control, obteniendo 42 cilindros óseos, analizando en cada uno de ellos 18 parámetros histomorfométricos, evaluando 4 parámetros radiológicos y otros parámetros celulares y clínicos.

Los 5 maxilares edéntulos serán reconstruidos mediante la técnica de elevación sinusal bilateral, determinando de forma aleatoria el tratamiento con hueso bovino esterilizado y desproteinizado (BO) en el lado control y con MSCs y bovino esterilizado y desproteinizado (BO) en el lado estudio y posteriormente evaluados con técnicas radiológicas y de histomorfometría.

5.1.1. Selección de pacientes

Los pacientes son seleccionados de las consultas del Centro Medico Teknon de Barcelona que acepten la inclusión en el estudio, firmen el consentimiento informado (anexo 1) y cumplan los criterios de inclusión y exclusión (anexo 2).

— Criterios de inclusión:

- El paciente debe presentar edentulismo total o parcial del maxilar superior que afecta a ambos sectores posteriores y para el que, el

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

tratamiento con implantes precisa la utilización de la técnica de elevación sinusal.

- El paciente tenga dientes o prótesis en la mandíbula que ocluirán con los implantes del maxilar.
- El paciente tenga la capacidad de comprender y firmar el consentimiento informado elaborado.

— Criterios de exclusión:

- el paciente tenga sinusitis aguda
- el paciente presente patología quística o tumoral de los senos
- el paciente tenga fistulas orosinusales
- el paciente tenga historia de radioterapia en el área maxilofacial
- el paciente presente enfermedad neoplásica o inmunosupresión
- el paciente esté afecto de enfermedad psiquiátrica
- el paciente tenga enfermedad sistémica no controlada
- el paciente tenga patología ósea congénita
- el paciente presente alergias conocidas a materiales o fármacos utilizados en el estudio (articaina, vancomicina, gentamicina, suero de caballo, suero fetal bovino, Bio-Oss®)
- el paciente tenga adicción activa al tabaco y a otras drogas
- el paciente tenga diversas patologías o circunstancias que afecten adversamente al tratamiento

- la paciente esté embarazada o no esté utilizando adecuadamente las medidas de contracepción adecuadas

5.2. Evaluación de los pacientes

5.2.1. Historia clínica

Los pacientes seleccionados serán sometidos a una historia clínica médica completa, historia clínica odontológica y exploración oral completa registrando los parámetros más determinantes (anexo 3).

5.2.2. Estudio radiológico

La evaluación radiológica se ha realizado con una ortopantomografía digital y con una tomografía computerizada (TC) de maxilar superior realizadas en el mismo centro radiológico con el mismo aparato .

— Evaluación inicial:

Se realiza una ortopantomografía inicial (Fig.5.1.) y una TC del maxilar superior. La tomografía nos permitirá obtener información del alveolo, de la morfología del seno maxilar así como descartar patologías sinusales.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Se registran datos cualitativos en relación a la morfología del grado de atrofia de la cresta alveolar según la clasificación de Cawood y Howell⁶³ y en relación a la calidad ósea según la clasificación de Lekholm y Zarb⁶¹ así como datos cuantitativos de altura y anchura de la cresta alveolar en milímetros (mm). (anexo 3).



Fig. 5.1. Ortopantomografía inicial. Se aprecia edentulismo maxilar con atrofia severa posterior.

— Evaluación a los 4 meses:

A los 3 meses y 3 semanas (4 meses) de la reconstrucción se realiza una nueva ortopantomografía (Fig.5.2.) y una TC maxilar para evaluar la efectividad de la reconstrucción y para planificar la instalación de los implantes.

Se registran datos cuantitativos de altura y anchura de la cresta alveolar en mm. (Fig.5.3. y Fig.5.4.) (anexo 4), así como volumétricos en centímetros cúbicos

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

(cc.) y de densidades en unidades Hounsfield (U.H.) mediante el programa de evaluación Simplant® (SimPlant.10. Materialise, Leuven, Belgium). (Fig.5.5.)

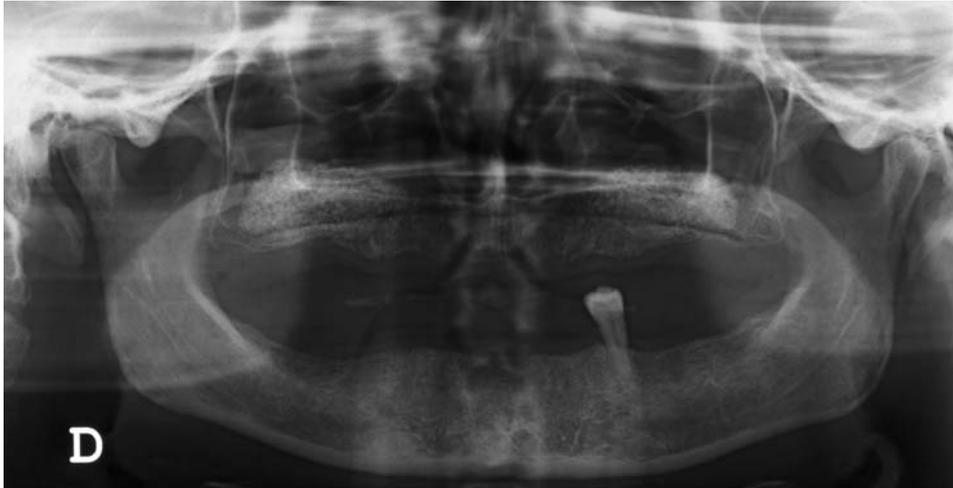


Fig. 5.2.: Ortopantomografía a los 4 meses en los que se aprecia la reconstrucción posterior del maxilar superior, con el aumento óseo en la cavidad sinusal.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales



Fig.5.3.: TC a los 4 meses en los que se aprecia la reconstrucción posterior. El manejo de las imágenes en el software, permite el análisis y las mediciones desde varios ejes.



Fig. 5.4.: Mediciones de la altura por TC a los 4 meses para compararlos con las mediciones intraoperatorias de altura de la reconstrucción. Las medidas se tomaron de la cresta hasta la parte superior de la ventana ósea.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

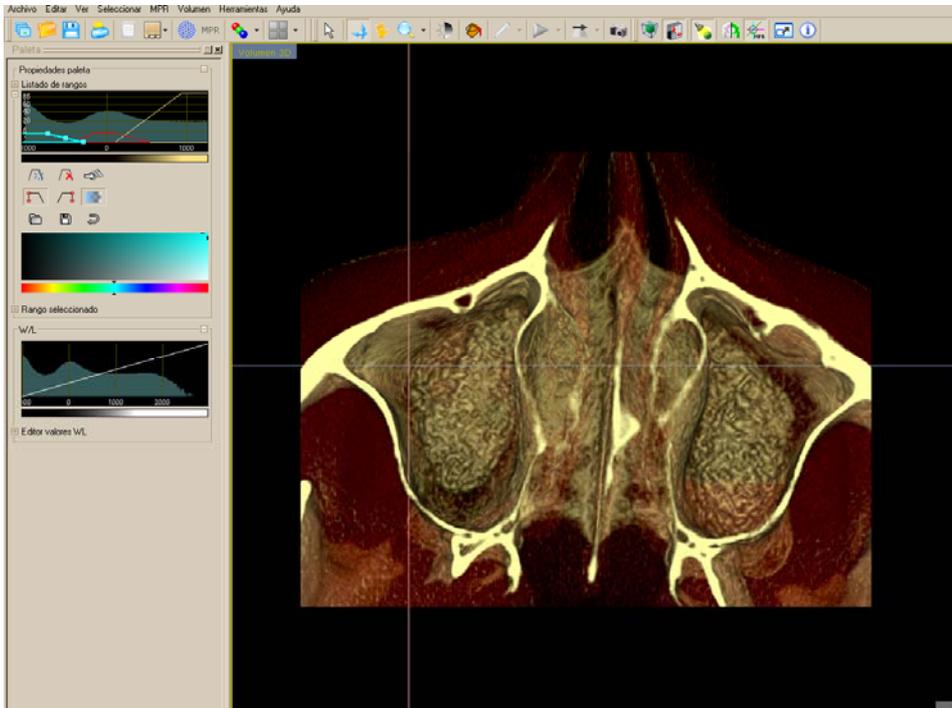


Fig. 5.5. Estudio de imágenes tridimensionales. La evaluación de las imágenes en el software nos permite el análisis de las densidades y el cálculo volumétrico de la reconstrucción.

— Seguimiento radiológico:

Se realizan ortopantomografías de control a los 4 meses de la instalación de los implantes (Fig.5.6.) antes de la realización de la prótesis dental, al año de los implantes y a los dos años con la finalización del estudio.



Fig.5.6.: Ortopantomografía a los 4 meses de la instalación de los implantes.

5.3. Obtención y preparación de las células madre mesenquimales

5.3.1. Técnica de la obtención de las células madre mesenquimales

La aspiración medular se realiza en medio quirúrgico con anestesia local y sedación endovenosa.

Se obtienen las células madre mesenquimales de la cresta ilíaca posterior mediante aguja de punción medular. Se realiza una punción a nivel lateral de la articulación sacroilíaca en la unión del tercio superior con los dos tercios inferiores. (Fig.5.7.)

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Se profundiza la aguja de punción hasta sobrepasar la cortical entrando en hueso esponjoso realizando una aspiración con presión manual sobre un jeringa de 20 cc. consiguiendo la obtención de aproximadamente 1 cc de material hemático. (Fig.5.8.) Cada cc se cambia de jeringa, y el trócar que es biselado, se rota unos 90 grados y se va profundizando milímetro a milímetro de forma que siempre se recolecta en zona virgen, hasta obtener el volumen deseado de aproximadamente 50 – 60 cc. (Fig. 5.9.) La aspiración la realizamos de forma súbita, mililitro a mililitro, procurando que una brusca presión negativa logre literalmente “arrancar” la célula mesenquimal de su nicho situado en la pared de la trabécula ósea. Se evalúa el volumen aspirado y la concentración celular del aspirado (anexo 5).



Fig. 5.7.: Se localiza por palpación la articulación sacroilíaca. La punción se realiza lateralmente en su tercio superior pudiendo realizar dos o tres entradas en hueso con una sola entrada cutánea.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

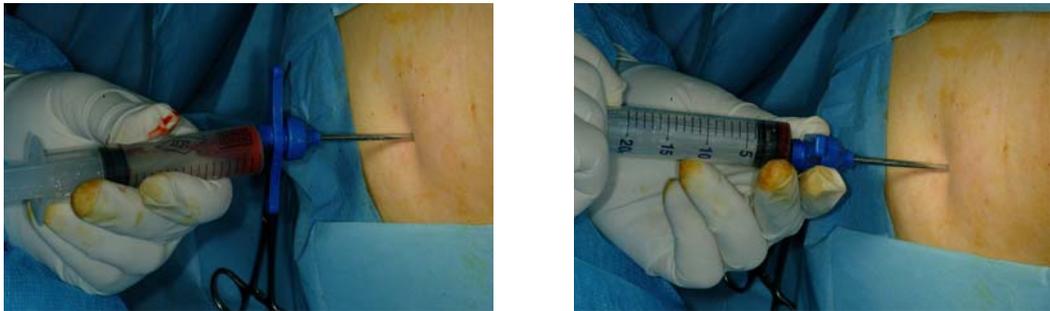


Fig. 5.8.: Se realiza una brusca aspiración liberando rápidamente la presión negativa para recolectar entre 1-2 cc de material en cada aspiración.

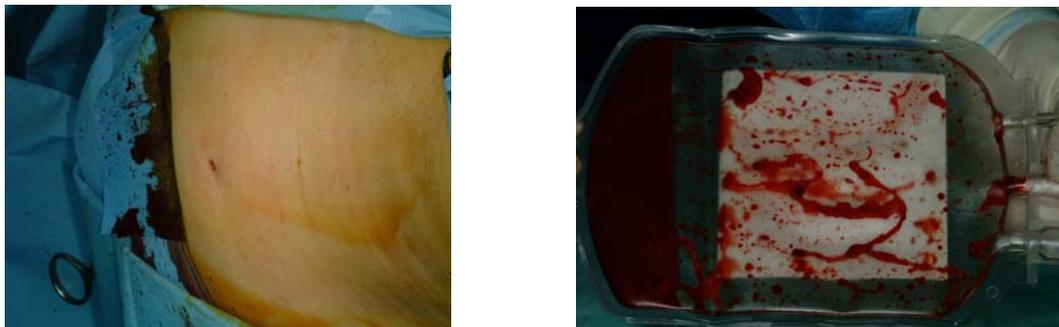


Fig. 5.9.: La cantidad total de material obtenido oscila entre 50-60 cc. La herida de la punción no precisa sutura, se cierra por segunda intención con facilidad.

5.3.2. Aislamiento y expansión de las células madre mesenquimales

El aspirado se transporta al Centre de Transfusions i Banc de Teixits de Barcelona para el procesamiento celular en condiciones estancas y temperatura estable a 4° C.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Las células mononucleadas de la médula ósea aspirada son aisladas por centrifugación con gradiente de presión con la técnica de Ficoll. El Ficoll es un líquido aceitoso que se añade al producto celular recolectado y el conjunto se somete a centrifugación situando las células en estratos, según su gradiente de densidad. Los hematíes se van al fondo y el aceite se sitúa en medio creando una interfase entre el estrato de las células polinucleadas y las mononucleadas. Así se logra que en el estrato mononuclear se recuperen más del 80% de las células mononucleadas del volumen total aspirado.¹⁶³

Tras la selección celular se inoculan aproximadamente 275 millones de células en el Aastrom Replicell System (Aastrom Biosciences Inc. Ann Arbor, MI, USA), un bioreactor de características GMP, para su cultivo automatizado durante 12 días a 37°C, en el medio Iscove Dulbecco modificado, suplementado con un 10% de suero fetal bovino, 10% de suero de caballo, hidrocortisona (5X10⁶ M), sulfato de gentamicina (5 µg/ml), L- glutamina (4 mM), y vancomicina (20 µg/ml).

El corazón del bioreactor que tenemos a disposición es una casete que se desecha en cada proceso. Mide aproximadamente medio metro cuadrado. (Fig.5.10.) Es una biocámara estanca que mantiene una concentración de oxígeno y gases constante autocontrolada informaticamente. Una membrana plástica se extiende a lo ancho de la biocámara y ofrece la superficie adecuada para recibir y retener las células progenitoras que poseen una alta capacidad adherente. En esta superficie se irán depositando las nuevas células fruto de la proliferación y la sustancia extracelular generada por estas.

El bioreactor perfunde automáticamente el medio de cultivo y lo renueva continuamente ya que circula una sola vez por la biocámara (*single pass*

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

perfusion). El flujo del medio sobre las células se realiza con una velocidad variable que depende del tiempo transcurrido en el cultivo. Los primeros días la velocidad de circulación es muy lenta y se acelera a medida que las células proliferan, precisan más nutrientes y generan más citocinas y detritus por lo que conviene aumentar tanto el nivel de nutrientes como intensificar el efecto de lavado.

Durante el tiempo que dura el cultivo no interviene en absoluto la mano humana. El sistema informático controla todo el procedimiento. Los biólogos se limitan a tomar algunas muestras para controlar cualquier anomalía o contaminación.

El resultado del procedimiento es la expansión de células progenitoras de linajes mesenquimales y la inhibición de la proliferación de otros linajes como el hematopoyético que en principio no nos será útil para el objetivo regenerativo de los tejidos que trataremos.

Dos días antes de la recolección, el medio de cultivo es cultivado para confirmar niveles no detectables de bacterias, hongos contaminantes y endotoxinas.

A los doce días se recolectan las células cultivadas. Dadas sus propiedades adherentes debe realizarse el procedimiento de tripsinización, con tripsina y EDTA, que logra “despegar” las células de la superficie plástica y las vierte en un depósito.

La casete, la biocámara, se desecha siguiendo las normas habituales para residuos biológicos.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Siguen procesos de lavado y concentración celular y se confirma que los reagentes añadidos durante el cultivo estén bajo de los límites detectables utilizando análisis ELISA. La citometría de flujo, análisis de viabilidad celular y ensayos clonogénicos se realizan para confirmar la composición y viabilidad de la mezcla celular. Finalmente el producto es transportado al quirófano en una bolsa que contiene las células en suspensión en un volumen de 5 a 15 mL de Normosol y un 0,5% de albúmina humana, líquido apropiado para la supervivencia durante el transporte y la aplicación.

En esta forma llega al quirófano una mezcla de células madre mesenquimales, células progenitoras y células endoteliales, producto celular que recibe el nombre comercial de *Tissue Repair Cells* (TRC) ®.¹⁶⁴

Se registra el volumen inoculado en el casete y el número total de células, el volumen liberado por el bioreactor, el número total de células producidas así como el porcentaje de viabilidad celular (anexo 5).

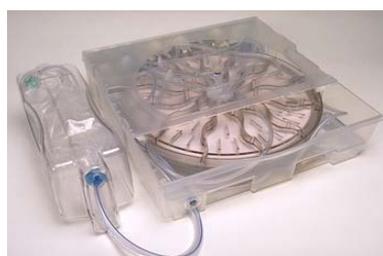


Fig. 5.10.: Bioreactor de Aastrom y el casete desechable en donde se realizará el cultivo y la expansión celular. (Imagen cedida por Aastrom Biosciences Inc).

5.3.3. Unión de las células madre mesenquimales con la matriz

En el quirófano, sobre superficie estéril y bajo manipulación estéril, las MSCs se mezclan con la matriz, el Bio-Oss® (BO) en su presentación de 2 gr. (Geistlich Pharma AG, Wohlhusen, Switzerland), hueso bovino esterilizado y desproteinizado, con una porosidad del 75-80 % y un tamaño de los cristales de aproximadamente de 10 µm, retirando el exceso de fluido mediante filtración bajo aspiración de bajo flujo. (Fig.5.11.)

Finalmente se añade fibrina autóloga al producto para conseguir el volumen final del injerto de 10 ml. (Fig.5.12.) La fibrina se obtiene según la técnica de E. Anitua¹⁵⁶ para la obtención de plasma rico en factores de crecimiento, recolectando con pipeta de 500 µl la primera fracción de la columna de plaquetas, que es la fracción rica en fibrina autóloga. Se activa la contracción de la fibrina con cloruro cálcico convirtiendo la mezcla de las MSCs, la matriz y la fibrina en un gel adhesivo¹⁶⁵ siendo muy fácil de manipular para transportar hasta el lecho quirúrgico.

Este procedimiento se realiza simultáneamente con la preparación de la mezcla control que será la misma cantidad de BO que el estudio añadiéndole la misma cantidad de fibrina autóloga y realizando el mismo procedimiento de activación con la fibrina autóloga. Estos procedimientos se realizan mientras hacemos la elevación sinusal, para tener el producto de injerto preparado al finalizar la técnica quirúrgica. Se registran el volumen de la mezcla de las MSCs con el BO, el volumen de las MSCs con el BO y la fibrina y el volumen del BO con la fibrina (anexo 5).

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales



Fig.5.11.: Dispositivo de filtración a bajo flujo. En la parte superior de la campana se retiene y se mezcla la matriz con las MSCs.



Fig. 5.12.: Mezcla de MSCs con la matriz, al añadir la fibrina se consolida la mezcla gelificándola de manera que puede ser manipulada en bloque con facilidad.

5.4. Reconstrucción maxilar. Técnica quirúrgica

Al 12º día de la obtención de las MSCs se procede a la intervención de la elevación sinusal bilateral según una modificación de la técnica descrita por O.H.Tatum y publicada por P.J. Boyne.^{166_75}

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

La intervención se realiza con anestesia local con Articaina suplementada con sedación endovenosa con Midazolam y Fentanilo. Se bloquea con la Articaina al 1:100000 los nervios infraorbitarios, los nervios palatinos anteriores, el nervio nasopalatino y todo el fondo de vestíbulo.

Tras comprobar la efectividad de la anestesia se realiza una incisión crestal con descargas anteriores en línea media y posteriores a nivel de la tuberosidad. Se levanta el colgajo mucoperióstico exponiendo la pared anterior del seno maxilar de forma amplia.

Se realiza la ventana ósea en la pared anterior del seno maxilar con fresa de carburo de tungsteno del número 8 de forma amplia, a 40000 r.p.m. con abundante irrigación con suero fisiológico, registrándose las dimensiones de la ventana y los datos quirúrgicos. Se retira la pared exponiendo la membrana de Schneider y se procede a su disección separándola de las paredes del seno maxilar hasta conseguir el bolsillo deseado a nivel subantral. La disección debe ser muy cuidadosa para evitar perforar la membrana sinusal.

Se introduce el biomaterial escogiendo de forma aleatoria el lado estudio y el lado control, registrándose en la hoja de recogida de datos así como datos volumétricos (anexo 5), y se repone la pared anterior de seno maxilar engranándola en las paredes vestibulares del seno para su fijación.(Fig.5.13.).

Se finaliza la intervención reposicionando el colgajo y suturándolo con ácido poliláctico del 4/0.

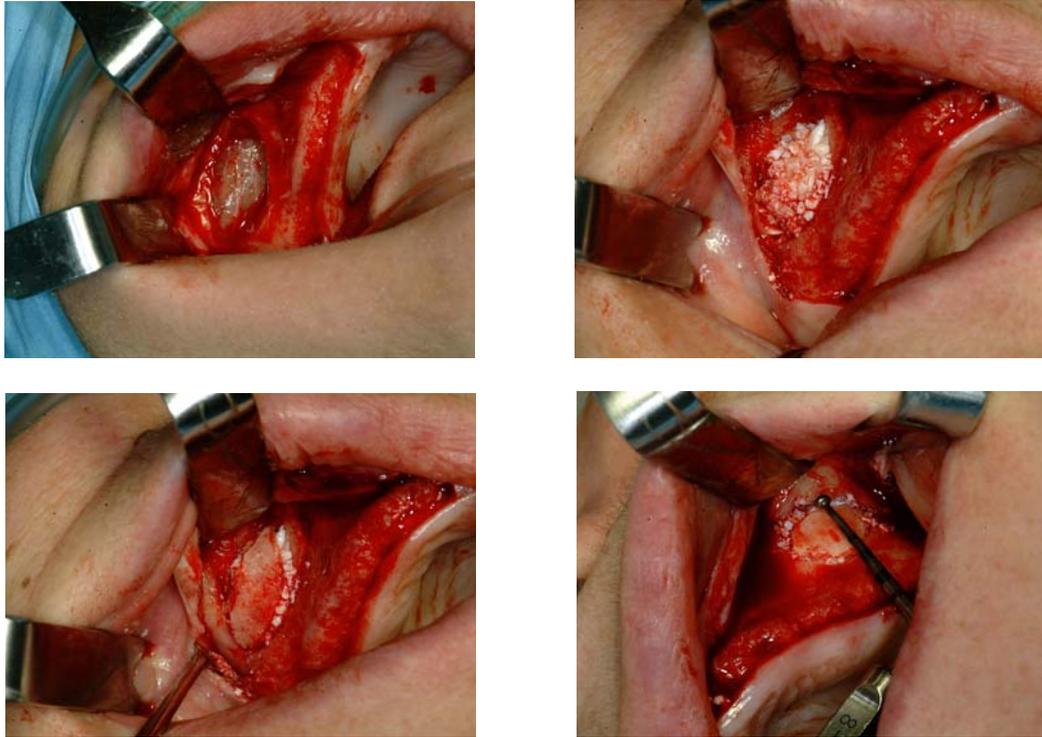


Fig. 5.13.: Elevación de la membrana sinusal a través de una ventana lateral con relleno de la cavidad subantral con el biomaterial. Se reposiciona la pared anterior del seno y se toman medidas operatorias.

5.5. Controles postoperatorios

5.5.1. Postoperatorio inmediato

En el postoperatorio inmediato se prescribe tratamiento con Amoxicilina y Ac. Clavulámico 500/125 mg cada 8 horas durante 7 días, antiinflamatorios no esteroideos con Ibuprofeno 600mg cada 8 horas durante 7 días, Metamizol 2000

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

mg cada 8 horas alterno en caso de dolor y tratamiento tópico con Clorhexidina al 2% cada 8 horas durante 15 días, así como se instruye al paciente a unas medidas de terapia física como son dormir en posición elevada, crioterapia las primeras 24 horas, evitar la maniobra de Valsalva, lavados nasales con suero fisiológico.

Se realiza el control a la semana de la intervención registrando cualquier anomalía a nivel extraoral e intraoral como la tumefacción y el hematoma, y complicaciones como el sangrado, el dolor, la infección o fallos de sutura (anexo 6).

5.5.2. Postoperatorio tardío

Se realiza un nuevo control clínico al mes de intervención registrando cualquier incidencia y a las 14 semanas, antes de la toma de las biopsias y de la instalación de los implantes, para solicitar la TC y la ORTO de control y prescribir las tetraciclinas para realizar la impregnación antes de la toma de las biopsias.

5.6. Toma de biopsias y colocación de implantes

5.6.1. Impregnación con tetraciclinas

La impregnación con tetraciclinas se inicia 17 días antes de la toma de las biopsias para obtener datos para la histomorfometría dinámica. Se realiza la

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

siguiente pauta: Oxitetraciclina 250 mg cada 8 horas durante 3 días, 7 días sin tetraciclinas , de nuevo Oxitetraciclina 250 mg cada 8 horas durante 3 días más y 4 días más tarde se obtienen las muestras de hueso.

5.6.2. Toma de biopsia

Al 4º mes de la elevación sinusal se toman las muestras de biopsia para hacer el estudio histomorfométrico. Con anestesia local se realiza una infiltración con Articaina al 1:100000 bloqueando con los nervios infraorbitarios, los nervios palatinos anteriores, el nervio nasopalatino y todo el fondo de vestíbulo. Tras comprobar la efectividad de la anestesia se realiza el lecho implantario en todos los lugares en los que hemos planificado colocar los implantes con una trefina de 3 mm de diámetro externo y de 2 mm de diámetro interno, con un contrángulo reductor de 20:1 a 1500 r.p.m. y abundante irrigación con suero fisiológico. Se realiza el lecho implantario con la trefina en el lado estudio, en el lado control de todos los pacientes y también en hueso sano no reconstruido (región de la premaxila que no estaba atrofiada) en 4 pacientes. Las muestras se procesan para estudio a doble ciego por un observador independiente que extrae con mucho cuidado los cilindros óseos de la trefina para preservar la anatomía de la reconstrucción ósea (Fig.5.14.) sin conocer el origen de la muestra y le adjudica una etiqueta identificativa antes de remitirlo al laboratorio de anatomía patológica del Hospital de Mar de Barcelona.

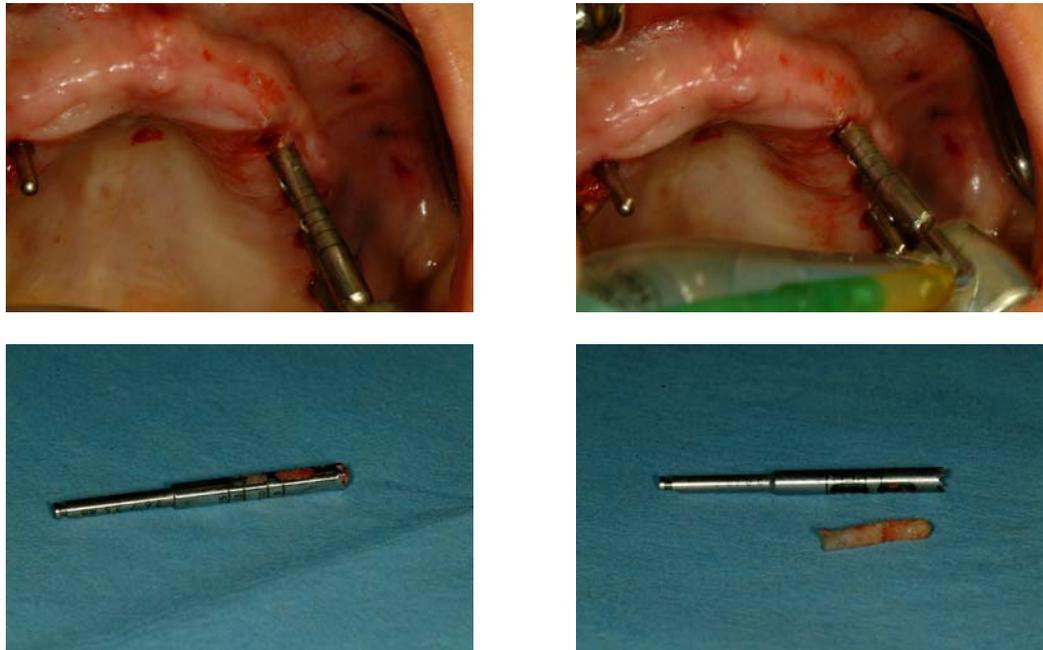


Fig. 5.14: Toma de los cilindros óseos para la histomorfometría realizando el lecho implantario con una sola fresada.

5.6.3. Instalación de los implantes

A diferencia de la técnica original de instalación de implantes descrita por Branemark,¹⁶⁷ en la que el lecho implantario se realiza de forma progresiva con la secuenciación de fresas de diámetro lentamente creciente hasta obtener un tamaño de 3 mm de diámetro para instalar implantes de tamaño regular (3,75 – 4 mm), con la técnica de la trefina el diámetro se obtiene en un único fresado, al ser el diámetro externo de la misma, de 3 mm. Con este método deberemos ser más precisos en la realización del agujero al no tener margen para la rectificación en caso de error en la dirección y eje del fresado. (Fig. 5.15.)

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Todos los pacientes tenían una buena anchura crestal, con una buena cantidad de encía adherida, lo que permitió realizar la técnica transmucosa instalando los implantes directamente sobre el agujero del trefinado, a baja velocidad de 30 r.p.m. con un torque de inserción de 36 Ncm. (Fig. 5.15.) Al realizar una buena reconstrucción de los sectores posteriores la altura ósea disponible es elevada lo que nos permitió colocar implantes de larga longitud. En todos los pacientes se instalaron implantes de 3i® (Implant Innovations, Estados Unidos) de 4x15 mm consiguiendo una retención primaria clínica muy buena por lo se colocaron pilares de cicatrización de 3-4 mm.



