

# Respuesta Tisular en Defectos Tratados con Matriz Ósea de Origen Bovino o Humano

Tissue Response in Treated Defects with Bovine or Human Bone Matrix

R. Rodríguez\*; S. Olate\*\*\*\*\*; L. Pozzer\*; M. Cantín\*\* & J. R. Albergaria-Barbosa\*

---

**RODRIGUEZ, R.; OLATE, S.; POZZER, L.; CANTIN, M. & ALBERGARIA-BARBOSA, J. R.** Respuesta tisular en defectos tratados con matriz ósea de origen bovino o humano. *Int. J. Morphol.*, 34(1):351-355, 2016.

**RESUMEN:** El objetivo de esta investigación fue comparar la respuesta tisular en defectos tratados con matriz ósea de origen bovino y humano. Se realizó un estudio descriptivo con 12 conejos en los cuales se confeccionaron dos defectos en la calota craneana de acuerdo a procesos convencionales. Cada defecto fue aleatoriamente rellenado con matriz ósea bovina o con matriz ósea humana; se realizaron evaluaciones histológicas a las 7 y 15 semanas de realizada la cirugía (6 animales en cada grupo). A las 7 semanas se identificó un leve infiltrado inflamatorio y claras diferencias entre el hueso periférico y el sitio injertado, mientras que a las 15 semanas se observó la persistencia de algunas partículas injertadas y la presencia de hueso nuevo formado en el defecto; no se logró identificar diferencias en la secuencia de reparación o retrasos en la misma con ninguno de los dos materiales. Se concluye que ambos materiales son útiles en la regeneración ósea en el presente modelo experimental.

**PALABRAS CLAVE:** Injerto óseo; Biomaterial; Hueso bovino; Hueso humano.

---

## INTRODUCCIÓN

La regeneración ósea en implantología oral es constantemente utilizada para la instalación de implantes en condiciones funcionales y estéticas adecuadas. La variedad de procedimientos y materiales hacen que la planificación y conformación de la secuencia quirúrgica sea compleja toda vez que la selección de los materiales puede limitar los resultados esperados (Olate *et al.*, 2007).

Históricamente, el hueso autógeno ha mostrado los mejores resultados en términos de integración del injerto y vitalidad del mismo; sin embargo, esta condición implica una mayor morbilidad y riesgos quirúrgicos debido a la necesidad de obtener hueso del mismo paciente (Noia *et al.*, 2011; Rocha *et al.*, 2010). Los materiales para relleno óseo de origen animal y de origen humano han limitado esta complicación, aunque han sido utilizados con relativo éxito. Variables como el tipo de defecto, el volumen de relleno, el vehículo de aplicación, el empleo de membranas biológicas y la mezcla con otros materiales parecen influenciar en los resultados finales (Kluppel *et al.*, 2013; Olate *et al.*, 2013; Cantín *et al.*, 2015)

El hueso sintético, ha avanzado sostenidamente en

el tiempo demostrando cierta efectividad en algunos estudios en modelo animal (de Oliveira *et al.*, 2014). El hueso bovino y el hueso humano también se encuentran en condiciones semejantes. La matriz de hueso bovino ha sido analizado por nuestro grupo demostrando éxito en estudios en modelo animal, aunque aun existen variaciones que requieren nuevos análisis (Duque Netto *et al.*, 2013). Comparaciones entre hueso bovino y hueso humano en la respuesta ósea han mostrado resultados controversiales.

El objetivo de este estudio es comparar la secuencia y modelo de reparación ósea entre un relleno óseo de origen bovino y otro relleno óseo de origen humano en un modelo experimental.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron 12 conejos albinos de raza New Zealand, machos, con un peso promedio de 3.0 Kg y con edad de entre 3 y 6 meses. Todos los animales se mantuvieron con dieta de alimentación sólida y agua *ad libitum*.

\* Departamento de Diagnóstico Oral, Universidad Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

\*\* División de Cirugía Oral y Maxilofacial, CIMA - CEMyQ, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

\*\*\* Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile, Temuco, Chile.

**Cirugía.** La anestesia de los animales se realizó con clorhidrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3 tiazina, en dosis de 2 mg/Kg de peso corporal junto al clorhidrato de ketamina en dosis de 10 mg/Kg de peso; también fue utilizado el sulfato de atropina (0,05 mg/Kg) para disminuir los riesgos respiratorios intraoperatorios.

