

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA CLÍNICA Y SALUD PÚBLICA



TESIS DOCTORAL

**AUTOINJERTOS ÓSEOS INTRAORALES: UTILIZACIÓN DE AGENTES
DESCONTAMINANTES E INFLUENCIA SOBRE EL OSTEÓBLASTO**

Antonio Jesús Olvera Huertas

Departamento de Estomatología, Facultad de Odontología

Universidad de Granada, 2021

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Antonio Jesús Olvera Huertas
ISBN: 978-84-1306-987-6
URI: <http://hdl.handle.net/10481/70146>

Parte de los resultados recogidos en la presente Tesis Doctoral han dado lugar a las siguientes aportaciones científicas:

ARTÍCULOS:

1. Olvera-Huertas AJ, Linares-Recatalá M, Herrera-Briones FJ, Vallecillo-Capilla MF, Manzano-Moreno FJ, Reyes-Botella C. Microbiological analysis of autologous bone particles obtained by low-speed drilling and treated with different decontamination agents. Int J Oral Maxillofac Surg. 2021;50(1):104-108. doi: 10.1016/j.ijom.2020.04.019.

2. Olvera-Huertas AJ; Costela-Ruiz VJ; García-Recio E; Melguizo-Rodríguez L; Illescas-Montes R; Reyes-Botella C; Manzano-Moreno FJ. The effect of chlorhexidine, amoxicillin and clindamycin on the growth and differentiation of primary human osteoblasts. Under Review.

COMUNICACIONES NACIONALES:

Título de la aportación: Estudio de la efectividad de diferentes medios de descontaminación para reducir la carga bacteriana de partículas de hueso autólogo obtenidas mediante fresado biológico

Nombre del congreso: XIII reunión anual SECIB

Tipo de evento: Póster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2015

Lugar: Bilbao, España

Autores: LINARES RECATALÁ, MACARENA; OLVERA HUERTAS, ANTONIO JESÚS; MANZANO MORENO, FRANCISCO JAVIER; HERRERA BRIONES, FRANCISCO JAVIER; CAPILLA, MANUEL FRANCISCO; REYES BOTELLA, CANDELARIA

Título de la aportación: Efectividad de tres métodos de descontaminación para reducir la carga bacteriana de partículas de hueso autólogo obtenidas mediante fresado biológico

Nombre del congreso: XIV reunión anual SECIB

Tipo de evento: Comunicación en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2016

Lugar: Málaga, España

Autores: OLVERA HUERTAS, ANTONIO JESÚS; LINARES RECATALÁ, MACARENA MANZANO MORENO, FRANCISCO JAVIER; HERRERA BRIONES, FRANCISCO JAVIER; VALLECILLO CAPILLA, MANUEL FRANCISCO; REYES BOTELLA, CANDELARIA

Título de la aportación: Efectividad de tres métodos de descontaminación para reducir la carga bacteriana de partículas de hueso autólogo obtenidas mediante fresado biológico

Nombre del congreso: XV reunión anual SECIB

Tipo de evento: Comunicación en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2017

Lugar: Valencia, España

Autores: OLVERA HUERTAS, ANTONIO JESÚS; LINARES RECATALÁ, MACARENA; MANZANO MORENO, FRANCISCO JAVIER; HERRERA BRIONES, FRANCISCO JAVIER; VALLECILLO CAPILLA, MANUEL FRANCISCO; REYES BOTELLA, CANDELARIA

AGRADECIMIENTOS/ AKNOWLEDGEMENTS

Esta Tesis Doctoral es el final de un largo camino lleno de esfuerzo y sacrificio, pero también de alegría y de recompensa por los buenos momentos y la suerte de conocer a personas maravillosas. Este trabajo hubiese sido imposible de realizar sin todos vosotros, que me habéis apoyado día a día.

A mis padres, Miguel y Ana María, gracias por enseñarme el camino del esfuerzo, del trabajo y del éxito. Pero sobre todo, por enseñarme a ser humilde y buena persona. Siempre habéis estado ahí en los buenos y malos momentos, siempre apoyándome en mis decisiones. En definitiva, gracias por quererme tanto. Os quiero y os estaré eternamente agradecido.

A mis hermanos Miguel Ángel y Ana María, por ser unos ejemplos a seguir, unos referentes. Gracias por estar a mi lado desde pequeño, por guiarme hacia el camino correcto y por ser un apoyo incondicional en los buenos y los malos momentos.

Gracias a mi compañera de viaje, de este viaje tan bonito que es la vida. Gracias Rocío por estar a mi lado todos los días, por compartir conmigo las dificultades de este largo camino, aun sabiendo que he tenido que sacrificar gran parte de mi tiempo contigo para poder sacar adelante este trabajo. Te quiero.

A mis directores Candela y Javi, por guiarme y ayudarme día a día para poder crecer como investigador, como profesional y sobre todo como persona. Gracias por vuestro esfuerzo y apoyo incondicional, gracias por ser mucho más que unos directores de tesis.

Especialmente quiero mencionar a mis profesores, ahora amigos y compañeros de la Unidad Docente del Máster de Cirugía Bucal e Implantología. Gracias al jefe, Manuel Vallecillo, por abrirme las puertas de la docencia y la enseñanza en Cirugía Bucal, gracias por confiar y apostar por mí, gracias por enseñarme el camino. A mis profesores y ahora

compañeros en el Máster de Cirugía: Mavi, Nuria, Esther, Javi, Pilar, Maribel, Amparo y Cristina. Gracias por hacerme crecer como profesional.

Mención especial merece Grupo Bio-277, por toda su ayuda en la realización de este proyecto.

En resumen, gracias a todos aquellos que de alguna manera u otra me habéis apoyado y que también habéis contribuido en este largo camino que es la realización de la tesis doctoral.

A MIS PADRES

I. RESUMEN.	15
II. MARCO TEÓRICO.	19
2.1. TEJIDO ÓSEO.	
2.1.1. COMPONENTE CELULAR.	
2.1.1.1. OSTEOLASTOS.	
2.1.1.1.1. ORIGEN Y DIFERENCIACIÓN.	
2.1.1.1.2. IDENTIFICACIÓN.	
2.1.1.1.2.1. MORFOLÓGICA.	
2.1.1.1.2.2. BIOQUÍMICA.	
2.1.1.1.2.3. ANTIGÉNICA.	
2.1.1.1.2.4. GENÉTICA.	
2.1.1.1.3. FUNCIONES DEL OSTEOLASTO.	
2.1.1.2. OSTEOCITO.	
2.1.1.3. OSTEOCLASTO.	
2.1.2. MATRIZ ÓSEA.	
2.1.2.1. MATRIZ ORGÁNICA.	
2.1.2.1.1. COLÁGENA.	
2.1.2.1.2. SUSTANCIA FUNDAMENTAL.	
2.1.2.2. SALES MINERALES.	
2.1.3. FORMACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO.	
2.1.4. MODELADO Y REMODELADO DEL TEJIDO ÓSEO.	
2.1.5. REPARACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO.	
2.2. INJERTOS ÓSEOS.	
2.2.1. PROPIEDADES DE LOS INJERTOS ÓSEOS USADOS EN IMPLANTOLOGÍA.	

2.2.1.1 OSTEOCONDUCCIÓN.**2.2.1.2 OSTEOINDUCCIÓN.****2.2.1.3. OSTEOGÉNESIS.****2.2.2. HUESO AUTÓLOGO.****2.2.2.1. ORIGEN EMBRIONARIO DEL HUESO AUTÓLOGO.****2.2.2.1.1. ENDOCONDRALE.****2.2.2.1.2. MEMBRANOSO.****2.2.2.2. MECANISMO DE OBTENCIÓN DE INJERTOS ÓSEOS AUTÓLOGOS INTRAORALES.****2.2.2.2.1. PARTICULADO.****2.2.2.2.1.1. FRESADO BIOLÓGICO.****2.2.2.2.1.2. RASCADORES DE HUESO O CINCELES DE ACCIÓN POSTERIOR.****2.2.2.2.1.3. FILTRO DE HUESO.****2.2.2.2.2. BLOQUE.****2.2.2.3. ZONAS DONANTES INTRAORALES DE INJERTOS DE HUESO AUTÓLOGO.****2.3. USO DE AGENTES DESCONTAMINANTES PARA EL TRATAMIENTO DE INJERTOS ÓSEOS.****2.3.1. DESCONTAMINACIÓN DE INJERTOS ÓSEOS.****2.3.2. AGENTES DESCONTAMINANTES.****2.3.2.1. CLORHEXIDINA.****2.3.2.2. AMOXICILINA.****2.3.2.3. CLINDAMICINA.****2.3.3. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS DESCONTAMINANTES. COMPROMISO DE LA VIABILIDAD CELULAR.****III. JUSTIFICACIÓN.****52**

IV. HIPÓTESIS.	54
V. OBJETIVOS.	56
VI. METODOLOGÍA.	58
6.1. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS DISTINTOS MEDIO DE DESCONTAMINACIÓN EN LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA.	
6.1.1. SELECCIÓN DEL PACIENTE.	
6.1.2. PROTOCOLO QUIRÚRGICO.	
6.1.3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.	
6.1.4. RECUENTO DE COLONIAS.	
6.1.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	
6.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN DEL OSTEOLASTO.	
6.2.1. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.	
6.2.2. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE OSTEOLASTOS.	
6.2.3. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE LA VIABILIDAD DEL OSTEOLASTO.	
6.2.4. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS.	
6.2.5. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE LA ACTIVIDAD FOSFATASA ALCALINA Y CAPACIDAD DE MINERALIZACIÓN DE LA MATRIZ.	

6.2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

VII. RESULTADOS.

67

7.1. EFICACIA DE LOS DISTINTOS MEDIOS DE DESCONTAMINACIÓN EN LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA.

7.2. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN DEL OSTEOLASTO.

7.2.1. ENSAYO DE PROLIFERACIÓN CELULAR.

7.2.2. ANÁLISIS DE APOPTOSIS Y NECROSIS.

7.2.3. ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA (ALP).

7.2.4. FORMACIÓN DE NÓDULOS Y MINERALIZACIÓN DE LA MATRIZ.

VIII. DISCUSIÓN.

76

8.1. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS DISTINTOS MEDIOS DE DESCONTAMINACIÓN EN LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA.

8.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN DEL OSTEOLASTO.

IX. CONCLUSIONES.	86
X. BIBLIOGRAFÍA.	88
XI. CURRICULUM VITAE.	100
XII. ANEXOS.	111

I. RESUMEN

Introducción. La predictibilidad de los procedimientos implantológicos y el mantenimiento a largo plazo de la estabilidad de los implantes están directamente relacionados con la calidad y la cantidad de tejido óseo disponible para su colocación, como se ha demostrado ampliamente en la literatura durante los últimos años. El tejido óseo puede perderse por traumatismo, enfermedad periodontal o reabsorción fisiológica del hueso maxilar después de la pérdida dental o puede estar ausente debido a una malformación congénita o enfermedad hereditaria. En cualquiera de estos supuestos existe un defecto en cantidad y/o calidad en la zona que se va a implantar. Para solventar este déficit se utilizan injertos óseos, que pueden aumentar la anchura y la altura del hueso alrededor de los implantes, siendo distintos los procedimientos descritos para este propósito. El hueso autólogo ha sido descrito como el “gold standard” en las técnicas de aumento óseo, debido a que contiene células óseas vitales, proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) y minerales, a diferencia de los aloinjertos, xenoinjertos u otros tipos de sustitutos óseos. Los injertos óseos autólogos pueden obtenerse a modo de bloques córtico-esponjosos de distintas zonas donantes extraorales e intraorales; también pueden ser obtenidos en forma particulada en localización intraoral y ser recolectados mediante distintas técnicas. Estos injertos autólogos se utilizan en diferentes procedimientos de regeneración ósea guiada para rellenar defectos óseos, conseguir volumen suficiente y lograr así la colocación óptima de los implantes. Cuando el objetivo es la corrección de defectos óseos pequeños, tales como fenestraciones y dehiscencias, las necesidades de volumen son relativamente pequeñas. Es suficiente la utilización de hueso particulado que se obtiene de forma simultánea a la preparación del lecho implantológico, a partir del fresado del mismo. Estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación han demostrado que el hueso particulado obtenido por fresado a baja velocidad presenta propiedades biológicas superiores al compararlo con el hueso cosechado por otros métodos. También ha demostrado ser menos susceptible a la contaminación bacteriana que las partículas de hueso o virutas obtenidas cuando se utiliza un filtro óseo o un cincel de acción posterior. Sin embargo, sigue existiendo riesgo de que el hueso recolectado mediante fresado a baja velocidad pueda estar contaminado por los numerosos microorganismos que constituyen la flora habitual de la boca, habida cuenta de que la colonización bacteriana del injerto depende de lo depurada que sea la técnica de recogida. Este hecho puede desencadenar una infección y el consecuente fracaso del injerto. En la literatura hallamos tasas de contaminación microbiológica tras la colocación del injerto que oscilan entre el 5% y el 50%. Este hecho crea la necesidad de eliminar los microorganismos contaminantes, sin que se vea afectada la viabilidad de las células óseas. A tal efecto se han propuesto numerosos agentes para la descontaminación de las partículas recolectadas, principalmente antibióticos y antisépticos, pero ninguno de ellos ha demostrado ser completamente eficaz.

Objetivos. El primer objetivo de este estudio fue comparar la eficacia de dos antibióticos (amoxicilina y clindamicina) y un antiséptico (clorhexidina) en la descontaminación de injertos óseos obtenidos mediante fresado a baja velocidad. El segundo objetivo fue determinar el efecto de dos antibióticos (amoxicilina y clindamicina) y un antiséptico (clorhexidina) sobre la capacidad de crecimiento y diferenciación de los osteoblastos humanos primarios.

Material y métodos. El estudio incluyó 248 muestras de tejido óseo recolectadas a partir de 62 pacientes sanos, utilizando la técnica de fresado a baja velocidad durante la colocación de implantes dentales. Cada una de las cuatro muestras obtenidas de cada paciente se vertió, utilizando un instrumento estéril, en un tubo que contenía una solución de 500 μ L de 400 μ g/mL de amoxicilina, 150 μ g/mL de clindamicina, 0,12% de clorhexidina o solución salina fisiológica durante 1 minuto. A continuación, las soluciones de los tubos se reemplazaron con 1000 μ l de medio Brain Heart Infusion (*BHI*) de Agar y las muestras se procesaron inmediatamente mediante incubación en una atmósfera anaeróbica o rica en CO². El número de unidades formadoras de colonias (UFC) se determinó a las 48 h de cultivo.

La proliferación de osteoblastos se determinó mediante la técnica MTT después de un minuto de tratamiento con 400 μ g/mL de amoxicilina o 150 μ g/mL de clindamicina o clorhexidina (0,12% o 0,2%). Se utilizó citometría de flujo para el análisis de apoptosis / necrosis. El estudio de la diferenciación celular se realizó usando un medio que promueve la mineralización y la tinción de los nódulos de calcificación formados, el cual se llevó a cabo utilizando rojo de Alzarina tras 15 y 22 días de tratamiento con 400 μ g / mL de amoxicilina o 150 μ g / mL de clindamicina. La actividad fosfatasa alcalina (ALP) se determinó mediante espectrofotometría después de 24 h de tratamiento.

Resultados. El uso de clindamicina, amoxicilina o clorhexidina como descontaminantes durante 1 min redujo significativamente el recuento de UFC con respecto a la solución salina fisiológica (agente de control). Tanto en atmósferas anaeróbicas como ricas en CO² se produjeron diferencias significativas en UFC/ml entre: grupos de control y clorhexidina ($p < 0,001$), grupos de control y amoxicilina ($p < 0,001$), grupos de control y clindamicina ($p < 0,001$), clorhexidina y grupos de amoxicilina ($p < 0,0001$), y grupos de clorhexidina y clindamicina ($p < 0,0001$). No se observaron diferencias significativas entre los grupos de amoxicilina y clindamicina en atmósfera anaeróbica ($p = 0,7$) o rica en CO² ($p = 0,79$).

El tratamiento de los osteoblastos con clorhexidina al 0,12 y 0,2% durante 1 min dio lugar a una reducción significativa de la proliferación celular dependiente de la dosis ($p < 0,001$) con un aumento significativo del porcentaje de células apoptóticas ($p = 0,004$ y $< 0,001$, respectivamente). Sin embargo, la proliferación celular aumentó significativamente ($p < 0,05$)

después del tratamiento con 150 µg/mL de clindamicina. El tratamiento de los osteoblastos con 150 µg/mL de clindamicina durante 24 horas aumentó significativamente la expresión de ALP ($p = 0,002$). Los depósitos de calcio fueron significativamente mayores ($p < 0,001$) en el grupo de clindamicina 150 µg/mL.

Conclusiones. La clindamicina produce el mayor efecto descontaminante sobre las partículas óseas obtenidas por fresado a baja velocidad, seguida de clorhexidina y amoxicilina. Por lo tanto, puede ser una opción válida para la descontaminación rutinaria de injertos óseos intraorales.

Por otra parte, la clindamicina a bajas dosis puede favorecer el crecimiento y la diferenciación de los osteoblastos. Estos dos hechos señalan a este antibiótico como descontaminante de elección para injertos óseos intraorales, frente a la clorhexidina y la amoxicilina.

Palabras clave. Fresado biológico; descontaminación injertos óseos; amoxicilina; clindamicina; clorhexidina.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. TEJIDO ÓSEO.

El tejido óseo representa el principal componente del esqueleto adulto y constituye uno de los mayores sistemas de nuestro organismo. Entre sus funciones más importantes cabe destacar la de proporcionar protección a los órganos vitales, servir de apoyo estructural para músculos, ligamentos y tendones, ser el principal reservorio de iones, regular el metabolismo y participar en la hematopoyesis (1,2). Todos los huesos presentan una estructura común, que está formada por una parte cortical compacta de mayor dureza y otra parte trabecular o esponjosa, menos densa. Entre ambas zonas no existen límites perfectamente marcados, sino zonas de transición (3).

Desde un punto de vista histológico, en el hueso distinguimos un componente celular inmerso en una matriz orgánica calcificada, compuesta por fibras y por sustancia fundamental (4).

El tejido óseo se comporta como una estructura dinámica, con áreas de formación y reabsorción, una característica que lo hace único y que está sujeta a estímulos o mediadores fisiológicos, metabólicos y mecánicos (3).

2.1.1. COMPONENTE CELULAR.

Existen tres poblaciones bien diferenciadas que forman el tejido óseo. Los osteoblastos son las células responsables de la formación de tejido. Los osteocitos son las células responsables de la arquitectura del tejido óseo adulto. Los osteoclastos son las células que dan lugar a la reabsorción del tejido óseo. El origen de estas células lo encontramos en células madre mesenquimales indiferenciadas (5).

2.1.1.1. OSTEOLASTOS.

Los osteoblastos son células responsables de sintetizar y secretar el componente orgánico de la matriz extracelular del nuevo hueso, conocida como matriz osteoide. Para ello se disponen y localizan en las superficies activas del hueso, de forma lineal. Según la fase de diferenciación en la que se encuentran presentan características y propiedades

diferentes (6,7). Atendiendo a su morfología podemos distinguir en ellas un cuerpo celular de forma cúbica o cuadrangular del que nacen extensiones citoplasmáticas alargadas. Presentan un núcleo redondo con un nucléolo voluminoso (en ocasiones dos), un citoplasma rico en ribosomas y mitocondrias, un retículo endoplasmático abundante y un aparato de Golgi bien desarrollado y en posición yuxtannuclear (8). Estas características confirman su función de síntesis de la matriz ósea. Una vez cumplida la fase sintética los osteoblastos pueden permanecer inactivos en la superficie como células de revestimiento o quedar atrapados en el interior de la matriz ósea calcificada, convirtiéndose así en osteocitos (4,9). Cuando realizan esta función de revestimiento se ocupan de sintetizar y secretar enzimas que eliminan la capa de osteoide que cubre la matriz mineralizada. Esta capa de osteoide es la porción orgánica sin mineralizar de la matriz ósea que se forma con anterioridad a la maduración del tejido óseo. De esta manera se va a proporcionar una superficie a la que pueden adherirse los osteoclastos e iniciar la resorción del hueso (10,11).

2.1.1.1.1. ORIGEN Y DIFERENCIACIÓN.

Origen:

Los osteoblastos tienen su origen en las células mesenquimales primitivas pluripotenciales, que son capaces de diferenciarse en otras líneas celulares por el efecto de distintos mediadores, como glucocorticoides, la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y BMPs (4). Por tanto, a partir de una única derivación de las células mesenquimales (que pueden ser conocidas también como células Weston- Baiton, fibroblásticas estromales de médula o progenitoras mesenquimales) se originan osteoblastos, células hematopoyéticas y adipocitos. Cada una de ellas se diferenciará con carácter progresivo e irreversible según la función que vaya a realizar y la morfología del tejido del que va a formar parte (12,13).

Diferenciación:

La diferenciación es un proceso progresivo y generalmente irreversible por el cual una población celular alcanza una especialización estructural y funcional. Las células osteoblásticas muestran una sucesión lineal que incluye células mesenquimales,

osteoprogenitoras, preosteoblastos, osteoblastos y osteocitos (Figura 1). Las células osteoprogenitoras o células madre son células indiferenciadas con morfología fibroblástica que se diferencian a células formadoras de hueso o preosteoblastos. También son capaces de diferenciarse en adipocitos, condroblastos y fibroblastos. Se localizan en las superficies externas e internas de los huesos (periostio y endostio). Estas se diferencian en osteoblastos, células de diferenciación terminal capaces de secretar la matriz ósea. Una vez que los osteoblastos han terminado su función formadora de matriz ósea se inactivan perdiendo su capacidad sintética. Quedan como células de revestimiento que cubren todas las superficies de los huesos o bien son atrapados en el frente de calcificación, incluyéndose en el hueso como osteocitos (14,15).

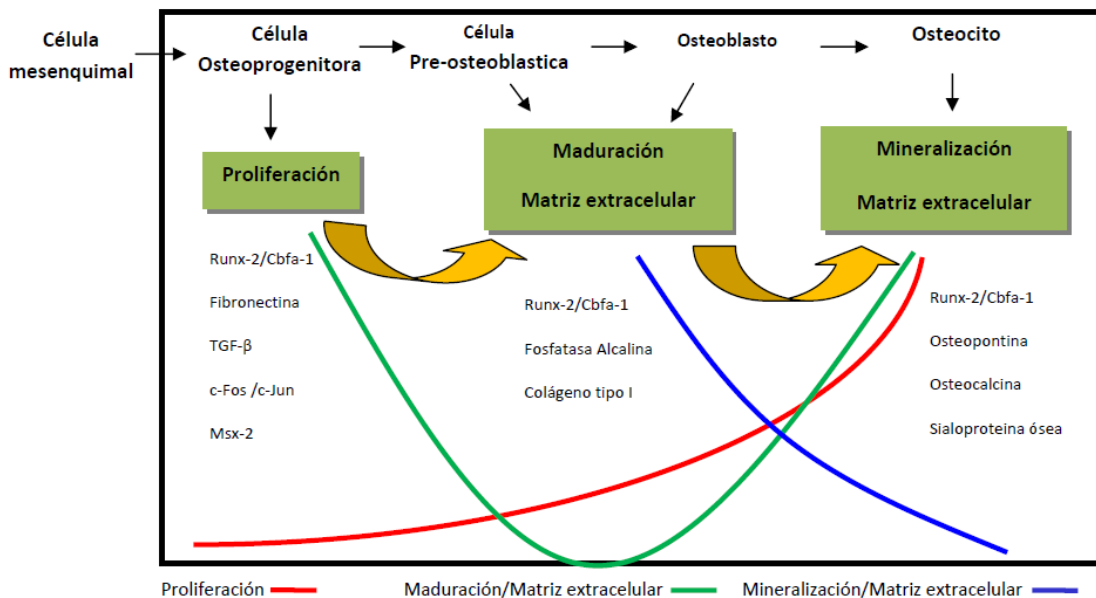


Figura 1. División del linaje osteoblástico. Efecto de distintos antiinflamatorios no esteroideos sobre el osteoblasto: determinación del mecanismo de acción. Elvira De Luna Bertos. Universidad de Granada. 2012.