Fig. 5.15.: En la primera imagen observamos la comprobación de las direcciones y los ejes de los lechos implantarios con los paralelizadores. En la segunda imagen apreciamos los implantes instalados por vía transmucosa con los pilares de cicatrización colocados.

5.6.4. Medición de la estabilidad mediante análisis de la frecuencia de resonancia (Ostell®)

El análisis de la frecuencia de resonancia es un método diagnóstico no invasivo, introducido por Meredith¹⁶⁸ para valorar y monitorizar la estabilidad de la interfase

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

hueso-implante, midiendo in vivo la frecuencia de resonancia mediante un pequeño transductor unido al implante. El implante responde a un rango de frecuencias de sonido mediante valores ISQ (coeficiente de estabilidad implantaria).

Valores de ISQ < 49 corresponden a implantes dudosos, con una posible alta tasa de fracasos; valores de ISQ > 49 corresponden a implantes con una alta tasa de éxito; valores de ISQ 60-65 corresponden a implantes aptos para carga inmediata. La RFA es un método muy útil para monitorizar la osteointegración antes de cargar el implante.^{169_170}

Se realizaron análisis de la frecuencia de resonancia de los 42 implantes el día de su instalación (Fig. 5.16.) y el día de la colocación de la prótesis. Se tomaron 3 mediciones en cada implante y se realizó la media debido a diferencias según la colocación del transductor y en ocasiones a dificultades en la toma del registro de los datos.



Fig. 5.16.: Toma de medidas de RFA con el Ostell de cada implante.

5.6.5. Controles postoperatorios

De nuevo se prescribe medicación postoperatoria consistente en Amoxicilina y Ac. Clavulámico 500/125 mg cada 8 horas durante 7 días, antiinflamatorios no esteroideos, Ibuprofeno 600mg cada 8 horas durante 7 días y Metamizol 2000 mg cada 8 horas alterno en caso de dolor y tratamiento tópico con Clorhexidina al 2% cada 8 horas durante 15 días.

Se adapta la prótesis dental provisional en las primeras 24 horas al haber realizado una técnica transmucosa rebasándola con Viscogel®.

Los controles se realizan al mes, a los 4 meses, en la colocación de la prótesis definitiva, (Fig.5.17.) y cada 4 meses hasta la finalización del estudio a los 2 años.

Se registran datos de salud periimplantaria como depósito de placa, sangrado o exudado gingival, imágenes de periimplantitis, dolor en el implante, movilidad del implante y el fallo o no del implante (anexo 6).

También se registran datos generales de cualquier complicación o efecto secundario que pueda aparecer.

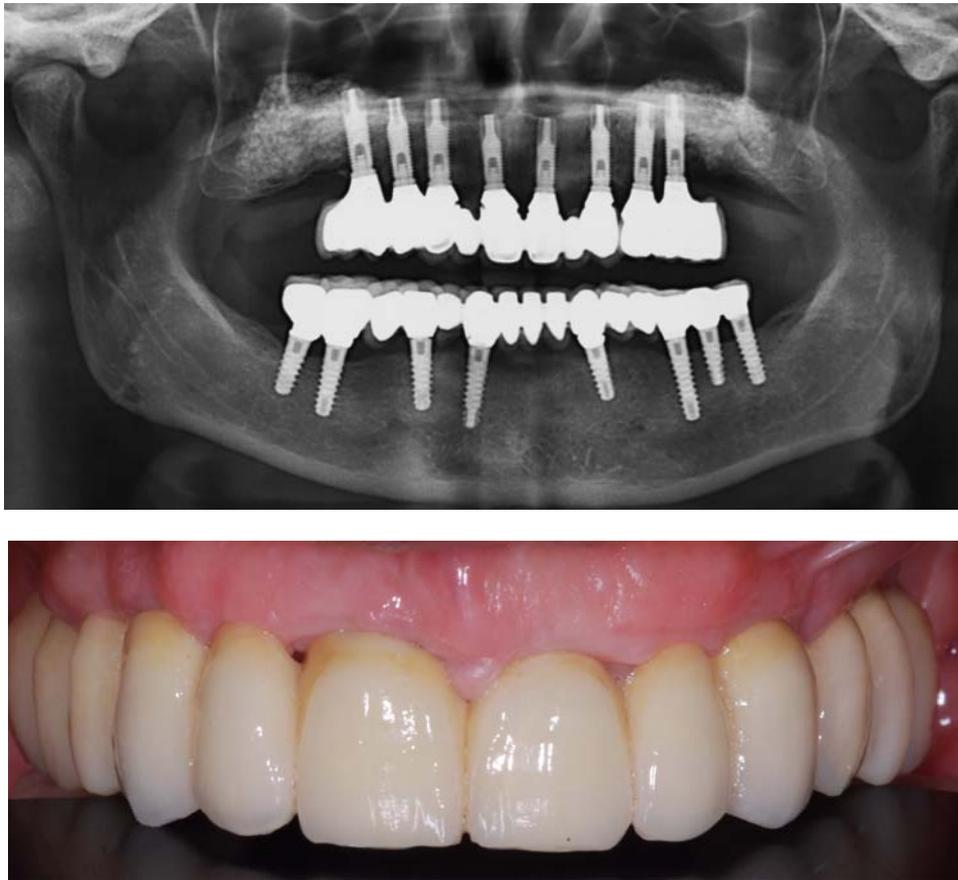


Fig. 5.17.: Controles postoperatorios tras la colocación de la prótesis dental: clínicos y con la ortopantomografía.

5.7. Histología e histomorfometría

Se remiten, identificados con letras clave para el análisis a doble ciego (anexo 7), los 42 cilindros óseos obtenidos del trefinado a la sección de Histomorfometría del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar de Barcelona, para su procesado. Las muestras se fijaron en etanol al 70%, se

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

deshidrataron en concentraciones crecientes de etanol y se incluyeron en metilmetacrilato. Se obtuvieron secciones de 5 micras mediante un microtomo especial para objetos duros, Leica 2255, con cuchilla de carburo de tungsteno. Las preparaciones fueron teñidas mediante la tinción de Tricrómico de Goldner y con la tinción de Von Kossa y se dejaron dos preparaciones sin teñir para su observación mediante microscopio de fluorescencia. Se practica la histología descriptiva y la histomorfometría manual. Los parámetros histomorfométricos estáticos y dinámicos nos permiten definir de manera cuantitativa las características estructurales y funcionales del hueso. Se determinaron los siguientes parámetros:¹⁷¹

— Estáticos:

BV/TV	Volumen trabecular (Bone volume, %): Es la relación entre el volumen trabecular total (matriz mineralizada más osteoide) y el volumen ocupado por las trabéculas más la médula ósea (volumen total de la biopsia una vez eliminado el hueso cortical).
CV/BT	Volumen cortical (Cortical volume, %). Es la relación entre el volumen cortical y el volumen total de la biopsia.
ES/BS	Superficie de reabsorción (Eroded surface, %): Es la relación entre la superficie de las lagunas de Howship trabeculares (con y sin osteoclastos) y la superficie trabecular total.
Fib.V/BV	Volumen de fibrosis (Fibrosis volume, %). Es la relación entre el volumen ocupado por fibrosis medular y el volumen de la biopsia una vez eliminado el hueso cortical
N.Oc/B.Pm	Índice osteoclástico (Osteoclast number, /mm): Es la relación entre el número de osteoclastos y el perímetro trabecular total
O.Th	Espesor de los ribetes de osteoide (Osteoid thickness, mcm).

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

- Ob.S/BS Superficie osteoblástica (Osteoblast surface, %): Es la relación entre la superficie trabecular con osteoide recubierto por osteoblastos cúbicos y la superficie trabecular total
- Ob.S/OS Superficie osteoblástica (Osteoblast surface, %): Es la relación entre la superficie trabecular recubierta por osteoide con osteoblastos cúbicos y la superficie trabecular recubierta por osteoide con y sin osteoblastos.
- Oc.S/BS Superficie con osteoclastos (Osteoclast surface, %). Es la relación entre la superficie de las Lagunas de Howship trabeculares que presentan osteoclastos y la superficie trabecular total
- OS/BS Superficie de osteoide (Osteoid surface, %). Es la relación entre la superficie trabecular recubierta por osteoide y la superficie trabecular total.
- OV/BV Volumen de osteoide (Osteoid volume, %): Es la relación entre volumen ocupado por el osteoide trabecular y el volumen trabecular total (matriz mineralizada más osteoide).
- Tb.N Índice trabecular (Trabecular number, /mm). Es un índice de la densidad trabecular.
- Tb.Sp Separación trabecular (Trabecular separation, mcm). Es un índice de la distancia que existe entre las trabéculas.
- Tb.Th Espesor trabecular (Trabecular thickness, mcm). Indica el espesor medio de las trabéculas.

— Dinámicos:

- BFR/BS Grado de formación ósea (Bone formation rate, $\text{mcm}^3/\text{mcm}^2/\text{day}$). Es la velocidad de formación ósea por unidad de superficie ósea.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

MAR	Grado de aposición ósea (Mineral apposition rate, mcm/day). Es el espesor medio de la capa de hueso mineralizado que se depositaría en las superficies de formación de las trabéculas por unidad de tiempo considerando una formación continua de hueso.
Mlt	Tiempo medio de retardo de la mineralización (Mineral lag time, days). Es el período de tiempo durante el cual el osteoide permanece sin mineralizar, es decir, es el tiempo que transcurre entre la formación del osteoide y su subsiguiente mineralización. Un ribete de osteoide será tanto más grueso cuanto más rápida sea la síntesis de osteoide y más tarde éste en mineralizarse. Por consiguiente el grosor de un ribete de osteoide depende, por una parte, del tiempo medio de retardo de la mineralización y, por otra, de la velocidad de síntesis del osteoide (velocidad de síntesis de matriz ósea no mineralizada).
MS/BS	Superficie de mineralización (Mineralizing surface, %). Relación entre la superficie trabecular con marcajes de tetraciclinas y la superficie trabecular total.

El cálculo de los parámetros dinámicos se realizó de acuerdo con el criterio propuesto por Foldes¹⁷²

5.8. Análisis estadístico

Se recogen los datos, en el programa Excel: con los datos demográficos y clínicos, con los radiológicos, con los datos operatorios y postoperatorios y con los datos del análisis histomorfométrico.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Se realizan los estudios con el programa Statgraphics Plus versión 5.1 de cada una de las tablas de datos, realizando un análisis descriptivo de todas las variables y un análisis cruzado de algunas de ellas.

Se ha aplicado, a todas las variables estudiadas, una técnica ANOVA de medidas repetidas. Un ANOVA porque el objetivo es comparar diferentes técnicas de las que tenemos varios valores. De medidas repetidas porque las diferentes técnicas se han aplicado a unos mismos individuos. Aplicar medidas repetidas explica mejor la variabilidad porque cada individuo es control de él mismo. En este caso era especialmente apropiado debido al reducido tamaño de muestra. Se ha tomado como criterio de significación una $p < 0,05$

CAPÍTULO 6:

RESULTADOS

Evaluaremos todos los datos recogidos en este estudio, haciendo una valoración descriptiva inicialmente y posteriormente una valoración analítica.

Se pondrá énfasis en el análisis histomorfométrico.

6.1. Datos demográficos

El estudio fue realizado sobre 5 mujeres con una media de edad de 51,3 años (37 -74,5 años). 4 eran ex-fumadoras, 3 de ellas fumaron durante más de 20 años y hacía más de 6 meses que no fumaban, una hacía más de 20 años que había dejado de fumar y otra nunca había sido fumadora. Las pacientes CMT-01,02 y 03 eran edéntulas, la paciente CMT-04 era edéntula posterior y la paciente CMT-05 era edéntula superior y dentada inferior. Las pacientes CMT-01

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

y 03 tenían implantes dentales en la mandíbula, cargados previamente 5 años y 1 año respectivamente. La pérdida ósea se debió a periodontitis crónica y a caries. La paciente CMT-02 tenía antecedentes de fractura subcondilea mandibular. La paciente CMT-03 tenía historia de artrosis de la columna lumbar, ulcera péptica e hipercolesterinemia. La paciente CMT-05 tenía historia de pólipos en cuerda bucal y hernia de hiato. La paciente CMT-01 presentaba historia de osteoporosis ligera que aún no había iniciado tratamiento. (Tabla 6.1.)

DATOS DEMOGRÁFICOS

	CMT-01	CMT-02	CMT-03	CMT-04	CMT-05
EDAD	74.5	37	58	45.8	41.1
ESTATUS ESTROGÉNICO	Post-menopáusica	Anticonceptivos	Post-menopáusica	Anticonceptivos	Anticonceptivos
FUMADORA	No	si, 20 años	si, no desde 20 años	si, 30 años	si, 20 años
SEXO	F	F	F	F	F
CO-MORBILIDAD	Osteoporosis	Fractura mandibular	Artrosis Úlcus péptico		Hernia hiato Pólipos vocales

Tabla 6.1.: Datos demográficos más relevantes de los 5 pacientes del estudio.

La calidad ósea en sectores posteriores fue mayoritariamente de tipo 4, según la clasificación de Lekholm y Zarb, excepto en los pacientes CMT-02 y CMT-03 que fue de tipo 2 y el grado de atrofia ósea observada fue del tipo V y VI en todos los pacientes excepto en el paciente CMT-03 en el que fue catalogado de III-V. Estos datos condicionaron unos sectores posteriores con crestas planas o cóncavas con hueso de mala calidad, muy esponjoso, con pobre trabeculación y pérdida de la cortical en relación a los sectores anteriores en los que la calidad ósea mayoritaria era de tipo 2 y 3, lo que indica una mejor trabeculación y

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

densidad con mejores corticales y unos rebordes crestales con alturas más conservadas. (Tabla 6.2.)

ATROFIA OSEA Y CALIDAD OSEA

	CMT-01	CMT-02	CMT-03	CMT-04	CMT-05
MAXILAR ANTERIOR: ATROFIA ÓSEA	C VI	C V	C III	C I	C III
MAXILAR ANTERIOR: CALIDAD ÓSEA	4	2	3	3	4
MAXILAR POSTERIOR: ATROFIA ÓSEA	D VI	D V	D III	D III (R) D V (L)	D VI
MAXILAR POSTERIOR: CALIDAD ÓSEA	4	2	2	4	4

Tabla 6.2.: Valoración del estado óseo de los maxilares. Se muestra los datos del grado de atrofia ósea según la clasificación de Cawood ⁶³ y de la calidad ósea según la clasificación de Lekholm y Zarb ⁶¹ en cada uno de los pacientes, diferenciando el maxilar anterior del maxilar posterior.

6.2. Datos celulares

6.2.1. Recogida de células y expansión

Se aspiró una pequeña cantidad de médula ósea 54,54 ml (37,7-64 ml) de la cresta ilíaca posterior con una concentración del aspirado de $18,1 \times 10^6$ /ml a 66×10^6 /ml que indican la cantidad total de células recolectadas de la médula ósea, que serán células sanguíneas, osteoblastos, grasa, células conectivas, MSCs y células progenitoras. Después de aislar las células mononucleadas con la técnica de Ficoll se sembraron de 236×10^6 a 301×10^6 de células mononucleadas por inoculación en el AastromReplicell System con un volumen medio de 24.48 ml (17-31 ml). Después de los 12 días de cultivo se obtuvieron

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

entre 70×10^6 y 147×10^6 de sólo MSCs, células progenitoras y células endoteliales (TRCs) con una viabilidad celular del 90-97% y un volumen medio de 25,2 ml (18-42,5 ml.) (Tabla 6.3.)

El cultivo en el bioreactor de Aastrom se realiza a tasas específicas de oxigenación e intercambio del medio, que determinan la expansión selectiva de células progenitoras. Esta tecnología de perfusión continua, que renueva continuamente y lentamente el medio de cultivo celular, ha demostrado mediante citometría de flujo, ensayos clonogénicos y baterías de genes selectivos, que enriquece la población de células progenitoras de linaje endotelial y mesenquimal que expresan marcadores Thy1+/CD14- entre 40 y 80 veces, las que expresan marcadores CD 105 entre 300 y 400 veces y las que expresan marcadores CD 90 unas 40-60 veces el número inicial, al tiempo que reduce la presencia de células diferenciadas y hematopoyéticas. (Gráficos 6.1.y 6,2)

DATOS CELULARES – RECOGIDA DE CELULAS

	CMT-1	CMT-2	CMT-3	CMT-4	CMT-5
VOLUMEN ASPIRADO ml	37,7	61	61	49	64
CONCENTRACIÓN CELULAR DEL ASPIRADO x 10⁶/ml	66	18,1	30,3	33,9	31,3
TOTAL CÉLULAS INOCULADAS AL CASETE x10⁶	251	236	299	250	301
VOLUMEN INOCULADO ml	31	25	17	25,7	23,7
VOLUMEN DEL PRODUCTO LIBERADO ml	42,5	22	25,3	18	18,2
TOTAL DE TCRS PRODUCIDAS PARA SER UTILIZADAS x10⁶	147	69,5	114	117,3	120
VIABILIDAD CELULAR %	90	96	95	97	90

Tabla 6.3.: Datos celulares numéricos, de la recolección celular, después de aislar las células mononucleares y después de la expansión.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

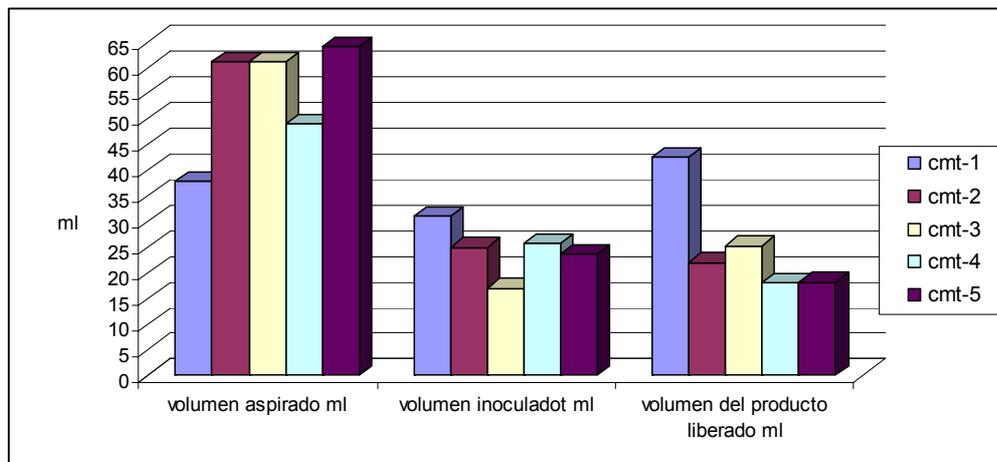


Gráfico 6.1.: El volumen inoculado es menor del volumen aspirado al concentrar sólo el volumen de células mononucleares. A pesar de de representar sólo a las células mesenquimales y progenitoras, debido a su expansión los volúmenes son similares.

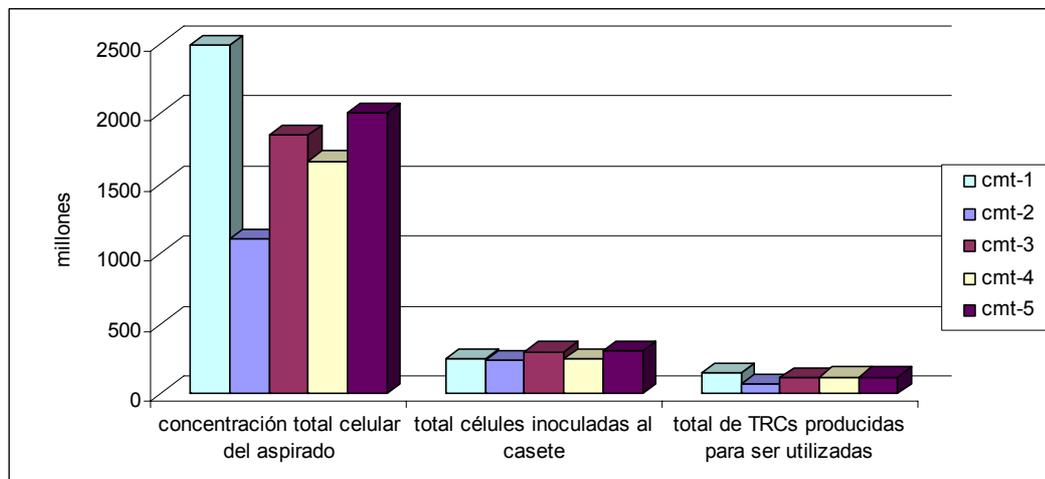


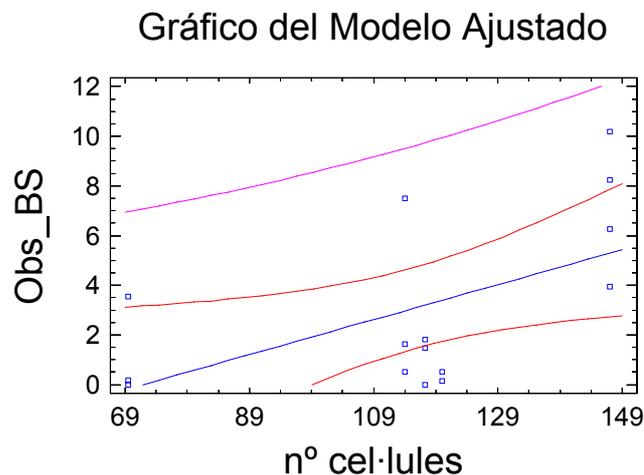
Gráfico 6.2.: La concentración celular del aspirado es muy alta debido a que contiene todos los tipos celulares de la médula ósea. En el bioreactor sólo se inoculan las células mononucleadas que se han aislado mediante la técnica de Ficoll. El total de células liberadas

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

por el bioreactor es menor puesto que, de todas las células mononucleadas, sólo se han preservado las MSCs, las progenitoras y las endoteliales (TRCs), aunque éstas están presentes en altas cantidades, gracias a la expansión conseguida con el bioreactor.

6.2.2. Correlación del número de células y formación ósea

Se realizó el análisis estadístico en el lado estudio de cada paciente con el objeto de correlacionar el número final de células con el BV/TV para valorar la formación de hueso, con el ObS/BS para valorar la cantidad de osteoblastos y con la FibV/BV para valorar la actividad celular. La correlación es positiva y significativa ($p < 0,05$) con el ObS/BS. A mayor número de células mayor valor del ObS/BS. En los dos otros parámetros estudiados no se aprecia correlación significativa. En la gráfica siguiente se aprecia el sentido indicado de la correlación.



Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Análisis de Regresión - Modelo Lineal $Y = a + b \cdot X$

Variable dependiente: Obs_B9

Variable independiente: n° cel.lulas

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	P-Valor
Ordenada	-5,06417	3,40473	-1,48739	0,1608
Pendiente	0,0704644	0,0287757	2,44875	0,0293

Análisis de la Varianza

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Modelo	51,5077	1	51,5077	6,00	0,0293
Residuo	111,668	13	8,58983		
Total (Corr.)	163,175	14			

Coefficiente de Correlación = 0,561835

R-cuadrado = 31,5658 porcentaje

6.3. Datos quirúrgicos

Se recogieron datos de la ventana quirúrgica realizada en la pared anterior del seno maxilar, en relación a su longitud y anchura, y se recogieron datos de la altura de la reconstrucción inmediata conseguida con el biomaterial, que será, este último dato, el determinante en la comparación de los datos de la reconstrucción.

En relación a la media, la longitud de la ventana ósea fue de 16,8 mm (14-22 mm) en el lado estudio y de 18,8 mm (16-23 mm) en el lado control; la anchura de 10 mm (9-15mm) en el lado estudio y de 10,6 mm (9-15 mm) en el lado

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

control y la media de la altura ósea reconstruida fue de 16,6 mm (15-18mm) en el lado estudio y de 17 mm (15-20mm) en el lado control.

La disección de la membrana sinusal se desarrollo sin incidencias excepto en el paciente CMT-01 en el cual se registro una perforación de 5 mm en el lado estudio y otra perforación de 6 mm en el lado control que se repararon con una membrana de colágeno sin provocar ninguna incidencia en el postoperatorio.

DATOS QUIRURGICOS

	CMT-1	CMT-2	CMT-3	CMT-4	CMT-5
LONGITUD VENTANA ESTUDIO	17	16	15	14	22
ANCHURA VENTANA ESTUDIO	7	9	11	12	11
ALTURA RECONSTRUCCIÓN ESTUDIO	18	18	17	15	15
PERFORACIÓN MEMBRANA ESTUDIO	No	si-5mm	No	No	No
LONGITUD VENTANA CONTROL	23	16	17	16	22
ANCHURA VENTANA CONTROL	9	9	11	9	15
ALTURA RECONSTRUCCIÓN CONTROL	18	20	15	15	17
PERFORACIÓN MEMBRANA CONTROL	No	si-6mm	No	No	No

Tabla 6.4.: Datos recogidos de la morfología de la reconstrucción durante la intervención quirúrgica. Son datos relativos a las medidas, en mm, tomadas de la ventana realizada en la pared anterior del seno maxilar, que condicionarán la altura de la reconstrucción. También se registran incidencias intraoperatorias como la perforación de la membrana sinusal.

6.4. Datos radiológicos

La altura media inicial fue de 7,46 mm (5,2 mm – 8,8 mm) en el lado estudio y de 8,16 mm (6,7mm-9,4 mm) en el lado control.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

El análisis de la altura media, conseguida a los 4 meses de la reconstrucción, fue de 20,28 mm (16,8-23,8 mm) en el lado estudio y de 20,18 (16,4-22,2 mm) en el lado control, con un incremento medio de la altura de 12,82 mm en el estudio y de 11,9 mm en el control.

La anchura media inicial fue de 6,32 mm (2,5mm-8,5mm) en el lado estudio y de 6,78 mm (3 mm-9,5mm) en el lado control.

A los 4 meses la anchura media fue de 7,2mm (4,4 mm-10 mm) en el lado estudio y de 6,14 mm (5,2 mm – 7,3 mm) en el lado control. Al realizar el injerto a nivel subantral, dentro de las paredes óseas del seno maxilar, no debe haber variaciones en relación a la anchura de la cresta alveolar que es parámetro clínico que nos interesa valorar.

La comparación de la altura quirúrgica de la reconstrucción con la altura radiológica conseguida a los 4 meses muestra un incremento medio en la altura de la reconstrucción de 3,68 mm en el lado estudio y de 3,18 en el control.

En cuanto al cálculo de volumen la media del lado estudio es de 4,424 cc (3,66-4,94 cc) frente al control de 3,816 cc (2,65-5,0 cc).

Las densidades medias en el lado estudio es de 1024 UH frente al lado control que es de 1041,75 UH, despreciando el control del paciente CMT -03 que sufrió una infección, en el lado control, con la consiguiente pérdida de densidad ósea.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

DATOS RADIOLOGICOS

	ALTURA	ALTURA 4 MESES	ANCHURA	ANCHURA 4 MESES	VOLUMEN RECONSTRUIDO	DENSIDAD	INCREMENTO DE ALTURA
CMT-1 ESTUDIO	7	23,8	2,5	4,4	4,56	1120,24 ± 569,32	16,8
CMT-1 CONTROL	7,7	22,2	3	5,2	3,98	1150,85 ± 472,58	14,5
CMT-2 ESTUDIO	8,8	20,2	6,1	7	4,72	1132,49 ± 504,77	11,4
CMT-2 CONTROL	9,4	20,8	5,1	6	4,17	1126,02 ± 498,49	10,8
CMT-3 ESTUDIO	8,5	19,6	8	6,4	3,66	862,36 ± 528,66	11,1
CMT-3 CONTROL	8,7	20,2	8,2	5,6	2,65	533,82 ± 401,87	11,5
CMT-4 ESTUDIO	5,2	21	6,5	10	4,24	868,29 ± 417,22	15,8
CMT-4 CONTROL	6,7	21,3	9,5	7,3	3,25	1028,81 ± 429,30	14,6
CMT-5 ESTUDIO	7,8	16,8	8,5	8,2	4,94	789,00 ± 565,20	9
CMT-5 CONTROL	8,3	16,4	8,1	6,6	5,03	795,64 ± 515,46	8,1

Tabla 6.5.: Datos radiológicos recogidos de la comparación de las TC. Las medidas de altura y anchura están expresadas en mm. Las medidas de volumen son cc. y la densidad en UH.

6.4.1. Relación altura clínica intraoperatoria con la altura radiológica de la reconstrucción a los 4 meses

El incremento de altura del análisis radiológico a los 4 meses en relación a la altura quirúrgica conseguida con la reconstrucción es discretamente favorable al lado estudio aunque la diferencia no es estadísticamente significativa.(Gráfico 6.3.)