Se realizó la tricotomía en la calota del animal y se realizó las técnicas de asepsia y antisepsia con clorhexidina 0,5 %, aislando el área quirúrgica con campos estériles propios de cirugías de este tipo. Se realizó una incisión mediana en la calota del conejo, extendiéndose entre el hueso frontal y occipital; se separó completamente el periostio de la zona. Se procedió a realizar las osteotomías mediante el uso de trefinas de 5 mm, realizando dos cavidades en cada zona lateral del cráneo, cuidando de no realizar ningún tipo de perforación en la duramadre. Las osteotomías se realizaron con motor de baja velocidad y constante irrigación con suero fisiológico.

Aleatoriamente se seleccionó un lado de la calota para ser mantenido sin ningún tipo de relleno, mientras que al otro sector se relleno con el hueso desmineralizado y liofilizado de origen bovino (grupo I) o con hueso desmineralizado y liofilizado de origen humano (grupo II) utilizándolo en forma de partículas. La sutura se realizó en planos de acuerdo a protocolos utilizados normalmente.

Los animales fueron sometidos a eutanasia a las 7 y 15 semanas (4 y 5 animales en cada etapa) de realizada la cirugía inicial, para lo cual se realizó la aplicación de sobredosis de anestésico.

**Histología.** Se obtuvieron las piezas de muestra mediante cortes del cráneo realizados con sierra y brocas respetando al menos 1 cm desde el límite del defecto creado. Las piezas se mantuvieron en formalina tamponada durante 24 h para posteriormente ser descalcificadas con ácido nítrico al 0,5 % por 20 d. Luego, las piezas fueron sometidas a diafanización y confección de laminas con técnicas de rutina utilizando cortes seriados de 6  $\mu$ m y tinción con hematoxilina y eosina y tricromico de Mallory para estudio bajo microscopia óptica.

## RESULTADOS

### Periodo de Siete Semanas

**Grupo I (Hueso de origen bovino).** En la porción periférica del defecto se identificó el límite de la cavidad ósea y el hueso injertado; desde la periferia se observó remodelación ósea y neoformación de crecimiento centripeto. Se observó la presencia de tejido conectivo en su porción interna; un tejido conectivo de mayor densidad se observó en la región superior y media de la cavidad. Solo en una muestra se observó la presencia de tejido óseo sugerente de formación ósea (Fig. 1).

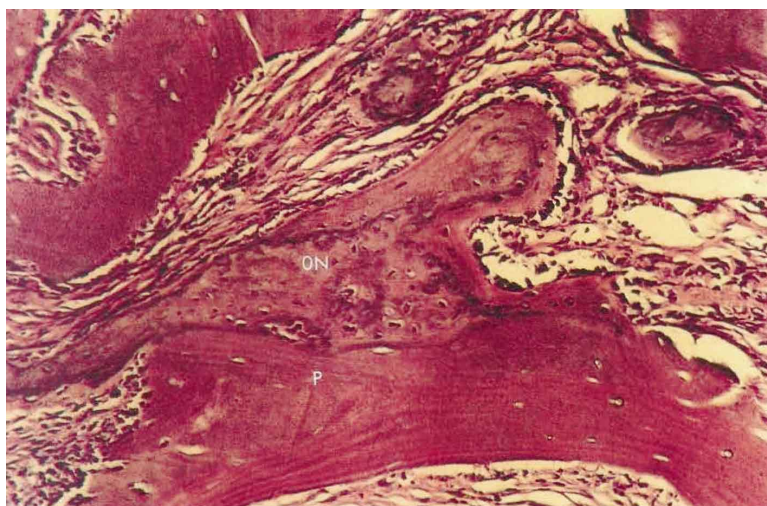


Fig. 1. Imagen obtenida del grupo con matriz bovino a las 7 semanas, evidenciando fases de regeneración ósea (ON: nuevo hueso; P: partícula injertada). H.E.; 10x.

