

Utilización de dentina como biomaterial para relleno óseo

Evaluar la eficacia de nueva formación ósea de los dientes particulados, injertados inmediatamente en los defectos críticos de 6 mm comparados con los sitios sin relleno a 60 días en calotas de conejos de Nueva Zelanda era el objetivo de este estudio experimental, cuyos resultados demuestran que las partículas de diente triturado autógeno deben considerarse como un nuevo biomaterial adecuado para el relleno de defectos óseos críticos.

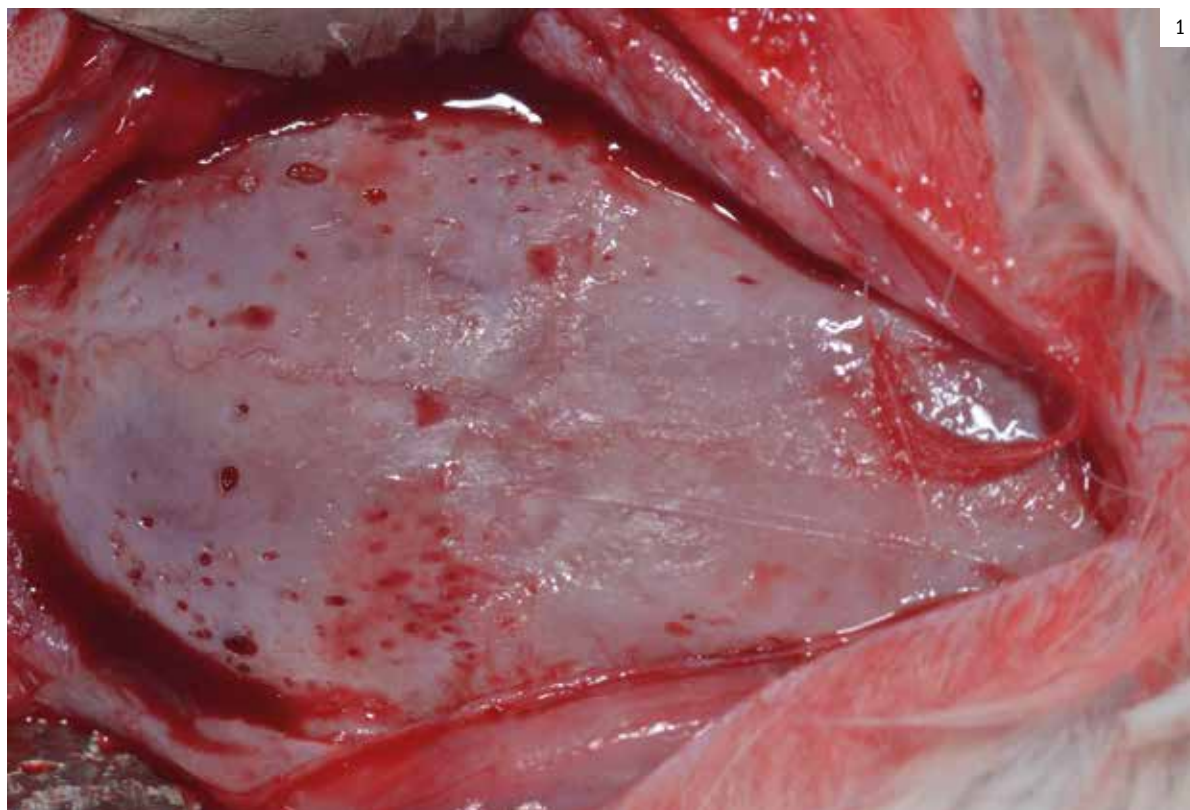
■ José Luis Calvo-Guirado
 ■ Manuel Fernández Domínguez
 ■ Pilar Cegarra del Pino
 ■ Álvaro Ballester Montilla

Introducción

Los defectos óseos aparecen como consecuencia de un traumatismo, atrofia o resección de lesiones intraóseas. La regeneración ósea utilizando injertos óseos autólogos o biomateriales ha evolucionado enormemente en las últimas décadas. Varios materiales de injerto, incluyendo autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y aloplastos, se han utilizado para el aumento óseo. El hueso sintético, por el contrario, no implica riesgo de enfermedad, carece de la ca-

pacidad para promover la osteogénesis y la osteoinducción, pero es un gran andamio para la neoformación ósea. La curación de defectos óseos grandes está directamente relacionada con el tamaño y el tiempo transcurrido desde el trauma, cuando transcurre más tiempo, mayor es la curación y, por lo tanto, la maduración del tejido óseo (1). La osteogénesis, la osteoinducción y la osteoconducción son las tres claves de la osteointegración. La osteogénesis es el proceso mediante el cual newbone se forma a partir de célu-

Figura 1. Calota de conejo expuesta.