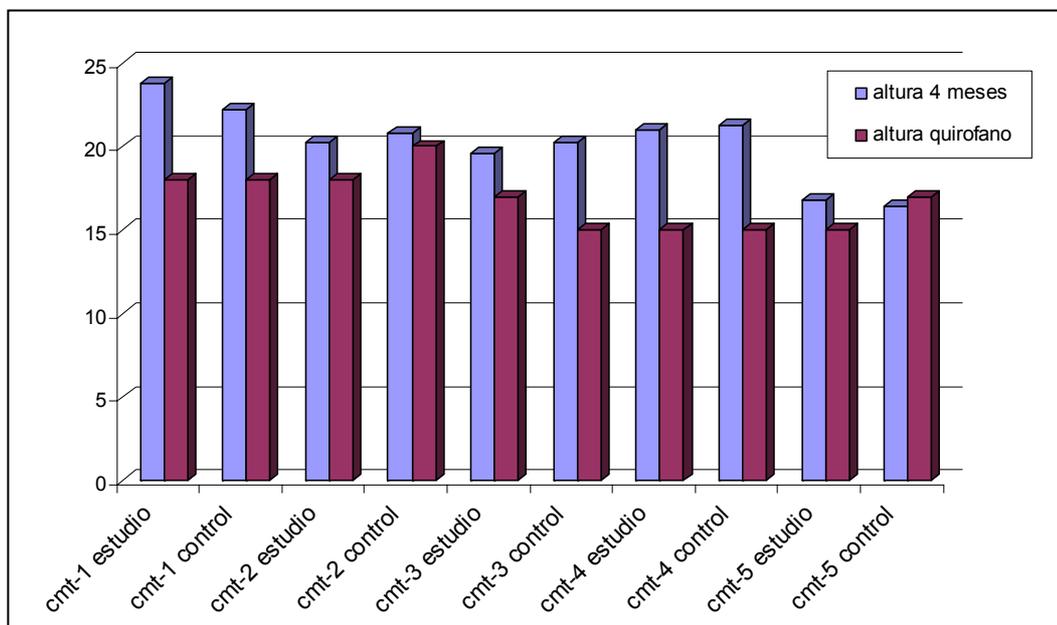
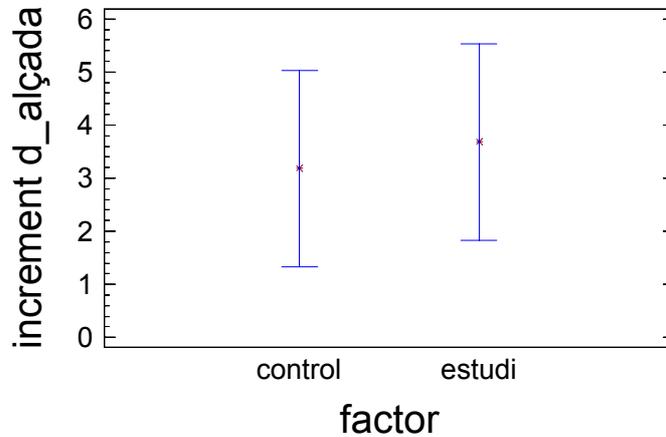


Gráfico 6.3.: Alturas comparativas entre el lado estudio y lado control, el día de la reconstrucción (altura quirófano) con la altura radiológica por TC a los 4 meses (altura 4 meses).

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para increment d_alçada - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: factor	0,625	1	0,625	0,10	0,7635
RESIDUOS	51,576	8	6,447		
TOTAL (CORREGIDO)	52,201	9			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

6.4.2. Volumen de la reconstrucción

Las diferencias del volumen reconstruido son favorables al lado estudio, pero tampoco son estadísticamente significativas. (Gráfico 6.4.)

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

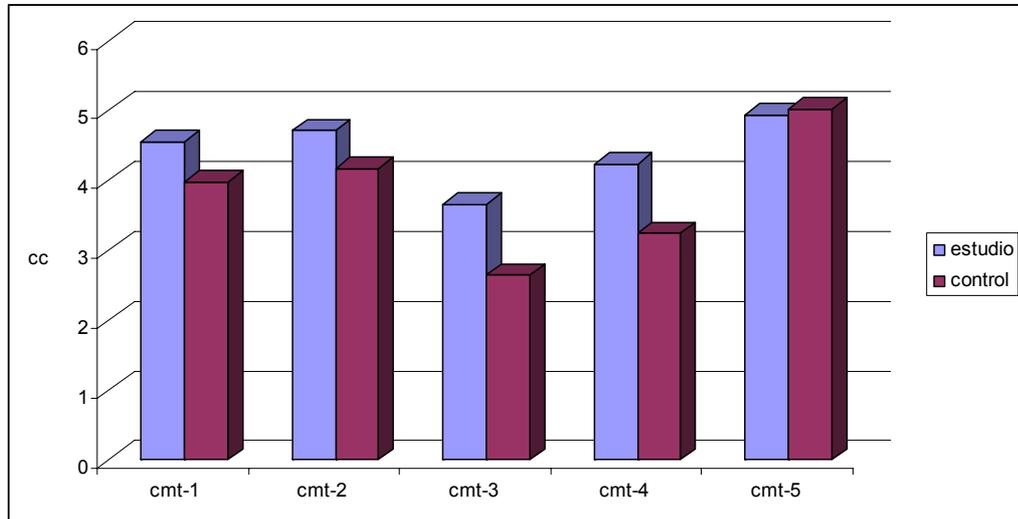
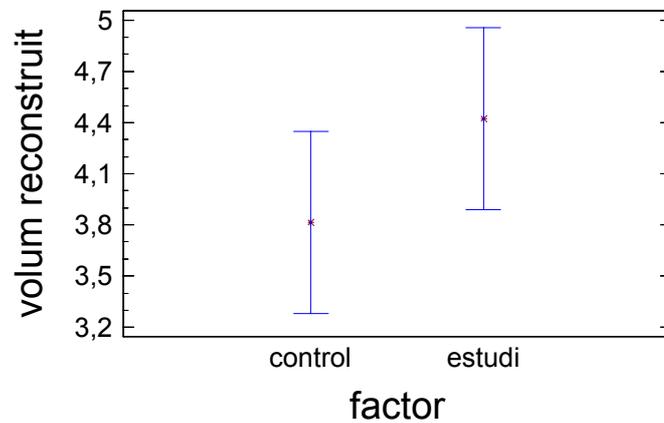


Gráfico 6.4.: Diferencias comparativas del volumen reconstruido entre el lado estudio y el lado control.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Análisis de la Varianza paravolum reconstruct - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: factor	0,92416	1	0,92416	1,72	0,2260
RESIDUOS	4,29584	8	0,53698		
TOTAL (CORREGIDO)	5,22	9			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

6.4.3. Densidades de la reconstrucción

No hay diferencias significativas en el análisis de densidades. Se ha excluido el paciente CMT-03 al sufrir una infección en el lado control. (Gráfico 6.5.)

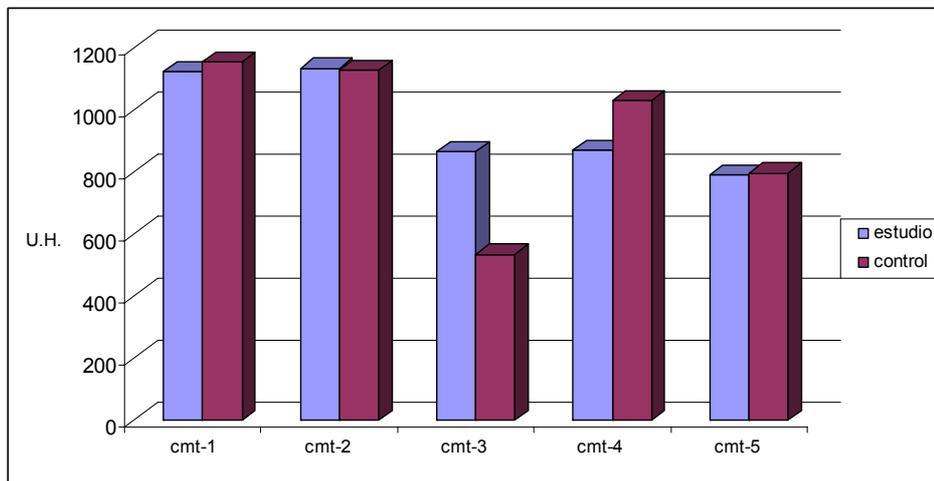
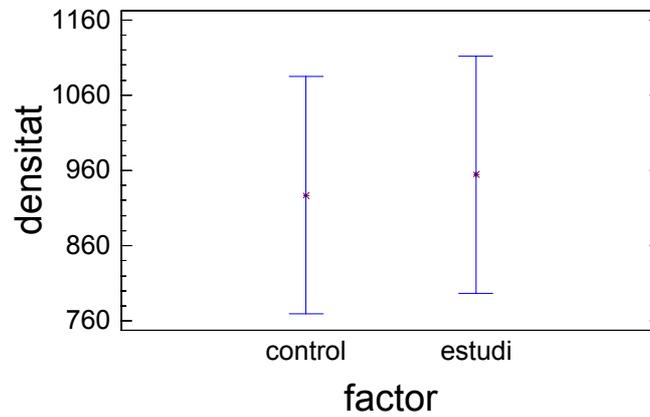


Gráfico 6.7.: Cálculo comparativo de densidades a partir de las medidas de la TC.

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para densitat - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: factor	1883,48	1	1883,48	0,04	0,8460
RESIDUOS	374391,0	8	46798,9		
TOTAL (CORREGIDO)	376275,0	9			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

6.5. Curso postoperatorio

6.5.1. Complicaciones y efectos secundarios de la obtención de células de la cresta ilíaca

Ningún paciente presentó efectos secundarios ni complicaciones en relación a la punción para obtener células de la cresta ilíaca. Como dato significativo, a parte de la dosis de analgesia inicial en el acto intraoperatorio, ningún paciente precisó de analgesia postoperatoria. (Tabla 6.6.)

**COMPLICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS
DE LA OBTENCIÓN DE CÉLULAS DE LA CRESTA ILÍACA**

	CMT-01	CMT-02	CMT-03	CMT-04	CMT-05
DOLOR	No	No	No	No	No
HEMATOMA	No	No	No	No	No
COJERA	No	No	No	No	No
NECESIDAD ANALGESIA	No	No	No	No	No

Tabla 6.6.: La punción en cresta ilíaca posterior no comportó ninguna molestia a los pacientes.

6.5.2. Complicaciones, efectos secundarios de la reconstrucción

En relación a la reconstrucción, el paciente CMT-01 presentó inflamación en el lado control y estudio. Los pacientes 3, 4 y 5 presentaron inflamación y hematoma postoperatorio en el lado control pero no en el lado estudio. La

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

paciente número 3 presentó una infección postoperatoria a las tres semanas de haber realizado la elevación sinusal en el lado control. (Tabla 6.7.) Todos los pacientes mantienen una buena salud periimplantaria y estabilidad de la reconstrucción y del tratamiento rehabilitador.

No se apreció ningún efecto secundario relacionado con la terapia celular.

COMPLICACIONES, EFECTOS SECUNDARIOS DE LA RECONSTRUCCIÓN

	CMT-1	CMT-2	CMT-3	CMT-4	CMT-5
HEMATOMA ESTUDIO	Moderado	no	No	No	No
HEMATOMA CONTROL	Moderado	no	Importante	moderado	Moderado
INFLAMACIÓN ESTUDIO	Moderado	no	No	No	No
INFLAMACIÓN CONTROL	Moderado	no	Importante	Moderado	Moderado
DOLOR ESTUDIO	No	no	Si	No	No
DOLOR CONTROL	No	no	moderado	No	No

Tabla 6.7.: Datos postoperatorios de la morbilidad de la reconstrucción del maxilar mediante la elevación sinusal.

6.6. Estudio histológico

Se obtuvieron 40 muestras de biopsia de los 5 pacientes tratados, desechando 5 de ellas puesto que se estropearon durante el proceso de manipulación, al retirar el cilindro de hueso de la trefina, no pudiendo conservar íntegra la estructura

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

ósea para obtener los datos para la histomorfometría. Después del procesado de datos se obtuvieron resultados histológicos e histomorfométricos.

6.6.1. Histología descriptiva

En las muestras analizadas se apreció una buena formación de hueso maduro con estructura trabecular, con abundante tejido osteoide recubierto por osteoblastos, con frecuencia rodeando a restos del biomaterial. Se observaron lagunas osteocitarias en hueso maduro con osteocitos vivos en su interior, abundante tejido conectivo y fenómenos de remodelado con osteoclastos en las lagunas de Howship. (Fig. 6.1., 6.2. y 6.3.)

No se pudo apreciar diferencias claras entre las muestras analizadas, excepto en la ausencia de biomaterial en las muestras correspondientes a hueso normal no reconstruido.

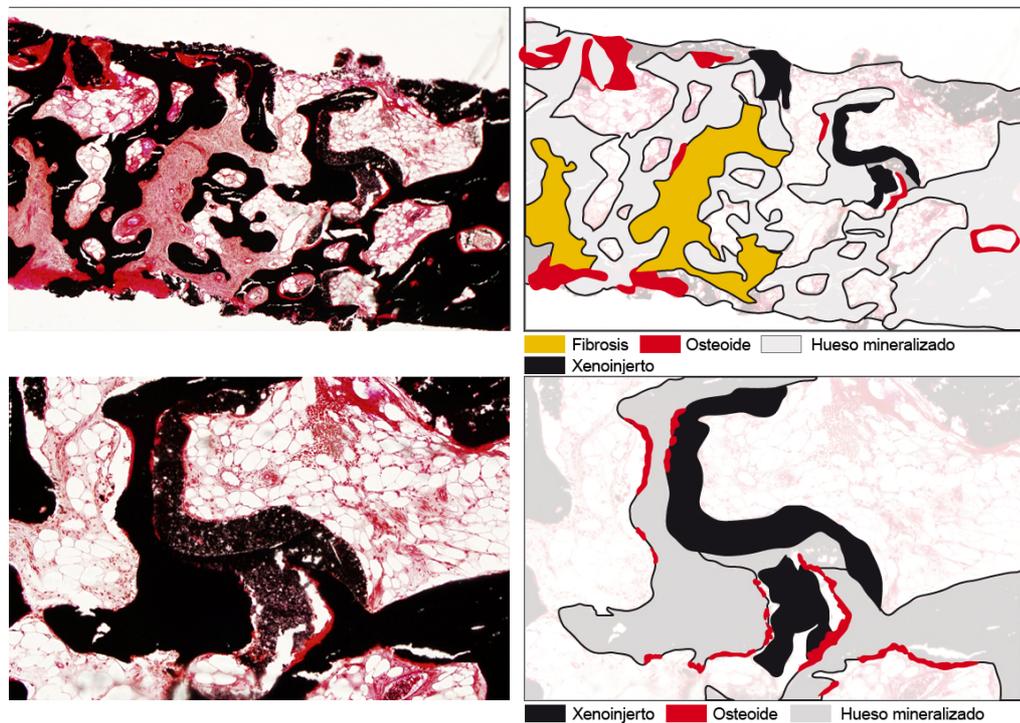
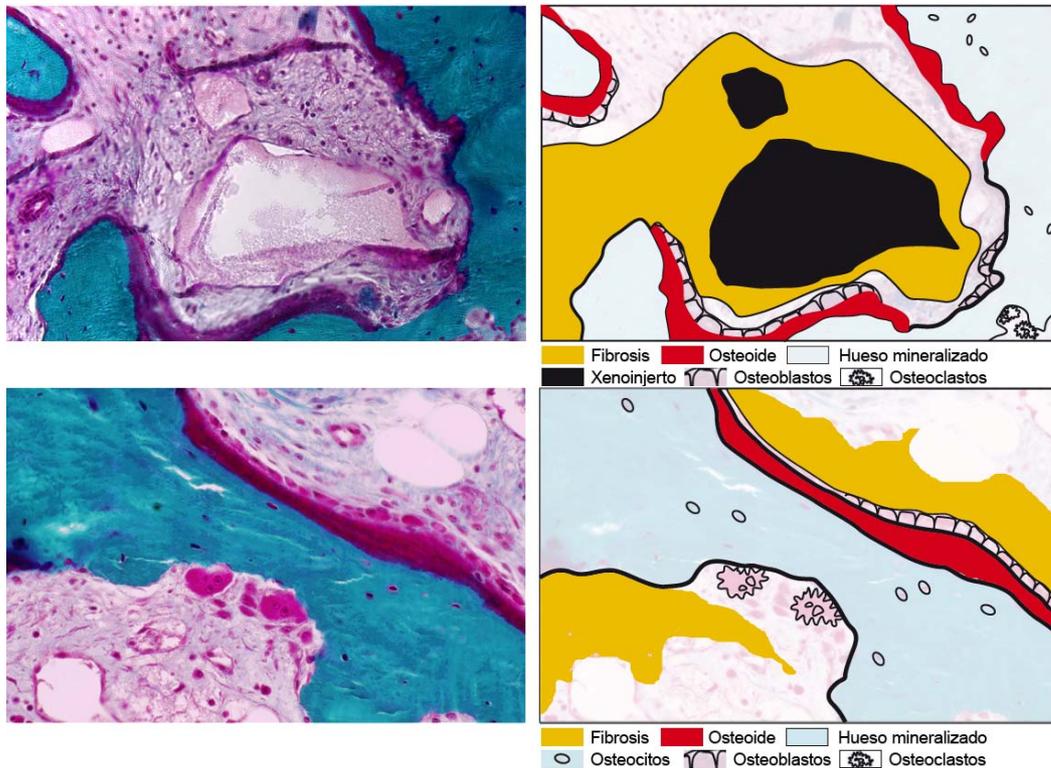


Fig. 6.1.: Preparaciones con la tinción de von Kossa. Al lado de cada imagen se representa un esquema de los distintos elementos que observamos en la preparación.

En la primera imagen se representa el cilindro de la biopsia, a 10 aumentos, observando la una gran actividad celular con la formación de hueso mineralizado, áreas de fibrosis y actividad de hueso osteoide.

La segunda imagen es un detalle de la primera, a 20 aumentos, en donde podemos observar el fenómeno de la osteoconducción con el crecimiento del hueso a partir de las partículas del biomaterial.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales



Se observa la formación de hueso maduro con lagunas osteocitarias con osteocitos vivos en su interior, la formación de osteoide con osteoblastos en empalizada y tejido conectivo, siendo éste último, signo de actividad celular al estar alrededor de los lugares de mayor formación ósea. También se aprecian restos de partículas del biomaterial y fenómenos de remodelado con osteoclastos formando las lagunas de Howship.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

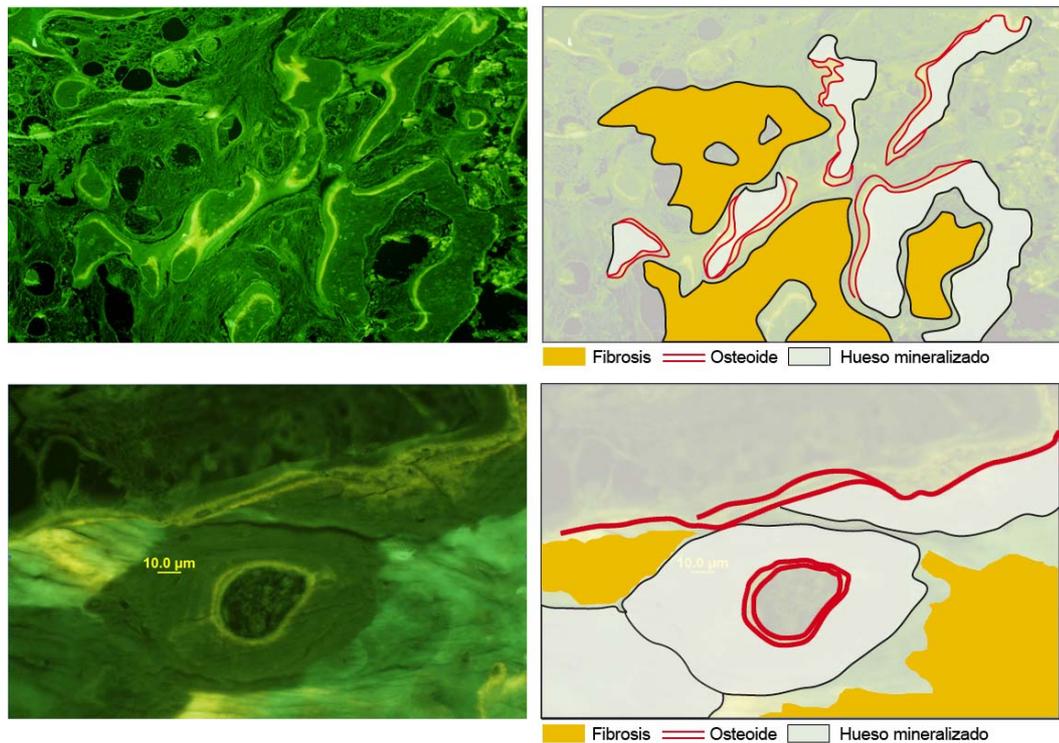


Fig. 6.3.: Preparaciones con el microscopio de fluorescencia, a 20 aumentos la primera imagen y a 40 aumentos la segunda. Al lado de cada imagen se representa un esquema de los distintos elementos que observamos en la preparación. Con el microscopio de fluorescencia estudiamos el frente de mineralización, la interfase de osteoide con el hueso mineralizado.

En la primera imagen se observan muchos marcajes, lo que indica mucha superficie trabecular que está muy activa, mineralizando. La doble línea de osteoide indica la captación por este tejido de las tetraciclinas y de la nueva captación que se tiene lugar 7 días más tarde con la segunda toma de las mismas, pudiendo calcular de esta manera la tasa de formación de nuevo hueso.

En la segunda imagen se aprecia la formación de una osteona.

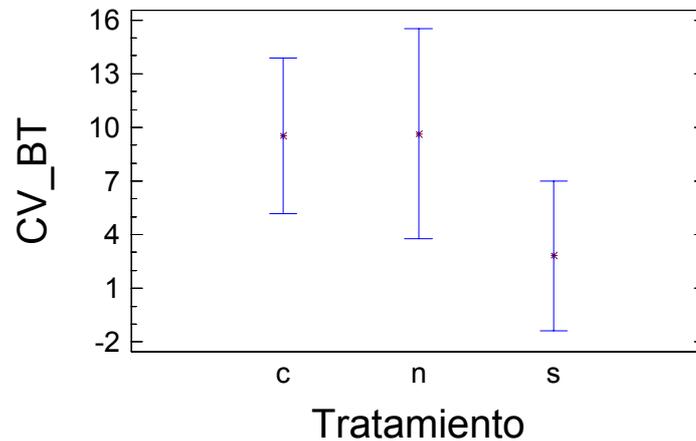
6.6.2. Análisis histomorfométrico

El análisis de los resultados, con una técnica ANOVA de medidas repetidas con criterio de significación de una $p < 0,05$, no muestra ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos. El grupo estudio (s), que es un sector posterior del maxilar reconstruido con MSCs y BO, el grupo control (c) que es el sector posterior del maxilar reconstruido con BO y el tercer grupo que son las muestras de hueso nativo-normal (n) no reconstruido de los sectores anteriores del maxilar superior, sin atrofia, en los casos en los que se colocaron implantes en dicho nivel.

A pesar de no obtener diferencias significativas, si que se observan algunas tendencias estadísticas, que posiblemente tendrían relevancia con una mayor amplitud de la muestra.

— Volumen cortical (CV/BT):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para CV_BT - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	401,058	2	200,529	1,61	0,2166
B: Paciente	1094,92	4	273,731	2,20	0,0931
RESIDUOS	3735,91	30	124,53		
TOTAL (CORREGIDO)	5242,84	36			

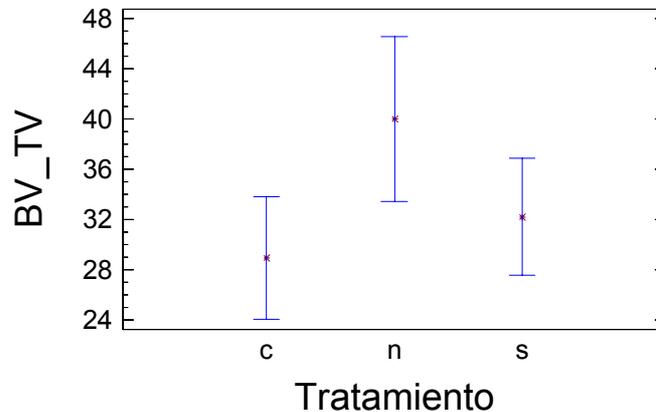
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Con relación al volumen de hueso cortical no hay diferencias significativas en ninguna de las tres muestras, pero si que se aprecia una tendencia a tener menos cantidad en la muestra estudio.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Volumen trabecular (BV/TV):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para BV_TV - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	587,749	2	293,874	1,91	0,1651
B: Paciente	3249,99	4	812,499	5,29	0,0024
RESIDUOS	4607,06	30	153,569		
TOTAL (CORREGIDO)	8083,75	36			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

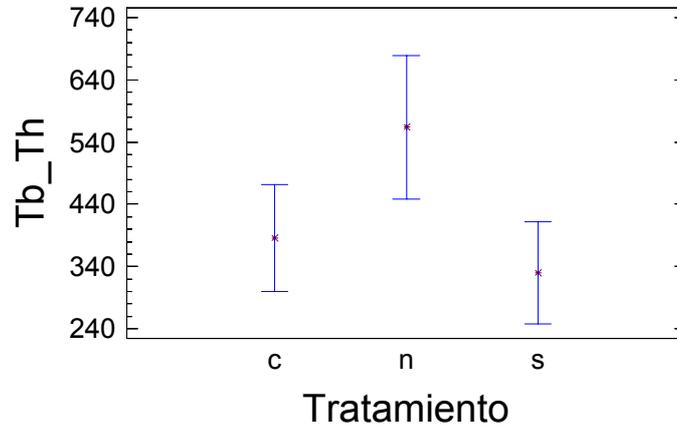
La tendencia en la cantidad de hueso trabecular es mayor en el hueso alveolar de la premaxila que en los sectores reconstruidos, en los que se aprecia una leve diferencia, a favor del lado estudio en frente al control, en la formación de nuevo hueso trabecular.

El valor medio es, en el hueso nativo de la premaxila de 36,2% (± 18), en el control de 29,6% ($\pm 12,6$) y en el lado estudio de 32% ($\pm 15,4$).

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Espesor trabecular (Tb.Th):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para Tb_Th - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	273704,0	2	136852,0	2,07	0,0723
B: Paciente	1,03171E6	4	257927,0	5,41	0,0021
RESIDUOS	1,43038E6	30	47679,2		
TOTAL (CORREGIDO)	2,74639E6	36			

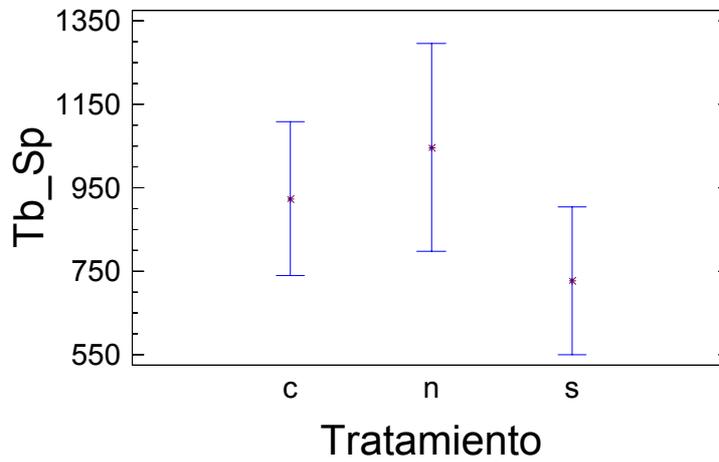
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Hay mayor grosor trabecular en el hueso nativo que en los sectores reconstruidos.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Separación trabecular (Tb.Sp):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para Tb_Sp - Sumas de Cuadrados de Tipo III

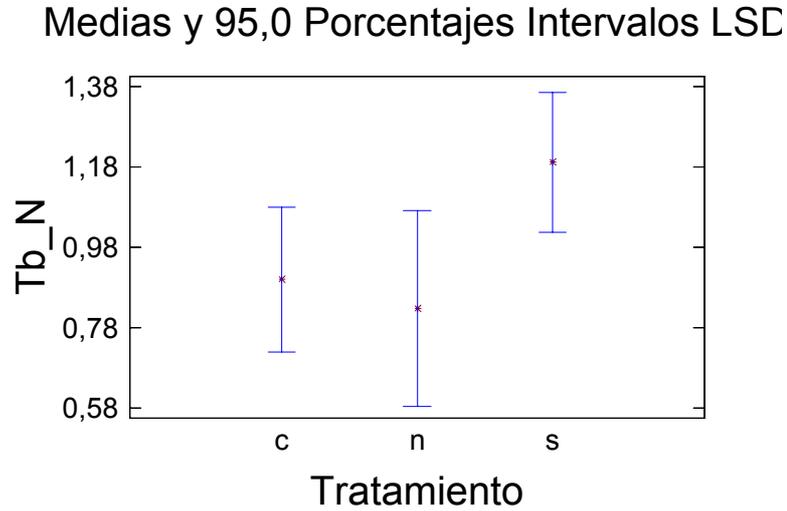
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	574957,0	2	287478,0	1,30	0,2877
B: Paciente	1,88652E6	4	471629,0	2,13	0,1014
RESIDUOS	6,63913E6	30	221304,0		
TOTAL (CORREGIDO)	9,37338E6	36			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Hay menor separación entre trabéculas en el lado estudio frente al control y al hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Índice trabecular (Tb.N):



Análisis de la Varianza para Tb_N - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	0,908354	2	0,454177	2,13	0,1362
B: Paciente	2,04823	4	0,512057	2,40	0,0717
RESIDUOS	6,39019	30	0,213006		
TOTAL (CORREGIDO)	9,48551	36			

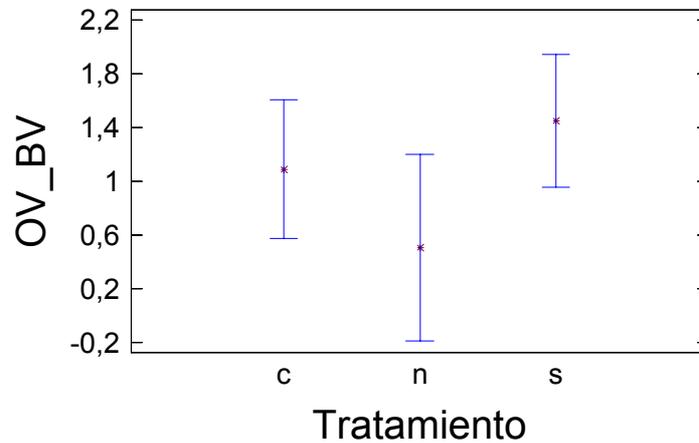
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El resultado del índice trabecular traduce un mayor número de trabéculas en el lado estudio frente al control y al hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Volumen de osteoide (OV/BV):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para OV_BV - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	4,4262	2	2,2131	1,28	0,2916
B: Paciente	39,0632	4	9,76581	5,67	0,0016
RESIDUOS	51,697	30	1,72323		
TOTAL (CORREGIDO)	94,762	36			