2.1.1.1.2. IDENTIFICACIÓN.

La identificación del osteoblasto se realiza en base a cuatro parámetros: morfológicos, bioquímicos, genéticos y antigénicos.

2.1.1.1.2.1. MORFOLÓGICA.

Los osteoblastos son células grandes con forma cúbica o prismática. Su núcleo es redondeado y poseen un único nucleolo muy voluminoso, que con frecuencia se localiza en el extremo de la célula más distante de la superficie ósea. En el citoplasma diferenciamos un aparato de Golgi entre el núcleo y la base celular bien desarrollado, numerosas mitocondrias con morfología alargada, un retículo endoplasmático rugoso muy abundante, numerosas vacuolas que contienen material amorfo o grumos de apreciable densidad y en ocasiones también se observan gotitas lipídicas y cuerpos densos limitados por membranas que se identifican como lisosomas. Todas estas características son propias de células que llevan a cabo una intensa actividad de síntesis proteica. Los osteoblastos se conectan unos con otros por medio de expansiones finas y cortas formando una capa epiteloide de células cúbicas, localizadas en el frente de avance del hueso en crecimiento y desarrollo (8,16).

2.1.1.1.2.2. BIOQUÍMICA.

Existen una serie de compuestos químicos característicos del recambio óseo que nos indican procesos de resorción, formación o combinación de ambos. Se utilizan para detectar la existencia de células óseas y de matriz mineralizada o no mineralizada (17). Entre ellos destacamos los siguientes:

- La osteopontina. Es una glicoproteína hidrofílica y fosforilada que posee unos 314 aminoácidos aproximadamente. Es sintetizada por los osteoblastos, aunque puede encontrarse en otros tejidos conectivos. Entre sus funciones destacan la capacidad de unirse con la hidroxiapatita, la de facilitar el anclaje de los osteoclastos a la matriz mineralizada en los procesos de reabsorción ósea, la de jugar un papel proinflamatorio al inducir la proliferación de células B y la de intervenir en la reparación de tejidos (18,19).
- La osteocalcina o proteína ósea Gla. Es una proteína sintetizada exclusivamente por los osteoblastos y representa entre un 10 y un 20% de las proteínas no colagénicas totales de la matriz extracelular (20). Es un marcador específico de la fase final de diferenciación del osteoblasto y juega un papel fundamental en el proceso de mineralización (21).
- La fosfatasa alcalina (ALP). Es el marcador bioquímico más utilizado en la identificación del fenotipo osteoblástico. Es una enzima hidrolítica o hidrolasa capaz de eliminar grupos fosfato de diferentes moléculas a un pH de 8,6. Se localiza en el plasma de la membrana de los osteoblastos (20,22). Su análisis por medio de técnicas citoquímicas permite

identificar preosteoblastos del tejido conectivo mesenquimal y del estroma medular, así como osteoblastos del hueso en formación. Por tanto es un indicador de la actividad osteoblástica y osteolítica. Su expresión en los osteoblastos está ligada al grado de maduración celular (23).

- El Colágeno tipo I. Es sintetizado por los osteoblastos durante las últimas fases de la proliferación y las primeras fases de maduración de la matriz. Constituye el 90% de la matriz ósea orgánica, siendo el mayor componente proteico del hueso (24,25).

2.1.1.1.2.3. ANTIGÉNICA.

Los osteoblastos poseen un perfil antigénico propio y muy similar al expresado por otras células que proceden de la médula ósea. En su membrana se expresan una serie de antígenos que nos sirven en su identificación:

- El antígeno CD44. Es una glicoproteína transmembrana codificada por un solo gen que permite la adhesión funcional del osteoblasto al ácido hialurónico. No se localiza exclusivamente en los osteoblastos, así puede encontrarse también en células epiteliales, leucocitos y fibroblastos. Se ha descrito la expresión del antígeno CD44 en osteoblastos aislados en cultivos primarios, en los presentes en cortes de tejido óseo y en osteoblastos humanos transformados (línea de osteosarcoma humano MG-63). Entre sus funciones destaca su papel como inhibidor de la pérdida ósea en procesos inflamatorios, así como regulador de la homeostasis de los tejidos, ya que actúa como conector entre distintos compuestos de la matriz ósea (ácido hialurónico, osteopontina y condroitín sulfato) a la superficie de los osteoblastos (26–29).

- El antígeno CD10 o de la leucemia linfoblástica aguda (cALLa). Es una glicoproteína con actividad endopeptidasa. Se encuentra en la superficie de los osteoblastos y en las *stem cells* (células pluripotenciales que tienen la capacidad de dividirse y diferenciarse en diferentes tipos de células especializadas), además de en las células epiteliales renales, fibroblastos, linfocitos pre-B y células decíduales estromales. Al igual que el antígeno CD44 se evidencia en osteoblastos de cultivos primarios, en los de cortes óseos y en osteoblastos transformados (26,27).

- Otros antígenos como HLA-DR, CD54, CD80 y CD86. Juegan un papel importante en la activación de las células T y en los mecanismos de presentación antigénica (30). Pueden

expresarse en los mismos tipos de osteoblastos que los anteriormente descritos para los antígenos CD44 y CD10 (26,27).

- También pueden expresarse en osteoblastos en cultivo otros antígenos característicos de células hematopoyéticas. Así, CD34, un antígeno asociado con un origen hematopoyético también presente en células endoteliales y células hematopoyéticas inmaduras es positivo en los osteoblastos humanos en cultivo, si bien la expresión de este marcador varía según la línea celular. Con respecto a los antígenos de células B, los osteoblastos son positivos para los antígenos CD20 y CD23 y negativos para el CD19. En cuanto a los marcadores de la línea celular mielomonocítica, pueden detectarse en el osteoblasto el CD11b, CD13, CD16 y CD 36. También se expresan antígenos como CD25 y CD38, además de antígenos específicos de las células foliculares dendríticas (FDC y DRC-1) (28,31).

De forma intracitoplasmática destacamos la expresión de interleuquina 4 (IL-4), interleuquina 12 (IL-12), interleuquina 15 (IL-15), interleuquina 18 (IL-18) e interferón gamma (IFN- γ). Su expresión está modulada por citoquinas y factores de crecimiento (32).

2.1.1.1.2.4. GENÉTICA.

Existen una serie de genes específicos de los osteoblastos que sirven para su identificación. Entre ellos distinguimos:

- Gen Cbfa1. Juega un papel dominante en la diferenciación osteoblástica (factor de transcripción específico de osteoblastos). Es el que se expresa de forma más precoz en los procesos de osteogénesis y regeneración ósea. Su expresión está regulada por las BMPs o el propio gen. También modula la expresión de osteocalcina (33–35).

-Gen inhibidor de la función osteoblástica. Es expresado solamente por los osteoblastos que están completamente diferenciados (33,34).

2.1.1.1.3. FUNCIONES DEL OSTEOBLASTO.

Entre las funciones más importantes de los osteoblastos destacamos las siguientes:

- Síntesis de los componentes de la matriz ósea y control de la actividad de resorción por parte de los osteoclastos, gracias a la liberación de osteoprotegerina (OPG) y del ligando de receptor activador nuclear Kappa-B (RANKL) (11).

-Funciones relacionadas con el sistema inmunológico (36).

Secretan citoquinas proinflamatorias como la Interleuquina-1 (IL-1), Interleuquina-6 (IL-6), Factor de Necrosis Tumoral (TNF- α), Interleuquina-12 (IL-12), Interleuquina-18 (IL-18), Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos y Mastocitos (GM-CS/FM); citoquinas que generalmente son expresadas y/o sintetizadas por células presentadoras de antígeno tales como IL-4, IL-12, IL-15, IL-18 o IFN- γ ; quimioquinas, como la Proteína Quimiotáctica de Monocitos tipo 1 (MCP- 1), la Proteína Inflamatoria de Macrófagos (MIP) y la Interleuquina 8 (IL-8). También secretan factores de crecimiento como el TGF- β 1, que es un modulador inflamatorio. A su vez los osteoblastos expresan receptores para distintas citoquinas, con los cuales se relacionan con los linfocitos (32,36,37).

Los osteoblastos expresan en su superficie celular antígenos propios de las células presentadoras de antígenos, gracias a los cuales estimulan alogénicamente a los linfocitos T. Este hecho sugiere que los osteoblastos posean capacidad presentadora de antígenos interaccionando bidireccionalmente con los linfocitos T (28,30).

Los osteoblastos poseen capacidad fagocítica, ya que tienen la capacidad de incorporar partículas en su citoplasma, del tipo material sintético no degradable y partículas de desecho de material protésico de diferente composición, de tamaño comprendido entre 1 y 3 μ m. También podemos destacar su capacidad para fagocitar distintos microorganismos (*C. albicans*, *E. coli* y *Klebsiella*). Cuando las partículas fagocitadas son restos biológicos se incorporan al citoplasma, produciéndose cambios a nivel de la membrana citoplasmática y un aumento del número de lisosomas y de inclusiones granulares. Cuando las partículas son restos de material protésico se observan signos de muerte celular o apoptosis. La fagocitosis se lleva a cabo mediante la expresión del antígeno CD68 (marcador propio de los macrófagos) (30,38,39). Parece ser que durante la diferenciación osteoblástica algunas de estas células podrían desarrollar funciones inmunes (capacidad de fagocitosis y la activación de las células T) y en caso de que un osteoblasto esté en contacto con microorganismos o materiales endoprotésicos se activarían estas funciones inmunológicas para eliminarlos. Para ello se producen cambios a nivel morfológico, antigénico y bioquímico. En situaciones en las que se produce una

liberación de citoquinas, como los procesos inflamatorios, estas modulan el fenotipo antigénico de los osteoblastos. En estos casos la función de los osteoblastos se convierte en puramente inmunológica, deteniéndose la secuencia de diferenciación y maduración, en detrimento de la formación ósea. Este proceso se considera un mecanismo de emergencia y no un proceso fisiológico (30).

2.1.1.2. OSTEOCITO.

Los osteocitos son células que derivan de la diferenciación de los osteoblastos, las cuales van a formar el hueso adulto, constituyendo más del 90% de las células de éste. Los osteocitos se encargan de preservar la integridad de la matriz mineralizada, de mantener la homeostasis del calcio mediante su depósito o liberación y de liberar moléculas que intervienen en el metabolismo del fosfato y síntesis ósea (proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP-1), factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23) y esclerostina).

Los osteocitos presentan forma estrellada o fusiforme, núcleo alargado y un citoplasma con menor número de orgánulos que los osteoblastos. Se conectan con otros osteocitos o con otras células de superficie como los osteoblastos gracias a las numerosas y finas prolongaciones tubulares que emergen de su citoplasma, conocidas como conductos calcóforos. Esta red de osteocitos interconectados permite el intercambio de nutrientes y residuos, así como la coordinación del proceso de remodelado, el cual responde a estímulos mecánicos que pueden iniciar la reabsorción por los osteoclastos (11,14).

2.1.1.3. OSTEOCLASTO.

Los osteoclastos son las células óseas más voluminosas. Presentan morfología redondeada con varios nucleolos y un citoplasma con abundantes organelas, lisosomas, vesículas, vacuolas, mitocondrias y microvellosidades. Se originan en las células madre hematopoyéticas extraesqueléticas. Intervienen en el remodelado óseo llevando a cabo los procesos de reabsorción. Para ello los osteoclastos que se encuentran en la superficie del hueso acidifican el medio mediante la liberación de protones y enzimas, rompiéndose

así los enlaces existentes entre el colágeno y la hidroxiapatita. Este proceso es regulado por el sistema RANK y su ligando RANKL, y la OPG (40,41).

2.1.2. MATRIZ ÓSEA.

Las células óseas se encuentran inmersas en una matriz de compuestos orgánicos (colágeno en un 90% y proteínas no colagénicas en un 10%) impregnada en sales minerales (depósitos de fosfato cálcico cristalino, una pequeña cantidad de fosfato cálcico amorfo y numerosos iones). De su composición obtiene el tejido óseo sus propiedades. Las sales minerales aportan dureza y resistencia a la compresión y los componentes orgánicos, como el colágeno aportan propiedades elásticas y resistencia a la tracción (11,40).

2.1.2.1. MATRIZ ORGÁNICA.

2.1.2.1.1. COLÁGENO.

Es una proteína compuesta por tres cadenas de polipéptidos de unos 1000 aminoácidos, que se enrollan entre sí de forma helicoidal mediante puentes de hidrógeno. Estas moléculas se organizan formando fibrillas de colágeno y estas a su vez se organizan formando fibras de colágeno. Constituye el 90 % de las proteínas óseas (42).

2.1.2.1.2. SUSTANCIA FUNDAMENTAL.

El resto de proteínas no colagénicas (entre un 10 y un 15% de las proteínas óseas) participan en el proceso de maduración y mineralización de la matriz. Aunque sus funciones no son del todo conocidas, parece que regulan la actividad funcional de las células óseas. Algunas de ellas son de origen exógeno, pero otras son sintetizadas por los propios osteoblastos (43,44). Algunas son responsables de la adhesión celular, como la fibronectina, la trombospondina, la osteopontina y la sialoproteína ósea (45). Otras son

proteoglicanos, como el condroitín sulfato y el heparán sulfato (46), proteínas gamma-carboxiladas, como la proteína ósea Gla (OSC) y la proteína Gla matricial (MGP) (44), proteínas fosforiladas, como la osteonectina (47), sialoproteínas (osteopontina) (48) y factores de crecimiento, como el factor de crecimiento derivado de la insulina (IGF) y el TGF- β , ambos secretados por los osteoblastos (49).

2.1.2.2. SALES MINERALES.

Las sales minerales son el componente inorgánico del tejido óseo, en su mayor parte compuestas por depósitos de fosfato cálcico cristalino (hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)) y una pequeña cantidad de fosfato cálcico amorfo. Sobre la superficie de la hidroxiapatita se presentan además numerosos iones, como magnesio, potasio, sodio, carbonato, citrato, y algunos menos comunes como el plomo, el oro y otros minerales pesados (11).

2.1.3. FORMACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO.

En el proceso de formación del tejido óseo distinguimos las siguientes etapas: diferenciación de las células madre en osteoblastos, síntesis de la matriz orgánica por parte de los osteoblastos, mineralización de la matriz orgánica e iniciación del proceso de reabsorción por parte de los osteoclastos como método de recambio óseo.

El proceso de osificación consiste en la formación de tejido óseo a partir de tejido no óseo mediante la sustitución progresiva del primero. Según la naturaleza del tejido sustituido diferenciamos dos tipos de osificación:

- Osificación endocondral (indirecta), en la cual el tejido mesenquimal pasa por un estadio intermedio de cartílago antes de ser reemplazado por tejido óseo. Este proceso va seguido de un crecimiento longitudinal del hueso. La gran mayoría de huesos de vertebrados se desarrollan por este mecanismo (11).
- Osificación intramembranosa o endoconjuntiva (directa), en la cual las células mesenquimatosas indiferenciadas se van a transformar en osteoblastos en el seno del

tejido conjuntivo. Por medio de este proceso se forman los huesos de la bóveda craneal, maxila y la mayor parte de la mandíbula (11).

2.1.4. MODELADO Y REMODELADO DEL TEJIDO ÓSEO.

Definimos el modelado como un proceso organizado de la célula ósea que permite el crecimiento óseo y que regula la resistencia del hueso. Este proceso se lleva a cabo gracias a la actividad de osteoblastos y osteoclastos que se sitúan estratégicamente para ello en la superficie ósea. Se desarrolla mediante el modelo endocondral, y constituye la base del crecimiento longitudinal del hueso. El proceso de modelado continúa hasta la adolescencia (50).

La remodelación ósea es un proceso continuo de acoplamiento entre formación y resorción, que produce como resultante un cambio en la arquitectura ósea. La tasa de renovación es dependiente de la edad, siendo más alta en el joven que en el adulto (14). En el remodelado intervienen tanto los osteoblastos como los osteoclastos. Estos últimos liberan ácido clorhídrico (HCL) al exterior mediante la activación de una bomba de protones que tienen en su interior, provocando una disolución de la estructura ósea. Este proceso libera calcio al medio extracelular, junto con una liberación de TGF- β 1 y BMPs que promueven la migración de células mesenquimales, las cuales se transformarán en osteoblastos que posteriormente crearán nuevo hueso. La resorción ósea es un proceso más rápido que la formación. Para la reconstrucción de un área de hueso resorbida en 2-3 semanas se necesita un mínimo de tres meses (14,51).

En estos procesos de formación y resorción resulta de especial importancia el complejo RANKL-OPG. El RANKL es sintetizado por los osteoblastos para unirse a un receptor que poseen los osteoclastos, denominado RANK, desencadenando la diferenciación osteoclástica y por tanto un proceso de resorción. Por otra parte, los osteoblastos sintetizan la OPG, que se une al RANKL e inhibe la diferenciación osteoclástica (52).

Algunos constituyentes de la matriz ósea, entre los que se encuentran fragmentos de colágeno, OSC o factores de crecimiento, van a producir una atracción de precursores de osteoblastos a las zonas de resorción (53).

La carga mecánica también juega un papel regulador en los procesos de remodelación. Así, los osteoclastos son activados en respuesta a una disminución de la carga, mientras que los osteoblastos son estimulados por un incremento de la carga (2).

El remodelado también puede verse modulado por factores hormonales, como ocurre en enfermedades como la osteoporosis. En esta se produce un desequilibrio entre la formación y resorción óseas debido a que los agentes promotores de la resorción actúan incrementando la formación de osteoclastos y activando a los ya existentes. Los osteoblastos resultan insuficientes para compensar la resorción producida por los osteoclastos, y esto conduce a una pérdida neta de hueso en cada evento de remodelación (54).

2.1.5. REPARACIÓN ÓSEA.

La reparación ósea es un complejo proceso que se produce después de un traumatismo óseo. En él intervienen células mesenquimales en diferentes estadios de diferenciación, proteínas osteoinductoras, factores de crecimiento y citoquinas. Todos estos factores actúan perfectamente coordinados en dos fases; una inicial de reparación propiamente dicha y tras ello una fase de remodelación (11,55).

Cuando una zona de tejido óseo sufre un trauma se produce un hematoma, que posteriormente se reabsorbe por los macrófagos y genera como consecuencia un proceso inflamatorio en la zona. Las citoquinas intervienen en este proceso como mediadores que promueven la migración de linfocitos, monocitos, granulocitos y células mesenquimales. Según la zona a reparar y el estímulo predominante, las células mesenquimales pluripotenciales se diferenciarán en células endoteliales, fibroblastos, condroblastos u osteoblastos. Seguidamente se genera un nuevo tejido conectivo vascularizado que sustituirá al coágulo inicial. En esta sustitución juegan un papel importante los macrófagos, que eliminarán los restos de tejido. Tras esta primera fase inflamatoria se produce la reparación propiamente dicha, en la que los osteoblastos forman puentes de tejido óseo inmaduro o callos óseos que unen entre sí las superficies de hueso traumatizado. Para terminar el proceso se inicia una fase de remodelación ósea que traerá consigo una sustitución de este tejido óseo inmaduro por un tejido óseo maduro lamelar u organizado (56).

2.2. INJERTOS ÓSEOS.

En las últimas décadas se ha producido un envejecimiento de la población, unido a mayores requerimientos funcionales y estéticos por parte de los pacientes. Este hecho ha dado lugar a que, durante estos últimos años, los profesionales de la odontología se encuentren, en su actividad quirúrgica diaria, enfrentados a retos en la recuperación de tejido óseo perdido por causas diversas, como problemas periodontales, quísticos, oncológicos, traumáticos o iatrogénicos (57,58).

Los pacientes que han sufrido una pérdida dental padecen como consecuencia una pérdida ósea en los maxilares, tanto en altura como en volumen de los rebordes alveolares. El paciente se ve abocado a recuperar su función masticatoria con prótesis dentales, para restablecer la morfología, la función masticatoria, la estética, la fonética y la salud del sistema estomatognático, independientemente del grado de atrofia. Sin embargo, cuanto mayor es la cantidad de piezas dentarias ausentes, más difícil resulta alcanzar estos objetivos (59).

La implantología se alza como la técnica capaz de reponer los dientes ausentes. Según avanza el conocimiento de nuevos materiales, la implantología cada vez se acompaña más de la regeneración ósea mediante injertos óseos, ya que la predictibilidad de este procedimiento y el mantenimiento a largo plazo de la estabilidad de los implantes están directamente relacionados con la calidad y la cantidad de tejido óseo disponible para su colocación, como se ha demostrado ampliamente en la literatura durante los últimos años (60,61).

Existen distintos materiales que pueden funcionar como sustitutos o rellenos óseos. Injertos autólogos, homólogos, heterólogos y materiales aloplásticos se han descrito ampliamente en la literatura y en la práctica clínica como candidatos válidos. Todos ellos muestran propiedades como la osteoconducción, o capacidad para comportarse como patrón tridimensional que permite alojarse al coágulo y formar un entramado de células óseas; sin embargo, el material que ostenta mejores propiedades es el hueso autólogo, ya que tiene capacidad osteogénica o formadora de nuevas células óseas, debido a que contiene BMPs, minerales y células óseas vitales. Por todo ello se considera el “gold estándar” como material de injerto (62).

2.2.1. PROPIEDADES DE LOS INJERTOS O SUSTITUTOS ÓSEOS USADOS EN IMPLANTOLOGÍA.

Los injertos óseos deben cumplir una serie de requisitos para ser utilizados como sustitutos, como:

- Evitar los fenómenos de rechazo, en los casos que no procedan del propio individuo. Por ello todo sustituto óseo debe ser biocompatible, es decir, ser capaz de ser implantado sin provocar reacciones tóxicas sistémicas, efectos cancerígenos o reacciones locales que comprometan la función, ni tampoco dolor, edema o necrosis de los tejidos adyacentes. Así mismo debe existir una compatibilidad tisular, término similar a la expresión de biocompatibilidad, pero relativo a la respuesta hística local. Debe ser atóxico o no venenoso, es decir, que no provoque la destrucción hística local ni reacción sistémica como consecuencia de los subproductos tóxicos de degradación (63).
- Ser osteotrópicos, o poseer la propiedad de amplificar la formación de hueso en presencia de células osteogénicas. Ello depende de las propias características físicas y químicas del material (57).
- No ser alergénico, es decir no producir en el organismo receptor ningún tipo de reacción de hipersensibilidad (57).
- Ser resistentes a la corrosión (57).
- Presentar buenas propiedades físicas, como la resistencia a la compresión, ya que presumiblemente va a soportar cargas elevadas. Asimismo, debe de ser capaz de transferir uniformemente las fuerzas funcionales (57).
- Ser radiopaco. Es deseable que el material colocado en el defecto presente cierta radiopacidad. Esto nos permitirá poder establecer un buen control radiológico de la zona a regenerar (57).
- Tener fácil manipulación, para minimizar la dificultad de la técnica y disminuir el tiempo quirúrgico (57).
- Ser económico, lo que supondría una aceptación social con respecto a su utilización (57).

Las tres propiedades de los injertos óseos dependiendo de su actuación en la regeneración ósea son: osteoconducción, osteoinducción y osteogénesis.

2.2.1.1. OSTEOCONDUCCIÓN.

Es el proceso por el cual el material implantado actúa como un almacén o matriz de soporte, para favorecer el crecimiento del tejido óseo del propio individuo. Este almacén inicial gradualmente es reabsorbido durante la curación del hueso vivo adyacente (64). Los materiales osteoconductores puros no forman hueso de una forma intrínseca; su osificación no es endocondral y la formación de hueso siempre comienza en la periferia del defecto óseo. Es decir, dan lugar a un crecimiento óseo por aposición, en el que el propio material o tejido guía el crecimiento, por medio de la invasión vascular y de células osteoprogenitoras provenientes del tejido óseo vivo del receptor, dentro del andamiaje que presenta el injerto. Dicho material puede ser permanente o reabsorbible (57).