Prof. Dr. José Luis Calvo-Guirado
D.D.S, PhD, Eu PhD, M.S.

Catedrático de Cirugía Oral e Implantología. Facultad de Ciencias de la Salud-Universidad Católica San Antonio de Murcia. (UCAM); Bidoctor en Odontología e Bioingeniería en Biomateriales; Director de la Cátedra Internacional de Investigación en Odontología-UCAM; Director del Grupo de

Investigación de Odontología Clínica y Experimental-UCAM; Director del Grupo de Investigación Murcia Biomaterials and Implants Research Group (MBIRG); Research Professor Department of Prosthodontics and Digital Technologies-School of Dental Medicine (State University of New York at Stony Brook-USA); y Visiting Professor of Faculty of Medicine and Dentistry-University of Belgrade (Serbia).

Pilar Cegarra del Pino

Doctorando, Facultad de Ciencias de la Salud Universidad Católica de Murcia - Práctica Privada Murcia.

Álvaro Ballester Montilla

Doctorando, Facultad de Ciencias de la Salud Universidad Católica de Murcia - Práctica Privada Murcia.

Prof. Dr. Manuel Fernández Domínguez

Departamento de Medicina Traslacional, Universidad CEU San Pablo, Madrid, España. Jefe de Servicio de Cirugía Maxilofacial de Hospitales Madrid HM Director de Línea de Odontología del Programa de Doctorado de Medicina Traslacional de la Universidad San Pablo CEU

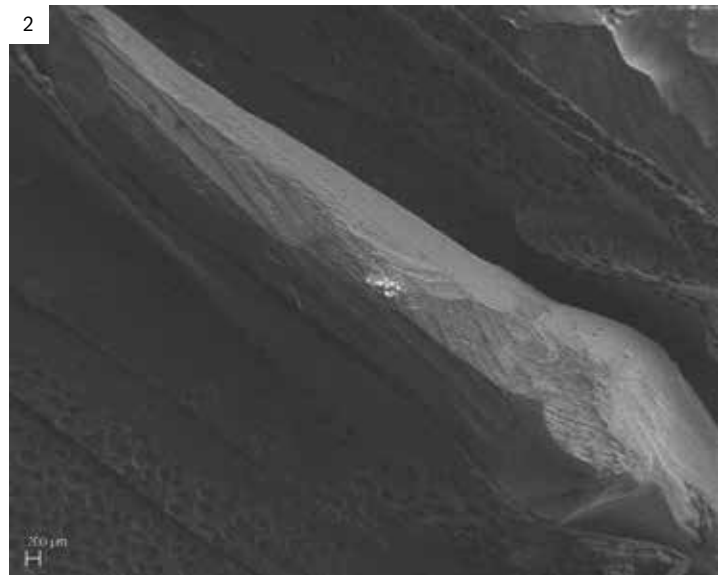


Figura 2. Imagen de microscopia electrónica (SEM) del diente a triturar.

las osteoprogenitoras; la osteoinducción es la estimulación y activación de las células osteoprogenitoras del tejido circundante de la lesión; y la osteoconducción es el proceso mediante el cual facilita el desarrollo de los vasos sanguíneos (2). Aunque, los injertos autólogos tienen desventajas, como la cantidad de injerto que se puede obtener, la morbilidad del área del donante y la duración de las cirugías, así como la incomodidad postoperatoria (3). Los materiales de autoinjerto, aloinjerto, xenoinjerto y sintéticos se han utilizado como sustitutos óseos durante mucho tiempo con grandes resultados de éxito (4-6).