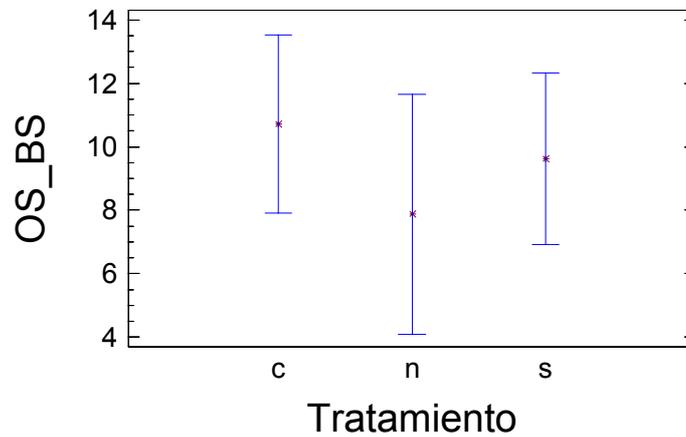
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El grupo estudio, con MSCs y BO, presenta un mayor volumen de osteoide que el grupo control y que el hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Superficie de osteoide (OS/BS):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para OS_BS - Sumas de Cuadrados de tipo III

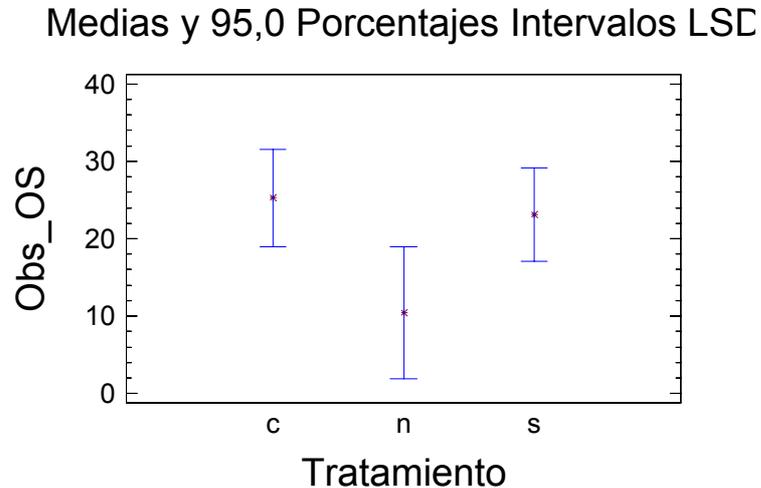
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	38,714	2	19,357	0,38	0,6892
B: Paciente	519,976	6	86,663	2,53	0,0611
RESIDUOS	1541,12	30	51,3707		
TOTAL (CORREGIDO)	2102,52	36			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Prácticamente no hay diferencia entre los grupos estudio y control en relación a la superficie de osteoide que ocupa la superficie de las trabéculas, aunque sí es mayor que en el hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Superficie osteoblástica (Obs/OS):



Análisis de la Varianza para Obs_OS - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	1132,76	2	566,38	2,18	0,1308
B: Paciente	8300,05	4	2075,01	7,98	0,0002
RESIDUOS	7800,66	30	260,022		
TOTAL (CORREGIDO)	17326,8	36			

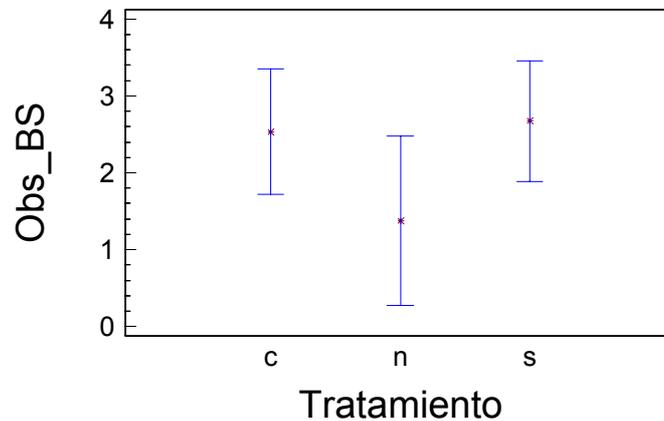
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Aquí también los grupos de estudio y control presentaron una mayor superficie de osteoide recubierto con osteoblastos (referido a la superficie trabecular recubierta por osteoide total, con y sin osteoblastos) que el hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Superficie osteoblástica (Obs/BS)

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSC



Análisis de la Varianza para Obs_BS - Sumas de Cuadrados de Tipo III

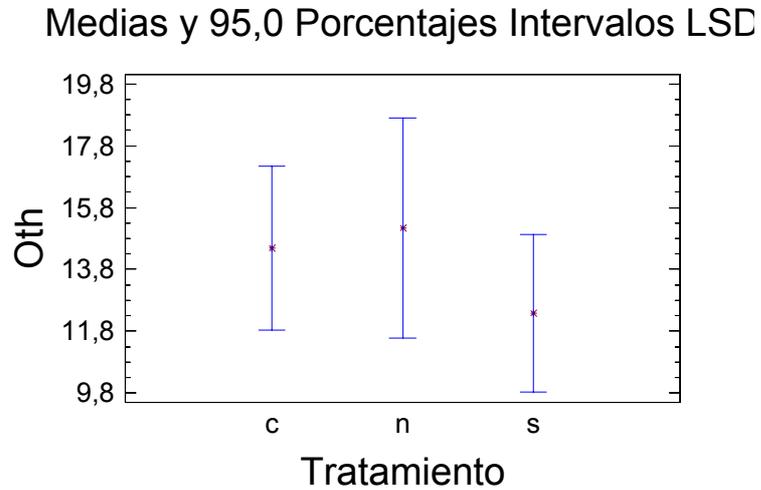
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	9,03077	2	4,51539	1,04	0,3674
B: Paciente	210,107	4	52,5266	12,05	0,0000
RESIDUOS	130,813	30	4,36043		
TOTAL (CORREGIDO)	351,789	36			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Exactamente la misma observación que en apartado anterior. Aquí existe una mayor superficie de osteoide recubierta por osteoblastos referida a la superficie total trabecular en los grupos estudio y control en frente al hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Espesor ribetes de osteoide (Oth):



Análisis de la Varianza para Oth - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	49,7733	2	24,8867	0,54	0,5866
B: Paciente	284,167	4	71,0418	1,55	0,2132
RESIDUOS	1375,04	30	45,8348		
TOTAL (CORREGIDO)	1718,08	36			

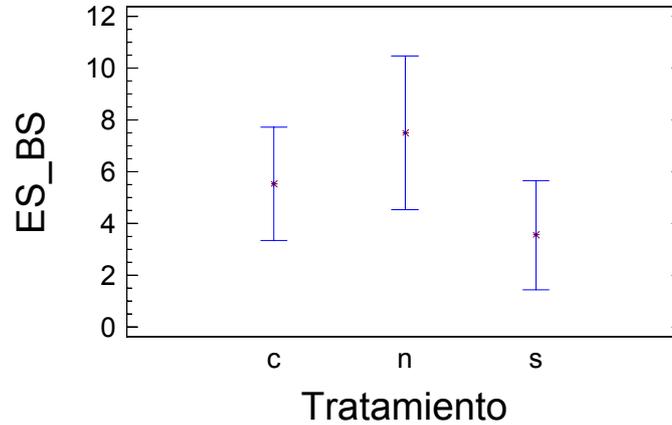
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Tampoco hay grandes diferencias entre los tres grupos en relación al espesor de los ribetes de osteoide, aunque el grupo estudio tiene un menor espesor.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Superficie de reabsorción (ES/BS):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para ES_BS - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	80,9916	2	40,4958	1,29	0,2911
B: Paciente	625,004	4	156,251	4,96	0,0034
RESIDUOS	944,565	30	31,4855		
TOTAL (CORREGIDO)	1634,2	36			

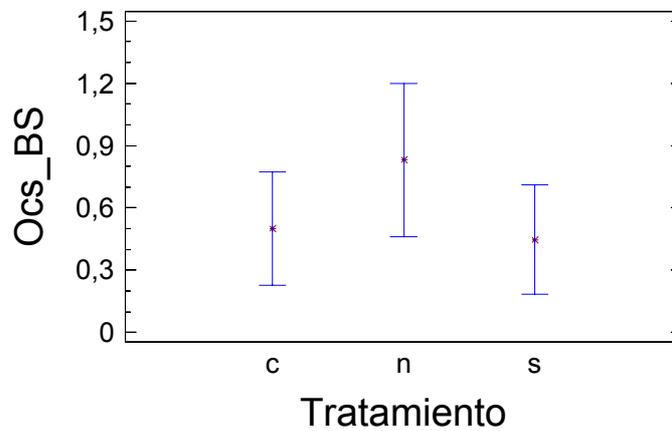
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

La superficie de reabsorción es la superficie que ocupan las lagunas de Howship en la superficie total de las trabéculas. Es discretamente menor en el grupo de estudio que en el grupo control y también en el hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Superficie con osteoclastos (Ocs/BS):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para Ocs_BS - Sumas de Cuadrados de Tipo III

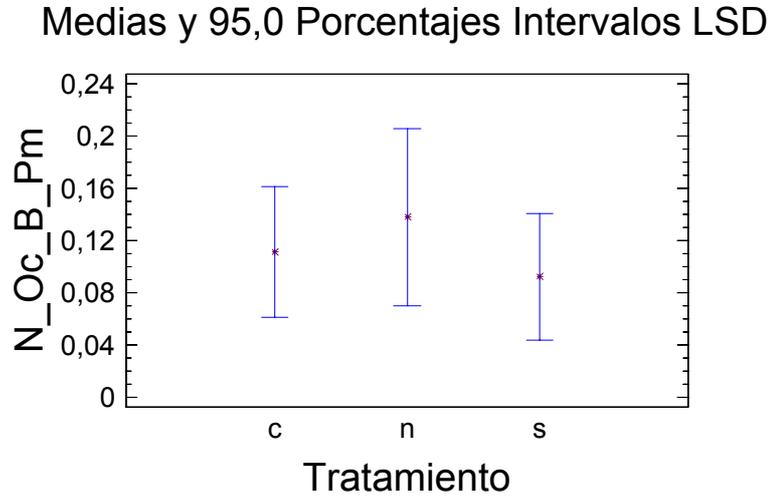
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	0,778925	2	0,389463	0,80	0,4599
B: Paciente	7,25617	4	1,81404	3,71	0,0143
RESIDUOS	14,6545	30	0,488482		
TOTAL (CORREGIDO)	22,4313	36			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Se observa menor cantidad de superficie trabecular con osteoclastos en los sectores reconstruidos que en el hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Índice osteoclástico (NOc/BPm):



Análisis de la Varianza para N_{Oc}/B_{Pm} - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	0,0104163	2	0,00520817	0,32	0,7304
B: Paciente	0,397893	4	0,0994732	6,06	0,0011
RESIDUOS	0,492198	30	0,0164066		
TOTAL (CORREGIDO)	0,897745	36			

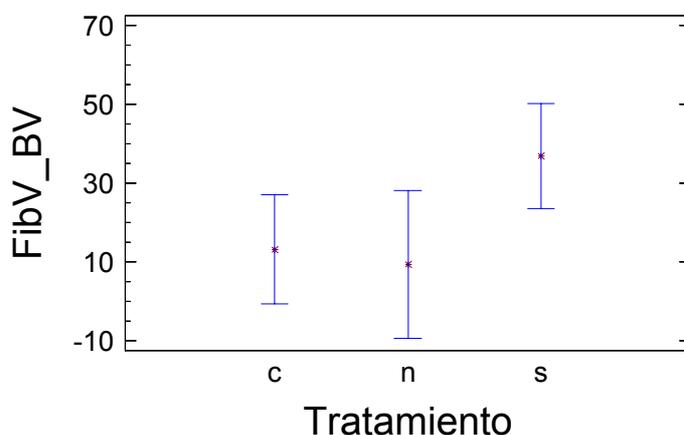
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El índice osteoclástico es la relación entre el número de osteoclastos y el perímetro trabecular total, en el que no hay prácticamente ninguna diferencia entre los dos grupos control y estudio, pero si una muy discreta tendencia a ser menor en el grupo estudio.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Volumen de fibrosis (FibV/BV):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSC



Análisis de la Varianza para FibV_BV - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	5605,21	2	2802,61	2,23	0,1248
B: Paciente	20656,5	4	5164,12	4,11	0,0090
RESIDUOS	37666,2	30	1255,54		
TOTAL (CORREGIDO)	63440,3	36			

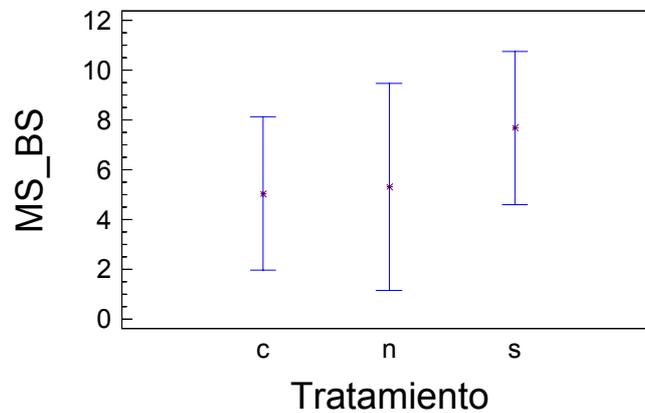
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El volumen de fibrosis está más aumentado en el grupo estudio que en los otros dos. El valor medio es de 13,49% ($\pm 18,67$) en el hueso nativo, de 17,28 ($\pm 18,58$) en el lado control y de 39,70 ($\pm 60,58$) en el lado estudio.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Superficie de mineralización (MS/BS):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSE



Análisis de la Varianza para MS_BS - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	34,9462	2	27,4731	0,45	0,6428
B: Paciente	484,644	4	121,161	1,98	0,1241
RESIDUOS	1775,26	29	61,216		
TOTAL (CORREGIDO)	2315,26	35			

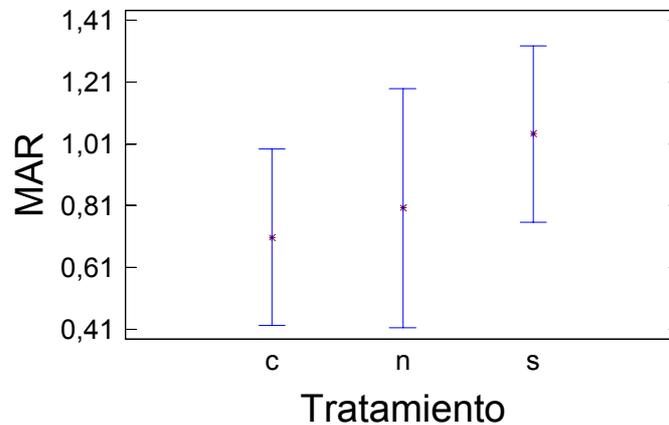
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

La superficie de mineralización (con marcajes de tetraciclina) está discretamente aumentada en el grupo estudio frente a los grupos control y hueso nativo, que son iguales.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Grado de aposición ósea (MAR):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza para MAR - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	0,807598	2	0,403799	0,76	0,4749
B: Paciente	3,98265	4	0,995662	1,88	0,1401
RESIDUOS	15,3265	29	0,5285		
TOTAL (CORREGIDO)	20,05	35			

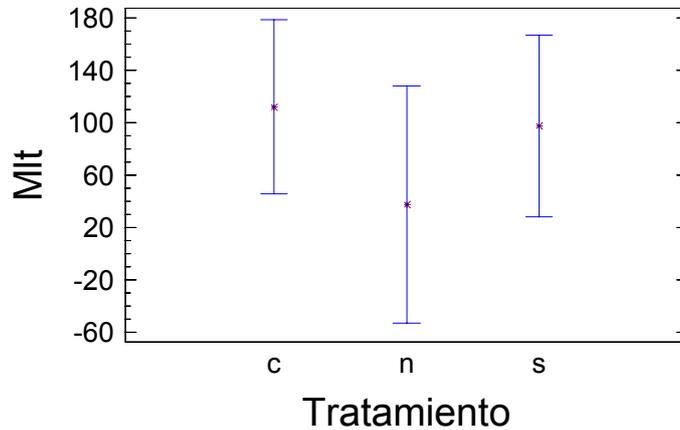
Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El MAR es un parámetro dinámico que indica la cantidad de hueso mineralizado que se deposita por unidad de tiempo. El MAR es mayor en el grupo estudio que en el grupo control y mayor que en el hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Tiempo medio de retardo de la mineralización (Mlt):

Medias y 95,0 Porcentajes Intervalos LSD



Análisis de la Varianza paraMlt - Sumas de Cuadrados de Tipo III

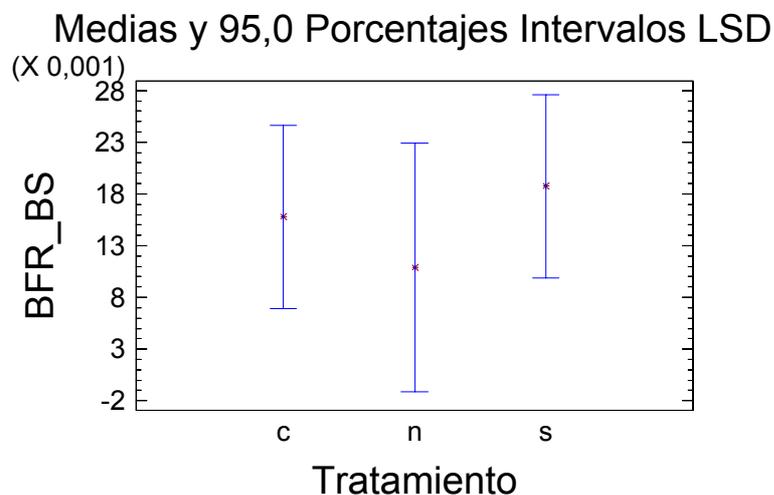
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	27544,5	2	13772,3	0,48	0,6251
B: Paciente	74628,1	4	18657,0	0,65	0,6334
RESIDUOS	807028,0	28	28822,4		
TOTAL (CORREGIDO)	897376,0	34			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El periodo de tiempo en el que el osteoide se mantiene sin mineralizar es mayor en los sectores reconstruidos que en hueso nativo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— Grado de formación ósea (BFR/BS):



Análisis de la Varianza para BFR_BS - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	0,000305462	2	0,000152731	0,30	0,7443
3: Paciente	0,00174012	4	0,000435029	0,85	0,5054
RESIDUOS	0,0148442	29	0,000511869		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0168653	35			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El grado de formación ósea es el volumen de hueso trabecular mineralizado que se forma por unidad de superficie y por unidad de tiempo. Es prácticamente igual en los tres sectores, pero muy discretamente aumentado en el lado estudio.

CAPÍTULO 7:

DISCUSIÓN

De los muchos artículos publicados sobre la reconstrucción del maxilar superior con elevaciones sinusales, la mayoría basan su valoración en criterios clínicos y radiológicos y pocos lo hacen en estudios histológicos e histomorfométricos. De estos estudios los más destacados son los de A. Scarano que, sobre un total de 94 pacientes y 144 elevaciones sinusales, realiza una extensa revisión de 9 biomateriales, obteniendo cifras variadas de formación de hueso nuevo entre el 30-40 %, concluyendo que con pequeñas diferencias todos los biomateriales tienen una buena biocompatibilidad, que consiguen una buena formación de nuevo hueso siendo, quien tiene los mejores datos histomorfométricos, el hueso autólogo⁵⁴.

Z. Schwartz estudia diversas mezclas de aloinjerto con otros biomateriales, obteniendo resultados histomorfométricos superiores con la mezcla de aloinjerto y ácido hialurónico, aunque la mezcla con hidroxiapatita bovina (Bio-Oss®) también tiene buenos resultados.¹⁷³

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Se han publicado datos histomorfométricos favorables al aloinjerto con hueso autólogo, ¹⁷⁴a la hidroxiapatita bovina (Bio-Oss®) mezclado con hueso autólogo¹⁷⁵, al hueso autólogo de calota frente a injerto de cresta ilíaca¹⁷⁶, la no diferencia entre la utilización de hidroxiapatita bovina o mezclada con hueso autólogo¹⁷⁷, la efectividad de los copolímeros de PLA/PGA (Fisiograft®) ¹⁷⁸ y las pocas diferencias entre aloinjerto, la hidroxiapatita coralina y bovina mezcladas todas ellas con hueso autólogo y PRP¹⁷⁹

Sólo unos pocos estudios basados en el análisis histomorfométrico emplean el modelo de estudios a boca partida. Con este tipo de estudios se eliminan o se minimizan al máximo algunas de las variables que condicionan los resultados¹⁸⁰ pudiendo concentrar el estudio a unas pocas variables, en este caso, principalmente al material de la reconstrucción.

J.T. Krauser publicó un caso de elevación sinusal bilateral, en un lado utilizó un xenoinjerto con hueso autólogo e hizo la biopsia a los 8 meses. En el lado contrario utilizó un xenoinjerto con un péptico sintético, el P-15 e hizo la biopsia a los 4 meses. A pesar de la diferencia de meses en la maduración del hueso las cifras de hueso vital fueron similares en los dos grupos, 16% en el xenoinjerto con hueso autólogo y 14% en el xenoinjerto con el P-15.¹⁸¹

D Smiler publica un caso de elevación sinusal bilateral, reconstruyendo un seno con una mezcla de xenoinjerto y aloinjerto y el otro seno con la misma mezcla a la que se ha añadido el péptico sintético P-15. La histomorfometría demuestra un porcentaje de hueso vital del 45% en la mezcla de la reconstrucción con P-15 y de un 13% en el contralateral ¹⁸²

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

M Peleg publicó un estudio sobre 156 elevaciones sinusales, 38 de las cuales eran bilaterales, que reconstruyó de forma diferente según el lado, uno con hueso autólogo y el otro lado con una mezcla de xenoinjerto (Bio-Oss®) con hueso autólogo. Realizó controles clínicos y de supervivencia de los implantes concluyendo que la mezcla de xenoinjerto con hueso autólogo es efectiva para la reconstrucción maxilar. Entre los 4-8 meses realizó la toma de biopsia apreciando un hueso esponjoso bien formado con ribetes de osteoide y con una tasa de formación de hueso nuevo global del 27-36%, aunque no da los datos comparativos.¹⁸³

G Szabó en 20 pacientes que precisan elevación bilateral reconstruye un lado con TCP β y el contrario con hueso autólogo. A los 6 meses, al instalar los implantes, realiza la toma de 80 biopsias. Observa un nuevo hueso formado similar en todas las biopsias, con volumen óseo de 36,47% \pm 6,9 en el lado del TCP β y de 38,34% \pm 7,4 en el lado del hueso autólogo, no presentando diferencias significativas entre ambos lados.¹⁸⁴

Por último SJ Froum publicó un estudio a boca partida, a doble ciego y aleatorio, sobre 13 pacientes en los que realizó una elevación sinusal bilateral, reconstruyendo un lado con un aloinjerto (Puros®) y el contrario con un xenoinjerto (Bio-Oss®). Entre los 6 y 8 meses se tomaron muestras de biopsias apreciando una mayor cantidad de hueso con osteoide rodeando a las partículas de biomateriales y una formación de hueso del 35,9% (siendo vital un 28,25%) en el aloinjerto y un 12,44% (siendo vital el 12,44%) en el xenoinjerto, concluyendo que el material mejor de injerto es el aloinjerto¹⁸⁰.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

En nuestro estudio sobre 5 pacientes, a los 4 meses de la reconstrucción se observó una formación de hueso del 29,6% en el xenoinjerto (BO) i del 32% con el xenoinjerto y las células madre mesenquimales (BO + MSCs).

Como vemos nuestros datos se correlacionan bien con los datos publicados en la literatura, en los que se aprecia una correcta formación de hueso después de la elevación del seno maxilar con diversos biomateriales. (Tabla 7.1)

	Nº CASOS	MATERIAL	TIEMPO	HUESO FORMADO	DIFERENCIAS
KRAUSER 2000	1	Xeno-autoinjerto/ xeno+P-15	8 meses 4 meses	16% 14%	No valorable
SMILER 2001	1	Xeno-aloinjerto/ idem+P-15	4 meses	13% 45%	No valorable
PELEG 2004	38	Xeno-autoinjerto/ autoinjerto	4-8 meses	27- 36 %	No diferencias
SZABÓ 2005	20	TCP β / autoinjerto	6 meses	36,47% 38,34%	No diferencias
FROUM 2006	13	Aloinjerto/ xenoinjerto	6-8 meses	35,9% 12,44%	Mejor aloinjerto
MARTÍ 2008	5	Xenoinjerto/ xenoinjerto + MSCs	4 meses	29,6% 32%	No diferencias

Tabla 7.1.: Tabla comparativa de diversos estudios de reconstrucciones maxilares con elevaciones sinusales con el procedimiento de boca partida, en los que se han realizado estudios histomorfométricos

A pesar que los estudios de boca partida disminuyen la variabilidad, como vemos los criterios de valoración son muy dispares, no pudiendo extraer conclusiones de las comparaciones entre los estudios, además, son pocos los estudios

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

realizados, los materiales son diferentes, los tiempos de evaluación inconstantes, siendo este dato muy importante cuando se trata de valorar la formación de nuevo hueso y los siendo los parámetros histomorfométricos utilizados equívocos. Aunque hay diferencias de procedimientos con nuestro estudio, a nivel del tiempo y de los criterios de evaluación, nuestros resultados se correlacionan bien con los descritos. A pesar de que el tiempo de evaluación es más corto que los estudios de Szabo, Froum, Smiler, Krauser, e igual al del estudio de Peleg, la tasa de formación de nuevo hueso se relaciona bien con estos estudios, tanto en la reconstrucción con BO y MSCs como con el BO.

Nuestro trabajo tiene una ventaja importante frente a los estudios revisados. La obtención de las muestras nos ofrece una oportunidad única para analizar los fenómenos del metabolismo óseo que se producen en el seno maxilar a los 4 meses de haber realizado el injerto, al comparar el lado control, el lado estudio y poder comparar ambos resultados con el metabolismo normal de zonas del maxilar no reconstruidas en cada individuo en concreto.

Aunque es un dato muy importante, en nuestro estudio no solo nos planteamos cuantificar la cantidad de hueso formado, como realizan en la mayoría de estudios histomorfométricos de reconstrucciones de seno maxilar referenciados, sino que al realizar una histomorfometría completa, nos permite estudiar el resto de fenómenos que acontecen en el proceso de osteoconducción, de integración y de remodelación del injerto en el seno maxilar. No hemos encontrado estudios publicados en los que hayan realizado una histomorfometría completa, por lo que los análisis comparativos son muy difíciles de realizar.

Obtuvimos 35 muestras de biopsia, de los 5 pacientes tratados, para evaluar con la histomorfometría. Al analizar el estudio histomorfométrico observamos leves

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

diferencias entre las muestras, pero tras el análisis estadístico de las mismas, entre el lado control y el estudio, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas, pero tampoco se apreciaron diferencias con los datos obtenidos en el hueso nativo, no reconstruido, de la parte anterior del maxilar superior. Esto nos indica que la reconstrucción del maxilar superior con la técnica de elevación sinusal da unos buenos resultados, en el lado control y en el lado estudio, equiparando la calidad del hueso obtenido al hueso nativo del maxilar anterior. Este dato es relevante sobre todo si tenemos en cuenta que la calidad de hueso del maxilar posterior es inferior, en condiciones normales, a la del maxilar anterior, y especialmente en aquellos casos en los que hay una atrofia de la región posterior que condicionará la realización de la reconstrucción.¹⁸⁵

Analizaremos por separado los diversos parámetros estudiados.

— En relación al volumen de hueso cortical:

Se aprecia una tendencia a tener menos cantidad en la muestra estudio. La colocación de hueso a nivel del seno maxilar produce mayoritariamente gran cantidad de hueso esponjoso, con muy poca cantidad de hueso cortical que se halla principalmente a nivel del reborde alveolar. Esta hecho, al ser menor en el grupo estudio, podría ser debido a dificultades técnicas en la obtención y procesado de la biopsia al perderse el ribete de hueso cortical del reborde alveolar del maxilar superior.

— La tendencia en la cantidad de hueso trabecular:

Es mayor en el hueso alveolar de la premaxila que en los sectores reconstruidos, en los que se aprecian una discreta diferencia a favor del lado estudio en la

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

formación de nuevo hueso trabecular. Posiblemente la formación del nuevo hueso trabecular está mayoritariamente influenciada por la capacidad osteoconductora del biomaterial y es probable que todavía no haya transcurrido el tiempo suficiente para que los grupos de estudio con BO y MSCs (algo superior) y el grupo tratado solo con BO consigan el volumen óseo que tiene el hueso nativo.

El valor medio es en el hueso nativo de la premaxila de 36,2% (± 18), en el control de 29,6% ($\pm 12,6$) y en el lado estudio de 32% ($\pm 15,4$).

— En relación a la morfología de las trabéculas:

El mayor grosor trabecular en el hueso nativo que en los sectores reconstruidos, nos indica una menor estimulación de la dinámica ósea en el nuevo hueso neoformado, siendo por tanto el grosor de las trabéculas formadas de nuevo menor que el grosor de aquellas trabéculas que ya han realizado una función.

La menor separación entre trabéculas que se aprecia en el lado estudio frente al control y al hueso nativo traduce la probable mayor actividad celular en el lado estudio, con la formación de mayor cantidad de trabéculas y con el consiguiente menor espacio entre las mismas.

El resultado del índice trabecular traduce un mayor número de trabéculas en el lado estudio frente al control y al hueso nativo, reflejando la mayor actividad de las células madre en la formación de hueso trabecular.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

En resumen en el grupo estudio con BO y MSCs existe mayor número de trabéculas con mayor conexión intertrabecular, pero son más delgadas. Esto indica que la arquitectura ósea de este grupo está más conservada y por lo tanto es menos frágil.