2.2.1.2. OSTEOINDUCCIÓN.

Definimos la osteoinducción como la capacidad que tienen algunos materiales de liberar determinadas sustancias capaces de inducir la formación de hueso mediante un mecanismo endocondral en zonas alejadas del margen del lecho receptor. Es decir, transforman las células mesenquimales indiferenciadas perivasculares de la zona receptora en células formadoras de cartílago y/o hueso mediante la presencia de un factor estimulante local. Así, el material tiene la capacidad de estimular la transformación del tejido conectivo en tejido endocondral, incluso allí donde no debería de existir hueso, es decir, en lugares extraesqueletales (57).

Son muchos los factores que pueden estimular la osteoinducción. Entre los más destacados cabe citar a las BMPs, polvo de hueso desmineralizado, la osteogenina, el factor de crecimiento de origen plaquetario 16 (PDGF16), el factor de crecimiento transformador 14 y 15 (TGF14 y TGF15) y una serie de proteínas implicadas en el metabolismo óseo, como el factor de crecimiento de fibroblastos 18 y 19 (FGF18 y FGF19), el factor de crecimiento insulínico 20, 21, 22, 23, 24 y 25 (IGF20, IGF21,

IGF22, IGF23, IGF24 e IGF25), el factor de crecimiento epitelial 26 y 27 (EGF26 y EGF27) y el factor de crecimiento endotelial vascular 15 (VEGF15) (68,69).

La fuente de estas proteínas son los injertos autólogos y los aloinjertos, el plasma rico en factores de crecimiento y las BMPs obtenidas mediante técnicas de ingeniería genética (58). Las BMPs, que procedentes de la matriz mineral del injerto van a ser reabsorbidas por los osteoclastos, actuando como mediadores de la osteoinducción (65).

2.2.1.3. OSTEOGÉNESIS.

Definimos la osteogénesis como la capacidad que poseen las células osteogénicas vivas de establecer centros de osificación, al ser trasplantadas de una zona del organismo a otra, llevando a cabo la regeneración ósea de una forma directa. Es decir, la formación de hueso nuevo se produce a partir de preosteoblastos y osteoblastos presentes en el injerto; incluso podrían formar hueso sin la presencia de células mesenquimatosas indiferenciadas locales. En la actualidad, el hueso autógeno es el único material osteogénico disponible, siendo el hueso medular o trabecular más rico que el cortical en concentraciones de células óseas (58,66).

2.2.2. HUESO AUTÓLOGO.

El injerto autólogo, injerto autógeno o autoinjerto procede del propio paciente y se considera el mejor sustituto óseo, ya que cuenta con las mejores propiedades biológicas. Su característica principal es que es osteogénico, es decir contiene células con vitalidad y potencial formador de hueso; otra de sus características es que no provoca reacciones inmunes adversas. Así, a diferencia del resto de biomateriales de injerto, al emplear el hueso propio de paciente estamos realizando un trasplante en el más puro sentido de la palabra. Por todos estos hechos se considera el “gold standard” para la cirugía ósea reconstructiva (67).

El injerto autógeno da lugar a la formación de tejido óseo, incluso en ausencia de células mesenquimatosas indiferenciadas. En una primera fase de osteogénesis las células supervivientes del hueso que se han trasplantado proliferan y forman nuevos osteoides,

es decir, porciones orgánicas de la matriz ósea sin mineralizar que serán nuevos centros de osificación. Esta actividad se produce en las cuatro primeras semanas. La cantidad de nuevo hueso formado en esta primera fase es directamente proporcional a la densidad de células trasplantadas. Por este motivo se aconseja comprimir el injerto, de tal forma que exista el mayor número de células óseas por unidad de superficie. En ese aspecto, es el hueso esponjoso autógeno con el que se obtienen un mayor número de células medulares indiferenciadas. La vascularización es de vital importancia en este fenómeno, ya que sólo sobreviven al trasplante los osteocitos que se encuentren a una distancia máxima de 300 μm de una fuente de aporte sanguíneo, mientras que las demás células morirán antes de que les llegue el aporte sanguíneo por difusión.

A las dos semanas tras la colocación del injerto comienza la segunda fase, de osteoinducción, en la que el injerto es invadido por células de tejido conjuntivo del huésped y por osteocitos que remodelarán el injerto. Esta fase alcanza su pico de actividad a las 6 semanas. Se caracteriza por la liberación de BMPs de la matriz mineral del hueso trasplantado (principalmente del hueso cortical). Esta proteína actúa como mediadora permitiendo la formación de hueso mediante dos fenómenos: la osteogénesis y la osteoinducción.

En la tercera fase se produce un fenómeno de osteoconducción por la cual el componente inorgánico del injerto funciona como matriz que proporciona estructura tridimensional y funciona como fuente de minerales durante la sustitución progresiva del hueso que lo rodea (57,68,69).

Se puede resumir que el hueso medular inicia la osteogénesis a partir de las células supervivientes una semana después de aplicar el injerto y la parte cortical del injerto proporciona BMPs para la segunda fase de osteoinducción. Los injertos autógenos con mayor componente cortical se caracterizan por presentar menor cantidad de células osteogénicas, por lo que no tienen la misma capacidad para mantener la viabilidad celular; en cambio, los injertos autólogos medular muestran en principio una mayor supervivencia, debido a la mayor difusión de nutrientes y grado de revascularización desde el lecho receptor (68,69). El hueso medular tiende a ser reparado con el tiempo, mientras que el cortical permanece como una mezcla de sustancias necróticas y hueso viable, ya que la revascularización del injerto medular puede establecerse pocas horas después, dando como resultado anastomosis término-terminal de los vasos del huésped al

trasplante y que las células osteogénicas del injerto se diferencian en osteoblastos que empiezan a depositar tejido osteoide (70,71).

Las principales ventajas de la utilización de hueso autólogo son las siguientes:

- Antigenicidad: es nula, ya que el material injertado procede del propio individuo (57).
- Capacidad osteogénica, osteoinductiva y osteoconductiva: es aquí donde encontramos una de las ventajas más importantes. El autoinjerto es el único material osteogénico entre todos los sustitutos óseos; también ejerce una función osteoinductora (por contener BMPs) y una función osteoconductora en sus últimas etapas (68).

Los principales inconvenientes de la utilización de injertos autólogos son:

- Morbilidad: es sin duda el mayor inconveniente, ya que para su obtención se somete al paciente a una intervención quirúrgica adicional. Esto resulta especialmente gravoso cuando las zonas donantes son extraorales, tal es así que existe un neto desequilibrio entre el objetivo a conseguir y los medios a emplear (72,73).
- Disponibilidad: es limitada y en casos de grandes defectos óseos, tendremos que desechar la procedencia intrabucal, ya que debilitaríamos en gran medida la región donante. Por ello nos vemos en la obligación de recurrir a zonas alejadas extraorales, que requieren hospitalización y anestesia general (con los riesgos que ello implica), además del posible riesgo de secuelas funcionales por la intervención (72,73).
- El tejido óseo autólogo injertado sufre una rápida reabsorción, dificultando conseguir grandes aumentos de volumen o altura cuando usamos bloques cortico-esponjosos de origen extraoral (74).

En cuanto a las indicaciones del injerto autólogo, debido a su capacidad osteogénica se presenta como el mejor injerto para sustituir el hueso perdido en los defectos de los maxilares. Se puede utilizar en casi todas las situaciones clínicas en las que se requiere un aumento de volumen óseo para recuperar la anatomía perdida. En este caso el paciente deberá estar de acuerdo en la realización de un segundo campo quirúrgico para su obtención, en caso de necesitar grandes cantidades de injerto (57). Desde esta limitación, el injerto más utilizado es el injerto intraoral, sobre todo el de rama mandibular y sínfisis mentoniana (75). Se reserva la utilización de injerto extraoral (cresta ilíaca) para

situaciones en las que se requiere un gran volumen de hueso, como elevaciones de seno bilaterales, osteotomías *Le Fort I* e injertos interposicionales, reconstrucción de deformidades y cirugía ortognática. Para otras situaciones como aumentos y remodelación de rebordes alveolares maxilares y mandibulares, reconstrucción tras quistes o tumores óseos de mediano o gran tamaño, dehiscencias y fenestraciones óseas producidas por la colocación de implantes y elevaciones de seno unilaterales se pueden utilizar injertos intraorales, ya sean en bloque o particulados (67,68,76).

2.2.2.1. ORIGEN EMBRIONARIO DE LOS INJERTOS DE HUESO AUTÓLOGO.

Según el origen embriológico distinguimos dos tipos de tejido óseo, que presentan grandes diferencias entre sí en sus propiedades y como consecuencia en su comportamiento, cuando son recolectados como injertos.

2.2.2.1.1. ENDOCONDRALE.

Se caracteriza por presentar un grado de reabsorción mayor (pérdida de un 75% en un año) debido a que muestran una menor densidad de hueso en comparación al membranoso y una revascularización más lenta. Por otra parte, tienen una menor cantidad de factor de crecimiento derivado de la insulina 2 (IGF-II) y TGF- β . Entre las zonas de tejido óseo con origen endocondral destacamos la cresta iliaca, las costillas, la tibia, el metatarso y el peroné (69,77).

2.2.2.1.2. MEMBRANOSO.

Se caracteriza por poseer un componente cortical proporcionalmente mayor al hueso de origen endocondral, lo que explica su mayor mantenimiento de volumen en el tiempo y su mayor resistencia. El grado de reabsorción es menor independientemente del sitio receptor. Presentan una mayor cantidad de IGF-II y TGF- β . Otra característica es que el hueso membranoso se revasculariza antes que el hueso endocondral. Entre las zonas de

tejido óseo con origen membranoso destacamos la mandíbula, el maxilar y el cráneo (69,77).

2.2.2.2. MECANISMO DE OBTENCIÓN DE INJERTOS ÓSEOS AUTÓLOGOS INTRAORALES.

Según el mecanismo por el cual obtenemos los injertos óseos autólogos intraorales, estos pueden presentarse en forma de injertos particulados o injertos en bloque.

2.2.2.2.1. PARTICULADO.

Los injertos autólogos particulados se obtienen como fragmentos córtico-esponjosos de distintas zonas intraorales, entre las que destacamos la sínfisis mandibular, la rama ascendente mandibular o zonas del maxilar superior como la tuberosidad. Uno de los mecanismos es la obtención de fragmentos mediante osteotomía con fresas de corte a baja velocidad, mediante sierras oscilantes motorizadas o con sistemas ultrasónicos; que van a ser posteriormente triturados mediante molinillos de hueso. Otra posibilidad es la obtención del injerto directamente en forma de partículas, mediante diversos procedimientos, entre los que destacamos el fresado biológico a baja velocidad en la preparación de lechos para implantes osteointegrados, el uso de rascadores o cinceles de acción posterior sobre una superficie ósea y el uso de filtro de hueso (78,79).

2.2.2.2.1.1. FRESADO BIOLÓGICO A BAJA VELOCIDAD.

El fresado biológico a bajas revoluciones (de 50 rpm a 100 rpm) y sin irrigación es una técnica que facilita la recolección de hueso en el momento en el que se prepara el alveolo para insertar un implante, permitiéndonos obtener hueso cortical y medular (80). Las bajas revoluciones de trabajo no incrementan la temperatura del hueso circundante. Se ha demostrado que la temperatura a bajas revoluciones aumenta entre 2 y 3 °C durante el fresado, y disminuye inmediatamente después del procedimiento de fresado, lo que evita la isquemia ósea, así como el lavado del alveolo, consiguiendo un lecho biológico

adecuado (81). Es de especial importancia para este procedimiento el uso de fresas con forma helicoidal, ya que su diseño es muy retentivo para las partículas óseas que se van cortando, lo que permite obtener grandes cantidades de hueso de la zona de fresado. El fresado a bajas revoluciones permite un mejor control de la dirección y profundidad del fresado, proporcionando al quirúrgico más información acerca de la trayectoria de la fresa y permitiendo corregirla si fuera necesario (80).

Al no usar irrigación mantenemos parcialmente la vitalidad del hueso obtenido, conservándose proteínas de bajo peso molecular, como BMPs, factores de crecimiento y otras sustancias solubles que se disolverían fácilmente al irrigar en el fresado (82).

Por otra parte, el hueso recogido por este procedimiento es más fácil de manipular que el hueso recogido por otros medios, gracias a las proteínas implicadas en los procesos de reparación ósea que se conservan durante el fresado y que proporcionan cualidades de adhesión especiales a las partículas (83).

2.2.2.2.1.2. RASCADORES DE HUESO O CINCELES DE ACCIÓN POSTERIOR.

Nos permiten recolectar cantidades adecuadas de partículas de hueso mayoritariamente cortical preservando la vitalidad de las células. El hueso recogido se combina con sangre durante el procedimiento de obtención, por lo que estará listo para ser colocado en el defecto. Es un proceso mínimamente invasivo que no resulta traumático para el paciente, ya que la técnica de extracción es manual. Encontramos en el mercado rascadores con cuchillas de corte rectas o curvas, que permiten adaptarse perfectamente a la zona ósea cortical donante (84,85).

2.2.2.2.1.3. FILTROS DE HUESO.

Se presentan en forma de jeringa con un filtro estéril de un solo uso, que se conecta a los diferentes sistemas de aspiración, en el lugar de las cánulas tradicionales. Nos permite recolectar todos los fragmentos óseos en el filtro, dejando pasar sangre, solución irrigante y saliva en el propio aspirador. Los fragmentos recogidos podrán ser depositados con suma facilidad bajo la forma de un cilindro óseo actuando sobre el pistón de la jeringa. Con este procedimiento obtenemos una menor cantidad de partículas óseas que con los

dos métodos descritos anteriormente. Además, las partículas obtenidas estarán en contacto con la saliva, con el consiguiente riesgo de contaminación bacteriana de las mismas. Es un proceso mínimamente invasivo, que nos permite optimizar las intervenciones implantológicas, recolectando las partículas óseas que se generan en el fresado de implantes con altas revoluciones e irrigación (86,87).

2.2.2.2.2. EN BLOQUE.

Los injertos óseos en bloque son utilizados para el tratamiento de defectos óseos severos en áreas localizadas, como la reconstrucción de la tabla ósea vestibular y la rehabilitación de crestas afiladas, o en la restitución del volumen óseo perdido en áreas extensas debido a las reabsorciones que se producen tras la extracción dentaria. Este es el caso de extremos libres sometidos a carga por prótesis removibles, atrofiadas maxilares o mandibulares y resecciones tumorales (88).

Como hemos mencionado al principio del apartado anterior, el mecanismo de obtención es la osteotomía, que se realiza con fresas de corte a baja velocidad, o mediante sierras oscilantes motorizadas, o sistemas ultrasónicos.

Los fundamentos biológicos básicos de esta técnica y los requisitos necesarios para su funcionamiento se sustentan en los siguientes principios:

1. Asegurar un aporte nutricional suficiente: para ello se prepara el lecho receptor, que es generalmente cortical, realizando perforaciones con fresas hasta llegar a tejido óseo medular, con el objeto de provocar el sangrado. Este procedimiento generará un coágulo en la interfase injerto óseo/lecho receptor, desencadenando los mecanismos osteogénicos típicos de las heridas óseas. Las perforaciones promueven asimismo la liberación de BMPs, que activan la transformación de células mesenquimales en osteoblastos, acelerando el proceso de neoformación ósea. Del mismo modo van a producir un incremento en el número de vasos sanguíneos (angiogénesis) mejorando a su vez la probabilidad de obtener mayor cantidad de hueso formado.

2. Inmovilizar de forma absoluta el injerto: para evitar la formación de tejido fibroso cicatricial en la interfase lecho receptor-injerto óseo, impidiendo así la integración del injerto y provocando su reabsorción total. Para su fijación se utilizan tornillos de osteosíntesis.

3. Obtener una cobertura perióstica total: ya que el aporte nutricional de la cara externa del injerto óseo (cortical) la realizará el periostio. Este proporciona los vasos sanguíneos que infiltrarán el injerto y suministrarán los nutrientes necesarios para su viabilidad (89,90).

2.2.2.3. ZONAS DONANTES INTRAORALES DE INJERTOS DE HUESO AUTÓLOGO.

- Sínfisis de mandíbula-mentón.

Permite la obtención de injertos cortico-esponjosos (sobre todo corticales) de mediano tamaño, en forma de bloque. Constituye una de las zonas intraorales con mayor disponibilidad ósea. La intervención necesaria para su obtención, por su facilidad de acceso, es rápida y poco traumática. Es ideal para defectos óseos pequeños y medianos. Proporciona hueso de tipo membranoso y, por tanto, con menor reabsorción que el hueso endocondral. Al ser un hueso fundamentalmente cortical, el grado de reabsorción inicial es menor que en los de tipo esponjoso y su revascularización más lenta, a lo largo de meses. Presenta un alto potencial de células osteoprogenitoras. Se recolecta en forma de bloques que generalmente se utilizan para técnicas tipo onlay, mediante la fijación del injerto a la zona a regenerar mediante tornillos de osteosíntesis, aunque los bloques obtenidos en esta zona también se pueden fragmentar posteriormente para su uso como hueso particulado (91,92).

Para su obtención se emplea una fresa esférica fina, mediante instrumental rotatorio convencional o con material piezoeléctrico. Se labran pequeños surcos u orificios en la cortical ósea, que después se unen entre sí y finalmente se levanta el bloque completo con un escoplo. Es conveniente que éste contenga tanto hueso cortical como esponjoso, para darle mayor garantía de supervivencia al injerto. Si sólo tomamos la cortical, legaremos con una cucharilla quirúrgica o legra fina, para remodelar perfectamente toda la zona. Si se obtiene un bloque córtico-esponjoso se consigue una mayor solidez y una mejor adaptación al lecho receptor. El hueso cortical compacto es el que va a iniciar la osteogénesis a partir de células supervivientes la primera semana, proporcionando BMP para la segunda fase osteoinductiva, actuando además a modo de membrana impidiendo

que el injerto sea invadido por tejido fibroso. Así el hueso esponjoso del interior tiene más tiempo para nutrirse y desarrollarse bajo la capa cortical. El bloque se fija al defecto mediante tornillos de titanio, o se puede dividir en fragmentos para relleno.

Las complicaciones derivadas de la toma de este injerto son las derivadas de la proximidad a los nervios mentonianos y a los ápices dentarios del grupo anteroinferior. Por otra parte, el amplio despegamiento de la musculatura mentoniana en sujetos de edad media/alta puede dar lugar a un mentón colgante como secuela quirúrgica (57).

Las principales ventajas de esta zona donante es que es un lugar accesible en cirugía bucal, discomfort mínimo, además de su baja morbilidad y requerir un periodo de cicatrización más corto en comparación con otras localizaciones. Todo ello, junto al origen embriológico membranoso de la sínfisis, con las ventajas que ello implica, una menor reabsorción y un hueso con gran potencial de BMPs (57,58,91).

Su principal indicación es la reconstrucción de los defectos maxilares previa a la colocación de implantes (91).

- Espina nasal anterior.

Se localiza en la zona media maxilar, en la base de la nariz. El procedimiento de recogida es mediante unas pinzas tipo gubia, debido a su anatomía en forma de cresta. Se debe evitar dañar el suelo nasal. Se utiliza solamente por proximidad, ya que ofrece poca cantidad de hueso (57).

- Apófisis piramidal.

Una vez realizado el colgajo mucoperióstico se procede con la ayuda de una fresa pequeña o instrumental piezoeléctrico, a realizar pequeñas perforaciones que uniremos posteriormente con un escoplo, sin producir perforación en el seno maxilar, hasta levantar la cortical externa. Puede aportar hueso cortical y medular, tipo II y III en la clasificación de Lekholm y Zarb (93), para utilizarse en formato particulado. Está indicada su utilización en regeneración ósea de defectos maxilares de pequeño o mediano tamaño en técnicas tipo inlay (57,58).

-Tuberosidad.

Es una de las regiones con más fácil acceso, aunque, debido a la poca cantidad que se puede obtener, se usa como complemento a hueso procedente de otra localización intraoral, generalmente por proximidad del campo quirúrgico. Se caracteriza por tener una gran proporción de hueso esponjoso y una fina cortical. Ocasionalmente puede presentar lugares con células que aumentarían el potencial osteogénico. A través de una incisión lineal con o sin incisiones de descarga se extrae el tejido óseo con pinzas gubias o fresado a bajas revoluciones, finalizándose con la regularización de la estructura ósea y la aplicación de sutura simple. El hueso recolectado se utiliza en forma particulada y está indicado en cavidades óseas pequeñas y defectos pequeños. Al ser básicamente hueso esponjoso, presenta una tasa de reabsorción aumentada (10% o más). Debido a su poca densidad, con escasa medula ósea (tipo III o IV en la clasificación de Lekholm y Zarb) (93), se recomienda mezclarlo con materiales osteoconductores (57,94).

- Rama mandibular.

La recolección está limitada por la proximidad del nervio dentario inferior, así que los injertos que se obtienen son mayormente corticales, aunque dependiendo de la proximidad al nervio dentario también se pueden obtener injertos medulares. Se obtienen injertos de un tamaño aceptable y de buena calidad. Se pueden obtener en forma de bloque, de alta densidad (hueso tipo I en la clasificación de Lekholm y Zarb) (93) para utilizarse generalmente en técnicas tipo onlay y en forma de hueso particulado. Presenta una morbilidad significativamente menor que el injerto de mentón, en cuanto a la posible lesión nerviosa. Es un injerto de origen membranoso y, por lo tanto, con poca tasa de reabsorción. Entre sus ventajas destaca la facilidad de la técnica, que puede ser realizada con anestesia local a través de una incisión similar a la de la extracción del tercer molar y su escasa morbilidad (57,75,95).

2.3. USO DE AGENTES DESCONTAMINANTES PARA EL TRATAMIENTO DE INJERTOS ÓSEOS.

2.3.1. DESCONTAMINACIÓN DE LOS INJERTOS ÓSEOS.

En la literatura se han propuesto diferentes métodos de descontaminación de injertos óseos en cirugía ortopédica y también en cirugía bucal. Concretamente, en cirugía ortopédica, en la que se utilizan injertos óseos, las infecciones del sitio receptor del injerto suponen un gran hándicap en la evolución y en el pronóstico del tratamiento. Además, estas infecciones dan lugar a estancias prolongadas en el hospital y a un aumento en las tasas de reingreso, lo que incrementa de manera significativa el coste de la atención médica. Se han utilizado múltiples agentes en cirugía ortopédica para prevenir la contaminación bacteriana perioperatoria de la herida, como por ejemplo la cefazolina o el polvo de vancomicina (96–98). Otros antibióticos estudiados son los betalactámicos, como la amoxicilina, y las lincosamidas, entre ellas la clindamicina. En cuanto a los antisépticos el más frecuentemente utilizado en la literatura es la clorhexidina (CHX). Aunque han sido propuestos diferentes métodos de descontaminación de injertos óseos en cirugía ortopédica y cirugía bucal en la literatura científica, ninguna de ellos ha resultado ser completamente eficaz (99–101).

Cuando usamos hueso recolectado mediante fresado a baja velocidad existe un alto riesgo que pueda estar contaminado por los numerosos microorganismos que constituyen la flora habitual de la boca. Esta contaminación es muy sensible a la técnica de recogida, pudiendo dar lugar en muchos casos a infección y consecuente fracaso del injerto. Han sido descritas tasas de contaminación después de la colocación del injerto que oscilan entre el 5% y el 50%. Por esta razón se hace esencial encontrar un agente descontaminante que elimine o disminuya la carga bacteriana que conlleva la técnica de recogida.

Otro de los problemas que se plantea es que el agente descontaminante que se emplee tiene que ser eficaz reduciendo o eliminando la carga bacteriana sin comprometer la viabilidad de las células (102–105).