**Grupo II (Hueso de origen humano).** Se observaron condiciones semejantes a las del grupo I, con presencia de hueso preexistente nítido; en la región inferior se observó tejido conectivo denso (Fig. 2) y áreas que sugerían la incorporación de hueso de neoformación junto a partículas que podrían responder a fases de reabsorción ósea.

### Periodo de Quince Semanas

**Grupo I (Hueso de origen bovino).** Se observó una mayor presencia ósea en la cavidad (Fig. 3), donde los márgenes se presentaban con baja nitidez indicando remodelación ósea; se observó regularmente presencia de tejido óseo junto a tejido conectivo ricamente vascularizado en la región central. La porción superior del defecto presentaba tejido conectivo laxo.

**Grupo II (Hueso de origen humano).** Se observó presencia de tejido óseo de neoformación en zonas interrumpidas por la presencia de tejido conectivo denso. Se observaron partículas de injerto en fase de reabsorción con presencia de tejido conectivo laxo en su fase superior y su fase inferior.

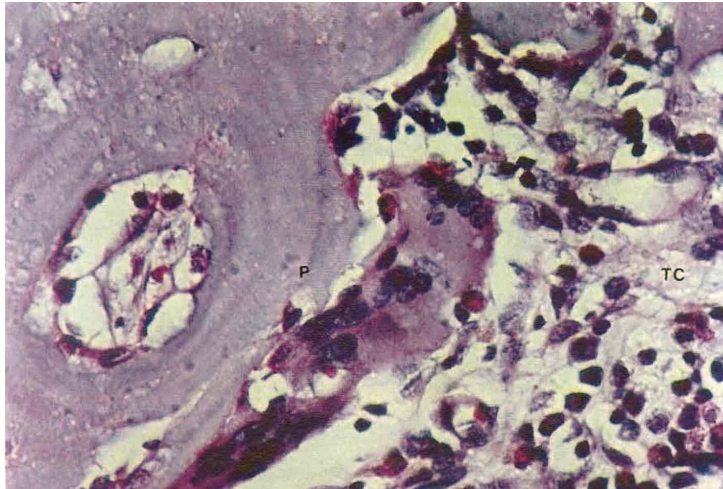


Fig. 2. Imagen obtenida del grupo con matriz humano a las 7 semanas, evidenciando fases de regeneración ósea con tejido conectivo en evolución (TC: tejido conectivo). H.E.; 40x.

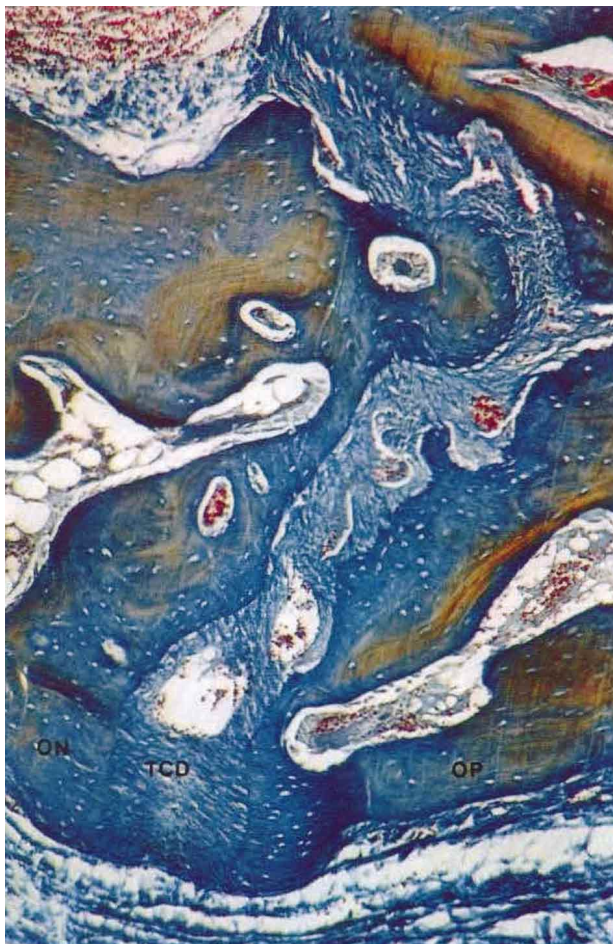


Fig. 3. Imagen del grupo de matriz ósea bovino a las 15 semanas evidenciando una avanzada fase de reparación ósea donde se observa proximidad entre el hueso neoformado y algunas partículas presentes (TCD: tejido conectivo denso; OP: hueso preexistente; ON: nuevo hueso). T.M.; 10x.