— En relación a la formación de osteoide:

El mayor volumen de osteoide del grupo estudio podría ser debido a que las células inyectadas provocarían una mayor formación de osteoblastos con un aumento en la formación de los ribetes de osteoide.

Los grupos estudio y control tienen mayor superficie de osteoide que el hueso nativo lo que significa una mayor formación de nuevo tejido óseo.

Los grupos estudio y control presentaron una mayor superficie de osteoide recubierto con osteoblastos, tanto referida a la superficie trabecular como referida a la superficie de osteoide, que el hueso nativo, lo que indicaría una mayor actividad de formación ósea en frente a la actividad del hueso nativo, que es menor.

Tampoco hay grandes diferencias entre los tres grupos en relación al espesor de los ribetes de osteoide, indicando una actividad de formación de hueso de una calidad similar entre los grupos, aunque el grupo estudio tratado con BO y MSCs tiene un menor espesor.

En resumen el lado estudio forma más osteoide con mayor superficie pero menos grueso.

— En relación a la reabsorción:

La superficie de reabsorción, que es la superficie que ocupan las lagunas de Howship en la superficie total de las trabéculas, es discretamente menor en el grupo de estudio que en el grupo control y ambos también menores que el hueso nativo. Los osteoclastos tienen su origen a partir de las células mononucleares hematopoyéticas sin ser influenciadas por las células madre mesenquimales, siendo lógico encontrar inicialmente una discreta menor actividad osteoclástica en el lado impregnado de células madre mesenquimales.

La menor cantidad de superficie trabecular con osteoclastos la observamos en los sectores reconstruidos frente al hueso nativo, así como el menor índice osteoclástico, en los que no hay prácticamente ninguna diferencia entre los dos grupos control y estudio salvo una muy discreta tendencia a ser menor en el grupo estudio.

Estos datos denotarían un aumento de formación ósea con menos reabsorción inicial en el lado estudio aunque también en el control, frente a la actividad osteoclástica del hueso nativo.

El volumen de fibrosis está aumentado en el grupo estudio frente a los otros dos, lo que indicaría un mayor aporte de células que darían lugar a una mayor actividad celular. El valor medio es de 13,49% ($\pm 18,67$) en el hueso normal, de 17,28 ($\pm 18,58$) en el lado control y de 39,70 ($\pm 60,58$) en el lado estudio.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

— En relación a los parámetros dinámicos:

La superficie de mineralización está discretamente aumentada en el grupo estudio frente a los grupos control y normal, que son iguales, lo que indicaría un número mayor de unidades de remodelación ósea activas en el grupo estudio, indicando también una mayor actividad celular.

El MAR es mayor en el grupo estudio que en el grupo control y que en el grupo normal. Esto indica que en el grupo estudio, en el que hay más osteoide y más osteoblastos, también se deposita mayor cantidad de hueso mineralizado que en los otros dos grupos, indicando la tendencia a la mayor actividad celular formadora de hueso del lado reconstruido con células madre.

El periodo de tiempo en el que el osteoide se mantiene sin mineralizar es mayor en los sectores reconstruidos que en hueso nativo, indicando que se trata de un hueso neoformado, con un retraso en la mineralización en relación al hueso nativo o sugiriendo una lentitud en la maduración del mismo.

El grado de formación ósea es prácticamente igual en los tres sectores, pero muy discretamente aumentado en el lado estudio, indicando de nuevo un mayor número de unidades de remodelación ósea activas posiblemente mediada por las células.

En resumen, a pesar de no tener datos estadísticamente significativos, si hay unas diferencias que nos indican que tenemos una mayor actividad osteogénica en el lado estudio. Los datos que apoyan esta afirmación son que tenemos un mayor número de osteoblastos y de ribetes de osteoide que se mineralizan y dan

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

lugar a un mayor volumen óseo, de más calidad y con mayor número trabéculas delgadas, pero que están mejor conectadas entre ellas. También existe una mayor cantidad de fibrosis en el grupo estudio que en el grupo control. Estos hallazgos podrían ser atribuibles a las células madre que producirían una mayor actividad celular y por tanto también una mayor actividad formadora en el tejido óseo.

Algunos parámetros nos indican que la elevación sinusal comporta una actividad osteogénica importante sin considerar el material al no mostrar muchas diferencias entre el lado estudio y el control pero si frente al hueso nativo. Observamos una mayor formación de hueso nuevo, inmaduro, debido a una mayor actividad formadora de hueso, posiblemente influenciada por la actividad osteoconductora de biomaterial, con mucha actividad osteoide y poca reabsorción al estar en pleno proceso de formación. Esto se apoya en los datos de la superficie de osteoide, la superficie de trabéculas recubiertas de osteoide con osteoblastos cúbicos, el volumen de osteoblastos cúbicos que hay en el osteoide trabecular, la menor cantidad de superficie de osteoclastos y el periodo de tiempo en el que el osteoide se mantiene sin mineralizar.

Los parámetros en los que el hueso normal están discretamente aumentados frente al estudio y al control, son aquellos que indican un hueso maduro, con un metabolismo bien establecido, en los que los procesos de formación y de reabsorción están equilibrados frente a los procesos de neoformación ósea de los lados reconstruidos. Se traduce en un mayor espesor y volumen trabecular, un menor tiempo de mineralización y una mayor superficie de osteoclastos.

A pesar de observar estas diferencias ninguna de ellas tiene significación estadística. La ausencia de significación estadística está condicionada, sin lugar

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

a dudas, por la amplitud de la muestra. La muestra limitada fue debida a la complejidad del procedimiento, el cultivo y expansión de las células madre mesenquimales en el bioreactor, y sobre todo a su coste. Hay diferencias de algunos de los parámetros analizados que a mayor amplitud de muestra podrían variar la valoración de los resultados.

El análisis de la muestra se ha realizado a los 4 meses de la implantación, coincidiendo con la colocación de los implantes, apreciando una buena formación de hueso en ambos lados, con buena maduración del mismo, con pocas diferencias con el hueso nativo maduro. Es conocido que en las elevaciones sinusales con hidroxiapatita bovina se produce mayor hueso maduro cuanto más tiempo ha transcurrido¹⁷⁷. Podría ser este otro motivo por el que las diferencias que se aprecian no son significativas. Podríamos esperar mayores diferencias en estadios de la reconstrucción más iniciales, en los que las células progenitoras aportadas tendrían un mayor papel en un inicio más precoz de la maduración ósea.

Pocas referencias hay en la literatura de reconstrucciones de maxilar superior con células madre, siendo las técnicas de cultivo, los materiales utilizados y los métodos de análisis absolutamente dispares. Aún no conocemos las matrices más adecuadas, las dosis y los elementos osteoinductores a utilizar, la cantidad de células madre que debemos aportar para reconstruir un determinado volumen de hueso en unas determinadas condiciones. Aunque los datos obtenidos en nuestro estudio no lo sugieren, por la similitud de las cifras con las cifras del hueso nativo, la no significación de las diferencias podría ser debida a la no efectividad de las células progenitoras aportadas, por falta de estímulos o por ser insuficiente la cantidad de células para reconstruir un determinado volumen de hueso, aunque en nuestra muestra, esta cantidad era alta.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Las células madre proliferan rápidamente en cultivo pero no se sabe lo que ocurre cuando son reimplantadas de nuevo en el huésped humano. Se especula que la proliferación se enlentece al ritmo en que el proceso de curación natural se desarrolla.¹⁸⁶ También es conocida la dificultad de conseguir unas buenas reconstrucciones cuando se trata de defectos de gran volumen, puesto que hay una limitación en conseguir las cantidades de oxígeno, de nutrientes y el suficiente aporte vascular necesarios en la zona central de la reconstrucción.¹⁴⁴⁻¹⁸⁷ En este caso la reconstrucción estaría influenciada por el material osteoconductor, lo que no explicaría las discretas diferencias que encontramos en varios parámetros estudiados a favor del lado estudio.

Nos interesa poder comparar nuestros datos con los estudios que han utilizado técnicas de ingeniería tisular ósea. Los pocos casos descritos, las diversas técnicas de expansión, las diferentes matrices, y los métodos diferentes de análisis utilizados, en general valoraciones histológicas sin realizar prácticamente histomorfometrías, hacen que sea difícil poder establecer paralelismos.

En la primera publicación de reconstrucción posterior de maxilar superior de R. Schmelzeisen y R. Schimming se realizaron dos elevaciones sinusales en dos pacientes y fueron reconstruidas con cultivos de periostio mandibular, expandidos durante 1 mes, embebidos en un polímero reabsorbible, consiguiendo una concentración de $1,5 \times 10^6$ células /cm³. A los 4 meses se obtuvieron unas muestras de biopsia al colocar los implantes y la histología descriptiva mostró hueso trabecular mineralizado¹⁴³.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

Un año más tarde, el mismo grupo presentó una serie de 27 pacientes en los que se realizaron elevaciones bilaterales en 14 y unilaterales en 13. La fuente donante también fue un cultivo del periostio mandibular. A las 7,5 semanas de iniciar el cultivo, se realizó la elevación sinusal empapando un polímero reabsorbible con las células cultivadas. A los tres meses, coincidiendo con la colocación de los implantes se tomaron muestras de biopsia. La histología mostró hueso trabeculado mineralizado. Estos pacientes fueron valorados principalmente con controles clínicos y radiológicos. En 8 casos no se apreció la formación ósea, solo tejido conectivo. Fueron aquellos casos en los que la reconstrucción era mayor¹⁴⁴. Posiblemente la dosis de células progenitoras junto con la elección del material transportador no fue suficiente para estimular el crecimiento óseo. Desconocemos la cantidad y calidad de las células implantadas.

Este grupo de la Universidad de Freiburg publica en 2007 el tratamiento de 20 pacientes en los cuales se realizaron 31 elevaciones sinusales. En 10 pacientes (17 elevaciones) se realizaron con hueso autólogo de cresta ilíaca y en 10 pacientes (14 elevaciones) se realizaron con hueso de ingeniería tisular. El hueso se obtuvo de cultivo de células osteoblásticas obtenidas del periostio mandibular. La matriz que, de nuevo, es un polímero reabsorbible, se añadió al cultivo 7 días antes de ser implantada. Los controles se realizaron por TAC y estudio de densidades a los 3 meses de la implantación. En este caso la reconstrucción con hueso autólogo fue superior pues en un 50% de los casos no se detectó volumen óseo en los senos reconstruidos con hueso de ingeniería tisular¹⁴⁵.

De nuevo, llama la atención la falta de regeneración ósea en un número importante de casos reconstruidos con hueso de ingeniería tisular, que creemos que es debido a la elección de la matriz. La matriz en la reconstrucción ósea,

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

deberá aportar un equilibrio entre la estabilidad y la dureza de la macroestructura y una microestructura que permita crear el ambiente adecuado para que las células progenitoras sobrevivan, se diferencien, proliferen, favorezca la vascularización y depositen la matriz ósea a medida que reabsorben el biomaterial⁸². Los materiales que por el momento dan mejores resultados en la ingeniería tisular ósea, al ser altamente osteoconductivos, son los basados en cerámicas de hidroxiapatita, bovina, de coral o sintéticas y los trifosfatos cálcicos con sus variaciones⁴⁹. Al utilizar polímeros reabsorbibles como matriz y al no ser radiopacos, pudieron realizar el seguimiento radiológico con mediciones volumétricas y de densidades. En nuestro estudio también registramos ambos parámetros. El volumen está en clara relación con el volumen del material introducido durante la intervención. Al comparar el lado estudio (4,424 cc) frente al control (3,816 cc) se aprecian pequeñas diferencias en el lado estudio que no son estadísticamente significativas, por lo que no las podemos atribuir al efecto osteogénico de las células madre en la formación de más cantidad de hueso. En relación a las medidas de densidad, en nuestro caso esta condicionada por la densidad del biomaterial utilizado que es más alta que la del hueso normal, con lo que no podemos valorar ningún tipo de diferencia debida a la formación de hueso.

M. Ueda y Y. Yamada presentaron la reconstrucción de maxilar en 6 pacientes con métodos de ingeniería tisular. En 3 pacientes realizaron la elevación sinusal y en otros 3, injertos de recubrimiento. Acuñan el término de “hueso inyectable”. Es una mezcla de células madre mesenquimales obtenidas por punción de la cresta ilíaca anterior, cultivadas y expandidas durante 1 mes y en las que 1 semana antes de la implantación se inicia la diferenciación osteogénica. La cantidad de células implantadas fue de 10×10^6 . En el momento de la implantación las células se inyectan con PRP obtenido de doble centrifugado, con un contenido medio de 1.103.000 plaquetas, activado con cloruro cálcico y

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

trombina, como elemento inductor y matriz al polimerizar y gelificar la malla de fibrina. Ocasionalmente utilizan TCP β , con poros de 200-400 μm como matriz más sólida. En estos casos se realizaron controles clínicos de supervivencia de los implantes y radiológicos, en los que se apreció una calcificación correcta de la zona reconstruida¹⁴⁷. El mismo grupo publica en 2008 un estudio con la misma técnica del “hueso inyectable”, con la misma cantidad de células madre y progenitoras inyectadas, en 14 pacientes en los que realiza 6 elevaciones sinusales y 8 injertos onlay para recubrimiento de las espiras expuestas de los implantes. De nuevo los criterios de seguimiento son clínicos y radiológicos con buenos resultados finales¹⁵⁰. En estos casos aplicó el material como técnica de regeneración tisular guiada, tanto alrededor de los implantes como en la elevación sinusal, pues mantuvo la membrana elevada al colocar los implantes. La ausencia de grupo control y la ausencia de material histológico para valorar la calidad de la reconstrucción hace que el efecto de las células madre mesenquimales sea difícil de valorar.

También este último año encontramos dos publicaciones más de ingeniería tisular para la reconstrucción del maxilar posterior.

C. Beaumont realiza la elevación sinusal bilateral en 3 pacientes, reconstruyendo con hueso cultivado de periostio mandibular con la técnica descrita por R Schmelzeisen, R Schimming, en forma de “chips” que estabiliza con un xenoinjerto (Bio-Oss®). Toma biopsias a los 4 y a los 6 meses, y coloca los implantes a los 6 meses tras hacer un control radiológico. Las biopsias son similares, con hueso nuevo vital con trabeculación fibrosa y partículas de xenoinjerto, apreciando más remodelación y hueso más maduro a los 6 meses. También compara los datos radiológicos entre el preoperatorio y el postoperatorio y concluye que las diferencias son estadísticamente significativas. Concluye diciendo que el hueso cultivado de periostio con el xenoinjerto crea un

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

hueso esponjoso bien integrado que sirve para el soporte de los implantes. Aunque la muestra es muy pequeña, en este artículo intentan mejorar los resultados de R Schmelzeisen y R Schimming, al añadir un xenoinjerto a la matriz, con lo que conseguirán un mayor efecto osteoconductor en la regeneración del tejido óseo¹⁵¹. Este estudio da mucha importancia a los criterios de valoración radiológicos, atribuyéndole significación estadística al incremento de altura que, creemos, no tiene ninguna relevancia en este caso, puesto que el incremento de altura está determinado por la ganancia conseguida durante la cirugía, sobretodo si el material que se utilizó para estabilizar la reconstrucción fue un xenoinjerto de muy lenta reabsorción.

En nuestro caso intentamos valorar si el tratamiento con células madre influenciaba en el incremento de altura de la reconstrucción, comparando las medidas de la altura tomadas intraoperatoriamente al finalizar la reconstrucción, en el lado estudio y en el lado control, con las medidas de altura tomadas por TC a los 4 meses. De esta manera, un incremento importante de altura podría ser debido a la actividad de las células madre, al comparar la ganancia quirúrgica con el resultado a los 4 meses. El incremento de altura que observamos a los 4 meses en el lado estudio (3,68mm) no podía ser atribuible al efecto osteogénico de las células madre puesto que también se observó en el lado control (3,18mm) sin ninguna diferencia significativa. El incremento de altura debe ser atribuido exclusivamente a la ganancia quirúrgica.

En un reciente artículo publicado éste año por el YS Shayesteh en el que realiza la elevación sinusal en 6 pacientes, bilaterales en 4 de ellos, y los reconstruye con una matriz de TCP β al 40% y de HA al 60% que se ha empapado durante 24 horas antes de la implantación, en un cultivo de MSCs obtenidas de la cresta iliaca, cultivadas y expandidas durante un mes, consiguiendo una concentración

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

final de 5×10^5 células /0,2ml. A los tres meses se realiza la colocación de los implantes y se toman 30 muestras de biopsia. La histología mostraba nueva formación de hueso con abundantes osteoblastos y matriz osteoide. Como parámetro histomorfométrico valoraron en un 41,34% la cantidad de nuevo hueso formado, que lo han descrito como el hueso mineralizado y espacios medulares de la biopsia. También realizaron controles clínicos y radiológicos, para concluir que las MSCs son útiles para la reconstrucción, debido a la alta tasa de formación de hueso¹⁵².

Estos datos podrían ser parecidos a los que hemos obtenido, pero no podemos comparar el dato histomorfométrico puesto que ellos han medido el volumen total de hueso y nosotros estamos trabajando con el volumen trabecular. Sin embargo la ventaja de trabajar con un estudio de boca partida y en nuestro caso el tener la referencia del hueso nativo de cada individuo, hace que podamos trabajar con cifras relativas, siendo el volumen trabecular obtenido en el lado estudio (32%) muy parecido a las cifras de normalidad del hueso nativo de la premaxila (36%), por lo que podemos considerar que hemos obtenido unas cifras de formación de hueso muy buenas. (Tablas 7.2., 7.3. y 7.4.)

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

	TIPO CÉLULA	TIEMPO CULTIVO	Nº CÉLULAS IMPLANTADAS	MATRIZ	MATERIAL INDUCTOR
SCHMELZEISEN 2003	Periostio	8 semanas	1x10 ⁶ cel/cm ³	Polyglactina – 910	Trombina bovina
SCHIMMING 2004	Periostio	7,5 semanas	1,5x10 ⁶ cel/cm ³	Polyglactina – 910	Trombina bovina
UEDA 2005	MSCs cresta	4 semanas	1x10 ⁷ cel/ml	Fibrina + TCPβ (poro 200-400 μm)	PRP 1103250 plaq.
ZIZELMANN 2008	Periostio	¿?	15x10 ⁶ cel/chip	PGLA (polyglicólico-polylactico)	Trombina bovina
UEDA 2008	MSCs cresta	4 semanas	1x10 ⁷ cel/ml	Fibrina	PRP 972269 plaq.
BEAUMNONT 2008	Periostio	7 semanas	15x10 ⁶ cel/chip (10 chips/seno)	Polyglactina – 910 + HA	Trombina humana
SHAYESTEH 2008	MSCs cresta	4 semanas	5x10 ⁵ cel / 0,2ml	HA 60% TCPβ40%	Suero autólogo
MARTÍ 2008	MSCs cresta	12 días	70x10 ⁶ - 147x10 ⁶ cel	HA	Fibrina autóloga

Tabla 7.2: Tabla comparativa de los datos más relevantes de los estudios de reconstrucciones de maxilar posterior con elevación sinusal y técnicas de ingeniería tisular publicados hasta Agosto de 2008. Se relacionan los datos claves que condicionan las técnicas de ingeniería tisular, el tipo de células utilizadas, la cantidad, el biomaterial que actúa como matriz, la sustancia inductora y el tiempo de cultivo.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

	Nº	ELEVACIONES	BIOPSIA	TIEMPO	RX
SCHMELZEISEN 2003	2	2	Si	4 m	Si
SCHIMMING 2004	27	41	Si (15p)	3 m	Si. ORTO
UEDA 2005	6	3	No	5,5 m (2ª fase)	Si + clínica
ZIZELMANN 2008	20	14	No	3 m	TC densidad 50% no hueso
UEDA 2008	14	6	No	2-5 a	Si + clínica
BEAUMNONT 2008	3	14	Si	4 m 6 m	Si. ORTO
SHAYESTEH 2008	6	10	Si (30 b)	3 m	Si. ORTO
MARTÍ 2008	5	10	Si (35 b)	4 m	Si. ORTO + TC

Tabla 7.3.: Datos demográficos de los estudios, en los que destacan los métodos de evaluación y sobre todo el tiempo de espera para la evaluación. Sólo en 5 de los 8 estudios comparados, se realizó la evaluación con la toma de biopsia.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

	HISTOLOGÍA	HISTOMORFOMETRÍA
SCHMELZEISEN 2003	Hueso trabeculado mineralizado	No
SCHIMMING 2004	Hueso trabeculado mineralizado. 30% de los pacientes no formación de hueso (sólo fibrosis).	No
BEAUMNONT 2008	Hueso vital trabéculas fibrosas que maduran con el tiempo	No
SHAYESTEH 2008	Hueso nuevo matriz osteoide osteoblastos	41,34% Hueso total
MARTÍ 2008	Hueso nuevo matriz osteoide osteoblastos fibrosis	32% Volumen trabecular

Tabla 7.4.: Tabla comparativa de los estudios en los que se ha realizado estudio histológico como método de evaluación. La evaluación es en base a histología descriptiva, sólo en el estudio de Shayesteh y en el nuestro, se ha realizado el estudio histomorfométrico.

Por último, D Smiler publicó un artículo en 2007 en el que realiza un estudio histomorfométrico a 5 pacientes, en los que les realiza 7 injertos. Realiza en 3 pacientes 5 elevaciones (2 bilaterales y 1 unilateral) utilizando varios biomateriales (C-Graft®, TCP β y Pep Gen P-15®) como matriz y utiliza, como fuente de células madre, un aspirado de médula ósea de cresta ilíaca anterior. A los 4 meses realiza las biopsias que muestran resultados bastante dispares. El valor histomorfométrico que ha medido en todos los pacientes, es el hueso nuevo, que lo define como el porcentaje de injerto que se ha convertido en

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

hueso. Otras mediciones no constantes en la publicación de los resultados son el porcentaje de injerto no reabsorbido y el porcentaje de material intersticial. Los 3 senos elevados con TCP β muestran unos resultados de hueso nuevo del 40%, 23% y del 16%. El paciente tratado con C-Graft®, muestra un porcentaje del 31% y el seno tratado con PepGen P15®, es el que, sorprendentemente, muestra menos cantidad de formación ósea, con un porcentaje del 14%.¹⁸⁸ Muchas publicaciones avalan el PepGenP15®, como un biomaterial altamente osteoconductor con unas altas cifras de neoformación ósea. Esta cifra tan baja, el autor la atribuye a un exceso de compactación del injerto limitando la formación de nuevo hueso. Este dato que puede ser importante lo eliminamos con los estudios a boca partida, en los que se disminuye al máximo la variabilidad del procedimiento, el cirujano es el mismo, la preparación del material es la misma y el paciente es simultáneamente estudio y control. A pesar del interés del autor de enmarcar este estudio dentro de los estudios de ingeniería tisular, es sencillamente un estudio de biomateriales, de 3 biomateriales sobre una muestra de 7 procedimientos, a los que ha añadido una pequeña cantidad de material del aspirado de médula ósea, sin saber la cantidad de células que ha aportado y ni tan solo saber si ha aportado alguna célula. Por este motivo creemos que los resultados de este estudio no deben ser considerados.

Cuando trabajamos en ingeniería tisular es importante cumplir los criterios que la definen, trabajar con matrices adecuadas, con elementos inductores y sobre todo con una fuente adecuada en cantidad y calidad de células indiferenciadas y progenitoras. Es conocido, que el aumento de la presencia de células progenitoras de estas características, se correlaciona con un aumento de la formación ósea.¹⁸⁹⁻¹⁹⁰ En nuestro caso el número de células conseguidas con la expansión e implantadas se correlaciona de forma clara con la superficie de osteoide, lo cual indica que a mayor número de células implantadas

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

conseguimos mayor número de osteoblastos. Las células obtenidas en nuestro estudio después de la expansión en el bioreactor (TCRs), son células ricas en el componente mesenquimal, endotelial y pobres a nivel del contenido de células madre hematopoyéticas. Las MSCs favorecen la diferenciación osteogénica y las endoteliales la neovascularización del injerto.¹⁹¹ Posiblemente el tipo de células utilizadas en los estudios del grupo de Freiburg son cultivos de osteoblastos derivados del periostio, son células de diferenciación terminal, con una efectividad en la reconstrucción más limitada.

Solo el conocimiento de la cantidad y calidad de las células implantadas nos permitirá avanzar en el campo de la ingeniería tisular. Confiar nuestros procedimientos al azar, al mal aplicado “fenómeno del nicho celular por el cual cualquier célula implantada se transformara en aquella célula que deseemos”, a reintroducir las células extraídas sin necesidad de expandir, confiando que ya proliferarán espontáneamente, actitud ocasionada por las regulaciones administrativas estrictas de la terapia celular¹⁸⁶, al fenómeno del “homing” por el que de forma natural las MSCs viajan y actúan en los sitios donde son necesarias, cuyos mecanismos íntimos desconocemos y menos aún controlamos, no aportará nada al progreso de la ingeniería tisular.

Sólo aquellos estudios controlados, amplios y multicéntricos, nos permitirán obtener los conocimientos necesarios para conseguir los objetivos de la ingeniería tisular, que es la de formar tejidos a partir de células aisladas para disminuir la morbilidad del paciente. No sabemos si podremos formar estos tejidos de forma más rápida, de mejor calidad y en mayor cantidad. A menudo priorizamos estos tres objetivos frente al objetivo principal de la ingeniería tisular. Como hemos demostrado estamos cerca de poder formar sistemáticamente tejido óseo, pero no sabemos si podremos acelerar el proceso natural de la

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

osteogénesis, ni si podremos aumentar la calidad de este tejido con nuestros métodos.

La obtención de MSCs de la cresta ilíaca posterior es un procedimiento que se realiza con anestesia local y sedación endovenosa y que comporta un mínimo riesgo para el paciente. Ninguno de nuestros pacientes presentó ninguna molestia durante la punción y ningún paciente presentó ninguna molestia en el postoperatorio, no precisando más analgesia que la administrada durante el acto quirúrgico de la extracción de médula ósea. Estos datos coinciden con la ausencia de morbilidad comunicada por los autores que utilizan este abordaje.^{150_152_188}

No se apreció ningún efecto secundario relacionado con la terapia celular.

En el postoperatorio inmediato de la elevación sinusal, 4 pacientes presentaron inflamación y hematoma en el lado control, por el contrario sólo un paciente presentó inflamación y hematoma en el lado estudio. Todos los pacientes presentaron dolor leve en el postoperatorio, que fue controlado con facilidad con el tratamiento antiinflamatorio habitual. Observamos que las molestias postoperatorias han sido menores en el lado estudio, pudiendo ser atribuidas al efecto antiinflamatorio y de curación precoz de las partes blandas que se le atribuye, aunque es controvertido, a la terapia celular.^{192_193_194} La paciente número 3 presentó una infección postoperatoria a las tres semanas de haber realizado la elevación sinusal en el lado control. Esta infección fue controlada con tratamiento con antibiótico y un mínimo desbridamiento. Los pacientes mantienen una buena estabilidad de los implantes y salud periimplantaria, habiendo finalizado la rehabilitación protésica con éxito.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

En nuestro estudio los resultados no han sido muy concluyentes. Aunque algunas diferencias muestran tendencias estadísticas, no son estadísticamente significativas, excepto la correlación de la cantidad de MSCs con el número de osteoblastos formados, que tiene una significación estadística de $p < 0,05$. Afirmamos la efectividad de las células en la reconstrucción posterior con elevación sinusal del maxilar superior, y las hipótesis han sido validadas en hipótesis 1 el H0, el seno reconstruido con BO + MSCs tiene la misma actividad formadora de hueso que el seno reconstruido sólo con BO, en hipótesis 2 el H1, el aporte de una mayor cantidad de MSCs a la reconstrucción aumentará el número de células formadoras de hueso, en hipótesis 3 el H0, el seno reconstruido con BO + MSCs tiene los mismos parámetros radiológicos óseos que el seno reconstruido sólo con BO y en la hipótesis 4 el H1, el seno reconstruido con BO + MSCs tiene una menor morbilidad postoperatoria que el seno reconstruido sólo con BO.

Cabe apuntar, como reflexión general de los resultados obtenidos, que la potencia de estos análisis estadísticos es baja. El tamaño muestral es reducido. Las técnicas estadísticas son esencialmente conservadoras. Hasta que las cosas no son muy claras no hablan de significación. Cabe apuntar que en nuestro caso vemos tendencias que apuntan diferencias que de confirmarse con tamaño de muestra superior superarían la exigente barrera que las técnicas estadística exigen, de forma coherente, para hablar de significación.

CAPÍTULO 8:

CONCLUSIONES

Hemos encontrado que es posible la regeneración ósea mediante ingeniería tisular en humanos, al no apreciar diferencias entre los parámetros estudiados en el hueso nativo y los parámetros conseguidos en la reconstrucción mediante técnicas de regeneración.

En este estudio hemos demostrado que:

- a. La reconstrucción con MSCs y BO tiene una mayor tendencia a la actividad osteogénica, puesto que tenemos un mayor número de osteoblastos y ribetes de osteoide que mineralizan y dan lugar a un mayor volumen óseo de más calidad con mayor número de trabéculas interconectadas.

- b. La elevación sinusal comporta una actividad osteogénica importante sin considerar el material, al observar una actividad formadora de hueso nuevo,

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

inmaduro, con mucha actividad osteoide y poca reabsorción, al estar influenciada por la actividad osteoconductora del biomaterial.

- c. Los resultados del hueso nativo demuestran un equilibrio en el metabolismo óseo característico del hueso maduro en los que los procesos de formación y reabsorción están equilibrados.

- d. La cantidad de células madre y progenitoras aportadas a la reconstrucción está en relación a la cantidad de osteoblastos observados, lo que explicaría la mayor tendencia a la actividad formadora de hueso en los casos en los que un mayor número de células madre y progenitoras fueron utilizadas.

- e. No hay diferencias cuantitativas en los parámetros radiológicos analizados, siendo correctas las dos reconstrucciones óseas al estar los parámetros radiológicos condicionados por las características del biomaterial.