2.3.2. AGENTES DESCONTAMINANTES.

2.3.2.1. CLORHEXIDINA.

La CHX es un antiséptico de acción bactericida y fungicida, de amplio uso en odontología, en concentraciones de 0,2%, 0,12% y 0,05%. Presentando a estas concentraciones una baja actividad como fungicida. La actividad de la CHX es dependiente del pH (5,5 a 7) y se neutraliza en presencia de surfactantes iónicos o aniones inorgánicos (fosfato, nitrato o cloruro). Su eficacia depende también de la temperatura, debiendo almacenarse a temperatura ambiente, ya que a altas o muy bajas temperaturas pierde su efecto. Igualmente se inactiva con la luz (106,107).

El mecanismo de acción de la CHX se ejerce de dos formas. En primer lugar, a altas concentraciones presenta un efecto bactericida, al penetrar en el interior celular, causando la desnaturalización de las proteínas citoplasmáticas con la consecuente muerte celular. Para penetrar en la célula bacteriana desestabiliza las membranas, interfiriendo en su función, precipitando en el citoplasma e inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona la disminución de los niveles de ATP y muerte celular. En las bacterias gram-negativas, la CHX afecta a la membrana exterior, permitiendo la liberación de las enzimas periplasmáticas. La membrana interna de estos microorganismos no es destruida, pero se impide la absorción de pequeñas moléculas. En segundo lugar, a bajas concentraciones el efecto de la CHX sobre la célula bacteriana es bacteriostático, inhibiendo el crecimiento microbiano (108,109).

La CHX está presente en una gran variedad de preparaciones para prevenir infecciones. Así se puede usar para la limpieza preoperatoria de la mucosa, la preparación del sitio quirúrgico, la irrigación intraoperatoria y la impregnación de los materiales de injerto

(110). La práctica de irrigación con CHX en el interior de la herida habitualmente como desinfectante del sitio quirúrgico antes de la sutura ha aumentado, particularmente en los procedimientos de artroplastia, y su uso clínico se asemeja al de la povidona diluida (111). En su presentación al 2% la CHX se utiliza ampliamente en endodoncia; en concentraciones de 0,2% y 0,12%, en forma de gel se utiliza para desinfección de quemaduras y heridas; al 0,12% en solución acuosa se usa como colutorio de uso odontológico para el tratamiento auxiliar en periodoncia. En cirugía general se usa para la asepsia de la piel previo a procedimientos quirúrgicos en solución acuosa al 4% o al 5% (108,112).

Entre sus efectos adversos se puede destacar la pigmentación reversible de tejidos duros y blandos que se produce con el uso prolongado. En su presentación como enjuague bucal se han descrito también como efectos adversos la disminución en el sentido del gusto y un aumento de la sensibilidad a los cambios de temperatura. A nivel extraoral se ha descrito toxicidad cuando se aplica sobre el oído medio o la córnea. Puede producir dermatitis por contacto o irritación en la piel. Se han descrito en la literatura también casos de angioedema y de anafilaxia (113–115).

2.3.2.2. AMOXICILINA.

La amoxicilina es un derivado semisintético de la penicilina (amino penicilina) que se utiliza como antibiótico de primera elección en cirugía bucal e implantología, debido a que presenta un espectro de acción suficientemente amplio y al mismo tiempo específico frente a los microorganismos constituyentes de la flora bucal. Ejerce su acción sobre un amplio número de bacterias, tanto gram-negativas y algo menos sobre gram-positivas (116,117).

El mecanismo de acción de la amoxicilina se lleva a cabo alterando la formación de la pared celular bacteriana, inhibiendo la conexión entre las cadenas de peptidoglicanos que forman la mayor parte de las paredes de los microorganismos gram-negativos y gram-positivos (116).

La amoxicilina está indicada en el tratamiento de infecciones sistémicas o localizadas en el aparato respiratorio, tracto gastrointestinal o genitourinario, de piel, tejidos blandos y odontoestomatológicas causadas por microorganismos gram-negativos, gram-positivos y algunos anaerobios sensibles. Es el antibiótico de primera elección para la prevención de endocarditis bacterianas en pacientes de riesgo. La amoxicilina está contraindicada en pacientes con alergias conocidas a las penicilinas. Se ha descrito una incidencia del 3 al 5% de pacientes alérgicos, sobre todo en pacientes asmáticos o con otras alergias conocidas. Puede administrarse durante el embarazo, atravesando la barrera placentaria y en la lactancia se excreta en cantidades no significativas. Debido a su eliminación por vía renal, en pacientes con insuficiencia renal se debe ajustar su dosis, ya que en estos su eliminación será a través de la bilis. Debe administrarse con precaución en pacientes con leucemia linfocítica y en pacientes con infecciones víricas como mononucleosis infecciosa o SIDA. En la literatura se ha descrito disminución del efecto de anticonceptivos orales en pacientes tratados con amoxicilina, aunque se desconoce el mecanismo de esta interacción. La amoxicilina administrada por vía oral se absorbe rápidamente, con una vida media de unos 61,3 minutos. Se difunde por casi todos los tejidos y líquidos del cuerpo, salvo a nivel del cerebro y el líquido cefalorraquídeo, excepto cuando encontramos las meninges inflamadas (117,118).

Presenta una alta resistencia y es estable a la presencia de jugos gástricos del estómago, por tanto, por vía oral podrá ser administrada sin tener en cuenta el ritmo de las comidas. Se absorbe rápidamente después de la administración oral con una absorción digestiva del 98%, alcanzando los niveles máximos plasmáticos a los 60 minutos. Presenta una biodisponibilidad del 90%, con una vida media plasmática de 1,8 a 2 horas. Se liga a las proteínas plasmáticas en un 20% y se excreta de forma activa en la orina (119–121).

Se encuentra en presentación oral y parenteral, aunque en esta última puede producir daños en el sistema auditivo y renal. Puede provocar reacciones alérgicas severas como reacciones de hipersensibilidad o incluso reacciones anafilácticas; otros efectos secundarios son hiperglucemia, fiebre, náuseas, vómitos o diarrea (116,117).

2.3.2.3. CLINDAMICINA.

La clindamicina es un antibiótico semisintético obtenido por la sustitución en la lincosamida del grupo 7(r)-hidroxilo por cloro en la posición 7(s). Es un antibiótico eficaz frente a cocos gram-positivos aerobios, incluyendo algunos *estafilococos* y *estreptococos*, bacilos gram-negativos anaerobios como *bacteroides* y *fusobacterium*. (122,123).

La clindamicina tiene un efecto bacteriostático, inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a la subunidad ribosómica 50S (124,125). Además, la clindamicina puede inhibir proteínas bacterianas, toxinas, enzimas y citoquinas una vez que las bacterias están dentro del tejido (122,125). Su mecanismo de acción es similar a otros antibióticos como la eritromicina y el cloranfenicol, por lo que debe evitarse su administración simultánea para evitar el posible efecto antagónico y resistencias cruzadas (126).

Su principal indicación es el tratamiento de infecciones causadas por las bacterias anaerobias susceptibles. En pacientes alérgicos a la penicilina se utiliza para tratar infecciones aerobias susceptibles, por lo que se utiliza como antibiótico de elección en estos casos. Debido a su buena liberación en el tejido óseo se utiliza para el tratamiento de infecciones en hueso causadas por *Staphylococcus aureus* (122,123). En su forma tópica se presenta como fosfato de clindamicina y se indica en el tratamiento de diversas infecciones de la piel (127). Es de gran eficacia en el tratamiento de infecciones dentales que involucran un amplio espectro de bacterias anaerobias estrictas y facultativas (123).

La clindamicina administrada por vía oral se absorbe en el tracto gastrointestinal mostrando una biodisponibilidad en torno al 90%. No se inactiva por acción de los ácidos gástricos y su concentración plasmática no se modifica cuando se administra junto con alimentos. Se distribuye extensamente a través de tejidos y órganos, excepto a nivel del sistema nervioso central (122,128). Atraviesa la barrera placentaria y se excreta por la leche materna (129). Es parcialmente metabolizada en el hígado, dando lugar a metabolitos inactivos y activos como el n-dimetil y el disulfóxido. Su vida media es de 2 a 3 horas. La clindamicina activa y sus metabolitos se excretan mayoritariamente a través del riñón y una pequeña parte vía biliar (130). En su forma de administración intravenosa (fosfato de clindamicina) es un fármaco inactivo, pero al hidrolizarse rápidamente en el medio sanguíneo pasa a forma activa (131).

Según su vía de administración la clindamicina puede presentarse de las siguientes formas. A nivel oral en forma de capsulas como clorhidrato de clindamicina o en granulados para suspensión oral como clorhidrato del palmitato de clindamicina. También puede encontrarse en forma inyectable como fosfato de clindamicina. Por último, podemos encontrarla en preparaciones tópicas como clorhidrato o fosfato de clindamicina (127,131–133).

Los efectos secundarios más frecuentes de la clindamicina son principalmente desórdenes gastrointestinales, pudiendo producirse colitis pseudomembranosa. Esta es causada por la proliferación oportunistas de *Clostridium difficile* cuando las bacterias sensibles y flora saprófitas son eliminadas entre otras causas por el consumo de antibióticos como la clindamicina. Como consecuencia de esta proliferación se produce una liberación de toxinas muy potentes que provocan inflamación y sangrado en el revestimiento del colon (134).

2.3.3. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS DESCONTAMINANTES. COMPROMISO DE LA VIABILIDAD CELULAR.

La utilización de un agente descontaminante sobre los injertos óseos puede conllevar un riesgo de alterar la fisiología del osteoblasto, lo cual podría comprometer el proceso de regeneración del tejido. Por lo tanto, debemos encontrar un equilibrio entre la reducción de la carga bacteriana de los injertos óseos autólogos y no alterar la fisiología de los osteoblastos.

Con respecto a la CHX en cuanto a su uso en implantología y regeneración ósea, no existe gran evidencia científica respecto a la seguridad y su inocuidad frente al crecimiento óseo como agente de irrigación de injertos. Algunos trabajos han demostrado la toxicidad para las células nativas en proliferación, tanto en estudios clínicos como en cultivos celulares (135,136), mientras que otros estudios respaldan su seguridad clínica (111). En algunos trabajos se ha estudiado y demostrado que la CHX es citotóxica para los osteoblastos,

fibroblastos y linfocitos humanos de forma dependiente de la dosis y el tiempo, lo que puede retrasar la cicatrización de la herida o dar lugar al fracaso de un injerto, ya que estas poblaciones celulares son las responsables de la reparación ósea después de un trauma quirúrgico (137,138). Otros autores han señalado que en concentraciones no superiores al 1% y tiempo no superior a un minuto permite la viabilidad celular (139).

En la literatura se ha descrito un uso sistémico de la amoxicilina como antibiótico profiláctico para disminuir la carga bacteriana bucal previamente a la recogida de tejido óseo para autoinjerto. Apenas se han encontrado evidencias del uso de este antibiótico en el tratamiento local de injertos óseos autólogos para la reducción de la contaminación bacteriana. En cuanto a su efecto sobre las células formadoras de hueso se ha descrito citotoxicidad directa tras el tratamiento de los osteoblastos humanos en cultivo con antibióticos inhibidores de la síntesis de la pared celular bacteriana, como penicilina y amoxicilina, a dosis mayores de 500 µg/mL. Sin embargo, cuando se usaron dosis de amoxicilina de 400 µg/mL o inferiores no se observó ningún efecto sobre la proliferación o capacidad de diferenciación en comparación con osteoblastos no tratados (140).

La clindamicina se usa con frecuencia en cirugía ortopédica en diferentes formas de aplicación local para el tratamiento de infecciones articulares protésicas, osteomielitis crónica o como profilaxis de infecciones en la aplicación de cementos óseos. Existen evidencias en la literatura de que la administración de este antibiótico a las dosis indicadas para estas indicaciones, por encima de 500 µg/mL, alteran la proliferación y el metabolismo de los osteoblastos in vitro, teniendo un efecto citotóxico. Sin embargo, a bajas concentraciones, por debajo de 500 µg/mL, estimula el metabolismo de osteoblastos (141).

III. JUSTIFICACIÓN

Se ha descrito en la literatura que la obtención de tejido óseo mediante fresado biológico es el método que menor riesgo de contaminación presenta en comparación con otras técnicas. No obstante, existe un riesgo inherente de contaminación debido a las propiedades del medio bucal. Los agentes que contribuyan o ayuden a una reducción de la contaminación de las partículas óseas obtenidas mediante fresado biológico permitirían un aumento en las tasas de éxito de las técnicas de regeneración ósea.

Por otra parte, la utilización de un agente descontaminante en injertos óseos conlleva el riesgo de alterar la fisiología del osteoblasto, lo que puede comprometer la evolución del proceso de regeneración del tejido. Por tanto, se hace necesario encontrar un descontaminante ideal que además de reducir la carga bacteriana del injerto, no altere la fisiología del osteoblasto. Por ello el estudio *in vitro* nos ayudaran a conocer el efecto de los descontaminantes más comúnmente utilizados en la práctica clínica sobre las células responsables de la regeneración del tejido óseo, acercándonos de forma sencilla a lo que ocurre en el tejido vivo y por tanto podrá constituir una herramienta que nos permita seleccionar el descontaminante más eficaz, menos citotóxico y que menos afecta a la capacidad funcional de las células implicadas en la regeneración tisular.

IV. HIPÓTESIS

Los distintos agentes descontaminantes, como CHX, clindamicina y amoxicilina son capaces de reducir la carga bacteriana de los injertos óseos de origen intraoral obtenidos mediante fresado biológico sin afectar a la fisiología del osteoblasto (viabilidad celular y capacidad funcional).

V.OBJETIVOS

-Determinar la eficacia de dos antibióticos (amoxicilina y clindamicina) y un antiséptico (CHX) en la reducción de la contaminación bacteriana mediante el análisis microbiológico de partículas de hueso recogidas con la técnica del fresado biológico y tratadas posteriormente con dichos medios.

-Determinar el efecto *in vitro* de dos antibióticos (amoxicilina y clindamicina) y un antiséptico (CHX) sobre la fisiología del osteoblasto mediante el estudio del crecimiento y la diferenciación celular.

VI. METODOLOGÍA

6.1. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE DISTINTOS MEDIOS DE DESCONTAMINACIÓN EN LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA.

6.1.1. SELECCIÓN DEL PACIENTE.

Las muestras de hueso fueron recolectadas utilizando la técnica de fresado a baja velocidad 50 rpm sin irrigación descrita por Anitua y cols. (2007) (80), en pacientes que fueron sometidos a la colocación de implantes dentales en el quirófano del Máster de Cirugía Bucal e Implantología de la Universidad de Granada. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio, el cual siguió las directrices de la Declaración de Helsinki y la pertinente aprobación por el Comité de Ética de la Universidad de Granada (REF. 721). Los participantes fueron seleccionados al azar entre voluntarios que cumplieron con los criterios de elegibilidad del estudio. Los criterios de exclusión del estudio fueron: historia o presencia de enfermedad sistémica, estado inmunocomprometido, embarazo, evidencia clínica o radiológica de enfermedad oral activa, recepción de cualquier medicación que pudiera interferir con el procedimiento quirúrgico o la cicatrización postoperatoria de la herida o haber recibido antibióticos en el mes anterior a la participación en el estudio.

6.1.2. PROTOCOLO QUIRÚRGICO.

Inmediatamente antes de la cirugía, los pacientes se enjuagaron durante 2 minutos con 10 mL de enjuague oral con CHX al 0,12% (Perio-Aid, Dentaaid SL, Barcelona, España). Los sitios quirúrgicos se aislaron colocando gasas estériles en el vestíbulo bucal superior para evitar el flujo de saliva del conducto de Stenon y en la zona lingual del sitio quirúrgico, extendiéndose sublingualmente. Todos los procedimientos quirúrgicos fueron realizados

por el mismo cirujano bajo anestesia local utilizando articaína al 4% con adrenalina 1:100.000 (Ultracain, Normon SA, Madrid, España).

Todas las muestras se obtuvieron del lecho implantario usando fresado a baja velocidad sin irrigación. Cada una de las cuatro muestras obtenidas de cada paciente se dejaron caer, utilizando un instrumento estéril, en uno de los cuatro tubos estériles (Eppendorf Ibérica SLU, Madrid, España) que contenía una solución de 500 μ L de amoxicilina 400 μ g/mL, clindamicina 150 μ g/mL, CHX al 0,12%, o suero salino fisiológico (control), manteniéndose dentro durante un período de 1 min. Inmediatamente después, las soluciones en los tubos fueron remplazadas por 500 μ L de medio BHI (BHI, Becton Dickinson Co., Cockeysville, MD, E.E.U.U). Todos los tubos se pesaron con una balanza electrónica antes y después de la introducción de muestras de hueso para asegurar que siempre se obtenga una cantidad similar de hueso (aproximadamente 1 g). Las muestras se llevaron al laboratorio en 5-10 minutos para su procesamiento inmediato.

6.1.3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.

Una vez recibidas las muestras en el laboratorio, se añadió nuevamente BHI hasta 1 mL en cada tubo para la posterior realización de diluciones en serie. Las muestras se mezclaron en un agitador (vórtex) durante 30 segundos. Además de la suspensión inicial, se realizaron dos diluciones en serie (1/10) en BHI para su posterior siembra en placas de agar sangre humana Columbia (Becton Dickinson Co., Cockeysville, MD, E.E.U.U). De cada una de estas diluciones y de la suspensión inicial se sembraron 20 μ L en placas de agar sangre previamente dividida en tres partes iguales. Se sembraron ocho placas para cada paciente, es decir, dos para cada medio descontaminante, con el fin de incubar una en atmósfera rica en CO₂ y la otra en atmósfera anaeróbica a 37° C durante 48 h.

6.1.4. RECuento DE COLONIAS.

Al final del período de incubación, el número de unidades formadoras de colonias (UFC) en cada placa de agar sangre se determinó visualmente. El recuento de UFC en cada medio de agar se multiplicó por el factor de dilución de la muestra, obteniéndose el número total de UFC/mL con la siguiente fórmula:

Recuento UFC

$$\text{UFC / mL} = \frac{\text{Recuento UFC}}{\text{Factor de dilución (10-x) * Volumen de la muestra (mL)}}$$

6.1.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se utilizó el software SPSS 21.0 (IBM Inc., Chicago, IL, E.E.U.U) para el análisis de datos. Se realizó un análisis descriptivo para calcular el valor medio de las variables, el intervalo de confianza (IC) del 95%, el error estándar, la desviación estándar y el valor mediano, estimados por 1.000 re-muestreo Bootstrap con IC del 95%. La prueba de Anderson-Darling se aplicó para evaluar la normalidad de las distribuciones variables. La prueba de Kruskal-Wallis se utilizó para comparar los agentes 2 a 2. La igualdad de varianza entre las diferentes muestras se evaluó con la prueba de Levene. La prueba de Mann-Whitney se utilizó para comparaciones múltiples entre los agentes. El nivel de significación estadística fue de 0,05 en todas las pruebas.

6.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN DEL OSTEOLASTO.

6.2.1. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.

La obtención de las muestras se realizó siguiendo el procedimiento anteriormente descrito en el apartado 6.1.2.

6.2.2. AISLAMIENTO Y CULTIVO DE LOS OSTEÓBLASTOS.

Las muestras óseas se procesaron de forma independiente. Las secciones se lavaron a fondo cuatro veces en solución salina tamponada con fosfato (PBS) (pH 7,4) para retirar restos de médula ósea y periostio de los explantes de hueso. Posteriormente fueron sembrados en frascos de cultivo (Falcon Labware, Oxford, UK) y cultivados en Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Invitrogen Gibco Cell Culture Products, Carlsbad, CA, E.E.U.U) con 100 UI/mL de penicilina (Lab Roger SA, Barcelona, España), 50 mg/mL de gentamicina (Braun Medical SA, Jaén, España), 2.5 mg/mL de anfotericina B (Sigma, St. Louis, MO, E.E.U.U), glutamina 1% (Sigma, St. Louis, MO, E.E.U.U) y 2% de HEPES (Sigma, St. Louis, MO, E.E.U.U.), suplementado con suero bovino fetal (SBF, Gibco, Paisley, UK) al 20%. Los cultivos se mantuvieron a 37° C en una atmósfera humidificada de 95% de aire y 5% de CO₂. Los medios de cultivo fueron sustituidos dos veces por semana. Cuando las células alcanzaron la confluencia, a las 3 semanas de cultivo, se despegaron del frasco de cultivo con una solución de tripsina al 0,05% (Sigma, St. Louis, MO, E.E.U.U) y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) al 0,02% (Sigma, St. Louis, MO, E.E.U.U). Tras neutralizar esta solución con medio de cultivo con SBF al 20% se centrifugaron y se suspendieron de nuevo en medio de cultivo completo con SBF al 20%.

6.2.3. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE LA VIABILIDAD DEL OSTEÓBLASTO.

El estudio del efecto de los agentes descontaminantes sobre la viabilidad celular se realizó mediante la técnica espectrofotométrica del Bromuro de 3-(4,5- dimetiliazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT, Sigma Chem. Comp., St. Louis, Mo, E.E.U.U), un compuesto perteneciente a la familia de sales de tetrazolio, soluble en agua e incoloro. Al reducirse,

por la oxidación de la respiración celular, el MTT se convierte en un compuesto llamado formazan, que es de color violeta, insoluble en agua y soluble en un disolvente orgánico, como dimetilsulfóxido (DMSO) y que absorbe luz a 570 nm.

Las células se suspendieron en medio de cultivo con SBF al 20% (sin penicilina ni gentamicina, para no alterar los resultados con los antibióticos que vamos a utilizar) y se ajustaron a una concentración final de 1×10^4 células/mL. Se dispusieron en placas de 96 pocillos hasta alcanzar una confluencia del 80-90%. Posteriormente se retiró el medio de cultivo y se añadió 200 μ L por pocillo de cada una de las soluciones de los agentes descontaminantes (CHX al 0,12% y al 0,2%; clindamicina a dosis de 150 μ g/mL y amoxicilina a dosis de 400 μ g/mL, disueltos en medio de cultivo) y se incubó durante un minuto. Como grupo control se añadieron a los pocillos 200 μ L de medio de cultivo sin descontaminante. Pasado este tiempo se aspiró el sobrenadante y se lavaron las células 3 veces con PBS. Se añadieron a cada pocillo 100 μ L de medio DMEM sin rojo fenol que contiene 5 mg/ml de MTT, incubándose durante cuatro horas a 37° C en estufa de CO₂ al 5%. Tras la incubación, las células se lavaron con PBS y se les añadieron 100 μ L por pocillo de DMSO. Se dejó actuar durante 30 minutos y finalmente se midió mediante un espectrofotómetro (SUNRISE TM-Basic, TECAN, Männedorf, Switzerland), a una longitud de onda de 570 nm.

6.2.4. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS.