## DISCUSIÓN

La reconstrucción ósea del hueso alveolar se presenta como una alternativa viable para el tratamiento con implantes oseointegrados y aunque el hueso autógeno continua siendo el patrón de oro en la reconstrucción ósea (Olate *et al.*, 2007), algunos biomateriales han entregado información suficiente de su capacidad de contribuir a la neoformación ósea.

En la presente investigación se observó un rendimiento semejante para la matriz ósea desmineralizada humana y bovina, lo cual puede asociarse a la función de osteoconducción mantenida por ambos materiales. Otros estudios como el de Tudor *et al.* (2008) confirmaron que la respuesta de formación ósea en defectos rellenados con matriz desmineralizada humana y bovina presentaba igual rendimiento; en la misma investigación se observó que al final de las 12 semanas no existía remanente de partículas injertadas mediante análisis con micro radiografías. No se observó diferencias en densidad ósea entre ambos materiales. Por otra parte, el estudio histológico si identificó remanentes del material injertado, siguiendo el mismo patrón de crecimiento que el observado en nuestra investigación. Nuestros resultados muestran que a las 15 semanas aun existen remanentes de tejidos pero todos ellos con signos claros de reparación ósea.

En la misma dirección, de Lange *et al.* (2014) concluyeron que el patrón de osteoconducción del hueso mineralizado fue similar entre matriz de fosfato de calcio y hueso bovino desproteínizado. Esta condición, observada en estudios animales, ha tenido también cierto respaldo clínico cuando Blaggana *et al.* (2014) utilizaron estos materiales en defectos periodontales con seguimiento radiográfico y clínico sin identificar diferencias entre los grupos evaluados con matriz ósea bovina o humana.

De Souza Nunes *et al.* (2011) no encontraron diferencias en la formación ósea en seno maxilar cuando se aplicó hidroxiapatita bovina con o sin membrana protectora; después de 14 días de evaluación, la invasión de tejido blando hacia el interior de la cavidad no presentó diferencia entre los grupos evaluados; además, con estudio de inmunohistoquímica se observó la expresión de VEGF en ambos grupos. Aparentemente, la membrana no tendría relevancia si el relleno utilizado es capaz de ocupar todo el defecto presente (Lopez *et al.*, 2013).

Los factores de crecimiento y la proteína ósea morfogenética (BMP) han sido utilizadas en conjunto con estas

materiales para intentar mejorar su rendimiento. El estudio de van Bergen *et al.* (2013) utilizó matriz ósea desmineralizada integrada en plasma rico en plaqueta (PRP) basado en la idea de aumentar la presencia de factores de crecimientos asociados a la eficiencia de la matriz en la regeneración ósea de defectos osteocondrales, clásicos en superficies articulares; los resultados demostraron que la neoformación ósea no fue superior a los utilizados en el control, cuestionando la eficiencia del empleo de PRP en la regeneración ósea. Otra investigación, sin embargo, reportó que el PRP de origen humano mezclado con hueso humano tendría mejor capacidad osteogénica que la mezcla de PRP humano con hueso sintético (Plachokova *et al.*, 2009). De la misma forma, una reciente revisión sistemática estudio el uso de proteína ósea morfogenética 2 (BMP-2), indicando que en cirugías de elevación de seno maxilar, la BMP-2 no parecía superior al uso de injertos autógenos o alógenos (Kelly *et al.*, 2016).

Actualmente, el plasma rico en fibrina (PRF) ha ganado aceptación dentro de algunos grupos clínicos; se le han atribuido variedad de potencialidades a pesar de que no ha sido lo suficientemente exitosa en las investigaciones realizadas. Algunos factores como la TGFb-1, PDGF-AB; VEGF han sido encontrados en PRF con lo cual se pensaría en una

mejor condición para la neoformación ósea (Dohan Ehrenfest *et al.*, 2009).