- f. La morbilidad postoperatoria del lado estudio es menor considerando los parámetros de inflamación, hematoma e infección en relación al lado control. La terapia celular es una técnica segura sin apreciar morbilidad en relación a la misma.

- g. La morbilidad en la zona dadora ha sido inexistente.

CAPÍTULO 9:

PERSPECTIVAS DE FUTURO

La metodología utilizada en este estudio nos permite comparar los resultados con el metabolismo óseo normal de cada paciente, lo que individualiza los resultados y simplifica la interpretación comparativa con otros pacientes que sin duda tendrán unas condiciones basales diferentes. Frente a la mayoría de resultados publicados sobre estudios histomorfométricos en las reconstrucciones maxilofaciales, nuestro estudio ofrece muchos más datos lo que nos permite estudiar con más profundidad los fenómenos que acontecen en el proceso de integración del hueso reconstruido. Sin embargo, en ocasiones, un exceso de datos complica la interpretación de los mismos. También destacamos la ausencia de los datos relativos al biomaterial. Por todo ello creemos importante dotar a las investigaciones de nuestra universidad de los mejores estándares de calidad, por lo que proponemos seguir el camino de estas investigaciones, simplificando algunos y mejorando otros parámetros, con el objeto que se conviertan en un modelo a seguir en el campo de la evaluación de la reconstrucción ósea con biomateriales y en el de la terapia celular.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

La tecnología utilizada en este estudio, se ha revelado segura para los pacientes, con nula morbilidad en la obtención de la fuente de las células. Sin embargo, debido a su coste elevado, ha condicionado el número bajo de la muestra. Deberíamos aumentar el número de la muestra para confirmar las tendencias estadísticas que se aprecian en el estudio. La mejor forma de validar estos resultados sería la realización de estudios multicéntricos, a nivel internacional, utilizando en todos los casos la misma metodología.

La cresta ilíaca posterior es una fuente conocida y segura para obtener gran cantidad de MSCs. A pesar de la nula morbilidad que comporta su obtención supone cierta complejidad y hábito quirúrgico fuera del campo dental. Creemos importante seguir la investigación en nuevas fuentes de obtención de MSCs que pueden ser aplicadas con facilidad en el mundo dental y del área maxilofacial, y se pueda expandir su uso a aquellos defectos más limitados del área dentoalveolar.

Estamos en los inicios de la reconstrucción ósea con técnicas de ingeniería tisular, hemos demostrado que puede ser posible la formación de nuevo hueso a partir de células progenitoras aisladas, matrices y elementos inductores, pero debemos profundizar de forma importante en este campo. El futuro debe ir encaminado a establecer la cantidad necesaria de células para formar una determinada cantidad de hueso nuevo, investigar sobre aquellas matrices que ofrezcan mejores propiedades para obtener los mejores resultados en la regeneración ósea, y determinar los mejores elementos osteoinductores así como las dosis más adecuadas para asegurar el proceso de regeneración ósea.

Nuestro modelo experimental ha sido un método muy seguro, la elevación sinusal es una técnica que comporta una gran actividad osteogénica, como

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

hemos demostrado. Debemos proseguir nuestros estudios en situaciones más comprometidas, en las que los beneficios de la terapia celular serán mucho más claros, como en las reconstrucciones de defectos complejos tridimensionales del área maxilofacial. En los próximos años estos tratamientos estarán basados en técnicas que actualmente empiezan a ser una realidad, los sistemas de *prototyping*, que pueden personalizar de forma automatizada los moldes para reconstruir perfectamente el defecto. Estos moldes se podrán hacer con materiales osteoconductores y sobre estos aplicar la cantidad necesaria de células progenitoras, las dosis adecuadas de sustancias osteoinductoras y aplicar las estrategias necesarias para conseguir la correcta la vascularización de la reconstrucción para asegurar la regeneración ósea del defecto.

CAPÍTULO 10:

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ PAPANANOU PN, TONETTI MS. Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontol 2000*. 2000; 22(1): 8-21.
- ² RACHMIEL A, SROUJI S, PELED M. Alveolar ridge augmentation by distraction osteogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001;30:510-517.
- ³ OIKARINEN KS, SÀNDOR GKB, KAINULAINEN VT, SALONEN-KEMPPI M. Augmentation of the narrow traumatized anterior alveolar ridge to facilitate dental implant placement. *Dent Traumatol* 2003;19: 19-29.
- ⁴ HERNANDEZ ALFARO F. Bone grafting in Oral Implantology. Techniques and Clinical Applications. Editorial Quintessence Books. 2006 Cap 1: 9-16.
- ⁵ DUNCAN J, WESTWOOD RM. Ridge widening for the thin maxilla : a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12: 224-227.

- ⁶ CHIAPASCO M, ROMEO E, CASENTINI P, RIMONDINI L. Alveolar distraction osteogenesis vs. Vertical guided bone regeneration for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a 1-3-year prospective study on humans. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15: 82-95.
- ⁷ SUH J, SHELEMAY A, CHOI S, CHAI J. Alveolar ridge splitting: a new microsaw technique. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005;25:165-171.
- ⁸ SIMION M, JOVANOVIC SA, TINTI C, PARMA-BENFENATI S. Long-term evaluation of osseointegrated implants inserted at the time or alter vertical ridge augmentation. A retrospective study on 123 implants with 1-5 year follow-up. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12:35-45.
- ⁹ SVERZUT CE, MAGDALENA CM, TRIVELLATO AE, MELLO-FILHO FV, PACCOLA CAJ, GOGOLEWSKI S, SALATA LA. Reconstruction of mandibular segemntal defects using the guided-bone regeneration technique with polylactide membranas and/or autogenous bone gaft: a preliminary study on the influence of membrane permeability. *J Oral Maxillofac Surg* . 2008; 66(4): 647-656.
- ¹⁰ ILIZAROV GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop Relat Res.* 1989; (239): 263-285.
- ¹¹ LASTER Z, RACHMIEL A, JENSEN O. Alveolar width distraction osteogenesis for early implant placement. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005; 63: 1724-1730.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

-
- ¹² BLOCK M, BAUGHMAN D. Reconstruction of severe anterior maxillary defects using distraction osteogenesis, bone grafts, and implants. *J Oral Maxillofac Surg.* ,2005; 63:291-297.
- ¹³ GARCIA A, SOMOZA M, GANDARA P, LOPEZ J. Minor complications arising in alveolar distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 60: 496-501.
- ¹⁴ POGREL MA, PODLESH S, ANTHONY JP, ALEXANDER J. A comparison of vascularized and nonvascularized bone grafts for reconstruction of mandibular continuity defects. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55(11):1200-1206.
- ¹⁵ GAGGL AJ, BÜRGER HK, CHIARI FM. Free microvascular transfer of segmental corticocancellous femur for reconstruction of the alveolar ridge. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 46(3):211-7.
- ¹⁶ SAILER HF. A new method of inserting endosseous implants in totally atrophic maxillae. *J Craniomaxillafac Surg.* 1989; 17: 299-305.
- ¹⁷ MEIJNDERT L, RAGHOEBAR M, SCHÜPBACH P, MEIJER H, VISSINK A. Bone quality at the implant site after reconstruction of a local defect of the maxillary anterior ridge with chin bone or deproteinised cancellous bovine bone. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005; 34: 877-884
- ¹⁸ YEUNG R. Simultaneous placement of implant and bone graft in the anterior maxilla: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004; 19: 892-895.

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

- ¹⁹ RAGHOEBAR G, BATENBURG R, 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.
- ²⁰ MARX RE, MORALES MJ. Morbidity from bone harvest in major jaw reconstruction. *J Oral Maxillofac Surg* 1988; 46 (3): 196-203.
- ²¹ LANGER R, VACANTI JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260 (5110): 920-926.
- ²² ESPOSITO M, GRUSOVIN MG, COULTHARD P, WORTHINGTON HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006 Sep-Oct;21(5):696-710.
- ²³ SOMMERFELDT DW, RUBIN CT. Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *Eur Spine J.* 2001 Oct;10 Suppl 2:S86-95.
- ²⁴ HANDOLL HH, WATTS AC. Bone grafts and bone substitutes for treating distal radial fractures in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 Apr 16; (2): CD006836
- ²⁵ JUNG UW, SONG KY, KIM CS, LEE YK, CHO KS, KIM CK, CHOI SH. Effects of a chitosan membrane coated with polylactic and polyglycolic acid on bone regeneration in a rat calvarial defect. *Biomed Mater.* 2007 Sep;2(3):S101-5. Epub 2007 Jul 30.

- ²⁶ KASAJ A, RÖHRIG B, ZAFIROPOULOS GG, WILLERSHAUSEN B. Clinical evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite paste in the treatment of human periodontal bony defects--a randomized controlled clinical trial: 6-month results. *J Periodontol.* 2008 Mar;79(3):394-400.
- ²⁷ LARSEN WJ, editor. *Embriología Humana. 3ª edición. Desarrollo de la cabeza y cuello.* Philadelphia: Churcill Livingstone. 2003. p 361.
- ²⁸ OZAKI W, BUCHMAN SR, GOLDSTEIN SA, FYHRIE DP A comparative analysis of the microarchitecture of cortical membranous and cortical endochondral onlay bone grafts in the craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg.* 1999 Jul;104(1):139-47.
- ²⁹ ROSENTHAL AH, BUCHMAN SR Volume maintenance of inlay bone grafts in the craniofacial skeleton. *Plast Reconstr Surg.* 2003 Sep;112(3):802-11
- ³⁰ MARX R.E. Bone and Bone Graft Healing. *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am* 2007; 19(4): 455-466
- ³¹ HYUN SJ, HAN DK, CHOI SH, CHAI JK, CHO KS, KIM CK, KIM CS Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2, -4, and -7 on bone formation in rat calvarial defects. *J Periodontol.* 2005 Oct;76(10):1667-74.
- ³² RODAN GA. Introduction to bone biology. *Bone.* 1992;13 Suppl 1:S3-6.
- ³³ MARIÑOSO BARBA ML, SERRANO FIGUERAS S. *Biología del hueso.* *Clin Invest Gin Obst* 1999; 26(1): 3-11

- ³⁴ XING L, SCHWARZ EM, ÓBICE BF. Osteoclast precursors, RANK/RANKL and immunology. *Immunol Rev* 2005; 208: 19-29
- ³⁵ SALGADO AJ, COUTINHO OP, REIS RL. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromol Biosci*. 2004 Aug 9;4(8):743-65.
- ³⁶ REDDI AH. Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: inductive signals, stem cells, and biomimetic biomaterials. *Tissue Eng*. 2000 Aug;6(4):351-9.
- ³⁷ RIPAMONTI U, HELIOTIS M, FERRETTI C. Bone morphogenetic proteins and the induction of bone formation: from laboratory to patients. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2007 Nov;19(4):575-89.
- ³⁸ WIKESJÖ UM, HUANG YH, POLIMENI G, QAHASH M. Bone morphogenetic proteins: a realistic alternative to bone grafting for alveolar reconstruction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2007 Nov;19(4):535-51.
- ³⁹ CARDA C, SILVESTRINI G, GOMEZ DE FERRARIS ME. Osteoprotegerina and RANKL expresión and distribution in developing human craniomandibular joint. *Tissue Cell* 2005; 37:207-255
- ⁴⁰ SERRANO S, MARIÑOSO ML. Bases histológicas de la histomorfometría ósea. En: SerranoS, Aubia J, Mariñoso ML, editores. *Patología ósea metabólica*. Barcelona, Doyma, 1990; 55-70
- ⁴¹ WATSON P, LAZOWSKI D, HAN V, FRAHER L, STEER B, HODSMAN A. Parathyroid hormone restores bone mass and enhances osteoblast insulin-like growth

- factor I gene expression in ovariectomized rats. *Bone*. 1995 Mar;16(3):357-65
- ⁴² HOLLINGER JO, HAST C, GRUBER R, DOLL B. Protein therapeutics and bone healing. En: *Tissue Engineering.Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics. Second Edition.* LYNCH SE, MARX RE, NEVINS M, WISNER-LYNCH LA editors. Editorial Quintessence Books. 2008 Cap 1: 3-25.
- ⁴³ ZERBO IR, DE LANGE GL, JOLDERSMA M, BRONCKERS AL, BURGER EH. Fate of monocortical bone blocks grafted in the human maxilla: a histological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res*. 2003 Dec;14(6):759-66.
- ⁴⁴ ELLIS E 3RD, SINN DP. Use of homologous bone in maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993 Nov;51(11):1181-93.
- ⁴⁵ SANMARCO M, VIALETES B, MARANINCHI D, BERNARD D. Autoantibody formation after bone marrow transplantation: a comparison between autologous and allogeneic grafts.*Autoimmunity*. 1991;11(1):7-12.
- ⁴⁶ RIPAMONTI U. Calvarial regeneration in primates with autolyzed antigen-extracted allogeneic bone.*Clin Orthop Relat Res*. 1992 Sep;(282):293-303.
- ⁴⁷ SHIGEYAMA Y, D'ERRICO JA, STONE R, SOMERMAN MJ. Commercially-prepared allograft material has biological activity in vitro. *J Periodontol*. 1995 Jun;66(6):478-87.

- ⁴⁸ LI H, PUJIC Z, XIAO Y, BARTOLD PM. Identification of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in commercial demineralized freeze-dried bone allograft preparations: pilot study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2000;2(2):110-7.
- ⁴⁹ KAO ST, SCOTT DD. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2007 Nov;19(4):513-21.
- ⁵⁰ WORTH A, MUCALO M, HORNE G, BRUCE W, BURBIDGE H. The evaluation of processed cancellous bovine bone as a bone graft substitute. *Clin Oral Implants Res*. 2005 Jun;16(3):379-86.
- ⁵¹ REA SM, BROOKS RA, SCHNEIDER A, BEST SM, BONFIELD W. Osteoblast-like cell response to bioactive composites-surface-topography and composition effects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2004 Aug 15;70(2):250-61.
- ⁵² HANES PJ. Bone replacement grafts for the treatment of periodontal intrabony defects. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2007 Nov;19(4):499-512.
- ⁵³ MAIORANA C, SIGURTÀ D, MIRANDOLA A, GARLINI G, SANTORO F. Sinus elevation with alloplasts or xenogenic materials and implants: an up-to-4-year clinical and radiologic follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006 May-Jun;21(3):426-32.
- ⁵⁴ SCARANO A, DEGIDI M, IEZZI G, PECORA G, PIATTELLI M, ORSINI G, CAPUTI S, PERROTTI V, MANGANO C, PIATTELLI A. Maxillary sinus augmentation with different biomaterials: a comparative histologic and histomorphometric study in man. *Implant Dent*. 2006 Jun;15(2):197-207.

- ⁵⁵ SIMION M, FONTANA F, RASPERINI G, MAIORANA C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). Clin Oral Implants Res. 2007 Oct;18(5):620-9.
- ⁵⁶ GALINDO-MORENO P, AVILA G, FERNÁNDEZ-BARBERO JE, AGUILAR M, SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ E, CUTANDO A, WANG HL. Evaluation of sinus floor elevation using a composite bone graft mixture. Clin Oral Implants Res. 2007 Jun;18(3):376-82. Epub 2007 Mar 12.
- ⁵⁷ WALLACE S, GELLIN R. Clinical evaluation of a cancellous block allograft for ridge augmentation and implant placement: a case report. Implant Dent. 2008 Jun;17(2):151-8.
- ⁵⁸ ARTZI Z, WEINREB M, CARMELI G, LEV-DOR R, DARD M, NEMCOVSKY CE. Histomorphometric assessment of bone formation in sinus augmentation utilizing a combination of autogenous and hydroxyapatite/biphasic tricalcium phosphate graft materials: at 6 and 9 months in humans. Clin Oral Implants Res. 2008 Jul;19(7):686-92. Epub 2008 May 19.
- ⁵⁹ MONJE F. Limitaciones anatómicas en el paciente edentulo. En: Cirugía avanzada en implantes. Baladron J, Colmenero C, Elizondo J, Gonzalez Lagunas J, Hernandez Alfaro F, Monje F, Santos J, Valdes A, Valiente F editores. Ed. Ergon . 2000. Cap. 2: 18-25
- ⁶⁰ ATWOOD DA. Reduction of residual ridges: a major oral disease entity. J Prosthet Dent 1971; 26: 266-279.

- ⁶¹ LEHHOLM U, ZARB GA. Patient selection and preparation: En BranemarkPI, Zarb GA, Albrektsson T (eds.). Tissue integrated prosthesis: Osseointegration in Clinical Dentistry. Chicago: Quintessence; 1985; p: 199-209.
- ⁶² MISCH CE, JUDY KW. Classification of partially edentulous arches for implant dentistry. Int J Oral Implantol. 1987;4(2):7-13.
- ⁶³ CAWOOD JI, HOWELL RA. A classification of the edentulous jaws. Int J Oral Maxillofac Surg. 1988 Aug;17(4):232-6.
- ⁶⁴ WOODBURY SC, HENNING TB, FONSECA R. Reconstruction of the edentulous maxilla. En: Oral and Maxillofacial Surgery. Fonseca R editor. WB Saunders Company. 2000; Cap. 5: 59-70
- ⁶⁵ GARCIA ROZADO A, COLMENERO C, HERNÁNDEZ ALFARO F. Elevación Sinusal. En: Cirugía avanzada en implantes. BALADRON J, COLMENERO C, ELIZONDO J, GONZALEZ LAGUNAS J, HERNANDEZ ALFARO F, MONJE F, SANTOS J, VALDES A, VALIENTE F editores. Ed. Ergon . 2000. Cap. 4:174-183.
- ⁶⁶ CHANAVAL, M. Maxillary sinus: anatomy, physiology, surgery, and bone grafting related to implantology – eleven years of surgical experience (1979-1990). J Oral Implantol 1990;16 (3): 199-209.
- ⁶⁷ KHOURY F. Augmentation of the sinus floor with mandibular bone blocks and simultaneous implantation: a 6-year clinical investigation. Int J Oral Maxillofac Implants 1999; 14,: 557-564.

- ⁶⁸ NKENKE, E., SCHLEGEL, A., SCHULTZE-MOSGAU, S., NEUKAM, F.W. & WILTFANG, J. The endoscopically controlled osteotome sinus floor elevation: a preliminary prospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 557-566.
- ⁶⁹ VAN DEN BERGH, J.P.A., TEN BRUGGENKATE, C.M., GROENEVELD, H.H.J., BURGER, E.H. & TUINZING, D.B. Recombinant human bone morphogenetic protein-7 in maxillary sinus floor elevation surgery in 3 patients compared to autogenous bone grafts. A clinical pilot study. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 627-636.
- ⁷⁰ STRICKER, A., VOSS, P.J., GUTWALD, R., SCHRAMM, A. & SCHMELZEISEN, R. Maxillary sinus floor augmentation with autogenous bone grafts to enable placement of SLA-surfaced implants: preliminary results after 15-40 months. (2003)
- ⁷¹ SORNÍ M, GUARINÓS J, GARCÍA O, PEÑARROCHA M. Implant rehabilitation of the atrophic upper jaw: a review of the literature since 1999. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10. Supp:1: E45-E56.
- ⁷² LEVIN L, HERZBERG R, DOLEV E, SCHWARTZ-ARAD D. Smoking and complications of onlay bone grafts and sinus lift operations. *Int J Oral Maxillofac Implants*.2004; 19: 369-373.
- ⁷³ SHLOMI B, HOROWITZ I, KAHN A, DOBRIYAN A, CHAUSHU G. The effect of sinus membrane perforation and repair with Lambone on the outcome of maxillary sinus floor augmentation: a radiographic assessment. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004; 19: 559-562.

- ⁷⁴ SCHWARTZ-ARAD D, HERZBERG R, DOLEV E. The prevalence of surgical complications of the sinus graft procedure and their impact on implant survival. *J Periodontol* 2004; 75: 511-516.
- ⁷⁵ BOYNE PJ, JAMES RA Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980; 38: 613-616.
- ⁷⁶ HERNÁNDEZ-ALFARO F, TORRADEFLOT MM, MARTI C. Prevalence and management of Schneiderian membrane perforations during sinus-lift procedures. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Jan;19(1):91-8. Epub 2007 Oct 23.
- ⁷⁷ CORDIOLI G, MAZZOCCO C, SCHEPERS E, BRUGNOLO E, MAJZOUB Z. Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement. Clinical and histological findings. *Clin Oral Impl Res.* 2001; 12: 270-278.
- ⁷⁸ WALLACE SS, FROUM SJ. Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003 Dec;8(1): 328-343.
- ⁷⁹ AGUIRRE ZORZANO LA, RODRIGUEZ TOJO MJ, AGUIRE URIZAR JM. Maxillary sinus lift with autologous bone and tricalcium phosphate: histological and histomorphometric clinical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007 Nov 1; 12(7): 532-536.
- ⁸⁰ PELEG M, GARG AK, MAZOR Z. Predictability of simultaneous implant placement in the severely atrophic posterior maxilla: a 9 year longitudinal experience study of 2132 implants placed into 731 human sinus graft. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006 Jan-Feb; 21(1): 94-102.

- ⁸¹ CHO SC, WALLACE SS, FROUM SJ, TARNOW DP. Influence of anatomy on Schneiderian membrane perforations during sinus elevation surgery: three-dimensional analysis. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2001; 13 (2): 160-163.
- ⁸² LOGEART-AVRAMOGLOU D, ANAGNOSTOU F, BIZIOS R, PETITE H Engineering bone: challenges and obstacles. *J Cell. Mol. Med*. 2005; 9(1): 72-84.
- ⁸³ BARRILLEAUX B, PHINNEY DG, PROCKOP DJ, O'CONNOR KC. Review: ex vivo engineering of living tissues with adult stem cells. *Tissue Eng*. 2006; 12(11): 3007-3019.
- ⁸⁴ BLAU HM, BRAZELTON TR, WEIMANN JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell* 2001 June 29; 105 (7): 829-41.
- ⁸⁵ LEMONI RM, BERTOLINI F, CANCEDDA R, DE LUCA M, DEL SANTO A, FERRARI G, FERRARI S, MARTINO G, MAVILIO F, TURA S. Stem cell plasticity: time for a reappraisal? *Haematologica/the hematology journal*. 2005; 90(3): 360-378.)
- ⁸⁶ KIRSCHSTEIN R, SKIRBOLL LR. Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions. Department of Health and Human Services. June 2001. [en línea] <http://stemcells.nih.gov/info/scireport/2001report> Fecha de actualización: Julio 2007. [Consulta: 3 de abril 2008]
- ⁸⁷ PRESTON SL, ALISON MR, FORBES SJ, DIREKZE NC, POULSOM R, WRIGHT NA. The new stem cell biology: something for everyone. *J Clin Pathol: Molec Pathol*. 2003; 56(2): 86-96

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

- ⁸⁸ EVANS MJ, KAUFMAN MH Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981 Jul 9; 292(5819):154-6
- ⁸⁹ KAUFMAN MH, EVANS MJ, ROBERTSON EJ, BRADLEY A. Influence of injected pluripotential (EK) cells on haploid and diploid parthenogenetic development. *J Embryol Exp Morphol*. 1984 Apr;80:75-86.
- ⁹⁰ THOMSON J, ITSKOVITZ-ELDOR J, SHAPIRO SS, WAKNITZ MA, SWIERGIEL JJ, MARSHALL US, JONES JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-1147
- ⁹¹ YUNYING Y, THOMSON JA. Regenerative Medicine. Department of Health and Human Services. August 2006 [en línea]. <http://stemcells.nih.gov/info/scireport/2006report> Fecha de actualización: Febrero 2008. [Consulta: 31 de marzo 2008]
- ⁹² REUBINOFF BE, PERA M, FONG CY, TROUNSON A, BONASO A. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 399-404)
- ⁹³ COOPER MS, HEWISON M, STEWART PM. Glucocorticoid activity, inactivity and the osteoblast. *J Endocrinol*.1999; 163(2): 159-164.
- ⁹⁴ FRANKEL MS. In search of stem cell policy. *Science*. 2000;287(5457): 1397
- ⁹⁵ JO YY, LEE HJ, KOOK SY, CHOUNG HW, PARK JY, CHUNG JH. Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Eng*. 2007; 13(4):767-773

- ⁹⁶ CICCONE A, SACCHETTI B, BARTOLI A, MICHENZI S, CORSI A, FUNARI A, ROBEY PG, BIANCO P, RIMINUCCI M. Human maxillary tuberosity and jaw periostium as sources of osteoprogenitor cells for tissue engineering. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol Oral radiol Endod.* 2007; 104: 618.e1-618.e12.)
- ⁹⁷ FRIEDENSTEIN AJ, CHAILAKHJAN RK, LALYKINA KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet.* 1970;3(4):393-403
- ⁹⁸ FRIEDENSTEIN AJ, DERIGLASOVA UF, KULAGINA NN, PANASUK AF, RUDAKOWA SF, LURIA EA, RUADKOW IA. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp. Hematol.* 1974, 2(2): 83-92
- ⁹⁹ CAPLAN AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 1991 Sep;9 (5):641-50.
- ¹⁰⁰ CAPLAN AI. The mesengenic process. *Clin Plast Surg.* 1994 Jul;21(3):429-35. Review
- ¹⁰¹ SAFFORD KM, HICOK KC, SAFFORD SD, HALVORSEN YD, WILKISONWO, GIMBLE JM, RICE HE. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2002; 294: 371–379
- ¹⁰² SCHÄFFLER A, BÜCHLER C. Concise Review: Adipose Tissue-Derived Stromal Cells—Basic and Clinical Implications for Novel Cell-Based Therapies. *Stem Cells* 2007;25:818-827

- ¹⁰³ AMOH Y, LI L, KATSUOKA K, PENMAN S, HOFFMAN RM. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Apr 12;102(15):5530-4. Epub 2005 Mar
- ¹⁰⁴ BJORNSON CR, RIETZE RL, REYNOLDS BA, MAGLI MC, VESCOVI AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo *Science*. 1999 Jan 22;283(5401):534-7.
- ¹⁰⁵ HALVORSEN YD, FRANKLIN D, BOND AL, HITT DC, AUCHTER C, BOSKEY AL, PASCHALIS EP, WILKISON WO, GIMBLE JM. Extracellular matrix mineralization and osteoblast gene expression by human adipose tissue-derived stromal cells. *Tissue Eng*. 2001 Dec;7(6):729-41
- ¹⁰⁶ ZUK PA, ZHU M, ASHJIAN P, DE UGARTE DA, HUANG JI, MIZUNO H, ALFONSO ZC, FRASER JK, BENHAIM P, HEDRICK MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*. 2002 Dec;13(12):4279-95.
- ¹⁰⁷ ZUK PA, ZHU M, MIZUNO H, HUANG J, FUTRELL JW, KATZ AJ, BENHAIM P, LORENZ HP, HEDRICK MH. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies *Tissue Eng*. 2001 Apr;7(2):211-28
- ¹⁰⁸ DOMINICI M, LE BLANCH K, MUELLER I, SLAPER-CORTENBACH I, MARINI FC, KRAUSE DS, DEANS RJ, KEATING A, PROCKOP DJ, HORWITZ EM. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8(4): 315-317.
- ¹⁰⁹ MENDES SC, TIBBE JM, VEENHOF M, BAKER K, BOTH S, PLATENBURG PP, ONER FC, DE BRUIJN JD, VAN BLITTERSWIJK CA. Bone tissue-engineered implants

using human bone marrow stromal cells: effect of culture conditions and donor age. *Tissue Eng.* 2002, 8(6): 911-20

- ¹¹⁰ HUTMACHER DW, Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000, 21, 2529- 43
- ¹¹¹ LEONG KF, CHEAH CM, CHUA CK. Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs *Biomaterials* 2003; 24 (13): 2363-2378
- ¹¹² DAVIES JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int. J. Prosthodont.* 1998; 11(5): 391-401.
- ¹¹³ LANGE R, LUTHEN F, BECK U, RYCHLY J, BAUMANN A. Cell-extracellular matrix interaction and physico-chemical characteristics of titanium surfaces depend on the roughness of the material. *Biomol. Eng.* 2002; 19 (2-6): 255-61
- ¹¹⁴ CASSINELLI C, MORRA M, BRUZZONE G, CARPI A, DI SANTI G, GIARDINO R, FINI M, Surface chemistry effects of topographic modification of titanium dental implant surfaces: 2. In vitro experiments. *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.* 2003; 18(1): 46-52.
- ¹¹⁵ ALBREKTSSON T, JOHANSSON C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur. Spine J.* 2001; 10, Supp 2: S96-101.)
- ¹¹⁶ YANG S, LEONG KF, DU Z, CHUA CK. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Eng.* 2001; 7(6): 679-89.

- ¹¹⁷ PELTOLA SM, MELCHELS FP, GRIJPMAN DW, KELLOMÄKI M. A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. *Ann Med.* 2008; 40(4):268-80.)
- ¹¹⁸ SPECTOR M. Basic principles of scaffolds in tissue engineering. En: *Tissue Engineering. Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics. Second Edition.* Lynch SE, Marx RE, Nevins M, Wisner-Lynch LA editors. Editorial Quintessence Books. 2008 Cap 2: 26-36
- ¹¹⁹ ABUKAWA H, TERAH H, HANNOUCHE D, VACANTI JP, KABAN LB, TROULIS MJ. *J. Oral Maxillofac. Surg.* Formation of a mandibular condyle in vitro by tissue engineering. 2003; 61(1): 94-100.
- ¹²⁰ SHANTZ JT, HUTMACHER DW, NG KW, KHOR HL, LIM TC, TEOH SH. Evaluation of a tissue-engineered membrane-cell construct for guided bone regeneration. *Int. J. Oral Maxillof. Implant.* 2002; 17 (2): 161-74
- ¹²¹ SHUNG AK, BEHRAVESH E, JO S, MIKOS AG. Crosslinking characteristics of and cell adhesion to an injectable poly (propylene fumarate-co-ethylene glycol) hydrogel using a water-soluble crosslinking system. *Tissue Eng.* 2003; 9(2): 243 - 54.
- ¹²² JADLOWIEC JA, CELIL AB, HOLLINGER JO. Bone tissue engineering: recent advances and promising therapeutic agents. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2003; 3(3): 409-23.
- ¹²³ URIST MR. Bone formation by autoinduction. *Science.* 1965 Nov 12;150 (698):893-9).