El efecto de los distintos agentes descontaminantes sobre la inducción de apoptosis/necrosis en osteoblastos humanos en cultivo se determinó mediante citometría de flujo previo marcaje con Anexina V e Ioduro de Propidio (IP) (ANNEXINVKIT, Immunostep, Salamanca, España). Para ello se preparó una suspensión celular de 1×10^4 células/ml, en medio DMEM suplementado con un 20% de SBF. Esta suspensión celular se dispuso en placas de cultivo de 6 pocillos, conteniendo cada uno de ellos un volumen de 5 ml y se incubaron durante 24 h en condiciones estándar de cultivo. Pasadas las 24 h de incubación, se retiró el medio y las células adheridas fueron tratadas. Para ello, se

añadieron por pocillo 5 mL de medio DMEM conteniendo los distintos agentes descontaminantes a la dosis establecida (CHX al 0,12% y al 0,2%; clindamicina a dosis de 150 µg/mL y amoxicilina a dosis de 400 µg/mL) durante 1 minuto a 37°C en estufa de CO₂. Transcurrido ese tiempo de tratamiento se obtuvieron distintas suspensiones celulares (una para cada dosis, más una sin tratamiento utilizada como control) siguiendo la siguiente metodología: se descartó el medio de cultivo de cada pocillo, se lavó con PBS y las células adheridas a la superficie de la placa de cultivo se despegaron mediante tratamiento con 2 mL por pocillo de una solución de tripsina (0.05%) y EDTA (0.02%) a 37 °C durante 10 minutos. A la suspensión celular obtenida se le añadió un volumen de 5ml de medio de cultivo al 10% de SBF y se centrifugó a 1200 rpm durante 10 minutos. El sedimento obtenido se suspendió en 500 µl de Buffer (Annexin V Binding Buffer, 1.0M HEPES/NaOH (pH 7.4), 1.4M NaCl, 25mM CaCl₂) que fue distribuido en volúmenes de 100 µL a los que se les añadió 5 µl de Annexina V-FITC y 5 µL de IP. Posteriormente fueron incubadas durante 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. Después del periodo de incubación se añadió 400 µL de Annexin-binding Buffer a cada tubo. A continuación, las muestras fueron analizadas por citometría de flujo (FASC Canton II, SE Becton Dickinson, Palo Alto, California, E.E.U.U). Los datos obtenidos fueron expresados como porcentaje de células en distintos cuadrantes:

Q1: porcentaje de células IP⁺ (células necróticas)

Q2: porcentaje de células Annexina V⁺ / IP⁺ (células en apoptosis tardía)

Q3: porcentaje de células Annexina V⁻ / IP⁻ (células vivas)

Q4: porcentaje de células Annexina V⁺ (células apoptóticas)

6.2.5. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE LA ACTIVIDAD FOSFATASA ALCALINA Y CAPACIDAD DE MINERALIZACIÓN DE LA MATRIZ.

- Actividad Fosfatasa Alcalina.

La ALP es una hidrolasa que se localiza en la membrana celular del osteoblasto. Esta enzima y su actividad se relacionan directamente con la mineralización de la matriz ósea; es un marcador de diferenciación del fenotipo osteoblástico y un indicador de formación y recambio óseo. La evidencia científica hasta la fecha permite establecer una relación directa entre la presencia de ALP y el normal desarrollo del tejido óseo en el cuerpo humano (142).

Para esta experiencia las células se suspendieron en medio de cultivo con SBF al 20% (sin penicilina ni gentamicina, para no alterar los resultados con los antibióticos que vamos a utilizar) y se ajustaron a una concentración final de 1×10^4 células/ml. Se dispusieron en placas de 96 pocillos hasta alcanzar una confluencia del 80-90%. Posteriormente se retiró el medio de cultivo y se añadió 200 μ L por pocillo de cada una de las soluciones de los agentes descontaminantes (CHX al 0,12% y al 0,2%; clindamicina a dosis de 150 μ g/mL y amoxicilina a dosis de 400 μ g/mL, disueltos en medio de cultivo) y se incubó durante un minuto. Como grupo control se añadió a algunos pocillos 200 μ L de medio de cultivo sin descontaminante. Pasado este tiempo se aspiró el sobrenadante y se lavó las células 3 veces con PBS.

Para el análisis de la ALP se utilizaron 50 μ L del extracto de células lisadas de cada muestra, que fueron dispensadas en placas de 96 pocillos, y se añadirán 50 μ L de sustrato (P-nitrofenol fosfato) (Sigma Co. Chem. Comp., St. Louis, Mo, E.E.U.U). Esta técnica mide la formación de un producto de color amarillo (4-Nitrofenol) como consecuencia de la acción catalítica de la ALP sobre el sustrato. Se incubaron durante 45 minutos a 37°C; posteriormente se añadió 50 μ L de NaOH 0.1M para parar la reacción. Finalmente se midió la absorbancia mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 405 nm.

Previamente se realizó una curva patrón con distintas concentraciones conocidas del producto (4-Nitrofenol), sobre la que extrapolar los datos de las muestras problema. Además, se determinó la concentración de proteínas que contienen las muestras lisadas, al objeto de expresar la actividad ALP en μ M/minuto/mg de proteínas. Dado que 1 μ M/minuto de producto equivale a 1 Unidad, la actividad ALP finalmente se expresó en UI/mg de proteínas.

- Capacidad de mineralización de la matriz.

La presencia de depósitos de calcio en la matriz celular se detectó mediante el método de Rojo de Alzarina S como lo describen Manzano-Moreno y cols. (2013) (78). Se sembraron osteoblastos humanos (5×10^4 células/mL/pocillo) en una placa de 24 pocillos y se cultivaron en medio osteogénico (DMEM suplementado con β -glicerofosfato a 5 mM y ácido ascórbico a 0,05 mM) con 400 μ g/mL de amoxicilina o 150 μ g/mL de clindamicina a 37 °C en una atmósfera humidificada de 95% de aire y 5% CO₂. El medio se reemplazó después de 4 días y después cada 3 días. La mineralización de la matriz de cada línea celular se midió a los 15 y 22 días de cultivo. Los pocillos se lavaron con cloruro de sodio a 150 mM, se fijaron en etanol frío al 70% durante 5 minutos y se enjuagaron tres veces con agua destilada. Seguidamente, los pocillos se incubaron durante 10 min con 1 mL de solución de Rojo de Alzarina S al 2% (u/v) tamponada a pH 4 con hidróxido de sodio, se enjuagaron cinco veces con agua destilada y finalmente se lavaron con PBS para reducir la tinción inespecífica. Las imágenes teñidas de los cultivos se capturaron utilizando una cámara digital. Los depósitos de calcio presentes en la matriz de colágeno extracelular se tiñeron de rojo, revelando nódulos de mineralización, que fueron disueltos durante 15 minutos con cloruro de cetilpiridinio al 10% (p/v) en fosfato de sodio a 10 mM (pH 7,0). A continuación, la tinción extraída se transfirió a una placa de 96 pocillos y se midió la absorbancia a 562 nm con un espectrofotómetro de placa/lector (Biotek ELx800).

6.2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos se expresaron como media \pm desviación estándar (SD) y se compararon usando el test de ANOVA. Un valor de $p < 0,05$ se consideró significativo en todas las pruebas. Se realizaron al menos cinco experimentos para cada cultivo. El software SPSS 21.0 (IBM Inc., Chicago, IL, E.E.U.U) fue utilizado para el análisis de datos.

VII. RESULTADOS

7.1 EFICACIA DE LOS DISTINTOS MEDIOS DE DESCONTAMINACIÓN EN LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA.

Todas las muestras mostraron un crecimiento bacteriano después de la incubación en atmósfera anaeróbica o rica en CO₂. Debido a que los valores de UFC/mL no se distribuyeron de manera homogénea dentro de cada grupo, se consideraron los valores medios.

La media de UFC anaeróbicas/mL en las muestras fue 85,87 UFC/mL (mediana = 5) para el grupo de control, 12,52 UFC/mL (mediana = 0) para el grupo de CHX, 60,03 UFC/mL (mediana = 1) para el grupo de amoxicilina y 5,16 UFC/mL (mediana = 1) para el grupo de clindamicina. Los valores medios correspondientes en condiciones ricas en CO₂ fueron 71,03 UFC/mL (mediana = 6) para el grupo de control, 13,31 UFC/mL (mediana = 0) para el grupo de CHX, 58,38 UFC/mL (mediana = 1) para la amoxicilina y 7,73 UFC/mL (mediana = 1) para el grupo de clindamicina. (Figura 2).

El número de UFC/mL en atmósferas anaeróbicas y ricas en CO₂ difirió significativamente entre: grupos de control y CHX ($p < 0,001$), grupos de control y amoxicilina ($p < 0,001$), grupos de control y clindamicina ($p < 0,001$), grupos de CHX y amoxicilina ($p < 0,0001$) y grupos de CHX y clindamicina ($p < 0,0001$). No se observaron diferencias significativas entre los grupos de amoxicilina y clindamicina en atmósfera anaeróbica ($p = 0,7$) o rica en CO₂ ($p = 0,79$). (Figura 3)

Figura 2. Valores medios (DE) y mediana de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro en cada grupo (condiciones anaeróbicas y ricas en CO₂) tras 48 horas de cultivo.

Grupo	N	Media(DE)	Mediana
Anaerobiosis			
Suero fisiológico	62	85,87 ± 379,25	5,00
Clorhexidina	62	12,52 ± 68,09	0,00
Amoxicilina	62	60,03 ± 380,98	1,00
Clindamicina	62	5,16 ± 9,12	1,00
CO₂			
Suero fisiológico	62	71,03 ± 290,25	6,00
Clorhexidina	62	13,31 ± 77,49	0,00
Amoxicilina	62	58,38 ± 381,17	1,00
Clindamicina	62	7,73 ± 1,86	1,00
Total			
Suero fisiológico	124	156,90 ± 666,16	11,5
Clorhexidina	124	25,82 ± 145,38	0
Amoxicilina	124	118,39 ± 762,07	2,5
Clindamicina	124	12,89 ± 22,42	1,5

Abreviación: SD, desviación estándar

Figura 3. Valores p de la prueba de Mann-Whitney comparando los diferentes grupos.

	Anaerobiosis	CO ₂	Total
Suero fisiológico vs Clorhexidina	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Suero fisiológico vs Amoxicilina	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Suero fisiológico vs Clindamicina	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Clorhexidina vs Amoxicilina	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Clorhexidina vs Clindamicina	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Amoxicilina vs Clindamicina	0,7	0,79	0,56

Figura 4. Test de Normalidad: Test de Anderson-Darling.

ANAEROBIOSIS	CO2
Test de Anderson- Darling	Test de Anderson- Darling
< 0,0001	< 0,0001

Figura 5. Comparaciones múltiples: Test de Kruskal - Wallis y de la Mediana.

ANAEROBIOSIS		CO2	
Test de Kruskal-Wallis	Test de la Mediana	Test de Kruskal-Wallis	Test de la Mediana
< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

7.2. EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN DEL OSTEÓBLASTO.

7.2.1. ENSAYO DE PROLIFERACIÓN CELULAR.

El tratamiento de los osteoblastos humanos con 0,12 y 0,2% de CHX durante 1 minuto produjo una reducción significativa dependiente de la dosis en la proliferación celular ($p < 0,001$) frente a los controles (células no tratadas). Sin embargo, la proliferación celular aumentó significativamente ($p = 0,006$) después del tratamiento con 150 $\mu\text{g/mL}$ de clindamicina, pero no cambió frente a los controles después del tratamiento con 400 $\mu\text{g/mL}$ de amoxicilina (Figura 6).

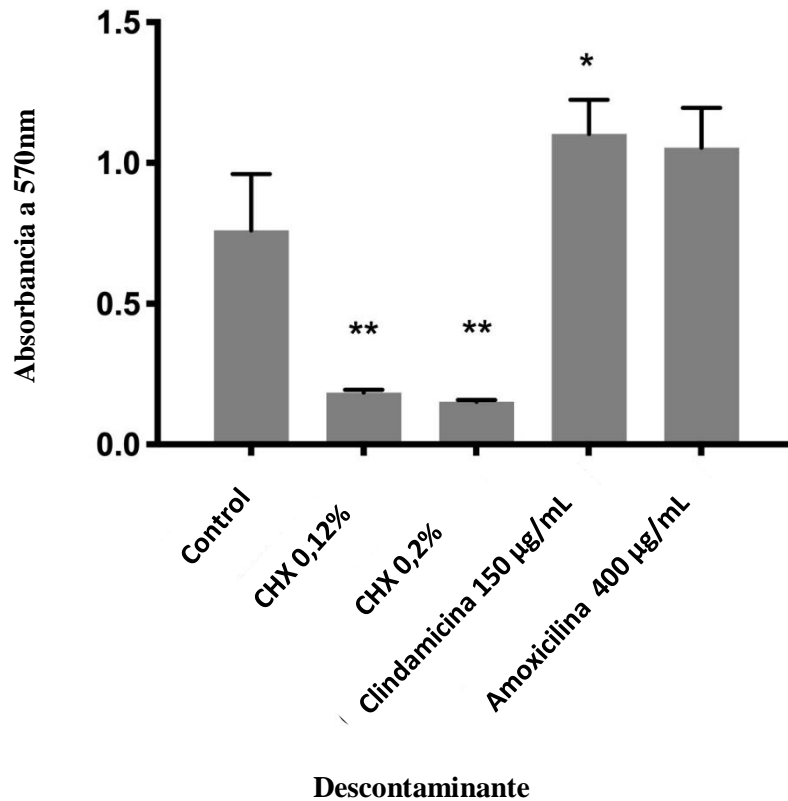


Figura 6. Efecto de diferentes agentes descontaminantes sobre la proliferación de los osteoblastos después de 1 minuto de cultivo versus controles (células no tratadas). Los datos se expresan como medias \pm DE. * $P = 0,006$; ** $P < 0,001$.

7.2.2. ANÁLISIS DE APOPTOSIS Y NECROSIS.

La observación de una disminución en la proliferación de osteoblastos después del tratamiento con CHX impulsó la investigación del efecto de este fármaco sobre el crecimiento de osteoblastos, tratando osteoblastos humanos cultivados con una dosis de 0,12 o 0,2% durante 1 min y midiendo el efecto sobre la inducción de apoptosis y/o necrosis. La Figura 7 muestra que este tratamiento tuvo un efecto citotóxico dependiente de la dosis, con un aumento significativo en el porcentaje de células apoptóticas frente a los controles ($p = 0,004$ y $<0,001$, respectivamente).

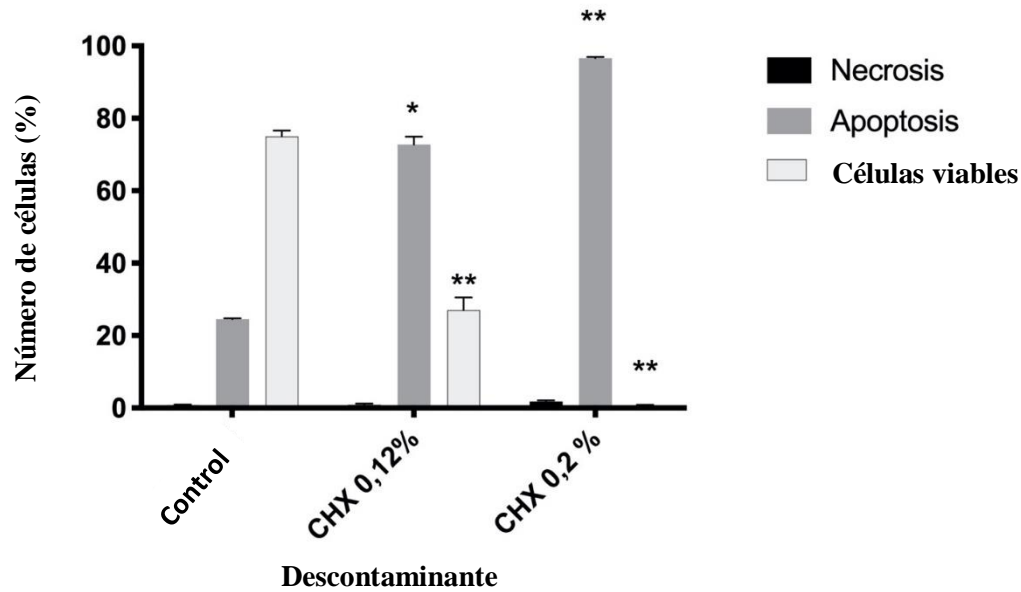


Figura 7. Porcentaje de unión de Anexina V y captación de Ioduro de Propidio (IP) de los osteoblastos después de 1 minuto de cultivo con 0,12 o 0,2% de CHX. Los datos se expresan como medias \pm DE. * $p = 0,005$; ** $p < 0,001$.

7.2.3. ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA (ALP).

El tratamiento de los osteoblastos con 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de clindamicina o 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de amoxicilina durante 24 h aumentó la expresión de este marcador de diferenciación frente a los controles (figura 8), aunque la diferencia solo fue estadísticamente significativa tras el tratamiento con clindamicina ($p = 0,002$).

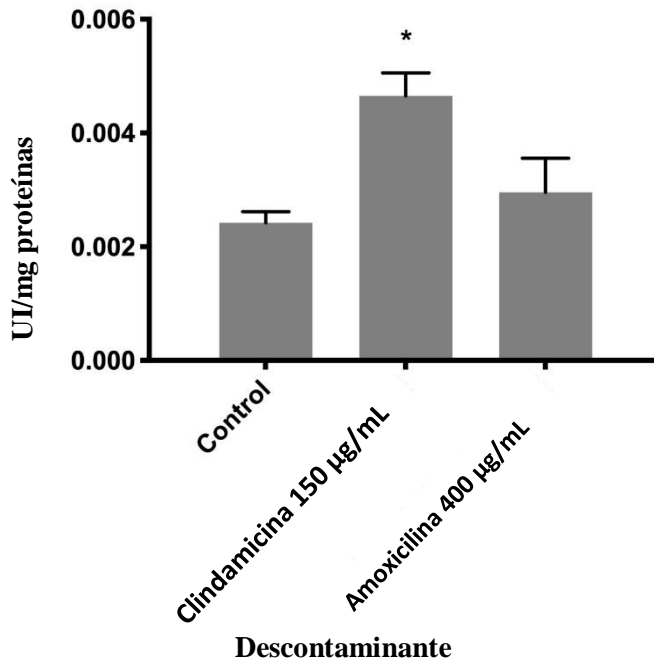


Figura 8. Actividad ALP de los osteoblastos después de 24 h de tratamiento con 150 µg/mL de clindamicina o 400 µg/mL amoxicilina en medio no osteogénico. Los datos se expresan como medias \pm DE. * $p = 0,002$.

7.2.4. FORMACIÓN DE NÓDULOS Y MINERALIZACIÓN DE LA MATRIZ.

La Figura 9 representa el efecto sobre la mineralización de los nódulos tras el tratamiento con clindamicina o amoxicilina a las dosis estudiadas. Los paneles A-C muestran que no se observaron nódulos visibles en los cultivos de osteoblastos en el medio de mineralización a los 15 días tras el tratamiento con los agentes descontaminantes, mientras que los paneles D-F muestran la presencia de nódulos a los 22 días de cultivo, observándose mayor número y tamaño de nódulos en los osteoblastos tratados con clindamicina. La Figura 10 muestra la cantidad de tinción con alizarina roja medida colorimétricamente a los 15 y 21 días de cultivo en medio osteogénico con 150 µg/mL de clindamicina o 400 µg/mL de amoxicilina. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de 400 µg/mL de amoxicilina y control (sin tratar) a los 15 o 21 días de cultivo, pero la deposición de calcio fue significativamente mayor ($p < 0,001$) en comparación con los controles en el grupo de 150 µg/mL de clindamicina a los 15 y 21 días.

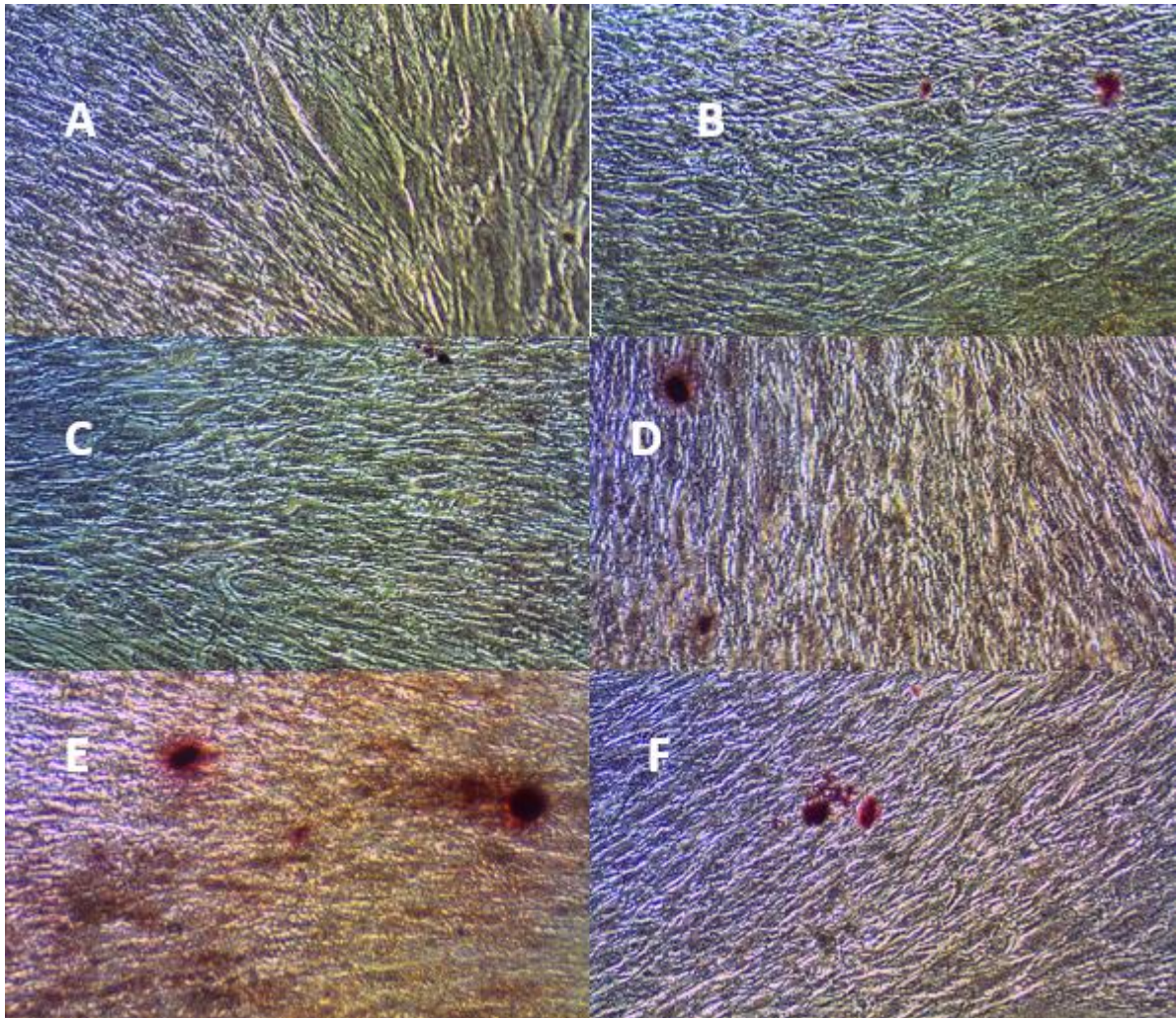


Figura 9. Imágenes teñidas de los cultivos capturadas con una cámara digital. Los paneles A-C (control, clindamicina y amoxicilina respectivamente) muestran que no se observaron nódulos visibles en ninguno de los pocillos tratados con medio de mineralización a los 15 días de cultivo. Los paneles D-F (control, clindamicina y amoxicilina respectivamente) muestran la presencia de nódulos a los 22 días de cultivo, observándose un mayor número y tamaño de nódulos en los osteoblastos tratados con clindamicina.