Pripatnanont *et al.* (2013) demostraron que en defectos de calota craneana el PRF presentaba mejor respuesta ósea cuando se utilizada solo o en mezcla con hueso autógeno mientras que con el uso de hueso desproteínizado bovino presentaba menor respuesta osteogénica. Jeong *et al.* (2014) realizaron cirugías de elevación de seno maxilar rellenando exclusivamente con PRF, describiendo baja predictibilidad y limitada respuesta ósea; los autores concluyeron que el uso de PRF sería poco confiable para cirugías de reconstrucción ósea. Mooren *et al.* (2010), también concluyeron que utilizando matriz bovina con hueso autógeno no presentaban diferencias cuando el PRF fue incorporado en uno de los grupos; esta ausencia de diferencias se mantuvo con las mismas limitaciones tanto al inicio como al final de las evaluaciones.

A pesar de que algunos aspectos aun son controversiales, se puede concluir que ambos materiales pueden funcionar para potenciar la regeneración ósea en defectos de calota realizadas en conejos; el infiltrado inflamatorio que presentan es leve a moderado y pueden contribuir a la neoformación ósea en el modelo estudiado.

---

**RODRIGUEZ, R.; OLATE, S.; POZZER, L.; CANTIN, M.; ALBERGARIA-BARBOSA, J. R.** Tissue response in treated defects with bovine or human bone matrix. *Int. J. Morphol.*, 34(1):351-355, 2016.

**SUMMARY:** The aim of this research was to compare the tissue response in treated defects with bone matrix with bovine or human origin. Was realized a descriptive study with 12 rabbits where was executed two defects in the skull in relation to conventional techniques. Randomized defects were used to put bone matrix with bovine or human origin; histological exam was realized in the week number 7 and 15 with 6 animals each. At 7 weeks was observed a limited inflammatory infiltrate with clear differences between the peripheral bone and the filled bone and in the 15 weeks of analysis was observed the presence of some particulate of the bone graft beside a new bone into the defect; was not observed any differences in the sequence of repair or delayed in the bovine or human material. It's concluded that both materials are useful in bone regeneration for this experimental model.

**KEY WORDS: Bone graft; Biomaterial; Bovine bone; Human bone.**

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blaggana, V.; Gill, A. S. & Blaggana, A. A clinical and radiological evaluation of the relative efficacy of demineralized freeze-dried bone allograft versus anorganic bovine bone xenograft in the treatment of human infrabony periodontal defects: A 6 months follow-up study. *J. Indian Soc. Periodontol.*, 18(5):601-7, 2014.

Cantín, M.; Olate, S.; Fuentes, R. & Vásquez, B. Alveolar ridge conservation by early bone formation after tooth extraction in rabbits. A histomorphological study. *Int. J. Morphol.*, 33(1):369-74, 2015.

de Lange, G. L.; Overman, J. R.; Farré-Guasch, E.; Korstjens, C. M.; Hartman, B.; Langenbach, G. E.; Van Duin, M. A. & Klein-Nulend, J. A histomorphometric and micro-computed tomography study of bone regeneration in the maxillary sinus comparing biphasic calcium phosphate and deproteinized cancellous bovine bone in a human split-mouth model. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 117(1):8-22, 2014.

de Oliveira, M.; Olate S.; Pozzer, L.; Vásquez, B.; Cantín, M. & Albergaria-Barbosa, J. R. Bone repair using calcium sulfate in