- ¹²⁴ WOZNEY JM, WIKESJÖ UME.rh BMP-2: Biology and applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics. En: Tissue Engineering.Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics. Second Edition. LYNCH SE, MARX RE, NEVINS M, WISNER-LYNCH LA editors. Editorial Quintessence Books. 2008 Cap 11: 159-177).
- ¹²⁵ MARX RE. Use of PRP in oral and maxillofacial surgery and periodontology. En: Tissue Engineering.Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics. Second Edition. Lynch SE, Marx RE, Nevins M, Wisner-Lynch LA editors. Editorial Quintessence Books. 2008 Cap 9: 132-144).
- ¹²⁶ UCHIDA S, SAKAI A, KUDO H, OTOMO H, WATANUKI M, TANAKA M, NAGASHIMA M, NAKAMURA T. Vascular endothelial growth factor is expressed along with its receptors during the healing process of bone and bone marrow after drill-hole injury in rats. Bone. 2003; 32(5): 491-501
- ¹²⁷ FURUMATSU T, SHEN ZN, HAWAI A, NISHIDA K, MANABE H, OACI T, INOUE H, NINOMIYA Y. Vascular endothelial growth factor principally acts as the main angiogenic factor in the early stage of human osteoblastogenesis. J. Biochem. 2003; 133(5): 633-9
- ¹²⁸ RASUBALA L, YOSHIKAWA H, NAGATA K, IJIMA T, OHISHI M. Platelet-derived growth factor and bone morphogenetic protein in the healing of mandibular fractures in rats. Br. J. Oral Maxillofac. Surg. 2003, 41(3): 173-8.
- ¹²⁹ LYNCH SE., WISNER-LYNCH LA, NEVINS M.Use of rhPDGF to improve bone and periodontal regeneration. En: Tissue Engineering.Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics. Second Edition. LYNCH SE, MARX

RE, NEVINS M, WISNER-LYNCH LA editors. Editorial Quintessence Books. 2008 Cap 9: 132-144.

- ¹³⁰ SMITH AG. Culture and differentiation of embrionic stem cells. J Tissue Cult Methods 1991; 13: 89-94.
- ¹³¹ YAMADA KM, CLARK K. Cell biology: survival in three dimensions. Nature. 2002; 419: 790-791
- ¹³² MARTIN I, WENDT D, HEBERER M. The role of bioreactors in tissue engineering. Trends Biotechnol. 2004; 22: 80-86
- ¹³³ LIU SY, HAFNER J, DRAGIEVA G, BURÓ G. Birreactor microcarrier cell culture system (Bio MCCS) for large scale production of autologous melanocytes. Cell Transplant. 2004; 13: 809-816
- ¹³⁴ KINO-OKA M, UWEGAKI R, TAYA M. Birreactor design for succesive culture of anchorage-dependent cells operated in automated manner. Tissue Eng. 2005; 11: 535-545.
- ¹³⁵ MAHMOUDIFAR N, DORAN PM. Tissue engineering of human catilage and osteochondral composites using recirculation bioreactors. Biomaterials. 2005; 26: 7012-7024
- ¹³⁶ JANSEN FW, OOSTRA J, OORSCHOT, VAN BITTERSWIJK CA. A perfusion birreactor system capable of producing clinically relevant volumen of tissue engineered bone: in vivo bone formation showing Prof. Of concept. Biomaterials. 2006;27: 315-323

- ¹³⁷ SONG K, YANG Z, LIU T, ZHI W, LI X, DENG L, CUI Z, MAX. Fabrication and detection of tissue engineered bones with bio-derived scaffolds in a rotating birreactor. *Biotechnol Appl Biochem* 2006; 45: 65-74.
- ¹³⁸ ZANDSTRA PW, NAGY A. Stem cell bioengineering. *Annu Rev Biomed Eng.* 2001; 3: 275-305.
- ¹³⁹ KING JA, MILLER W. Birreactor developement for Stem Cell expansion and controled differentiation. *Curr Opin Chem Biol.* 2007; 11(4): 394-398.
- ¹⁴⁰ ZAO F, MA T. Perfusion birreactor system for human mesenchymal stem cell tissue engineering: dynamic cell seeding and construct development. *Biotechnol Bioeng* 2005; 91: 482-493.
- ¹⁴¹ XIE Y, HARDOIN P, ZHU Z, TANG T, DAI K, LU J. Three-dimensional flor perfusion culture system for stem cell proliferation incide the critical-size β tricalcium phosphate scaffold. *Tissue Eng* 2006; 12: 3535-3543.
- ¹⁴² POLA K, JULIA M, MANTALANS S. Stem Cells bioprocessing: an important milestone to move regenerative medicine research into the clinical arena. *Pediatrics Res.* 2008; 63(3): 461-466.
- ¹⁴³ SCHMELZEISEN R, SCHIMMING R, SITTINGER M. Making bone: implant insertion into tissue-engineered bone for maxillary sinus floor augmentation- a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg.* 2003; 31: 34-39
- ¹⁴⁴ SCHIMMING R, SCHMELZEISEN R. Tissue-engineered bone for maxillary sinus augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62(6): 724-729.

- ¹⁴⁵ ZIZELMANN C, SCHOEN R, METZGER MC, SCHMELZEISEN R, DOTT B, BORMANN KH, GELLRICH NC. Bone formation after sinus augmentation with engineered bone. *Clin Oral Impl Res.* 2007; 18: 69-73
- ¹⁴⁶ STRIETZEL FP. Tissue engineered bone for lateral alveolar ridge augmentation: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006; 21:131-135
- ¹⁴⁷ UEDA M, YAMADA Y, OZAWA R, OKAZAKI Y. Clinical case reports of injectable tissue-engineered bone for alveolar augmentation with simultaneous implant placement. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2005; 25 (2): 129-137
- ¹⁴⁸ HIBI H, YAMADA Y, UEDA M, ENDO Y. Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006; 35: 551-555.
- ¹⁴⁹ HIBI H, YAMADA Y, KAGAMI H, UEDA M. Distraction osteogenesis assisted by tissue engineering in an irradiated mandible: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2006; 21: 141-147
- ¹⁵⁰ UEDA M, YAMADA Y, KAGAMI H, HIBI H. Injectable bone applied for ridge augmentation and dental implant placement: human progress study. *Implant Dent.* 2008; 17(1): 82-87.
- ¹⁵¹ BEAUMONT C, SCHMIDT RJ, TATAKIS DN, ZAFIROPOULOS GG. Use of engineered bone for sinus augmentation. *J Periodontol.* 2008;79(8):541-548.
- ¹⁵² SHAYESTEH YS, KHOJASTEH A, SOILEIMANI M, ALIKHASI M, KHOSHZABAN A, AHMADBEIGI N. Sinus augmentation using human stem cells loaded into a β

tricalcium phosphate/hidroxyapatite scaffold. Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008; 106: 203-209

- ¹⁵³ MANGANO C, SCARANO A, IEZZI G, ORSINI G, PERROTTI V, MANGANO F, MONTINI S, PICCIRILLI M, PIATELLI A. Maxillary Sinus Augmentation using an engineered porous hidroxyapatite: a clinical, histological, and transmisión electrón microscopy study in man. J Oral Implantol. 2006;32(3):122-31
- ¹⁵⁴ YUAN K, HUANG JS, HSU CW, HUNG IJ. A mineralization-associated membrane protein plays a role in the biological functions of the peptide-coated bovine hydroxyapatite. J Periodontal Res. 2007 Oct;42(5):420-8.
- ¹⁵⁵ MARX RE, CARLSON ER, EICHTAEDT RM, et al, Platelet rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafos. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998; 85: 683-646.
- ¹⁵⁶ ANITUA E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. Int J Oral Maxillofac Implants. 1999; 14: 529-535
- ¹⁵⁷ MANNAI C. Early implant loading in severely resorbed maxilla using xenograft, autograft and platelet-rich plasma in 97 patients. J Oral Maxillofac Surg. 2006; 64: 1420-1426.
- ¹⁵⁸ PHILIPPART P, DAUBIE V, POCHE R. Sinus grafting using recombinant human tissue factor, platelet-rich plasma gel, autologous bone, and anorganic bovine bone mineral xenograft: histologic analysis and case reports. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005; 20(2): 274-281

Reconstrucción del maxilar posterior atrófico con células madre mesenquimales

- ¹⁵⁹ HOLLINGER JO, HART CE, HIRSCH SN, LYNCH S, FRIEDLAENDER GE. Recombinant human platelet-derived growth factor: biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am.* 2008 Feb;90 Suppl 1:48-54.
- ¹⁶⁰ BYUN HY, WANG HL. Sandwich bone augmentation using recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate alloplast: case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2008 Feb;28(1):83-7
- ¹⁶¹ HERFORD AS, BOYNE PJ, RAWSON R, WILLIAMS RP. Bone morphogenetic protein-induced repair of the premaxillary cleft. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Nov;65(11):2136-41
- ¹⁶² HERFORD AS, BOYNE PJ Reconstruction of mandibular continuity defects with bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Apr;66(4):616-24.
- ¹⁶³ CLARKE BJ, HOUSMAN D. Characterization of an erythroid precursor cell of high proliferative capacity in normal human peripheral blood. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977 Mar;74(3):1105-9.
- ¹⁶⁴ GOLTRY KL, ROWLEY JA, PETERS MC, BURCHARDT ER. Tissue repair cells for the treatment of cardiovascular diseases. *Adv Mol Med* 2007; 3(1): 5-13.)
- ¹⁶⁵ WHITMAN DH, BERRY RL, GREEN DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55: 1294-1299
- ¹⁶⁶ TATUM OH. Maxillary and sinus implant reconstruction. *Dent Clin North Am.* 1993; 30: 207-229.

- ¹⁶⁷ SPIKERMAN H. Implant Systems. En: Implantology. Color Atlas of Dental Medicine. Rateitschak KH, Wolf HF editors. Editorial Georg Thieme Verlag. 1995. Páginas: 26-35.
- ¹⁶⁸ MEREDITH N, ALLEYNE D, CAWLEY P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. Clin Oral Impl Res 1996; 7: 261-267.
- ¹⁶⁹ FRIBERG B, SENNERBY L, LINDEN B, GRÖNDAHL K, LEKHOLM U. Stability measurements of one-stage Brånemark implants during healing in mandibles. A clinical resonance frequency analysis study. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 1999; 28: 266-272
- ¹⁷⁰ HUANG HM, CHIU CL, YEH CY, LIN CT, LIN LH, LEE SY. Early detection of implant healing process using resonance frequency analysis. Clin. Oral Impl. Res. 2003;14(4): 437-443.
- ¹⁷¹ PARFITT AM, DREZNER MK, GLORIEUX FH, KANIS JA, MALLUCHE H, MEUNIER PJ, OTT SM, RECKER RR. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR. Histomorphometry Nomenclature Committee. J Bone Miner Res. 1987; 2:595-610
- ¹⁷² FOLDES J, SHIH MS, PARFITT AM. Frequency distribution of tetracycline-based measurements: implication for the interpretation of bone formation indices in the absence of double -labeled surfaces. J Bone Miner Res. 1990; 5:1063-1067.

- ¹⁷³ SCHWARTZ Z, GOLDSTEIN M, RAVIV E, HIRSCH A, RANLY DM, BOYAN BD Clinical evaluation of demineralized bone allograft in a hyaluronic acid carrier for sinus lift augmentation in humans: a computed tomography and histomorphometric study. *Clin Oral Impl Res.* 2007;18:204-211.
- ¹⁷⁴ GAPSKI R, NEIVA R, OH T-J, WANG H-L. Análisis histológico del material de injerto de hueso mineralizado humano en los procedimientos de elevación de seno: serie de casos. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006; 10(1): 59-66.
- ¹⁷⁵ YILDIRIM M SPIEKERMANN H, HANDT S, EDELHOFF D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16(1):23-33.)
- ¹⁷⁶ CRESPI R, VINCI R, CAPPARE P, GHERLONE E, ROMANOS GE. Calvarial versus iliac crests for autologous bone graft material for a sinus lift procedure: a histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007; 22(4): 527-532.
- ¹⁷⁷ JOHN H-D, WENZ B. Histomorphometric analysis of natural bone mineral for maxillary sinus augmentation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19(2): 199-207.
- ¹⁷⁸ ZAFFE D, LEGHISSA GC, PRADELLI J, BOTTICELLI AR. Histological study on sinus lift grafting by Fisiograft and Bio-Oss. *J Mat Sci Mat Med.* 2005; 16: 789-793.
- ¹⁷⁹ LEE CYS, ROHRER MD, PRASAD HS Immediate loading of the grafted maxillary sinus using platelet rich plasma and autogenous bone: a preliminary study

with histologic and histomorphometric analysis. *Implant dent.* 2008; 17(1): 59-73.

- ¹⁸⁰ FROUM SJ, WALLACE SS, ELIAN N, CHO SC, TARNOW DP. Comparación del aloinjerto de hueso esponjoso (Puros) y de la matriz de hueso bovino inorgánico (Bio-Oss) para el aumento del seno: histomorfometría al cabo de 26 y 32 semanas tras el injerto. *Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia.* 2006; 10(6): 565-573.
- ¹⁸¹ KRAUSER JT, ROHRER MD, WALLACE SS. Human histologic and histomorphometric análisis comparing Osteograf/N with PepGen P-15 in the maxillary sinus elevation procedure: a case report. *Implant Dent.* 2000; 9(4): 298-301.
- ¹⁸² SMILER D. Comparison of anorganic bovine mineral with and without synthetic peptide in a sinus elevation: a case study. *Implant dent.* 2001; 10(2): 139-142.
- ¹⁸³ PELEG M, GARG AK, MISH CM, MAZOR Z. Maxillary sinus and ridge augmentations using a surface-derived autogenous bone graft. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62(12): 1535-1544.
- ¹⁸⁴ SZABÓ G, HUYS L, COULTHARD P, MAIORANA C, GARAGIOLA U, BARABÁS J, NÉMETH Z, HRABÁK K, SUBA Z. A prospective multicenter randomized clinical trial of autogenous bone versus β -tricalcium phosphate graft alone for bilateral sinus elevation: histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005; 20: 371-381

- ¹⁸⁵ GELBART M, FRIEDMAN R, BURLUI V, Maxillary sinus augmentation using a peptide-modified graft material in three mixtures: A prospective human case series of histologic and histomorphometric results *Implant Dent.* 2005; 14; 185-193.
- ¹⁸⁶ FEINBERG SE, AGHALOO TL, CUNNINGHAM LL. Role of tissue engineering in oral and maxillofacial reconstruction: findings of the 2005 AAOMS research summit. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005; 63(10): 1418-1425.
- ¹⁸⁷ MEIJER GJ, DE BRUIJN JD, KOOLE R, VAN BLITTERSWIJK CA. Cell based bone tissue engineering in jaw defects. *Biomaterials.* 2008; 29: 3053-3061.
- ¹⁸⁸ SMILER D, SOLTAN M, LEE JW. A histomorphogenic analysis of bone grafts augmented with adult stem cells. *Implant Dent.* 2007; 16(1): 42-47
- ¹⁸⁹ LUNDELL BI, MANDALAM RK, SMITH AK. Clinical scale expansion of cryopreserved small volume whole bone marrow aspirates produces sufficient cells for clinical use. *J. Hematother.* 1999; 8(2): 115-127.
- ¹⁹⁰ BACHIER CR, GOKMEN E, TEALE J, LANZKRON S, CHILDS C, FRANKLIN W, SHPALL E, DOUVILLE J, WEBER S, MULLER T, ARMSTRONG D, LEMAISTRE CF. Ex-vivo expansion of bone marrow progenitor cells for hematopoietic reconstitution following high-dose chemotherapy for breast cancer. *Exp Hematol.* 1999; 27(4): 615-623.
- ¹⁹¹ DENNIS JE, ESTERLY K, AWADALLAH A, PARRISH CR, POYNTER GM, GOLTRY KL. Clinical-scale expansion of a mixed population of bone marrow-derived stem and progenitor cells for potential use in bone tissue regeneration. *Stem Cells.* 2007; 25:2575-2582.

- ¹⁹² KAZAKOS K, LYRAS DN, VERETTAS D, TILKERIDIS K, TRYFONIDIS M. The use of autologous PRP gel as an aid in the management of acute trauma wounds: Injury. 2008, doi:10.1016/j.injury.2008.05.002
- ¹⁹³ SARATZIS N, SARATZIS A, MELAS N, KISKINIS D. Non-activated autologous platelet-rich plasma for the prevention of inguinal wound-related complications after endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. J Extra Corpor Technol. 2008 Mar;40(1):52-6.
- ¹⁹⁴ NIKOLIDAKIS D, JANSEN JA. The biology of platelet-rich plasma and its application in oral surgery: literature review. Tissue Eng Part B Rev. 2008 Sep;14(3):249-58.

CAPÍTULO 11:

ANEXOS

ANEXO 1:

- Aprobación comité ético

- Consentimientos informados:
 1. Terapia celular
 2. Elevación sinusal
 3. Acto anestésico
 4. Colocación de implantes



CENTRO MEDICO TEKNON

CMT 22 AB04

VILANA, 12
08022 BARCELONA
www.teknon.es

Tel. 93 290 62 00
Fax 93 211 26 90
info@teknon.es

APROBACIÓN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D. Jordi Bofill Thomasa, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica de Centro Médico Teknon de Barcelona,

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta de Centro Médico Teknon, para que realice el ensayo *Regeneración Ósea con Células de Médula Osea Autóloga (CO2-1) y mineral de Hueso Bovino (Bio-Oss®)* en el tratamiento quirúrgico del Edentulismo del Maxilar Superior y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

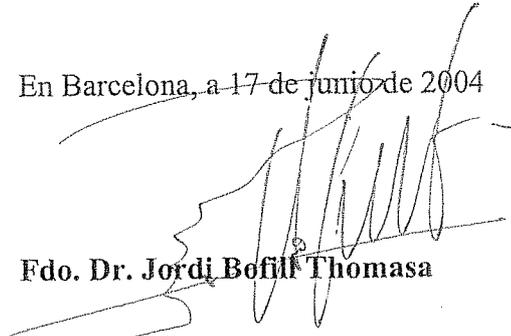
La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Son adecuados el procedimiento previsto para obtener el consentimiento informado y la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo.

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho ensayo clínico sea realizado en Centro Médico Teknon por el Dr. Federico Hernández Alfaro como investigador principal y los Drs. Lluís Orozco Delclós, Carles Martí Pagés, Robert Soler Rich y Carlos Arranz Obispo como co-investigadores.

En Barcelona, a 17 de junio de 2004


Fdo. Dr. Jordi Bofill Thomasa



CENTRO MEDICO TEKNON

VILANA, 12
08022 BARCELONA
www.teknon.es

Tel. 93 290 62 00
Fax 93 211 26 90
info@teknon.es

Dr. Hernández Alfaro

Barcelona, 26 de Enero de 2005

Distinguido Dr. Alfaro:

De acuerdo con su solicitud, me complace adjuntarle el listado de los miembros del Comité de Etica que participaron en la reunión celebrada con fecha 28 de mayo de 2004, en la que se evaluó el estudio de código **CMT22AB04-01** titulado: "**Regeneración Ósea con Células de Médula Ósea Autóloga (CO2-1) y mineral de Hueso Bovino (Bio-Oss®) en el tratamiento quirúrgico del Edentulismo del Maxilar Superior. Estudio Piloto fase III**".

Dr. Jordi Bofill	Secretario CEIC Director Médico CMT
Sr. Edelmiro Vergés	Jurista
Sr. Carles Mestre	Director Servicios Centrales y Generales CMT Persona Ajena
Dr. Joan Costa Pagès	Farmacólogo Clínico
Dr. Alfons Vergès Torres	Especialista en Obstetricia
Sra. Isabel Mas	Directora de Enfermería
Dr. Santos Palazzi Coll	Especialista en Ortopedia i Traumatología
Dr. Isidre Claret	Presidente Honorario Cuerpo Facultativo
Dra. Susana Roig	Jefe de Farmacia Centro Médico Teknon
Dr. Joan Ruiz Manzano	Especialista en Neumologia Centro Médico Teknon - Vocal

Reciba un cordial saludo,


Dr. Jordi Bofill
Secretario CEIC



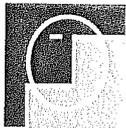
DOCUMENTO INFORMATIVO AL PACIENTE

**ESTUDIO PROSPECTIVO
REGENERACIÓN ÓSEA CON CÉLULAS DE MÉDULA ÓSEA AUTÓLOGA
(CO2-1)
Y MINERAL DE HUESO BOVINO (BIO-OSS®) EN EL TRATAMIENTO
QUIRÚRGICO DEL EDENTULISMO DEL MAXILAR SUPERIOR**

Estimado paciente:

Según los últimos avances en la Medicina y Odontología, el uso de los implantes dentarios osteointegrados para la restitución de las piezas dentarias ausentes es la técnica ideal a realizar. Restituyen piezas dentarias que se han perdido con el tiempo por diferentes causas, imitando lo máximo posible a la anatomía y fisiología dental. El implante dentario, es un tornillo que hará las funciones de las raíces dentarias. Va atornillado en el hueso alveolar, y está constituido por un material (titanio), cuya integración y tolerancia en el organismo está demostrada por su extenso uso durante muchos años, en otro tipo de prótesis (cadera, rodilla, etc.). Sobre este implante se colocará, después de un tiempo de cicatrización ósea, la corona dentaria, que sería la parte que vemos de un diente. De esta forma, realizamos la restitución de dientes perdidos, sin tener que manipular dientes sanos y obteniendo una prótesis fija.

Como único requisito para la colocación de los implantes dentarios es la presencia suficiente de hueso alveolar para que el implante tenga estabilidad. En caso de no tener hueso suficiente, existen técnicas quirúrgicas que resuelven el problema y posibilitan la colocación de los implantes dentarios.



En su caso particular, ocurre que en la zona donde deberían instalarse los implantes, no existe el hueso suficiente para la estabilidad de éstos, por lo que se hace necesario colocar algún material óseo o sintético para aumentar el volumen óseo y poder así, colocar los implantes. En muchos casos, se realiza la obtención de hueso de diferentes partes del organismo (zonas intraorales, calota craneal, cadera, tibia, costilla, etc), para transportarlo a la zona donde irán los implantes para poderlos poner. Existen además materiales como el Bio-Oss® (mineral de hueso bovino), que se utilizan para el mismo uso, sin necesidad de tener que obtener el hueso suyo de otro sitio de su cuerpo, y habiéndose comprobado su eficacia a lo largo de muchos años y numerosas publicaciones. Los resultados con estos biomateriales de manera aislada, son no obstante inferiores a los conseguidos con hueso del propio paciente. El inconveniente de este último, es la necesidad de una zona donante en el propio paciente y las consecuencias que la toma del injerto puede provocar en dicha zona.

Por otro lado, últimamente se están investigando el uso de las células madre formadoras de hueso. Son aquellas células obtenidas de la médula ósea de un paciente que tras un cultivo y tratamiento de las mismas, puedan favorecer la formación de hueso en una zona donde el hueso es escaso o prácticamente ha desaparecido. La obtención de dichas células se realiza bajo anestesia local y mediante la punción con una aguja en la médula ósea de la cresta iliaca (cadera). Posteriormente, las células de médula ósea se cultivaran durante dos semanas en un laboratorio especializado con lo que lograremos obtener más de 1 litro con contenido muy rico en células jóvenes productoras de hueso. Transcurrido este tiempo acudirá al Instituto de Cirugía Maxilofacial para la cirugía planificada, que



previamente le habrá explicado su médico; y que consiste, brevemente, en la

mezcla de las células madre con el Bio-Oss® y su colocación en la zona con déficit de hueso, en una primera intervención; y tras un periodo de espera para la formación ósea (4 meses), se realizará la segunda intervención quirúrgica en la que se colocarán los implantes dentarios y se realizarán las biopsias óseas para el estudio microscópico que permitirá valorar la calidad del hueso formado. Después de un tiempo de espera para que los implantes se integren en el hueso, se realizará la colocación de la prótesis dental definitiva.

El objetivo de este estudio es determinar la efectividad del crecimiento óseo con el uso de estas células madre formadoras de hueso. Todas estas estrategias se han probado separadamente en estudios clínicos y son utilizadas diaria y rutinariamente en diversas aplicaciones clínicas.

Le invitamos a participar en el estudio, esto requerirá cirugía, visitas de seguimiento clínico y radiológico regular. Estas visitas estarán normalmente programadas como seguimiento y cuidados post-quirúrgicos. El estudio clínico será documentado y evaluado; a su vez las radiografías serán fotografiadas, almacenadas y evaluadas.

La participación o la exclusión en este estudio no afectará de ninguna manera al tratamiento. Usted puede retirarse del estudio en cualquier momento sin dar razón alguna de su decisión y seguirá siendo atendido correctamente.

Los datos y la información obtenida en este estudio siempre serán confidenciales, significando que su información personal (nombre, sexo, edad,...) no serán de uso público. El personal que participa en el estudio no está autorizado en transmitir o



INSTITUTO de CIRUGÍA
MAXILOFACIAL
E IMPLANTOLOGÍA

www.instituto-maxilofacial.com



CENTRO MEDICO TEKNON

CONSULTORIOS VILANA. Desp.185

C/ VILANA, 12

08022 BARCELONA

Tel. 93 393 31 85

Fax: 93 393 30 85

divulgar esta información. Todos los datos serán anónimos y se almacenarán

electrónicamente, cumpliendo con la actual regulación de protección de datos.

Lugar, Fecha y Firma del Paciente

13-1-2005

Lugar, Fecha y Firma del Medico



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ACTO ANESTÉSICO

El/La Dr/Dra. PIAR MOLA informa al paciente Sr/Sra [REDACTED] que para la intervención quirúrgica de CELULAS MADRE, una vez valorada su historia clínica y el resultado de las pruebas complementarias efectuadas procede a aplicar la anestesia que esté indicada.

Riesgos Generales

1. Mis antecedentes personales pueden incrementar los riesgos indicados:

2. Se me ha informado de la posibilidad de que surja alguna situación inesperada durante la intervención que requiriese algún procedimiento distinto o adicional del previsto inicialmente, en cuyo caso autorizo igualmente al equipo médico a realizar lo que crea conveniente o necesario.

3. Se me ha informado de la necesidad de adoptar como medidas preoperatorias, además del ayuno previo a la intervención, las siguientes:

Siéndome dada la información sobre la técnica a la que voluntariamente me voy a someter, entendiendo la descripción de dicha técnica, conociendo los beneficios que me puede reportar, así como las posibles complicaciones y riesgos generales que se pueden derivar y los particulares de mi caso, y habiendo sido informado de las alternativas existentes, AUTORIZO al anestesiólogo a realizar el procedimiento anestésico que me ha sido propuesto.

Sé que el otorgar este consentimiento informado no supone ningún tipo de renuncia a mis derechos médicos y legales de todo orden, así como también puedo anularlo en cualquier momento previo a la intervención.

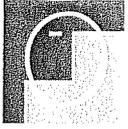
Barcelona, a 25 de Enero de 2005.

Firmas:

Paciente/ Representante Legal
DNI:

Anestesiólogo
Nº colegiado:

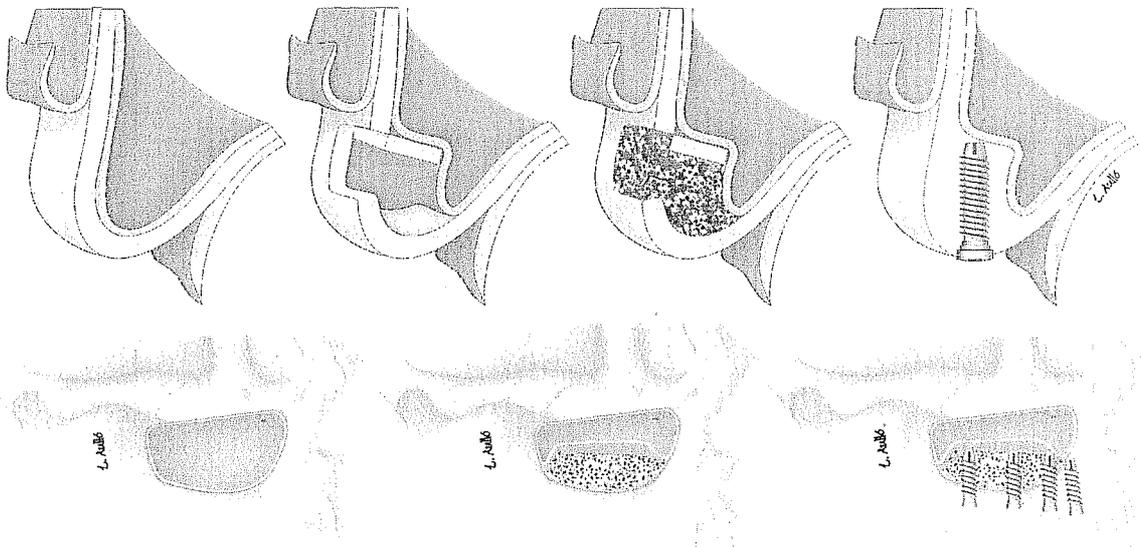
3178



Consentimiento informado para intervención quirúrgica

Para satisfacción de los DERECHOS DEL PACIENTE, y en cumplimiento de la Ley General de Sanidad.

ELEVACIÓN DEL SUELO DEL SENO MAXILAR PARA COLOCACIÓN DE IMPLANTES



D/Dña [REDACTED] como paciente (o como su representante), en pleno uso de mis facultades, libre y voluntariamente:

Entiendo que el objetivo de la cirugía es intentar reparar la atrofia ósea del maxilar superior para poder permitir la colocación de implantes oseointegrados. Todos estos procedimientos suponen un indudable beneficio, sin embargo no están totalmente exentos de posibles complicaciones que usted debe conocer.