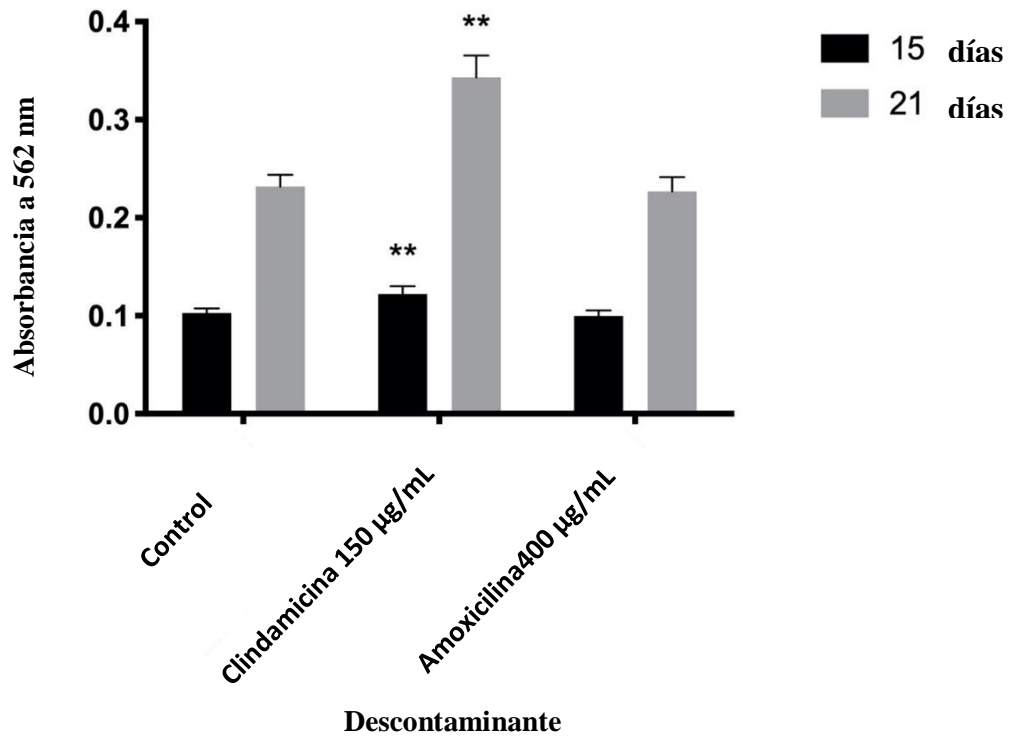


Figura 10. Estudio cuantitativo de la mineralización de osteoblastos humanos (formación de nódulos) en función de la duración del tratamiento tras el cultivo en medio osteogénico suplementado con 150 µg/mL de clindamicina o 400 µg/mL de amoxicilina. * $p < 0,001$.

VIII. DISCUSIÓN

La implantología actual requiere una gran exigencia técnica y precisa de procedimientos de regeneración ósea en muchas situaciones en las que la estética está comprometida. La evidencia científica nos muestra que la predictibilidad de este procedimiento y el mantenimiento a largo plazo de la estabilidad de los implantes están directamente relacionados con la calidad y la cantidad de tejido óseo disponible para su colocación (60).

Existen situaciones de pérdida ósea en el territorio bucal que ocasionan déficits estéticos y funcionales. La sustitución de este tejido óseo perdido se realiza con ayuda de injertos óseos de distinta naturaleza. Aunque los injertos óseos se utilizan para tratar grandes defectos, como los que se dan tras traumatismos, cirugías resectivas o malformaciones congénitas, también hay pérdidas óseas menores que ocasionan déficits estéticos o funcionales y que dificultan o condicionan nuestro tratamiento implantológico. Otras causas de pérdida de tejido óseo son la enfermedad periodontal y la reabsorción que se produce de forma fisiológica después de la pérdida dental. En todos estos casos el resultado es un déficit en la cantidad y en la calidad de hueso en el área en la que se requieren implantes (59,143,144).

La reabsorción alveolar que ocurre tras la pérdida dentaria se traduce en una disminución del hueso maxilar en anchura y altura. Las exigencias estéticas actuales recomiendan evitarla, sobre todo en zonas del maxilar anterior, utilizando técnicas de preservación alveolar, que reducen los cambios dimensionales óseos y permiten que la colocación de implantes se realice en condiciones óptimas. La preservación del hueso alveolar y la colocación de implantes inmediatos son unas de las situaciones en las que se necesita un material de relleno para evitar la pérdida de volumen, y se suma a las indicaciones antes referidas. La implantología no se limita ya a colocar fijaciones en sitios óseos disponibles, sino que busca colocarlas en la posición tridimensional más estética posible que garantice de antemano los resultados protésicos (145).

Conocemos distintos materiales que pueden funcionar como sustitutos o rellenos óseos. Entre ellos destacamos injertos autólogos, homólogos, heterólogos y materiales aloplásticos, que se han descrito ampliamente en la literatura y en la práctica clínica como válidos candidatos. Aunque todos muestran propiedades como la osteoconducción o capacidad para comportarse como patrón tridimensional que permita alojarse al coágulo y formar un entramado de células óseas, el mejor material sigue siendo el hueso autólogo,

que ha sido calificado como “gold estándar”, debido a que contiene BMPs, minerales y células óseas vitales (62).

Dependiendo del tipo de defecto a regenerar se pueden obtener injertos autólogos en forma de bloque o en forma de partículas. En la práctica clínica se utilizan los rascadores de hueso tipo “back-action”, los filtros de hueso y el fresado biológico para la obtención de partículas de hueso autólogo córtico-esponjosas. Estas son útiles para el relleno de pequeñas cavidades óseas, como elevaciones de seno, defectos periodontales, alveolos postextracción, aumento de la anchura de la cresta o relleno de los “gaps” en implantología inmediata. También se puede usar el hueso particulado para corregir defectos óseos pequeños tales como fenestraciones y dehiscencias producidas en la instalación de implantes osteointegrados, que necesitan un volumen de hueso relativamente pequeño, pudiéndose obtener una cantidad suficiente utilizando una técnica de hueso particulado obtenido de forma simultánea a la preparación del lecho implantológico. A este respecto, la obtención de hueso autógeno a partir del fresado para la instalación de implantes la morbilidad es nula, ya que eliminamos la necesidad de un segundo campo quirúrgico (146).

El hueso particulado obtenido mediante fresado biológico es el método que menor riesgo de contaminación presenta en comparación con otras técnicas. No obstante, existe un riesgo inherente de contaminación debido a las propiedades del medio bucal. Por lo tanto el uso de agentes descontaminantes que ayuden a una reducción de la contaminación de las partículas óseas obtenidas mediante fresado biológico va a permitir un aumento en las tasas de éxito de las técnicas de regeneración ósea, de igual modo se hace imprescindible que los agentes descontaminantes además de reducir la carga bacteriana del injerto, no alteren la fisiología del osteoblasto.

8.1. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE DISTINTOS MEDIOS DE DESCONTAMINACIÓN EN LA REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA.

Existen diferentes técnicas de recogida de partículas de hueso intraoral en zonas adyacentes al defecto a regenerar (fresado biológico, rascadores óseos tipo *back-action* y filtros de hueso). Estas técnicas proporcionan la ventaja de evitar la apertura de un segundo campo quirúrgico, con el consiguiente aumento de morbilidad. Como principal inconveniente se describe la contaminación bacteriana de las partículas óseas obtenidas (87,105) que puede causar complicaciones infecciosas en las técnicas de injerto (147).

En publicaciones anteriores de nuestro grupo de investigación se analizaron los diferentes sistemas de recogida de hueso particulado atendiendo a la viabilidad de las células en el tejido recogido (78) y a la colonización bacteriana inherente a cada procedimiento (86). En ambos estudios hemos concluido que el sistema de recogida mediante fresado biológico, que consiste en utilizar el hueso que se obtiene en las espirales de las fresas al labrar un lecho implantario a 50 r.p.m sin irrigación, muestra un nivel de contaminación bacteriana significativamente reducido comparando con los otros dos sistemas de recogida (86), y que los osteoblastos cultivados a partir de estas muestras de tejido presentan mayor capacidad proliferativa y diferenciadora que los procedentes de tejido recogido con los otros dos procedimientos (78). Aun así, la obtención de hueso particulado mediante fresado biológico, siguiendo un estricto protocolo de asepsia puede presentar colonización bacteriana (86).

En la literatura está bien descrito que una de las complicaciones más frecuentes y con más repercusión clínica en el resultado de los injertos óseos es la infección del injerto en el lecho. Las repercusiones clínicas, sociales y económicas por este motivo son enormes (148).

En Cirugía Bucal e Implantología también se describen fracasos de injertos por infección. Por ello resulta indispensable plantear un sistema de desinfección local, además del uso de la antibioterapia sistémica, que pueda reducir la carga bacteriana del material de autoinjerto que se traslada al lecho receptor en regeneración ósea y alrededor de los implantes, ya que esto nos llevaría a menores tasas de fracaso en estos procedimientos (102).

En la literatura existen estudios que proponen diversos métodos de descontaminación del tejido óseo para evitar la colonización bacteriana durante la recogida y el transporte al lecho receptor. A tal efecto se han ensayado diferentes antisépticos o antibióticos, pero ninguno se ha mostrado completamente efectivo (99,103). Entre estos antibióticos se han

descrito la cefazolina, el polvo de vancomicina, betalactámicos como la amoxicilina, y las lincosamidas como la clindamicina (96,97). En cuanto a los antisépticos el más frecuentemente utilizado en la literatura es la CHX (99–101).

Hemos elegido como descontaminantes para nuestro estudio dos antibióticos y un antiséptico, los tres ampliamente utilizados en nuestro medio odontológico. Por su espectro de acción, válido y específico para la flora bucal, la amoxicilina y la clindamicina se utilizan respectivamente como antibióticos de primera y de segunda elección (149). En cuanto a la CHX se ha mostrado su efectividad y actualmente se utiliza como antiséptico en las principales patologías infecciosas bucales, como la periodontitis (150). Además se utiliza como antiséptico en dermatología (151) y en traumatología (152,153). Estos hechos nos han llevado a seleccionar estos agentes como posibles descontaminantes en nuestro estudio sobre partículas de tejido óseo.

Una revisión de la literatura de Emre Tezulas y cols. (2008), concluye que existen distintos medios para descontaminar partículas óseas; antisépticos como la clorhexidina y antibióticos como la tetraciclina, rifamicina o clindamicina; aunque nos sugiere que se necesitan más estudios para identificar el desinfectante más efectivo de partículas óseas obtenidas a través de osteotomía (99).

En nuestro estudio todos los agentes descontaminantes utilizados se han mostrado efectivos para reducir significativamente la carga bacteriana de las partículas de hueso obtenidas mediante fresado biológico cuando los comparamos con el suero fisiológico (agente control). La clindamicina consigue un efecto descontaminante superior a los demás agentes descontaminantes utilizados, seguido de la CHX y amoxicilina. En esta misma línea Emre Tezulas y cols. (2009), concluyeron que la CHX y clindamicina utilizadas a concentraciones similares a las de nuestro estudio pero durante un tiempo de 3 min, eran eficaces para descontaminar partículas de hueso obtenidas en la preparación de lechos implantarios, aunque sugiere que sería recomendable la comparación de ambos agentes en futuros estudios. Estos autores no encuentran en su investigación diferencias entre el uso de uno u otro método para desinfectar los injertos óseos, al contrario que nosotros, lo que podría ser debido a la administración de antibióticos orales previos a la intervención en todos los pacientes, siendo esto un criterio de exclusión en nuestro estudio (154).

Otros estudios como la revisión bibliográfica de Pommer y cols. (2014), nos indica que la CHX requiere un tiempo mínimo de 15 segundos para tener un efecto descontaminante

en injertos óseos. De igual modo en nuestro estudio la CHX ha demostrado ser un método eficaz para la descontaminación de partículas óseas durante un tiempo de 1 minuto. En dicha revisión la clindamicina también ha demostrado una eficacia descontaminante, pero en este caso ligeramente inferior a la clorhexidina (100).

Etcheson y cols. (2007), compararon el efecto descontaminante de la CHX al 0,12% y la tetraciclina 50 µg/mL en partículas óseas obtenidas mediante fresado biológico usadas durante un minuto. Obteniendo con la tetraciclina una reducción considerable en las UFC en comparación con la CHX, pero, al igual que nosotros, no consiguieron una descontaminación total de las muestras. Al comparar estos resultados con nuestro estudio podemos observar que otra familia de antibióticos como las tetraciclinas también han obtenido un efecto descontaminante superior a la CHX (147).

En nuestro estudio hemos utilizado CHX al 0,12% durante 1 minuto, para obtener el mayor efecto descontaminante posible sin alterar la viabilidad celular del osteoblasto, de acuerdo a previos estudios (100,139,147,155,156). La literatura muestra, como limitación de la CHX la aparición de un efecto citotóxico en osteoblastos cultivados *in vitro* cuando se utiliza a concentraciones de 0,1% y tiempos de actuación prolongados (5-10 minutos) (155). Resultados similares son encontrados por T.-H. Lee y cols. (2010), mostrando que la CHX inhibe el crecimiento celular, proliferación y la síntesis de colágeno de osteoblastos a elevadas dosis (156). Sin embargo, algunos autores han comprobado la viabilidad de los osteoblastos usando la CHX a concentraciones de 0,12% durante 1 minuto (139), al igual que otros autores concluyen que la CHX conserva la viabilidad celular de los osteoblastos por encima de 30 segundos (100). Igualmente, los antibióticos han sido utilizados clásicamente para la descontaminación de aloinjertos óseos, en alveolos postextracción de terceros molares, o sobre fracturas óseas de forma eficaz sin alterar la osteogénesis (157). Estos agentes a altas concentraciones muestran inhibición de la actividad metabólica y proliferación de los osteoblastos (140). Sin embargo, aunque la clindamicina a altas dosis 500 µg/mL tiene un efecto citotóxico (141), a bajas dosis permite la viabilidad celular de osteoblastos (140), e incluso es capaz de estimular el metabolismo de dichas células (141). Por este motivo nuestra dosis de aplicación ha sido una dosis baja 150 µg/mL para intentar beneficiarnos del poder descontaminante de este agente sin alterar el metabolismo osteoblástico.

En este sentido, Rathbone y cols. (2011), mostraron que la amoxicilina a dosis superiores a 500 µg/ml produce una reducción moderada en el número de células osteoblásticas y

una disminución de la actividad fosfatasa alcalina en torno al 26- 49% con respecto al control. Solo a partir de dosis de 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se observa una reducción superior al 75% en el número de células osteoblásticas (158). Por este motivo la dosis utilizada en nuestro estudio ha sido 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ con el objetivo de mantener la viabilidad celular y la actividad metabólica además de permitirnos un efecto descontaminante adecuado.

Una limitación de este estudio es que solo se probó una dosis única de amoxicilina (400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y clindamicina (150 $\mu\text{g}/\text{mL}$), basado en estudios y experiencias previos, para aplicar la concentración máxima compatible con la viabilidad de las células del tejido óseo, es decir, una dosis no tóxica.

Una aplicación de 1 minuto de cada uno de los agentes descontaminantes considerados en nuestro estudio redujo significativamente el recuento de UFC en comparación con la aplicación de suero fisiológico. El efecto descontaminante más eficaz sobre partículas óseas obtenido por perforación a baja velocidad fue logrado con clindamicina, seguido de la clorhexidina y la amoxicilina. La aplicación rutinaria de este antibiótico para la descontaminación de injertos óseos intraorales es simple, efectiva y económica. La clorhexidina también se mostró eficaz, como se demuestra en nuestro estudio. Además, el hecho de que se administre de manera local en lugar de sistémica reduce la posibilidad de generar resistencias de bacterias.

8.2. ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS AGENTES DESCONTAMINANTES SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN DEL OSTEOLASTO.

Nuestro estudio comparó el efecto sobre los osteoblastos de tres descontaminantes ampliamente utilizados en implantología dental para evitar complicaciones infecciosas tras colocar un injerto óseo: CHX, amoxicilina y clindamicina. Los experimentos se llevaron a cabo utilizando hueso particulado extraído mediante fresado biológico (80). La recogida de hueso de zonas intraorales adyacentes al área receptora puede disminuir el grado de contaminación de los injertos, por su relativa facilidad de obtención, sin

embargo, como hemos descrito la contaminación bacteriana de esas partículas óseas obtenidas podría causar infecciones y complicaciones. Por ese motivo Olvera-Huertas y cols. (2021) han propuesto distintos descontaminantes para el tratamiento de estos injertos óseos previamente a su colocación. De acuerdo a previos estudios, la CHX, amoxicilina y clindamicina con el mismo tiempo de aplicación y dosis utilizadas que en nuestro estudio, se mostraron efectivos para reducir la contaminación bacteriana de injertos óseos intraorales recogidos mediante la técnica de fresado biológico, con diferencias significativas a favor de la clindamicina (159). En ese aspecto la desinfección de dichos injertos se hace fundamental, pero de igual importancia es que esas células óseas contenidas en ese injerto se mantengan viables, ya que nos dotan de unas propiedades que no las conseguimos con ningún otro tipo de injertos (158,159).

Por tanto, junto a un adecuado efecto descontaminante se requiere que el agente utilizado no comprometa la capacidad funcional del osteoblasto, célula clave para una adecuada evolución del proceso de integración del injerto. Nuestros resultados contribuyen a aclarar que la clindamicina es el agente de elección de los tres descontaminantes de uso común estudiados (CHX, amoxicilina y clindamicina) en base a su efecto sobre el osteoblasto. Nuestros resultados mostraron que la CHX presenta un efecto claramente nocivo, la amoxicilina no afecta a la capacidad funcional y que clindamicina no solo no muestra efectos adversos sino que presenta un efecto beneficioso sobre la capacidad funcional del osteoblasto.

Diferentes autores han estudiado el efecto de la CHX sobre la fisiología del osteoblasto, aunque existe controversia con respecto a las dosis y tiempos de utilización analizados (142,155). Los resultados de nuestro estudio han mostrado que el tratamiento de los osteoblastos con CHX al 0,12 % y 0,2% durante 1 minuto, posee un claro efecto adverso sobre el osteoblasto, al originar una inhibición significativa, del 82% y el 85% respectivamente, sobre la proliferación celular ($p < 0,001$) con respecto al grupo control. Además, el tratamiento de los osteoblastos con CHX al 0,12 % y 0,2% durante 1 minuto, mostró un efecto citotóxico dosis dependiente, el cual se tradujo en un aumento significativo del porcentaje de células apoptóticas (72,7%, $p=0.004$ y 93,6 %, $p < 0.001$ respectivamente). En este sentido, Pommer y cols. (2014), informaron que el tratamiento con CHX al 0.1% fue factible cuando se aplicó durante 15 segundos, pero las células óseas murieron después de 30 segundos de tiempo de contacto (100). Asimismo, Vörös y cols. (2014), observaron una disminución significativa de la viabilidad de osteoblastos

humanos en cultivo tras el tratamiento con CHX al 0,1% durante 1 minuto (155). Otros autores, mostraron que el tratamiento de osteoblastos con dosis de CHX al 0,02% durante 1 minuto produce una disminución significativa en el ratio de supervivencia de osteoblastos con respecto al control, y que dosis mayores al 0,02% inhiben el crecimiento, la proliferación y la síntesis de colágeno de las células osteoblásticas (142). En contraposición, otros autores describen la viabilidad de las células osteoblásticas después de aplicar CHX al 0.12% durante más de 30 segundos (100) o 1 minuto (139). Otros candidatos útiles para la descontaminación de injertos óseos son los antibióticos (159). Se sabe que antibióticos como la clindamicina es eficaz para descontaminar aloinjertos óseos, alvéolos tras la extracción del tercer molar y fracturas óseas (140) sin afectar la viabilidad, la actividad metabólica o la proliferación de los osteoblastos a bajas dosis (157), y que incluso pueden estimular su metabolismo. Por tanto, la clindamicina tiene un efecto citotóxico a dosis altas (500µg/mL), pero a bajas dosis los osteoblastos siguen siendo viables (141), incluso puede estimularse su metabolismo como se muestra en nuestro estudio. De acuerdo con los hallazgos antes mencionados, aplicamos una dosis baja de clindamicina, 150 µg/ mL, para beneficiarnos de su potencia descontaminante sin alterar el metabolismo de los osteoblastos. Los resultados de nuestro estudio, no muestran una afectación adversa sobre la fisiología del osteoblasto tras el tratamiento con 150 µg/mL de clindamicina, sino que, por el contrario, observamos un aumento en la proliferación celular, así como un aumento de la síntesis de fosfatasa alcalina, lo que explicaría a su vez el efecto favorable también observado de la clindamicina sobre la capacidad de mineralización de los mismos. En este sentido, Almazin y cols. (2009), observaron que el tratamiento de los osteoblastos con 0,5 mg/mL de doxiciclina durante 48 horas no redujo significativamente la viabilidad celular con respecto al control, sin embargo, si produjo un aumento de la actividad fosfatasa alcalina (137).

El tratamiento de los osteoblastos con 400 µg/mL de amoxicilina no tuvo ningún efecto sobre su proliferación o capacidad de diferenciación en comparación con las células no tratadas según nuestro estudio. Rathbone y cols. (2011), observaron que la amoxicilina a dosis mayores a 500 µg/mL disminuyó moderadamente el recuento de células osteoblásticas frente a los controles, reduciendo la actividad de la fosfatasa alcalina en un 26-49%, por otra parte el recuento se redujo en > 75% a dosis mayores o iguales a 2000 µg/mL (158). Ahora bien, recientemente Olvera-huertas y cols. (2021), describen que la utilización de amoxicilina a dosis de 400 µg/mL es efectiva en la descontaminación de

injertos óseos intraorales (159). Nuestros resultados muestran que el tratamiento de los osteoblastos con amoxicilina a la dosis de 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ no afecta a la proliferación ni a la capacidad de diferenciación de los mismos con respecto a las células no tratadas; lo cual supone una ventaja ya que se consigue un buen efecto descontaminante sin interferir en la capacidad funcional del osteoblasto.

Una limitación de nuestro estudio es que solo probamos una única dosis de amoxicilina (400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y clindamicina (150 $\mu\text{g}/\text{mL}$), aunque se seleccionaron como las dosis máximas conocidas con la viabilidad de las células del tejido óseo en base a estudios previos en la literatura, para aplicar la concentración máxima compatible con la viabilidad de células de tejido óseo, es decir, una dosis no tóxica y que tenga una capacidad de descontaminación efectiva (159).

La aplicación rutinaria de clindamicina para la descontaminación de injertos óseos intraorales es más efectiva que el uso de CHX o amoxicilina como se demostró anteriormente (159), la clindamicina a dosis bajas favorece el crecimiento y la diferenciación del osteoblasto por lo que podría constituir el descontaminante de elección para el tratamiento de los injertos óseos intraorales. Aun así son necesarios futuros estudios que valorasen cual podría ser la dosis máxima aplicable de cada agente descontaminante que no afecte a las propiedades de los osteoblastos, encontrando un equilibrio entre máxima descontaminación y máxima viabilidad de las células osteoblásticas; así como ratificar nuestros resultados obtenidos.

IX. CONCLUSIONES

1. La utilización de los diferentes medios de descontaminación durante 1 minuto produce una reducción significativa en el número de UFC con respecto al agente de control. La clindamicina muestra un mayor efecto descontaminante de partículas óseas obtenidas mediante fresado biológico seguido de la clorhexidina y la amoxicilina.

2. La clorhexidina muestra un efecto negativo sobre el crecimiento del osteoblasto, disminuyendo la proliferación mediante la inducción de la apoptosis/necrosis. Sin embargo la clindamicina, muestra un efecto positivo sobre la proliferación y diferenciación de esta célula. La amoxicilina no mostró ningún efecto sobre el crecimiento y diferenciación.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. McGee-Lawrence ME, Westendorf JJ. Histone deacetylases in skeletal development and bone mass maintenance. *Gene*. 2011;15;474(1–2):1–11.
2. Ksiezopolska-Orłowska K. Changes in bone mechanical strength in response to physical therapy. *Pol Arch Med Wewn*. 2010;120(9):368–73.
3. Hagel-Bradway S, Dziak R. Regulation of bone cell metabolism. *J Oral Pathol Med*. 1989; 18(6):344–51.
4. Aubin JE, Liu F, Malaval L, Gupta AK. Osteoblast and chondroblast differentiation. *Bone*. 1995;17(2 Suppl):77S–83S.
5. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1092:385–96.
6. Ducy P, Karsenty G. Genetic control of cell differentiation in the skeleton. *Curr Opin Cell Biol*. 1998;10(5):614–9.
7. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ*. 2003;67(8):932–49.
8. Jähn K, Bonewald LF. Chapter 1 - Bone Cell Biology: Osteoclasts, Osteoblasts, Osteocytes. In: Glorieux FH, Pettifor JM, Jüppner H, editors. *Pediatric Bone (Second Edition)*. San Diego: Academic Press; 2012. p. 1–8.
9. Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O’Fallon WM, Riggs BL. Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption, and bone loss at tissue and cellular levels. *J Bone Miner Res*. 1990;5(4):311–9.
10. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev*. 2000;21(2):115–37.
11. Buckwalter JA, Cooper RR. Bone structure and function. *Instr Course Lect*. 1987;36:27–48.
12. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors. *J Cell Biochem*. 2006 Dec 1;99(5):1233–9.
13. Becker WM, Kleinsmith LJ., Hardin J. and Bertoni GP. (2009). *The World of the Cell (17th edition)*. Pearson Education, Inc.
14. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010;11(4):219–27.
15. Caetano-Lopes J, Canhão H, Fonseca JE. Osteoblasts and bone formation. *Acta Reumatol Port*. 2007;32(2):103–10.
16. Tullberg-Reinert H, Jundt G. In situ measurement of collagen synthesis by human bone cells with a sirius red-based colorimetric microassay: effects of transforming growth factor beta2 and ascorbic acid 2-phosphate. *Histochem Cell Biol*. 1999;112(4):271–6.
17. Hlaing TT, Compston JE. Biochemical markers of bone turnover - uses and limitations. *Ann Clin Biochem*. 2014;51(2):189–202.