- bone defects of rabbit tibiae. *Int. J. Morphol.*, 32(4):1472-6, 2014.
- De Souza Nunes, L. S.; De Oliveira, R. V.; Holgado, L. A.; Nary Filho, H.; Ribeiro, D. A. & Matsumoto, M. A. Use of bovine hydroxyapatite with or without biomembrane in sinus lift in rabbits: histopathologic analysis and immune expression of core binding factor 1 and vascular endothelium growth factor. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 69(4):1064-9, 2011.
- Dohan Ehrenfest, D. M.; de Peppo, G. M.; Doglioli, P. & Sammartino, G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*, 27(1):63-9, 2009.
- Duque Netto, H.; Olate, S.; Klüppel, L.; de Miranda Chaves, M. G. A.; Salgado, I. O.; Vásquez, B. & Albergaria-Barbosa, J. Bone regeneration in critical defect treated with bovine inorganic bone matrix with two different carriers. *Int. J. Morphol.*, 31(2):367-72, 2013.
- Jeong, S. M.; Lee, C. U.; Son, J. S.; Oh, J. H.; Fang, Y. & Choi, B. H. Simultaneous sinus lift and implantation using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *J. Craniomaxillofac. Surg.*, 42(6):990-4, 2014.
- Kelly, M. P.; Vaughn, O. L. & Anderson, P. A. Systematic review and meta-analysis of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in localized alveolar ridge and maxillary sinus augmentation. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, pii:S0278-2391(15)01565-7, 2015.
- Klüppel, L. E.; Antonini, F.; Olate, S.; Nascimento, F. F.; Albergaria-Barbosa, J. R. & Mazzonetto, R. Bone repair is influenced by different particle sizes of anorganic bovine bone matrix: a histologic and radiographic study in vivo. *J. Craniofac. Surg.*, 24(4):1074-7, 2013.
- Lopez, M. D.; Olate, S.; Lanata-Flores, A.; Pozzer, L.; Cavalieri-Pereira, L.; Cantin, M.; Vásquez, B. & de Albergaria-Barbosa, J. R. New bone formation in a bone defect associated to dental implant using absorbable or non-absorbable membrane in a dog model. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 6(11):2292-9, 2013.
- Mooren, R. E.; Dankers, A. C.; Merckx, M. A.; Bronkhorst, E. M.; Jansen, J. A. & Stoeltinga, P. J. The effect of platelet-rich plasma on early and late bone healing using a mixture of particulate autogenous cancellous bone and Bio-Oss: an experimental study in goats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 39(4):371-8, 2010.
- Nóia, C. F.; Ortega-Lopes, R.; Olate, S.; Duque, T. M.; de Moraes, M. & Mazzonetto, R. Prospective clinical assessment of morbidity after chin bone harvest. *J. Craniofac. Surg.*, 22(6):2195-8, 2011.
- Olate, S.; de Oliveira, G. R.; Jaimes, M. & Albergaria-Barbosa, J. R. Osseous recovery in implant insertion and pre implant reconstructions. *Int. J. Morphol.*, 25(3):649-57, 2007.
- Olate, S.; Duque Netto, H.; Klüppel, L. E.; Vásquez, B.; Miranda Chaves, M. G. A. & del Sol, M. Comparison of bone graft healing between autogenous bone, blood clot and anorganic bovine bone matrix. Radiographic and histological analyses. *Int. J. Morphol.*, 31(4):1257-62, 2013.
- Plachokova, A. S.; van den Dolder, J.; van den Beucken, J. J. & Jansen, J. A. Bone regenerative properties of rat, goat and human platelet-rich plasma. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 38(8):861-9, 2009.
- Pripatnanont, P.; Nuntanarant, T.; Vongvatcharanon, S. & Phurisat, K. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *J. Craniomaxillofac. Surg.*, 41(8):e191-200, 2013.
- Rocha, F.; de Oliveira, G. R.; Olate, S. & de Albergaria-Barbosa, J. R. Consideraciones clínicas en la obtención de injertos óseos intraorales. Técnica quirúrgica y evaluación de las complicaciones. *Av. Periodoncia*, 22(2):71-6, 2010.
- Tudor, C.; Srou, S.; Thorwarth, M.; Stockmann, P.; Neukam, F. W.; Nkenke, E.; Schlegel, K. A. & Felszeghy, E. Bone regeneration in osseous defects-application of particulated human and bovine materials. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 105(4):430-6, 2008.
- van Bergen, C. J.; Kerkhoffs, G. M.; Özdemir, M.; Korstjens, C. M.; Everts, V.; van Ruijven, L. J.; van Dijk, C. N. & Blankevoort, L. Demineralized bone matrix and platelet-rich plasma do not improve healing of osteochondral defects of the talus: an experimental goat study. *Osteoarthritis Cartilage*, 21(11):1746-54, 2013.

Correspondence to:  
Prof. Dr. Sergio Olate  
División de Cirugía Oral y Máxilofacial  
Universidad de La Frontera  
Claro Solar 115, Oficina 414-A  
Temuco  
CHILE

Email: sergio.olate@ufrontera.cl

Recibido : 06-09-2015  
Aceptado: 19-11-2015