La cirugía no es una ciencia exacta, y este consentimiento informado no incluye absolutamente todas las complicaciones que pueden ocurrir en esta intervención, sino las más frecuentes. Su cirujano no le puede dar garantías sobre el resultado de ningún procedimiento quirúrgico, incluyendo este. Habitualmente, esta cirugía tiene éxito (el porcentaje de éxito de los implantes colocados en la región reconstruida habitualmente oscila entre el 80 y el 90%), pero todas las intervenciones entrañan un cierto riesgo, que en este caso incluye:

- La elevación del suelo del seno y la colocación del injerto óseo bajo el mismo puede complicarse con una infección (sinusitis), sangrado, o molestias postoperatorias. En raras ocasiones se puede producir una infección del injerto óseo que lleve a la pérdida total o parcial del mismo que impida la colocación de todos o algunos de los implantes. En ese caso podría quedar una comunicación orosinusal que requiriese cirugía para su reparación. Ocasionalmente se podría producir una reabsorción excesiva del injerto que impida la colocación de los implantes



He comprendido la naturaleza y propósitos del procedimiento quirúrgico que se me va a practicar. He tenido la oportunidad de aclarar mis dudas y ampliar oralmente la información en entrevista personal con el Dr. MARTI PAGES, por lo que declaro que he sido debidamente INFORMADO/A, y en consecuencia, AUTORIZO al Dr. MARTI PAGES para que me sea realizada la intervención quirúrgica

Si surgiese cualquier situación inesperada durante la intervención, autorizo a mi cirujano a realizar cualquier procedimiento o maniobra distinta de las indicadas en este documento, que a su juicio estimase oportuna para mi tratamiento.

Entiendo que este consentimiento puede ser revocado por mi en cualquier momento antes de realizar el procedimiento.

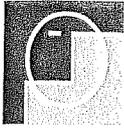
Observaciones.....

Y, para que así conste, firmo el presente original después de leído, por duplicado, cuya copia se me proporciona.

En. Barcelona.,a 25 de Enero de 2.005.

Firma del paciente
 (o su representante legal en caso de incapacidad
 D. N. I. [REDACTED])

Firma del médico. Nº de colegiado.



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ACTO ANESTÉSICO

El / La Dr/Dra. PUAR MORA informa al paciente Sr/Sra [REDACTED] que para la intervención quirúrgica de IMPUSIONES, una vez valorada su historia clínica y el resultado de las pruebas complementarias efectuadas procede a aplicar la anestesia que esté indicada.

Riesgos Generales

1. Mis antecedentes personales pueden incrementar los riesgos indicados:.....
2. Se me ha informado de la posibilidad de que surja alguna situación inesperada durante la intervención que requiriese algún procedimiento distinto o adicional del previsto inicialmente, en cuyo caso autorizo igualmente al equipo médico a realizar lo que crea conveniente o necesario.
3. Se me ha informado de la necesidad de adoptar como medidas preoperatorias, además del ayuno previo a la intervención, las siguientes:.....

Siéndome dada la información sobre la técnica a la que voluntariamente me voy a someter, entendiendo la descripción de dicha técnica, conociendo los beneficios que me puede reportar, así como las posibles complicaciones y riesgos generales que se pueden derivar y los particulares de mi caso, y habiendo sido informado de las alternativas existentes, AUTORIZO al anestesiólogo a realizar el procedimiento anestésico que me ha sido propuesto.

Sé que el otorgar este consentimiento informado no supone ningún tipo de renuncia a mis derechos médicos y legales de todo orden, así como también puedo anularlo en cualquier momento previo a la intervención.

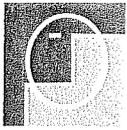
Barcelona, a 24 de Mayo de 2005

Firmas:

Paciente/ Representante Legal
DNI:

[REDACTED]

Anestesiólogo
Nº colegiado:



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA COLOCACIÓN DE IMPLANTES DENTALES
OSTEOINTEGRADOS.**

Para satisfacción de los DERECHOS DEL PACIENTE, como instrumento favorecedor del correcto uso de los Procedimientos Diagnósticos y Terapéuticos, y en cumplimiento de la Ley General de Sanidad.

Yo, D/Doña. [REDACTED] como paciente

(o D/Doña.)

como su representante), en pleno uso de mis facultades, libre y voluntariamente, DECLARO que he sido debidamente INFORMADO/A, por el Dr. MARTI PAGES y en consecuencia, AUTORIZO a .DR. MARTI PAGES Para que me sea realizado el procedimiento diagnóstico/terapéutico denominado INSTALACION DE FIJACIONES DE TITANIO, o cualquier otro procedimiento que estime necesario para completar el tratamiento previsto (colocación de membranas, material de injerto, etc.).

Me doy por enterado/a de los siguientes puntos relativos a dicho procedimiento:

El propósito de la intervención es procurar restaurar la pérdida de uno o varios dientes mediante la colocación de una prótesis fija o removible conectada a los implantes dentales. He sido informado de planes alternativos de tratamiento mediante la utilización de prótesis convencionales. Los implantes dentales son unas estructuras de metal con forma de tornillo que se introducen en una primera intervención dentro del hueso realizando un agujero en el mismo; tras un período de espera variable se realiza una segunda pequeña intervención consistente en la conexión del implante a la prótesis. La intervención puede realizarse con anestesia local o general (con los riesgos inherentes a ellas), y que los fármacos utilizados pueden producir determinadas alteraciones del nivel de conciencia por lo que no podré realizar determinadas actividades, tales como conducir un vehículo.

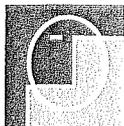
He sido informado de que existen ciertos riesgos potenciales en toda intervención quirúrgica realizada en la boca, que se encontrarán agravados en caso de que sea fumador o que tenga una inadecuada higiene de la boca, y que en este caso, incluyen entre otros:

- Alergia al anestésico u otro medicamento utilizado, antes, durante o después de la cirugía.
- Molestias, hematomas e inflamación postoperatoria, durante los primeros días.
- Sangrado.
- Infección postoperatoria, que requiera tratamiento posterior.
- Lesión de raíces de dientes adyacentes.
- Lesión nerviosa que provoque falta de sensibilidad parcial o completa del labio inferior y superior, mentón, dientes, encía o de la lengua, que suele ser transitoria y excepcionalmente permanente.
- Comunicación entre la boca y la nariz o los senos maxilares.
- Aspiración o tragado de algún instrumento quirúrgico de pequeño tamaño o del propio implante.
- Desplazamiento del implante a las estructuras vecinas.
- Rotura de instrumentos o de la aguja de anestesia.

Los implantes osteointegrados han sido ampliamente utilizados en todo el mundo, desde hace más de 20 años, y son un procedimiento considerado seguro por la comunidad científica internacional. No obstante he sido informado de las complicaciones potenciales de este procedimiento quirúrgico, que incluyen además de las anteriores, y no de forma exhaustiva:

- Apertura de los puntos de sutura y exposición del implante.
- Falta de integración del implante con el hueso que le rodea, con la consiguiente pérdida precoz o tardía del/los implantes, y la posible modificación de la prótesis planificada.
- Imposibilidad de colocar un implante en la localización prevista, por las características del hueso remanente, no necesitándose en muchos casos su retirada

En casos excepcionales, con atrofia importante ósea, puede producirse una fractura mandibular, que requiera más tarde tratamiento.



Fractura del implante o de algún componente de la prótesis.

- Complicaciones inherentes a la prótesis dental: no cumplimiento de las expectativas estéticas, dificultad para el habla, acúmulo de comida, etc.

Si surgiese cualquier situación inesperada durante la intervención, autorizo a mi cirujano a realizar cualquier procedimiento o maniobra distinta de las indicadas en éste documento, que a su juicio estimase oportuna para mi tratamiento.

No se me ha dado ninguna garantía de que el tratamiento tendrá éxito. Me ha sido explicado que para la realización de este tratamiento es imprescindible mi colaboración con una higiene oral muy escrupulosa y con visitas periódicas para control clínico y radiográfico. Acepto cooperar con las recomendaciones de mi médico mientras esté a cargo de mi tratamiento, comprendiendo que cualquier falta de seguimiento de las mismas podrá provocar resultados inferiores a los esperados.

Riesgos específicos en mi caso.....

Recibida la anterior información, considero que he comprendido la naturaleza y propósitos del procedimiento ARIETA INDICADA..Además, en entrevista personal con el Dr. MARTI PAGES he sido informado/a, en términos asequibles, del alcance de dicho tratamiento. En la entrevista he tenido oportunidad de proponer y resolver mis posibles dudas, y de obtener cuanta información complementaria he creído necesaria. Por ello, me considero en condiciones de ponderar debidamente tanto sus riesgos como la utilidad y beneficios que de él puedo obtener.

Estoy satisfecho/a con la información que se me ha proporcionado y, por ello, **DOY MI CONSENTIMIENTO** para que se me practique.....

Este consentimiento puede ser revocado discrecionalmente por mi, sin necesidad de justificación alguna, en cualquier momento antes de realizar el procedimiento.

Observaciones.....

Y, para que así conste, firmo el presente original **después de leído**, por duplicado, cuya copia se me proporciona.

En.. Barcelona a 24 de Mayo de. 2.005

Firma del paciente
(o su representante legal
en caso de incapacidad)
D.N.I.

[Redacted signature]

Firma del médico
Nº de colegiado

En caso de negativa por parte del paciente a firmar el consentimiento
Firma del testigo. D.N.I.

ANEXO 2:

Criterios inclusión y exclusión

Aastrom Biosciences Inc.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Instructions for CRF 1: Eligibility

The purpose of this form is to provide information on the eligibility of each subject enrolled in the study.

ITEM

INSTRUCTIONS

Inclusion Criteria
Questions 1-3

Mark the appropriate box, either YES or NO with a .
Each question must be answered YES to permit participation on the study.

Exclusion Criteria
Questions 1-13

Mark the appropriate box, either YES or NO with a .
Each question must be answered NO to permit participation on the study.

**Recorder's Signature
and Date**

The Recorder must review the form for completeness and accuracy, then sign and date.

Please complete all data items for this form. Missing or inconsistent data may require additional follow-up.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

Inclusion Criteria		YES	NO
1	The subject has total or partial edentulism of the upper jaw which affects both posterior-superior sections and which for their implantological rehabilitation requires the use of the sinus elevation technique.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	The subject has teeth or prostheses in the mandible, which will occlude with the maxillary implants.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	The subject has the ability to give informed consent and sign an approved informed consent.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>All Inclusion questions must be answered YES for study participation</i>			
Exclusion Criteria		YES	NO
1	The subject has acute sinusitis.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	The subject has sinusal cysts or tumors in any of the sinuses.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	The subject has oro-antral fistulas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	The subject has a history of facial irradiation.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	The subject has a neoplastic disease or immuno-depressive condition.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6	The subject has serious psychiatric disturbances.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	The subject has an uncontrolled systemic disease e.g. diabetes.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8	The subject has congenital bone disease e.g. hypophosphataemia, metabolic bone disease related to primary or secondary hypoparathyroidism.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9	The subject has chronic renal pathology.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	The subject has known allergies to any materials and drugs used in the study: Anaesthetic (Articaine). Antibiotics vancomycin and gentamicin. Horse or fetal bovine serum. Bio-Oss® bovine bone mineral.	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
11	The subject has an active tobacco habit or other drug addictions.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12	The subject has other pathologies or circumstances that may adversely affect treatment.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13	The subject is pregnant or not using adequate birth control measures.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>All Exclusion questions must be answered NO for study participation</i>			

ORIGINAL

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

ANEXO 3:

Recogida de datos preoperatorio:

1. Historia clínica
2. Exploración física
3. Exploración radiológica

Aastrom Biosciences Inc.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Instructions for CRF 2: Clinical History

The purpose of the form is to collect the clinical history of the subject prior to study treatment.

<u>ITEM</u>	<u>INSTRUCTIONS</u>
Medical History	For each system listed, mark <input checked="" type="checkbox"/> "current condition" or "previous condition" if the subject has or has had any condition within the system. Specify condition and record comments, if needed. Indicate "N/A" if information is not available.
Dental History	<p>Record date of birth and sex. For women, indicate if the female subject is using birth control, menopausal or post-menopausal.</p> <p>Indicate if subject has or had in the past a history of nicotine or drug addiction. Indicate cessation date of addiction and length of addiction in years.</p> <p>Record previous dental and periodontal treatments.</p> <p>List the medication, vitamins or supplements the subject is currently using. Indicate dose and daily frequency and condition treated, if applicable. Any medication continued during study treatment shall be recorded on CRF 7.</p>
Recorder's Signature and Date	The Recorder must review the form for completeness and accuracy, then sign and date.

Please complete all data items for this form. Missing or inconsistent data may require additional follow-up.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

MEDICAL HISTORY

Date of Evaluation: / /

Race: Caucasian Hispanic Asian African Other _____

System / Condition	Current Condition	Previous Condition	N/A	Specify Condition; Comments
Skin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
HEENT	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratory	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Musculo-skeletal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gastrointestinal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hepatic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Urogenital	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Renal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Endocrine and Metabolic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Neurological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Psychological	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hematopoietic / Lymphatic	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Extremities	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Allergies	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Radiation treatment	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Biomedical or tissue implant	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Bruxism	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Other	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

Patient's date of birth (dd/mm/yyyy)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Female <input type="checkbox"/> Male
--------------------------------------	---	---

Women only	<input type="checkbox"/> Active Birth Control	<input type="checkbox"/> Menopausal	<input type="checkbox"/> Post-menopausal
------------	---	-------------------------------------	--

Dental History

Substance Abuse	Current	Previous	Cessation Date	Duration (years)
Nicotine addiction <input type="checkbox"/> Cigarettes <input type="checkbox"/> Other	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/>
Drug addiction	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/>

Previous Dental and Periodontal Care and Treatments	Date
	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Drugs, vitamins, or supplements currently using before treatment			
Item	Dose	Frequency	Condition

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

Aastrom Biosciences Inc.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Instructions for CRF 3 – Clinical Exam

The purpose of this form is to record the clinical evaluation of the pathology.

<u>ITEM</u>	<u>INSTRUCTIONS</u>
Extraoral Exam	For each feature listed, mark the appropriate box, “normal”, “abnormal” or ND (not done) with a <input type="checkbox"/> . Specify the abnormality when present.
Intraoral Exam	For each feature listed, mark the appropriate box, “normal”, “abnormal” or ND (not done) with a <input type="checkbox"/> . Specify the abnormality when present.
Periodontal Disease Diagnosis	Mark with a <input type="checkbox"/> the appropriate diagnosis if periodontal disease is present.
Location	Indicate if the periodontal disease is localized at a particular location or generalized.
Clinical Data	For each category listed, indicate with a <input type="checkbox"/> if the abnormality is present. Record the Bleeding and Plaque index as a whole number.
Edentulism	For each missing tooth, circle the corresponding tooth number.
Reason and Duration	For each missing tooth in the UPPER JAW, indicate the tooth number, # of years missing and cause of missing tooth.
Jaw Classification	Circle the appropriate Cawood and Howell edentulous jaw classification.
Bone Quality	Circle the appropriate Lekholm and Zarb classification of the maxilla bone quality.
Bone Height and Width	Record the existing bone height and width at the level of the edentulous socket or region in millimeters.
Recorder’s Signature and Date	The Recorder must review the form for completeness and accuracy, then sign and date.

Please complete all data items for this form. Missing or inconsistent data may require additional follow-up.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

Extraoral Examination and Evaluation

Skin: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Lymph Nodes: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

TMJ: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Lips: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Intraoral Examination and Evaluation

Hard and soft palate: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Floor of mouth: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Tongue: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Tonsillar area: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Muscles of mastication: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Salivary glands: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Oral mucosa: Normal Abnormal - Specify abnormality if present: _____ ND

Periodontal Disease Diagnosis

None

Gingivitis: Plaque related Hormonal Other _____

Chronic Periodontitis: Mild Moderate Severe

Aggressive Periodontitis: Localized Generalized

Periodontitis associated with Systemic Disease

Periodontitis associated with Endodontic Lesions

Necrotizing Periodontal Disease NUG NUP

Periodontal Abscess

Developmental or Acquired Periodontal Deformities

Other: _____

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator														
Periodontal Disease Location: <input type="checkbox"/> Generalized <input type="checkbox"/> Localized: <input type="checkbox"/> Upper <input type="checkbox"/> Lower <input type="checkbox"/> Anterior <input type="checkbox"/> Posterior																
Clinical Data: Gingiva: Calculus: Probing Depth: Mobility: Bleeding / Plaque Index Other	<input type="checkbox"/> Abnormal color of gingiva <input type="checkbox"/> Hypertrophy of gingiva <input type="checkbox"/> Recession of gingiva <input type="checkbox"/> Supragingival <input type="checkbox"/> Subgingival <input type="checkbox"/> Light <input type="checkbox"/> Moderate <input type="checkbox"/> Heavy <input type="checkbox"/> Probable pockets of 3-4mm <input type="checkbox"/> Probable pockets of 5-6mm <input type="checkbox"/> Probable pockets of 7mm or greater <input type="checkbox"/> Mobility of 0.5 to 1.0mm <input type="checkbox"/> Mobility of 1.0 to 2.0mm <input type="checkbox"/> Mobility of > 2.0mm Bleeding <input type="text"/> <input type="text"/> % / Plaque <input type="text"/> <input type="text"/> %															
Missing Teeth (circle)																
Upper	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Lower	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17
Reason and Duration of Edentulism (Upper Jaw)																
Location	Tooth #	Duration	Cause													
Right Maxilla (1-8)	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
Left Maxilla (9-16)	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> years	<input type="checkbox"/> Caries	<input type="checkbox"/> Periodontitis	<input type="checkbox"/> Trauma	<input type="checkbox"/> Medical	<input type="checkbox"/> Other									

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator									
Edentulous Jaw Classification (Cawood and Howell) Circle "O" classification <input type="checkbox"/> N/A											
C I	C II	C III	C IV	C V	C VI	D I	D II	D III	D IV	D V	D VI
I = Dentate		II = Immediate post extraction		III = Convex ridge form		IV = Knife edge ridge form					
V = Flat ridge form				VI = loss of basal bone that may be extensive but follows no predictable pattern							
C = Classification on anterior maxilla (6-11)						D = Classification on posterior maxilla (1-5, 12-16)					
Maxilla Bone Quality Classification (Lekholm and Zarb)			Circle "O" classification			<input type="checkbox"/> N/A					
Right	1	2	3	4	Left	1	2	3	4		
1 = Bone is composed of homogenous compact bone 2 = Thick layer of compact bone surrounds a core of trabecular bone 3 = Thin layer of cortical bone surrounds a core of dense trabecular bone 4 = Thin layer of cortical bone surrounding a core of low density trabecular bone of poor strength											
Height and width of existing bone at the level of the edentulous socket or region (millimeters)											
Location	Tooth Number	Height (mm)				Width (mm)					
Right Maxilla	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
Left Maxilla	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Height =	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

ANEXO 4:

Datos radiológicos postoperatorios

Aastrom Biosciences Inc.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Instructions for CRF 4a – Sinus Lift Surgery and Bone Graft

<u>ITEM</u>	<u>INSTRUCTIONS</u>
Bone Marrow Collection	Record the date of Bone Marrow aspiration and the name of the Physician who aspirated the marrow. Record the volume in milliliters and the cell concentration (number of nucleated cells) in millions per mL of aspirate ($\times 10^6/\text{mL}$).
ARS Inoculation	Record the date the AastromReplicell™ Cell Cassette was inoculated with the processed bone marrow cells by the cell production laboratory. Record the total number of cells inoculated in millions ($\times 10^6$) and the volume in milliliters (mL).
ARS Produced Cells	Record the date the AastromReplicell™ Cell Cassette was harvested. Record the volume of ARS cells released for patient use in milliliters (mL), the total number of cells released in millions ($\times 10^6$) and the cell viability in percent (%).
ARS Cells + Bio-Oss®	Record the surgery date when the ARS cells were mixed with the bone mineral. Record the lot number of Bio-Oss bone mineral. Record the volume of Bio-Oss mixed with the ARS cells in cc or milliliters.
Sinus Elevation Surgery	<p>Study Site Indicate the location of the study site where the <u>ARS cells + Bio-Oss + fibrin</u> mixture was compacted into the sinus. Indicate the volume or height of the <u>ARS cells + Bio-Oss + fibrin</u> mixture compacted into the sinus site.</p> <p>Control Site Indicate the location of the control site where the <u>Bio-Oss + fibrin</u> mixture was compacted into the sinus. Indicate the volume or height of the <u>Bio-Oss + fibrin</u> mixture compacted into the sinus site.</p>
Recorder's Signature and Date	The Recorder must review the form for completeness and accuracy, then sign and date.

Please complete all data items for this form. Missing or inconsistent data may require additional follow-up.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

Maxillary Bone Height

STUDY SITE			CONTROL SITE		
Jaw	Tooth #	Bone Height (mm)	Jaw	Tooth #	Bone Height (mm)
<input type="checkbox"/> Right	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Right	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
<input type="checkbox"/> Left	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Left	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>

Bone Biopsy

Biopsy #	Bone Biopsy Location		Total Bone Volume (%)	Remaining Bio-Oss Volume (%)	Bone-Bio-Oss Contact Surface (%)	Osteoid Surface (%)	Resorption Surface (%)	Tetracycline Labeling (MAR) $\mu\text{m}/\text{day}$
	Jaw	Tooth #						
STUDY SITE (ARS produced cells + Bio-Oss® + Fibrin)								
1	<input type="checkbox"/> Right	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
2		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
3		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
4	<input type="checkbox"/> Left	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
5		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
CONTROL SITE (Bio-Oss® + Fibrin)								
1	<input type="checkbox"/> Right	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
2		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
3		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
4	<input type="checkbox"/> Left	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
5		<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>

ORIGINAL

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

ANEXO 5: _____

Recogida de datos celulares

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

Bone Marrow Aspirate Collection

Date of Aspiration <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Aspirator Name : _____
Volume Aspirated: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> mL	Cell Concentration Aspirate <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> x 10 ⁶ /mL

ARS Inoculation Information

Date ARS Inoculated: <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Total Cells Inoculated into Cell Cassette <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> x 10 ⁶	Volume Inoculated <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> mL
--	---	---

ARS Produced Cell Product

Date Cell Cassette Harvested <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Volume of Released Product <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> mL
Total ARS Produced Cells Released for Patient Use <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> x 10 ⁶	Cell Viability <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> %

ARS Produced Cells + Bio-Oss®

Date of Mixing <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Lot Number of Bio-Oss® Bone Mineral <input type="text"/>
Volume of Bio-Oss® Mixed with ARS Cells <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> cc or mL	

Sinus Elevation Surgery

Study Site	Control Site
Location of sinus packed with <i>ARS Cells + Bio-Oss® + Fibrin</i>	Location of sinus packed with <i>Bio-Oss® + Fibrin only</i>
Volume or Height of <i>ARS Cells + Bio-Oss® + Fibrin</i> Compacted into Site <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> cc or <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> mm	Volume or Height of <i>Bio-Oss® + Fibrin</i> Compacted into Site <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> cc or <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> mm

ORIGINAL

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

ANEXO 6:

Datos postoperatorios:

1. Postoperatorio inmediato
2. Seguimiento postoperatorio
3. Medicación postoperatoria

Astrom Biosciences Inc.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Instructions for CRF 4b – Post Sinus Lift/Bone Graft Surgery Visit

The purpose of this form is to record evaluation of patient 1 week post surgery.

<u>ITEM</u>	<u>INSTRUCTIONS</u>
Extraoral Exam	For each feature listed, mark the appropriate box, “normal”, “abnormal” or NA (not applicable or not done) with a <input type="checkbox"/> . Specify the location when present.
Intraoral Exam	For each feature listed, mark the appropriate box, “normal”, “abnormal” or NA (not applicable or not done) with a <input type="checkbox"/> . Specify the abnormality when present.
Post Surgical Complications	For each complication listed, mark the appropriate box, “No”, “Yes” or NA (not applicable or not done) with a <input type="checkbox"/> . Specify the complication when present. Post surgery medicines shall be recorded on <i>CRF 7 – Treatment Medications</i> . Record any Serious or Unanticipated adverse events on <i>CRF 8 – Dental Adverse Reactions</i> .
Evaluator	Record the name of health care provider performing the post surgery evaluation and the date performed.
Recorder's Signature and Date	The Recorder must review the form for completeness and accuracy, then sign and date.

Please complete all data items for this form. Missing or inconsistent data may require additional follow-up.

Aastrom Biosciences Inc. Form 4b – Post Sinus Lift/Bone Graft Surgery Visit

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification		Study Number		Main Investigator	
Extraoral Examination and Evaluation				Location / Comments	
				N/A	
Skin	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal bruising			
External Swelling	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal swelling			
Lymph Nodes	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal			
Intraoral Examination and Evaluation				Specify Abnormality	
				N/A	
Oral Mucosa	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal			
Tongue	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal			
Tonsillar Area	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal			
Floor of Mouth	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal			
Hard and Soft Palate	<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abnormal			
Post Surgical Complications					
	Study Site		Control Site		Specify Complication
					N/A
Sutures	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	
Discomfort	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	
Numbness	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	
Bleeding	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	
Pain	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	
Nausea	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	
Infection	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes	

Post Surgery Evaluation Performed by	Date
_____	□□/□□/□□□□

Record pain and other post op medicines on *CRF 7 – Treatment Medications*

Record Serious or Unanticipated Adverse Event on *CRF 8 – Dental Adverse Reactions*

ORIGINAL

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)
_____	_____

Aastrom Biosciences Inc.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Instructions for CRF 6 – Follow Up Visit

<u>ITEM</u>	<u>INSTRUCTIONS</u>
Date of Follow Up Visit	Record the date of the visit in the boxes provided using DD/MM/YYYY format.
Implant Evaluation	<p>For each study site or control site endo-osseous implant record the tooth number location in the boxes provided. For each condition listed, indicate with a <input type="checkbox"/> if normal "N" or abnormal "A" according to treatment expectations.</p> <p>For implant outcome, if the implant was successful (stable, functional, and esthetically acceptable) mark <input type="checkbox"/> the box labeled "S". If the implant was unsuccessful, record the unsuccessful implant outcome code in the box labeled "U".</p>
Recorder's Signature and Date	The Recorder must review the form for completeness and accuracy, then sign and date.

Please complete all data items for this form. Missing or inconsistent data may require additional follow-up.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

Follow Up Visit Date / / / /

Implant #	Study Site					Control Site				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Tooth Location	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>									
Plaque / Calculus Deposit	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A									
Appearance of Peri-Implant Tissue	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A									
Gingival Index	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A									
Bleeding / Exudate on Probing	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A									
Peri-Implant Radiolucency	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A									
Implant Mobility	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A									
Patient Pain or Discomfort	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> A									
Implant Outcome * Use Code	<input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U*									

* Unsuccessful implant outcome codes: **A** = Implant mobility or loss **B** = Persistent pain and/or loss of function **C** = Progressive bone loss
D = Persistent peri-implant radiolucency **E** = Persistent uncontrolled inflammation/ infection
F = Inability to restore the implant **G** = Increased probing depths **H** = Implant failure

ORIGINAL

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

Astrom Biosciences Inc.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Instructions for CRF 7 – Treatment Medications

<u>ITEM</u>	<u>INSTRUCTIONS</u>
Treatment Medications	For each stage of the study record prescribed medications per protocol. Specify the name of the medication. Include additional medications if prescribed. Record the daily dose, dose units, the start date and end date for each medication listed.
Recorder's Signature and Date	The Recorder must review the form for completeness and accuracy, then sign and date.

Please complete all data items for this form. Missing or inconsistent data may require additional follow-up.

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator

Pre-Study Record baseline medication, vitamins and supplements on CRF 2 – Clinical History, page 2

Bone Marrow Aspiration

Medication	Daily Dose	Units	Start Date	End Date
Antibiotic: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
Anti-Inflammatory: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
Pain : _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /

Sinus Lift and Bone Grafting Surgery

	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /

Post-Sinus Lift and Bone Grafting

Antibiotic: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
Anti-Inflammatory: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
Pain Killer: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /
Cytoprotective: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> /

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)

ORIGINAL

BONE REGENERATION WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW CELLS AND BOVINE-DERIVED BONE MINERAL (Bio-Oss®) IN THE SURGICAL TREATMENT OF EDENTULISM OF THE UPPER JAW

Patient Identification	Study Number	Main Investigator
------------------------	--------------	-------------------

Post-Sinus Lift and Bone Grafting (continued)

Medication	Daily Dose	Units	Start Date	End Date
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Bone Biopsy and Implant Surgery

<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>			
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>			
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>			

Post-Bone Biopsy and Implant Surgery

Antibiotic: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Anti-Inflammatory: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Pain Killer: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Cytoprotective: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Other: _____	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Recorder's Signature	Date (DD/MM/YYYY)
----------------------	-------------------

ORIGINAL

ANEXO 7:

**Hoja de doble ciego para la
recogida de datos para la
histomorfometria**

in the Surgical Treatment of Edentulism
of the Upper Jaw

**Bone Biopsy for
Histo/Morphological
Studies
Blinding Worksheet**

Patient Name :

Patient ID NO. or DOB (dd/mm/yy)

Patient Study Number:

DENT-01

Date of Biopsy Collection:

____/____/____

Specimen Label by: _____

Date: ____/____/____

Instructions:

- For each Dental Biopsy:
1. Record tooth location.
 2. Circle either study or control site.
 3. Attach adhesive label to specimen.
 4. Fax Blinding Worksheet to Zellera.

	BIOPSY TOOTH NO.	SPECIMEN CODE
		CENTRO MEDICO TEKNON CONSULTORIOS VILANA. Desp.185 C/. VILANA, 12 Tel. 93 393 31 85 08022 BARCELONA Fax: 93 393 30 85
1	_____ Study site Control site	B
2	_____ Study site Control site	H
3	_____ Study site Control site	J
4	_____ Study site Control site	G
5	_____ Study site Control site	E
6	_____ Study site Control site	A
7	_____ Study site Control site	I
8	_____ Study site Control site	D
9	_____ Study site Control site	F
10	_____ Study site Control site	C