18. Walker LM, Preston MR, Magnay JL, Thomas PB, El Haj AJ. Nicotinic regulation of c-fos and osteopontin expression in human-derived osteoblast-like cells and human trabecular bone organ culture. *Bone*. 2001;28(6):603–8.
19. Reinholt FP, Hultenby K, Oldberg A, Heinegård D. Osteopontin--a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(12):4473–5.
20. Coulibaly MO, Sietsema DL, Burgers TA, Mason J, Williams BO, Jones CB. Recent advances in the use of serological bone formation markers to monitor callus development and fracture healing. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2010;20(2):105–27.
21. Li J, Zhang H, Yang C, Li Y, Dai Z. An overview of osteocalcin progress. *J Bone Miner Metab*. 2016;34(4):367–79.
22. Naves MA, Pereira RMR, Comodo AN, de Alvarenga ELFC, Caparbo VF, Teixeira VPC. Effect of dexamethasone on human osteoblasts in culture: involvement of β 1 integrin and integrin-linked kinase. *Cell Biol Int*. 2011;35(11):1147–51.
23. Dodds RA, Merry K, Littlewood A, Gowen M. Expression of mRNA for IL1 beta, IL6 and TGF beta 1 in developing human bone and cartilage. *J Histochem Cytochem*. 1994;42(6):733–44.
24. Lian JB, Stein GS. Concepts of osteoblast growth and differentiation: basis for modulation of bone cell development and tissue formation. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1992;3(3):269–305.
25. Stein GS, Lian JB, Stein JL, Van Wijnen AJ, Montecino M. Transcriptional control of osteoblast growth and differentiation. *Physiol Rev*. 1996;76(2):593–629.
26. García-Martínez O, Reyes-Botella C, Aguilera-Castillo O, Vallecillo-Capilla MF, Ruiz C. Antigenic profile of osteoblasts present in human bone tissue sections. *Biosci Rep*. 2006;26(1):39–43.
27. Reyes-Botella C, Montes MJ, Vallecillo-Capilla MF, Olivares EG, Ruiz C. Antigenic phenotype of cultured human osteoblast-like cells. *Cell Physiol Biochem*. 2002;12(5–6):359–64.
28. Reyes-Botella C, Montes MJ, Vallecillo-Capilla MF, Olivares EG, Ruiz C. Expression of molecules involved in antigen presentation and T cell activation (HLA-DR, CD80, CD86, CD44 and CD54) by cultured human osteoblasts. *J Periodontol*. 2000;71(4):614–7.
29. Hayer S, Steiner G, Görtz B, Reiter E, Tohidast-Akrad M, Amling M, et al. CD44 is a determinant of inflammatory bone loss. *J Exp Med*. 2005;201(6):903–14.
30. Ruiz C, Pérez E, Vallecillo-Capilla M, Reyes-Botella C. Phagocytosis and allogeneic T cell stimulation by cultured human osteoblast-like cells. *Cell Physiol Biochem*. 2003;13(5):309–14.
31. Reyes-Botella C, Montes MJ, Abadía-Molina AC, Vallecillo-Capilla MF, Ruiz C. CD10 expression in cultured human osteoblast-like cells. *Folia Biol (Praha)*. 1999;45(6):257–60.
32. Ruiz C, Pérez E, García-Martínez O, Díaz-Rodríguez L, Arroyo-Morales M, Reyes-Botella C. Expression of cytokines IL-4, IL-12, IL-15, IL-18, and IFN γ and modulation by different growth factors in cultured human osteoblast-like cells. *J Bone Miner Metab*. 2007;25(5):286–92.

33. Ducy P. Cbfa1: a molecular switch in osteoblast biology. *Dev Dyn.* 2000;219(4):461–71.
34. Karsenty G. Role of Cbfa1 in osteoblast differentiation and function. *Semin Cell Dev Biol.* 2000;11(5):343–6.
35. Ducy P, Starbuck M, Priemel M, Shen J, Pinero G, Geoffroy V, et al. A Cbfa1-dependent genetic pathway controls bone formation beyond embryonic development. *Genes Dev.* 1999;13(8):1025–36.
36. Stanley KT, VanDort C, Motyl C, Endres J, Fox DA. Immunocompetent properties of human osteoblasts: interactions with T lymphocytes. *J Bone Miner Res.* 2006;21(1):29–36.
37. Reyes-Botella C, Vallecillo-Capilla MF, Ruiz C. Effect of different growth factors on human cultured osteoblast-like cells. *Cell Physiol Biochem.* 2002;12(5–6):353–8.
38. Lohmann CH, Schwartz Z, Köster G, Jahn U, Buchhorn GH, MacDougall MJ, et al. Phagocytosis of wear debris by osteoblasts affects differentiation and local factor production in a manner dependent on particle composition. *Biomaterials.* 2000;21(6):551–61.
39. Heinemann DE, Lohmann C, Siggelkow H, Alves F, Engel I, Köster G. Human osteoblast-like cells phagocytose metal particles and express the macrophage marker CD68 in vitro. *J Bone Joint Surg Br.* 2000;82(2):283–9.
40. Florencio-Silva R, Sasso GR da S, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:4217-46.
41. Maridas DE, Rendina-Ruedy E, Le PT, Rosen CJ. Isolation, Culture, and Differentiation of Bone Marrow Stromal Cells and Osteoclast Progenitors from Mice. *J Vis Exp.* 2018;06:131.
42. Terajima M, Perdivara I, Sricholpech M, Deguchi Y, Pleshko N, Tomer KB, et al. Glycosylation and cross-linking in bone type I collagen. *J Biol Chem.* 2014;289(33):22636–47.
43. Alford AI, Kozloff KM, Hankenson KD. Extracellular matrix networks in bone remodeling. *Int J Biochem Cell Biol.* 2015;65:20–31.
44. Kassem M, Abdallah BM, Saeed H. Osteoblastic cells: differentiation and trans-differentiation. *Arch Biochem Biophys.* 2008;473(2):183–7.
45. Robey PG, Young MF, Fisher LW, McClain TD. Thrombospondin is an osteoblast-derived component of mineralized extracellular matrix. *J Cell Biol.* 1989;108(2):719–27.
46. Bi Y, Stuelten CH, Kilts T, Wadhwa S, Iozzo RV, Robey PG, et al. Extracellular matrix proteoglycans control the fate of bone marrow stromal cells. *J Biol Chem.* 2005;280(34):30481–9.
47. Rosset EM, Bradshaw AD. SPARC/osteonectin in mineralized tissue. *Matrix Biol.* 2016;52–54:78–87.
48. Foster BL, Ao M, Salmon CR, Chavez MB, Kolli TN, Tran AB, et al. Osteopontin regulates dentin and alveolar bone development and mineralization. *Bone.* 2018;107:196–207.

49. Andrew JG, Hoyland J, Freemont AJ, Marsh D. Insulinlike growth factor gene expression in human fracture callus. *Calcif Tissue Int.* 1993;53(2):97–102.
50. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anat Rec.* 1990;226(4):414–22.
51. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's law: the bone modeling problem. *Anat Rec.* 1990;226(4):403–13.
52. Hofbauer LC, Kühne CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2004;4(3):268–75.
53. Mundy GR, Boyce B, Hughes D, Wright K, Bonewald L, Dallas S, et al. The effects of cytokines and growth factors on osteoblastic cells. *Bone.* 1995;17(2):71–75.
54. Rodan GA. Control of bone formation and resorption: biological and clinical perspective. *J Cell Biochem Suppl.* 1998;30–31:55–61.
55. Papachroni KK, Karatzas DN, Papavassiliou KA, Basdra EK, Papavassiliou AG. Mechanotransduction in osteoblast regulation and bone disease. *Trends Mol Med.* 2009;15(5):208–16.
56. LaStayo PC, Winters KM, Hardy M. Fracture healing: bone healing, fracture management, and current concepts related to the hand. *J Hand Ther.* 2003;16(2):81–93.
57. Vallecillo Capilla, M. Cirugía Bucal. Editorial Universidad de Granada; 2014.
58. Mish C. Misch. Implantología contemporánea 2ª ed. Editorial Elsevier España; 2009.
59. Atwood DA. Reduction of residual ridges in the partially edentulous patient. *Dent Clin North Am.* 1973;17(4):747–54.
60. Aghaloo TL, Moy PK. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007;22:49–70.
61. Romero-Olid MDN, Vallecillo-Capilla M. A pilot study in the development of indices for predicting the clinical outcome of oral bone grafts. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(4):595–604.
62. Rogers GF, Greene AK. Autogenous bone graft: basic science and clinical implications. *J Craniofac Surg.* 2012;23(1):323–7.
63. Fillingham Y, Jacobs J. Bone grafts and their substitutes. *Bone Joint J.* 2016;98-B(1 A):6–9.
64. Bucholz RW. Nonallograft osteoconductive bone graft substitutes. *Clin Orthop Relat Res.* 2002;395:44–52.
65. Okamoto M, Murai J, Yoshikawa H, Tsumaki N. Bone morphogenetic proteins in bone stimulate osteoclasts and osteoblasts during bone development. *J Bone Miner Res.* 2006;21(7):1022–33.
66. Esteves JC, Marcantonio E, de Souza Faloni AP, Rocha FRG, Marcantonio RA, Wilk K, et al. Dynamics of bone healing after osteotomy with piezosurgery or conventional drilling

- histomorphometrical, immunohistochemical, and molecular analysis. *J Transl Med.* 2013;11:221.
67. Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontol* 2000;47:172–92.
 68. Sakkas A, Wilde F, Heufelder M, Winter K, Schramm A. Autogenous bone grafts in oral implantology-is it still a ‘gold standard’? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *Int J Implant Dent.* 2017;3(1):23.
 69. 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;104(1):139–47.
 70. Simsek SB, Keles GC, Baris S, Cetinkaya BO. Comparison of mesenchymal stem cells and autogenous cortical bone graft in the treatment of class II furcation defects in dogs. *Clin Oral Investig.* 2012;16(1):251–8.
 71. Vandeputte T, Bigorre M, Tramini P, Captier G. Comparison between combined cortical and cancellous bone graft and cancellous bone graft in alveolar cleft: Retrospective study of complications during the first six months post-surgery. *J Craniomaxillofac Surg.* 2020;48(1):38–42.
 72. Barone A, Ricci M, Mangano F, Covani U. Morbidity associated with iliac crest harvesting in the treatment of maxillary and mandibular atrophies: a 10-year analysis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(9):2298–304.
 73. Nkenke E, Weisbach V, Winckler E, Kessler P, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J, et al. Morbidity of harvesting of bone grafts from the iliac crest for preprosthetic augmentation procedures: a prospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33(2):157–63.
 74. Davies J, Hosseini M, Davies J. Histodynamics of Endosseous Wound Healing. *Bone Engineering.* 2000; 1-14.
 75. Khoury F, Hanser T. Mandibular bone block harvesting from the retromolar region: a 10-year prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015;30(3):688–97.
 76. Felice P, Marchetti C, Iezzi G, Piattelli A, Worthington H, Pellegrino G, et al. Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with interpositional bloc grafts: bone from the iliac crest vs. bovine anorganic bone. Clinical and histological results up to one year after loading from a randomized-controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(12):1386–93.
 77. Lumetti S, Galli C, Manfredi E, Consolo U, Marchetti C, Ghiacci G, et al. Correlation between density and resorption of fresh-frozen and autogenous bone grafts. *Biomed Res Int.* 2014;2014:508328.
 78. Manzano-Moreno FJ, Rodríguez-Martínez JB, Ramos-Torrecillas J, Vallecillo-Capilla MF, Ruiz C, García-Martínez O, et al. Proliferation and osteogenic differentiation of osteoblast-like cells obtained from two techniques for harvesting intraoral bone grafts. *Clin Oral Investig.* 2013;17(5):1349–56.
 79. Aludden HC, Mordenfeld A, Hallman M, Dahlin C, Jensen T. Lateral ridge augmentation with Bio-Oss alone or Bio-Oss mixed with particulate autogenous bone graft: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2017;46(8):1030–8.

80. Anitua E, Carda C, Andia I. A novel drilling procedure and subsequent bone autograft preparation: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007;22(1):138–45.
81. Omar NA, McKinley JC. Measurement of temperature induced in bone during drilling in minimally invasive foot surgery. *Foot (Edinb).* 2018;35:63–9.
82. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg.* 1993;165(6):728–37.
83. Matthews LS, Hirsch C. Temperatures measured in human cortical bone when drilling. *J Bone Joint Surg Am.* 1972;54(2):297–308.
84. Papadimitriou DEV, Schmidt EC, Caton JG, Romanos GE. Morphology of bone particles after harvesting with 4 different devices. *Implant Dent.* 2013;22(2):187–92.
85. Caubet J, Petzold C, Sáez-Torres C, Morey M, Iriarte JI, Sánchez J, et al. Sinus graft with safescraper: 5-year results. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(2):482–90.
86. Manzano-Moreno FJ, Herrera-Briones FJ, Linares-Recatala M, Ocaña-Peinado FM, Reyes-Botella C, Vallecillo-Capilla MF. Bacterial contamination levels of autogenous bone particles collected by 3 different techniques for harvesting intraoral bone grafts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015;73(3):424–9.
87. Kuttenger JJ, Hardt N, Rutz T, Pfyffer GE. [Bone collected with a bone collector during dental implant surgery]. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 2005;9(1):18–23.
88. Chiapasco M, Zaniboni M, Rimondini L. Autogenous onlay bone grafts vs. alveolar distraction osteogenesis for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a 2-4-year prospective study on humans. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(4):432–40.
89. Danesh-Sani SA, Tarnow D, Yip JK, Mojaver R. The influence of cortical bone perforation on guided bone regeneration in humans. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2017;46(2):261–6.
90. Verdugo F, D'Addona A, Pontón J. Clinical, tomographic, and histological assessment of periosteal guided bone regeneration with cortical perforations in advanced human critical size defects. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012;14(1):112–20.
91. Guiol J, Tulasne J-F. [Anterior mandibular bone grafts by sub-mental approach]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac Chir Orale.* 2015;116(2):86–91.
92. Dolanmaz D, Esen A, Yıldırım G, İnan Ö. The use of autogeneous mandibular bone block grafts for reconstruction of alveolar defects. *Ann Maxillofac Surg.* 2015;5(1):71–6.
93. Lekholm U, Zarb GA. In: Patient selection and preparation. *Tissue integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry.* Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T, editor. Chicago: Quintessence Publishing Company; 1985. p. 199–209.
94. Tolstunov L. Maxillary tuberosity block bone graft: innovative technique and case report. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(8):1723–9.
95. Nielsen HB, Starch-Jensen T. Lateral ridge augmentation in the posterior part of the mandible with an autogenous bone block graft harvested from the ascending mandibular ramus. A 10-year retrospective study. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2020;122(2):141-146.

96. Rubinstein E, Findler G, Amit P, Shaked I. Perioperative prophylactic cephazolin in spinal surgery. A double-blind placebo-controlled trial. *J Bone Joint Surg Br.* 1994;76(1):99–102.
97. Chiang H-Y, Herwaldt LA, Blevins AE, Cho E, Schweizer ML. Effectiveness of local vancomycin powder to decrease surgical site infections: a meta-analysis. *Spine J.* 2014;14(3):397–407.
98. Bakhsheshian J, Dahdaleh NS, Lam SK, Savage JW, Smith ZA. The use of vancomycin powder in modern spine surgery: systematic review and meta-analysis of the clinical evidence. *World Neurosurg.* 2015;83(5):816–23.
99. Tezulas E, Dilek OC. Decontamination of autogenous bone grafts collected from dental implant sites via osteotomy: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(5):679–84.
100. Pommer B, Georgopoulos A, Dvorak G, Ulm C. Decontamination of autogenous bone grafts: systematic literature review and evidence-based proposal of a protocol. *Quintessence Int.* 2014;45(2):145–50.
101. Sivolella S, Berengo M, Scarin M, Mella F, Martinelli F. Autogenous particulate bone collected with a piezo-electric surgical device and bone trap: a microbiological and histomorphometric study. *Arch Oral Biol.* 2006;51(10):883–91.
102. Verdugo F, Castillo A, Moragues MD, Pontón J. Bone microbial contamination influences autogenous grafting in sinus augmentation. *J Periodontol.* 2009;80(8):1355–64.
103. Young MP, Carter DH, Worthington H, Korachi M, Drucker DB. Microbial analysis of bone collected during implant surgery: a clinical and laboratory study. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(2):95–103.
104. Yaman F, Unlü G, Atilgan S, Celik Y, Ozekinci T, Yaldiz M. Microbiologic and histologic assessment of intentional bacterial contamination of bone grafts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(8):1490–4.
105. Takamoto M, Takechi M, Ohta K, Ninomiya Y, Ono S, Shigeishi H, et al. Risk of bacterial contamination of bone harvesting devices used for autogenous bone graft in implant surgery. *Head Face Med.* 2013;9:3.
106. Jaminet F, Delattre L, Delporte JP, Moes A. [Effect of temperature of sterilization and of pH on stability of chlorhexidine in solution]. *Pharm Acta Helv.* 1970;45(1):60–3.
107. Kucharski S, Partyka D, Ićkowiak R. [Effect of different storage conditions on the stability of aqueous solutions of chlorhexidine digluconate]. *Acta Pol Pharm.* 1981;38(5):613–5.
108. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol 2000.* 1999;15:55–62.
109. Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Chlorhexidine--pharmaco-biological activity and application. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(7):1321–6.
110. George J, Klika AK, Higuera CA. Use of Chlorhexidine Preparations in Total Joint Arthroplasty. *J Bone Jt Infect.* 2017;2(1):15–22.
111. Frisch NB, Kadri OM, Tenbrunsel T, Abdul-Hak A, Qatu M, Davis JJ. Intraoperative chlorhexidine irrigation to prevent infection in total hip and knee arthroplasty. *Arthroplast Today.* 2017;3(4):294–7.

112. Scheibler E, Garcia MCR, Medina da Silva R, Figueiredo MA, Salum FG, Cherubini K. Use of nystatin and chlorhexidine in oral medicine: Properties, indications and pitfalls with focus on geriatric patients. *Gerodontology*. 2017;34(3):291–8.
113. Rose MA, Garcez T, Savic S, Garvey LH. Chlorhexidine allergy in the perioperative setting: a narrative review. *Br J Anaesth*. 2019;123(1):95–103.
114. Green K, Livingston V, Bowman K, Hull DS. Chlorhexidine effects on corneal epithelium and endothelium. *Arch Ophthalmol*. 1980;98(7):1273–8.
115. Santos GOD, Milanesi FC, Greggianin BF, Fernandes MI, Oppermann RV, Weidlich P. Chlorhexidine with or without alcohol against biofilm formation: efficacy, adverse events and taste preference. *Braz Oral Res*. 2017;31:32.
116. de Marco BA, Natori JSH, Fanelli S, Tótolí EG, Salgado HRN. Characteristics, Properties and Analytical Methods of Amoxicillin: A Review with Green Approach. *Crit Rev Anal Chem*. 2017;47(3):267–77.
117. Huttner A, Bielicki J, Clements MN, Frimodt-Møller N, Muller AE, Paccaud J-P, et al. Oral amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid: properties, indications and usage. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(7):871–9.
118. Bruyère F, Dihn A, Sotto A. [Interest of amoxicillin-clavulanic acid combination in urology: An update]. *Prog Urol*. 2016;26(8):437–41.
119. Yip DW, Gerriets V. Penicillin. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
120. Soutric J, Bantar C, Caruso N, Heguilén R, Casellas JM, Casellas JM, et al. Review of pharmacokinetic, pharmacodynamic and clinical studies with a modern combination of amoxicillin/sulbactam. *Chemotherapy*. 2006;52(4):200–4.
121. Todd PA, Benfield P. Amoxicillin/clavulanic acid. An update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*. 1990;39(2):264–307.
122. Klainer AS. Clindamycin. *Med Clin North Am*. 1987;71(6):1169–75.
123. Brook I, Lewis MAO, Sándor GKB, Jeffcoat M, Samaranayake LP, Vera Rojas J. Clindamycin in dentistry: more than just effective prophylaxis for endocarditis? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;100(5):550–8.
124. Gemmell CG, Amir MKA. Effect of certain antibiotics on the formation of cellular antigens and extracellular products by group A streptococci. Parker MT, editor. *Pathogenic streptococci*. Chertsey (U.K.): Reed Books; 1979. p. 67-8.
125. Addy LD, Martin MV. Clindamycin and dentistry. *Br Dent J*. 2005;199(1):23–6.
126. Kader AA, Kumar A, Krishna A. Induction of clindamycin resistance in erythromycin-resistant, clindamycin susceptible and methicillin-resistant clinical Staphylococcal isolates. *Saudi Med J*. 2005;26(12):1914–7.
127. Del Rosso JQ, Schmidt NF. A review of the anti-inflammatory properties of clindamycin in the treatment of acne vulgaris. *Cutis*. 2010;85(1):15–24.
128. Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A, Labora A, Ardanza-Trevijano B, Solinís MA, et al. [Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of antibiotic therapy in dentistry and stomatology]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23(3):116–21.

129. Bookstaver PB, Bland CM, Griffin B, Stover KR, Eiland LS, McLaughlin M. A Review of Antibiotic Use in Pregnancy. *Pharmacotherapy*. 2015;35(11):1052–62.
130. Wynalda MA, Hutzler JM, Koets MD, Podoll T, Wienkers LC. In vitro metabolism of clindamycin in human liver and intestinal microsomes. *Drug Metab Dispos*. 2003;31(7):878–87.
131. Watson MK, Papich MG, Chinnadurai SK. Pharmacokinetics of intravenous clindamycin phosphate in captive Bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*). *J Vet Pharmacol Ther*. 2017;40(6):682–6.
132. Smieja M. Current indications for the use of clindamycin: A critical review. *Can J Infect Dis*. 1998;9(1):22–8.
133. Brook I, Lewis MAO, Sándor GKB, Jeffcoat M, Samaranayake LP, Vera Rojas J. Clindamycin in dentistry: more than just effective prophylaxis for endocarditis? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;100(5):550–8.
134. Riley TV, Golledge CL. Clindamycin and pseudomembranous colitis. *Lancet*. 1995;346(8975):639.
135. Hernandez EP, Botero TM, Mantellini MG, McDonald NJ, Nör JE. Effect of ProRoot MTA mixed with chlorhexidine on apoptosis and cell cycle of fibroblasts and macrophages in vitro. *Int Endod J*. 2005;38(2):137–43.
136. Mariotti AJ, Rumpf DA. Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *J Periodontol*. 1999;70(12):1443–8.
137. Almazin SM, Dziak R, Andreana S, Ciancio SG. The effect of doxycycline hyclate, chlorhexidine gluconate, and minocycline hydrochloride on osteoblastic proliferation and differentiation in vitro. *J Periodontol*. 2009;80(6):999–1005.
138. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol In Vitro*. 2008;22(2):308–17.
139. Verdugo F, Sáez-Rosón A, Uribarri A, Martínez-Conde R, Cabezas-Olcoz J, Moragues MD, et al. Bone microbial decontamination agents in osseous grafting: an in vitro study with fresh human explants. *J Periodontol*. 2011;82(6):863–71.
140. Duetzelhenke N, Krut O, Eysel P. Influence on mitochondria and cytotoxicity of different antibiotics administered in high concentrations on primary human osteoblasts and cell lines. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(1):54–63.
141. Naal FD, Salzmann GM, von Knoch F, Tuebel J, Diehl P, Gradinger R, et al. The effects of clindamycin on human osteoblasts in vitro. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2008;128(3):317–23.
142. Liu JX, Werner J, Kirsch T, Zuckerman JD, Virk MS. Cytotoxicity evaluation of chlorhexidine gluconate on human fibroblasts, myoblasts, and osteoblasts. *J Bone Jt Infect*. 2018;3(4):165–72.
143. Truhlar RS, Orenstein IH, Morris HF, Ochi S. Distribution of bone quality in patients receiving endosseous dental implants. *J Oral Maxillofac Surg*. 1997;55(12):38–45.

144. Cawood JI, Howell RA. A classification of the edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988;17(4):232–6.
145. Chen ST, Darby I. Alveolar ridge preservation and early implant placement at maxillary central incisor sites: A prospective case series study. *Clin Oral Implants Res.* 2020;31(9):803–13.
146. Pape HC, Evans A, Kobbe P. Autologous bone graft: properties and techniques. *J Orthop Trauma.* 2010;24(1):36-40.
147. Etcheson AW, Miley DD, Gillespie MJ. Osseous coagulum collected in bone traps: potential for bacterial contamination and methods for decontamination. *J Oral Implantol.* 2007;33(3):109–15.
148. Nisyrios T, Karygianni L, Fretwurst T, Nelson K, Hellwig E, Schmelzeisen R, et al. High Potential of Bacterial Adhesion on Block Bone Graft Materials. *Materials (Basel).* 2020;13(9):2102.
149. Suda KJ, Henschel H, Patel U, Fitzpatrick MA, Evans CT. Use of Antibiotic Prophylaxis for Tooth Extractions, Dental Implants, and Periodontal Surgical Procedures. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5(1):250.
150. Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol.* 2012;61(9):399–419.
151. Abdel-Sayed P, Tornay D, Hirt-Burri N, de Buys Roessingh A, Raffoul W, Applegate LA. Implications of chlorhexidine use in burn units for wound healing. *Burns.* 2020;46(5):1150–6.
152. Iannotti F, Prati P, Fidanza A, Iorio R, Ferretti A, Pèrez Prieto D, et al. Prevention of Periprosthetic Joint Infection (PJI): A Clinical Practice Protocol in High-Risk Patients. *Trop Med Infect Dis.* 2020;5(4):186.
153. Frisch NB, Kadri OM, Tenbrunsel T, Abdul-Hak A, Qatu M, Davis JJ. Intraoperative chlorhexidine irrigation to prevent infection in total hip and knee arthroplasty. *Arthroplast Today.* 2017;3(4):294–7.
154. Tezulas E, Dilek OC, Topcuoglu N, Kulekci G. Decontamination of autogenous bone grafts collected during dental implant site preparation: a pilot study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(5):656–60.
155. Vörös P, Dobrindt O, Perka C, Windisch C, Matziolis G, Röhner E. Human osteoblast damage after antiseptic treatment. *Int Orthop.* 2014;38(1):177–82.
156. Lee T-H, Hu C-C, Lee S-S, Chou M-Y, Chang Y-C. Cytotoxicity of chlorhexidine on human osteoblastic cells is related to intracellular glutathione levels. *Int Endod J.* 2010;43(5):430–5.
157. Petri WH, Schaberg SJ. The effects of antibiotic-supplemented bone allografts on contaminated, partially avulsive fractures of the canine ulna. *J Oral Maxillofac Surg.* 1984;42(11):699–704.
158. Rathbone CR, Cross JD, Brown KV, Murray CK, Wenke JC. Effect of various concentrations of antibiotics on osteogenic cell viability and activity. *J Orthop Res.* 2011;29(7):1070–4.

159. Olvera-Huertas AJ, Linares-Recatalá M, Herrera-Briones FJ, Vallecillo-Capilla MF, Manzano-Moreno FJ, Reyes-Botella C. Microbiological analysis of autologous bone particles obtained by low-speed drilling and treated with different decontamination agents. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2021;50(1):104-108.

***XI. CURRICULUM
VITAE***

FORMACIÓN ACADÉMICA REGLADA

LICENCIATURA/INGENIERIA: LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

CENTRO: FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE GRANADA

FECHA: 2006-2011

MASTER: MASTER CLÍNICA ODONTOLÓGICA INTEGRAL AVANZADA

CENTRO: FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE GRANADA

FECHA: 2011-2013

MASTER: MASTER UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN EN ODONTOLOGÍA

CENTRO: FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE GRANADA

FECHA: 2013-2014

MASTER: MASTER UNIVERSITARIO EN CIRUGÍA BUCAL E IMPLANTOLOGÍA

CENTRO: FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE GRANADA

FECHA: 2014-2017

FORMACIÓN ACADÉMICA NO REGLADA

CURSO: Implantología terapéutica básica y avanzada Mozograu.

CENTRO: Ilustre Colegio Oficial de Dentistas de Jaén.

DURACIÓN: 4 horas

CERTIFICADO/DIPLOMA/TÍTULO: Certificado de asistencia

FECHA: Abril-2012

CURSO: Estancia formativa en implantología.

CENTRO: Bego Implant Systems. Bremen. Alemania.

DURACIÓN: 12 horas

CERTIFICADO/DIPLOMA/TÍTULO: Certificado de asistencia

FECHA: Junio 2013

CURSO: Como evitar complicaciones en implantología y periodoncia.

CENTRO: Ilustre Colegio Oficial de Dentistas de Jaén.

DURACIÓN: 5 horas

CERTIFICADO/DIPLOMA/TÍTULO: Certificado de asistencia

FECHA: Junio 2013

CURSO: IV Programa de formación postgraduada en ortodoncia clínica.

CENTRO: Clínica dental Dr. Rafael Muñoz Morente.

DURACIÓN: 600 horas

CERTIFICADO/DIPLOMA/TÍTULO: Diploma de asistencia

FECHA: Septiembre 2013 – Septiembre 2015

CURSO: Dental color matcher.

CENTRO: Society for color and appearance in dentistry.

DURACIÓN: 5 horas

CERTIFICADO/DIPLOMA/TÍTULO: Certificado de asistencia

FECHA: Junio 2014

CURSO: Formación postgraduada en oclusión y rehabilitación.

CENTRO: The Dawson Academy España.

DURACIÓN: 100 horas

CERTIFICADO/DIPLOMA/TÍTULO: Certificado de asistencia

FECHA: Junio 2017 – Mayo 2018

OTRAS BECAS/AYUDAS DISFRUTADAS

INSTITUCIÓN: BECA PROPIA UNIVERSIDAD GRANADA PARA ESTUDIOS EN LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA (MÉXICO).

FECHA: AGOSTO 2010 –SEPTIEMBRE 2010

INSTITUCIÓN: BECA ERUASMUS, CHARLES UNIVERSITY OF PRAGUE.

FECHA: FEBRERO 2011 – JUNIO 2011

INSTITUCIÓN: BECA DE INMERSIÓN EN LENGUA Y CULTURA INGLESA POR EL MINISTERIO DE EDUCACIÓN, CULTURA Y DEPORTE. ATLANTIC LANGUAGE (GALWAY).

FECHA: AGOSTO 2010

IDIOMAS (Indicar el nivel. Excelente, Bueno, Básico)

IDIOMA: INGLÉS

LECTURA: BUENO, NIVEL B1

ESCRITURA: BUENO, NIVEL B1

EXPRESIÓN ORAL: BUENO, NIVEL B1

PUBLICACIONES EN REVISTAS

AUTORES (p.o. de firma): Olvera-Huertas AJ, Manzano-Moreno FJ.

TÍTULO: MANEJO DEL COLGAJO VESTIBULAR MEDIANTE “TÉCNICA DE BOLSILLO PERIÓSTICO” EN REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA.

NOMBRE DE LA REVISTA: Revista odontológica granadina

Volumen: 18

Páginas (inicial y final): 10-14

Editorial:

País de publicación: España

Año de publicación: 2017

ISSN: 1576-4966

AUTORES (p.o. de firma): **Olvera-Huertas AJ**, Muñoz-Soto E, Olmedo-Gaya MV.

TÍTULO: REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA COMO TRATAMIENTO REPARADOR DE LA PERIIMPLANTITIS.

NOMBRE DE LA REVISTA: Geistlich news

Volumen:-

Páginas (inicial y final): suplemento 2017

Editorial:-

País de publicación: España

Año de publicación: 2017

ISSN: 6000-2158

AUTORES (p.o. de firma): **Olvera-Huertas AJ**, Linares-Recatalá M, Herrera-Briones FJ, Vallecillo-Capilla MF, Manzano-Moreno FJ, Reyes-Botella C.

TÍTULO: MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF AUTOLOGOUS BONE PARTICLES OBTAINED BY LOW-SPEED DRILLING AND TREATED WITH DIFFERENT DECONTAMINATION AGENTS.

NOMBRE DE LA REVISTA: International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery

Volumen: 50

Páginas (inicial y final): 104-108

Editorial: ELSEVIER

País de publicación: England

Año de publicación: 2021

DOI/ISSN: 10.1016/j.ijom.2020.04.019 / 1399-0020 0901-5027

**ASISTENCIAS/CONTRIBUCIONES A CONGRESOS (Comunicaciones, Actas,
Publicaciones...)**

Título de la aportación: ATROFIAS MAXILARES: UN RETO PARA LA TERAPÉUTICA. A PROPÓSITO DE UN CASO CLÍNICO.

Nombre del congreso: Ier Congreso Nacional de la Sociedad Científica de Odontología Implantológica – SCOI.

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2011

Lugar: Granada, España

Autores: Trigueros J; **Olvera-Huertas AJ**; Muñoz JL; Ruiz Fernández RM; Carrillo Badillo AM; Galindo-Moreno P.

Título de la aportación: COSTE DE TRATAMIENTO ODONTOLÓGICO Y NECESIDADES PROTÉSICAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE DISCAPACIDAD EN PACIENTES INSTITUCIONALIZADOS DISMINUIDOS PSÍQUICOS.

Nombre del congreso: 42 Reunión Anual Sociedad Española de Prótesis Estomatológica - SEPES

Tipo de evento: Poster en Congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2012

Lugar: Granada, España

Autores: Ruiz Fernández, Rosa María; **Olvera-Huertas AJ**; Valenzuela Serrano, Sara; García Aragón, María América.

Título de la aportación: CARGA FUNCIONAL CONVENCIONAL VS CARGA INMEDIATA PARA SOBREDENTADURAS.

Nombre del congreso: 42 Reunión Anual Sociedad Española de Prótesis Estomatológica - SEPES

Tipo de evento: Poster en Congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2012

Lugar: Granada, España

Autores: Guerrero Jimenez, Francisco; Romero Sánchez, Marcos; **Olvera-Huertas AJ**.

Título de la aportación: NANOGELES CARGADOS CON DEXAMETASONA FOSFATO SÓDICO.

Nombre del congreso: 45 Reunión Anual Sociedad Española de Prótesis Estomatológica - SEPES

Tipo de evento: Poster en Congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2015

Lugar: Sevilla, España

Autores: **Olvera-Huertas AJ**; Rosales Leal JI.

Título de la aportación: REHABILITACIÓN DE MAXILARES ATRÓFICOS CON IMPLANTES CIGOMÁTICOS Y TÉCNICA ALL-ON-FOUR. A PROPÓSITO DE UN CASO.

Nombre del congreso: XIII Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2015

Lugar: Bilbao, España

Autores: **Olvera-Huertas AJ**; Liébana-Hermoso, Sara; Mendoza-Arnau, Amparo; Prados-Sánchez, Estrella; Torres-González, Isabel; Herrera Briones, Francisco Javier; Muelas-Jiménez, María Isabel.

Título de la aportación: ESTUDIO DE LA EFECTIVIDAD DE DIFERENTES MEDIOS DE DESCONTAMINACIÓN PARA REDUCIR LA CARGA BACTERIANA DE PARTÍCULAS DE HUESO AUTÓLOGO OBTENIDAS MEDIANTE FRESADO BIOLÓGICO.

Nombre del congreso: XIII Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2015

Lugar: Bilbao, España

Autores: Linares Recatalá, Macarena; **Olvera-Huertas AJ**; Manzano Moreno, Francisco Javier; Herrera Briones, Francisco Javier; Vallecillo Capilla, Manuel Francisco; Reyes Botella, Candelaria.

Título de la aportación: DISOSTOSIS CLEIDOCRANEAL. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO-PROSTODÓNCICO. REPORTE DE UN CASO.

Nombre del congreso: 46 Reunión Anual Sociedad Española de Prótesis Estomatológica - SEPES

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2016

Lugar: Bilbao, España

Autores: Olvera-Huertas AJ; Peyrallo Martín, Fernando; Martín de las Heras, Ana; Peyrallo Pérez, Fernando.

Título de la aportación: INFLUENCIA DEL PH SOBRE LA INDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN OSTEOCLASTOS TRATADOS CON ALENDRONATO.

Nombre del congreso: XIV Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Comunicación en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2016

Lugar: Málaga, España

Autores: Manzano-Moreno, Francisco Javier; Ramos, Javier; Olvera-Huertas AJ; Reyes-Botella, Candelaria; García, Olga; Ruiz, Concepción.

Título de la aportación: EFECTIVIDAD DE TRES MÉTODOS DE DESCONTAMINACIÓN PARA REDUCIR LA CARGA BACTERIANA DE PARTÍCULAS DE HUESO AUTÓLOGO OBTENIDAS MEDIANTE FRESADO BIOLÓGICO.

Nombre del congreso: XIV Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Comunicación en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2016

Lugar: Málaga, España

Autores: Olvera-Huertas AJ; Linares-Recatalá, Macarena; Manzano-Moreno, Francisco Javier; Herrera-Briones, Francisco Javier; Yael Carrazco, Pablo; Reyes-Botella, Candelaria.

Título de la aportación: MANEJO DEL COLGAJO VESTIBULAR MEDIANTE “TÉCNICA DE BOLSILLO PERIÓSTICO” EN REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA. A PROPÓSITO DE 3 CASOS.

Nombre del congreso: 51 Congreso de la Sociedad Española de Periodoncia y Osteointegración

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2017

Lugar: Málaga, España

Autores: Olvera-Huertas AJ; Manzano moreno, Francisco Javier; Ruiz Sáez, Antonio Jesús; Vallecillo Rivas, Cristina; García Vázquez, Marta; Vallecillo-Capilla, Manuel Francisco

Título de la aportación: EFECTIVIDAD DE TRES MÉTODOS DE DESCONTAMINACIÓN PARA REDUCIR LA CARGA BACTERIANA DE PARTÍCULAS DE HUESO AUTÓLOGO OBTENIDAS MEDIANTE FRESADO

BIOLÓGICO.

Nombre del congreso: XV Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Comunicación en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2017

Lugar: Valencia, España

Autores: **Olvera-Huertas AJ**; Linares-Recatalá, Macarena; Manzano-Moreno, Francisco Javier; Herrera-Briones, Francisco Javier; Vallecillo-Capilla, Manuel Francisco; Reyes-Botella, Candelaria.

Título de la aportación: MANEJO DEL COLGAJO VESTIBULAR MEDIANTE “TÉCNICA DEL BOLSILLO PERIÓSTICO” EN REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA, A PROPÓSITO DE TRES CASOS.

Nombre del congreso: XV Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2017

Lugar: Valencia, España

Autores: Antequera, Raquel; **Olvera-Huertas AJ**; González, Mercedes; García, Juan; Miranda, Manuel; Manzano-Moreno Francisco Javier.

Título de la aportación: TRATAMIENTO DE RECESIONES MÚLTIPLES CON INJERTO DE TEJIDO CONECTIVO VERSUS MATRIZ DÉRMICA ACELULAR. A PROPOSITO DE UN CASO CLÍNICO.

Nombre del congreso: XVI Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2018

Lugar: Palma de Mallorca, España

Autores: Lachguer, Iman; Mendoza Arnau, Amparo; Torres González, Elena; García Vázquez, Marta; **Olvera-Huertas AJ**; Manzano Moreno, Francisco Javier.

Título de la aportación: COLGAJO DESPLAZADO LATERALMENTE VS COLGAJO BIPEDICULADO (DOBLE PAPILA) ASOCIADO A INJERTO DE CONECTIVO PARA EL TRATAMIENTO DE RECESIONES RADICULARES. A PROPÓSITO DE DOS CASOS.

Nombre del congreso: XVI Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2018

Lugar: Palma de Mallorca, España

Autores: Vallecillo Rivas, Marta; **Olvera-Huertas AJ**; Quesada García, Pilar; Lachguer, Iman; Muelas Jiménez, María Isabel; Vallecillo Capilla, Manuel Francisco.

Título de la aportación: ALTERNATIVAS AL INJERTO DE TEJIDO CONECTIVO SUBEPITELIAL PARA EL AUMENTO DE VOLUMEN DE TEJIDO BLANDO ALREDEDOR DE IMPLANTES: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA.

Nombre del congreso: XVII Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2019

Lugar: Sevilla, España

Autores: Pradillo, Diego; Manzano-Moreno, Francisco Javier; Olmedo, María Victoria; Castro, Carlota; Aguilar, Luis; **Olvera-Huertas AJ.**

Título de la aportación: USO DE LA MATRIZ DE COLÁGENO GEISTLICH FIBRO-GUIDE COMO TÉCNICA PARA EL AUMENTO DE VOLUMEN DE ENCÍA.

Nombre del congreso: XVII Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Bucal

Tipo de evento: Poster en congreso

Ámbito: Nacional

Año: 2019

Lugar: Sevilla, España

Autores: Torres, Elena Mónica; Muñoz, Esther; Romero, Nuria; **Olvera-Huertas AJ;** Lisbona, María Jesús; Herrera, Francisco Javier.

EXPERIENCIA DOCENTE

CURSO: Master Propio en Cirugía Bucal e Implantología

CENTRO: Facultad de Odontología, Universidad de Granada

DURACIÓN: Desde Septiembre de 2017 Hasta Septiembre de 2019

CURSO: Master Universitario en Cirugía Bucal e Implantología

CENTRO: Facultad de Odontología, Universidad de Granada

DURACIÓN: Desde Septiembre de 2017 Hasta Septiembre de 2019

CURSO: Máster Universitario en Cirugía Bucal e Implantología

CENTRO: Facultad de Odontología, Universidad de Granada

DURACIÓN: Desde Septiembre de 2019 Hasta Actualidad

PREMIOS RECIBIDOS Y OTROS MÉRITOS

1. Premio extraordinario fin de licenciatura, Facultad de Odontología, Universidad de Granada (2011)

2. Ganador del I concurso de casos clínicos INIBSA Universidad Granada. Facultad odontología. Regeneración ósea guiada como tratamiento reparador de la periimplantitis. Facultad de Odontología. Universidad de Granada (Diciembre 2016)
 3. Miembro SEPA, SEDO
-

XII. ANEXOS

ANEXO I. GLOSARIO DE TÉRMINOS.

- Proteínas morfogenéticas óseas: BMPs
- Brain-Heart Infusion: BHI
- Colony-forming units: CFUs
- Alkaline phosphatase: ALP
- Factor de crecimiento transformante beta: TGF- β
- Fosfatasa alcalina: ALP
- Leucemia linfoblástica aguda: cALLa
- Interleuquina 4: IL-4
- Interleuquina 12: IL-12
- Interleuquina 15: IL-15
- Interleuquina 18: IL-18
- Interferón gamma: IFN- γ
- Osteoprotegerina: OPG
- Ligando de receptor activador nuclear Kappa-B: RANKL
- Interleuquina 1: IL-1
- Interleuquina 6: IL-6
- Factor de Necrosis Tumoral alfa: TNF- α
- Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos y Mastocitos: GM-CS/FM
- Proteína Quimiotáctica de Monocitos tipo 1: MCP- 1
- Proteína Inflamatoria de Macrófagos: MIP
- Interleuquina 8: IL-8
- Proteína de matriz dentinaria 1: DMP-1
- Factor de crecimiento fibroblástico 23: FGF-23
- Proteína ósea Gla: OSC
- Proteína Gla matricial: MGP
- Factor de crecimiento derivado de la insulina: IGF
- Ácido clorhídrico: HCL
- Factor de crecimiento de origen plaquetario 16: PDGF16

- Factor de crecimiento transformador 14: TGF14
- Factor de crecimiento transformador 15: TGF15
- Factor de crecimiento de fibroblastos 18: FGF18
- Factor de crecimiento de fibroblastos 19: FGF19
- Factor de crecimiento insulínico 20: IGF20
- Factor de crecimiento insulínico 21: IGF21
- Factor de crecimiento insulínico 22: IGF22
- Factor de crecimiento insulínico 23: IGF23
- Factor de crecimiento insulínico 24: IGF24
- Factor de crecimiento insulínico 25: IGF25
- Factor de crecimiento epitelial 26: EGF26
- Factor de crecimiento epitelial 27: EGF27
- Factor de crecimiento endotelial vascular 15: VEGF15
- Factor de crecimiento derivado de la insulina 2: IGF-II
- Clorhexidina: CHX
- Unidades formadoras de colonias: UFC
- Intervalo de confianza: IC
- Solución salina tamponada con fosfato: PBS
- Dulbecco`s Modified Eagle`s Medium: DMEM
- Suero fetal bovino: SBF
- Dióxido de Carbono: CO₂
- Ácido etilendiaminotetraacético: EDTA
- Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol: MTT
- Dimetilsulfóxido: DMSO
- Ioduro de Propidio: IP

ANEXO II. APROBACIÓN DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.



Universidad de Granada
Vicerrectorado de Política
Científica e Investigación

COMISIÓN DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

La Comisión de Ética en Investigación de la Universidad de Granada, oído el informe preliminar del Presidente del Comité en Investigación Humana, emite informe favorable a la metodología en la investigación titulada "Influencia de las distintas técnicas de toma de injertos óseos intraorales, sobre la capacidad proliferativa de los osteoblastos humanos en cultivo" que dirige D./Dña. Candelaria Reyes Botella.

Granada a 19 de septiembre de 2011

LA PRESIDENTA

Fdo: M^a Dolores Suárez Ortega



LA SECRETARIA

Fdo: Irene Luque Fernández

ANEXO III. CONSENTIMIENTO INFORMADO.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Título del proyecto: Autoinjertos óseos intraorales: utilización de agentes descontaminantes e influencia sobre el osteoblasto.

Investigador principal: Candelaria Reyes Botella

Sede donde se realizará el estudio: Facultad de Odontología, Universidad de Granada.

Nombre del paciente:

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. OBJETIVO DEL ESTUDIO

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo valorar la influencia de distintos agentes descontaminantes sobre injertos óseos obtenidos mediante fresado biológico y valorar la influencia de estos sobre distintos parámetros de la fisiología del osteoblasto.

2. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Con este estudio se conocerá el efecto descontaminante de los distintos agentes y se valorará su influencia sobre la fisiología ósea.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido sobre estos fármacos.

3. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

El estudio consiste en recoger los excedentes de hueso que se producen tras la realización de cirugías de colocación de implantes dentales con las fresas utilizadas en la realización del lecho implantario.

Las muestras recogidas serán trasladadas a un laboratorio para su procesado y posterior cultivo.

4. ACLARACIONES

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.

Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

5. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante o del padre o tutor Fecha

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador Fecha