La matriz dentinaria humana, creada a partir de dientes humanos extraídos, fue desarrollada en 2008 en Corea y ha sido evaluada por su capacidad osteoinductiva, osteoconduiva en el relleno de defectos óseos. La dentina y el hueso están formados de manera muy similar por colágeno (30%), hidroxiapatita (60%) y fluido corporal (10%) en peso (7-8). La dentina es una matriz acelular rica en colágeno sin vasos sanguíneos, mientras que el hueso es un tejido celular alta capacidad de vascularización. La composición del hueso y diente son similares, tanto que el esmalte tiene un 96% de sustancias inorgánicas y 4% de agua, mientras que la dentina tiene 65% de sustancia inorgánica, 35% de sustancia orgánica y agua. Finalmente, el hueso alveolar tiene un 65% de sustancias inorgánicas y un 35% de sustancia orgánica (9).

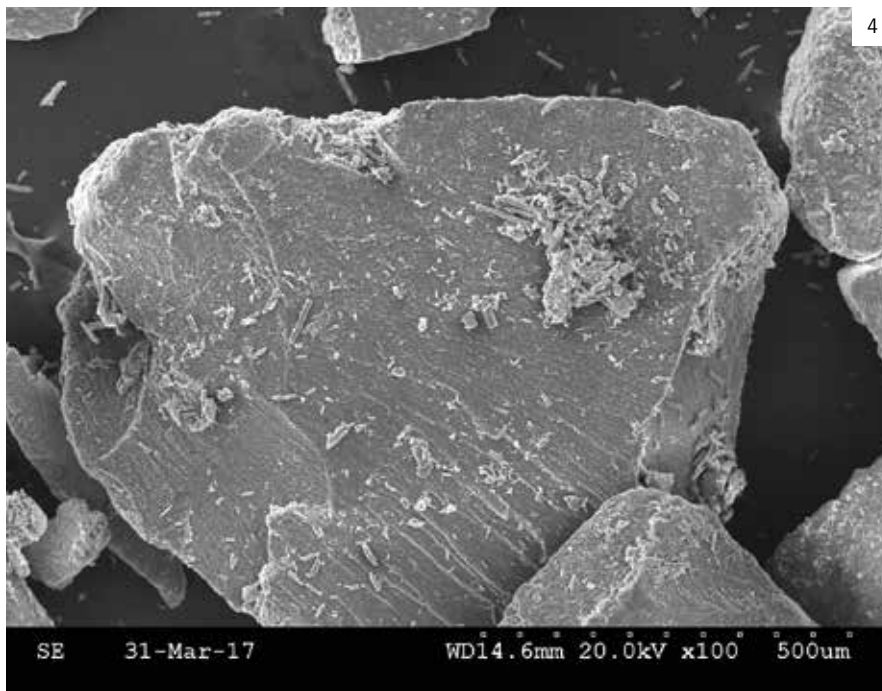
Generalmente, los dientes extraídos han sido descartados por ser considerados materiales infecciosos en el mundo. Ahora mismo a los dientes extraídos no funcionales les daríamos una segunda oportunidad como un recurso nativo idóneo para

ser injertado en zonas desfavorecidas de hueso. Por lo tanto, varios autores han demostrado que las propiedades del diente triturado, podrían actuar como un sustituto óseo inducido por la dentina y pulpa dentina, estudiando el reciclado médico de los dientes humanos como un nuevo material de injerto para la regeneración ósea en Japón y Corea (10-13). El uso del Smart Dentin Grinder se ha creado para triturar y clasificar los dientes extraídos en una partícula de dentina de tamaño específico que rondan entre los 300 a 1200 micras, donde la neoformación ósea ha sido de un 75% en animales de experimentación (14-15).

El objetivo de este estudio fue la evaluación histológica e histomorfométrica de la formación de hueso vital (VB) tras el relleno del injerto de diente triturado comparado zonas sin rellenar en calotas de conejos a los 60 días de seguimiento.



Figura 3. a) Máquina de Smart Dentin Grinder; b) Raíces de dientes a triturar; c) Compartimento superior con filtro para partículas de 600 a 1200 micras; d) Compartimento inferior para partículas de 300 micras.



4

Figura 4. Imagen de microscopía electrónica (SEM) de la partícula de diente de 300 micras, con colágeno sobre la estructura superior.

Materiales y métodos

Los animales

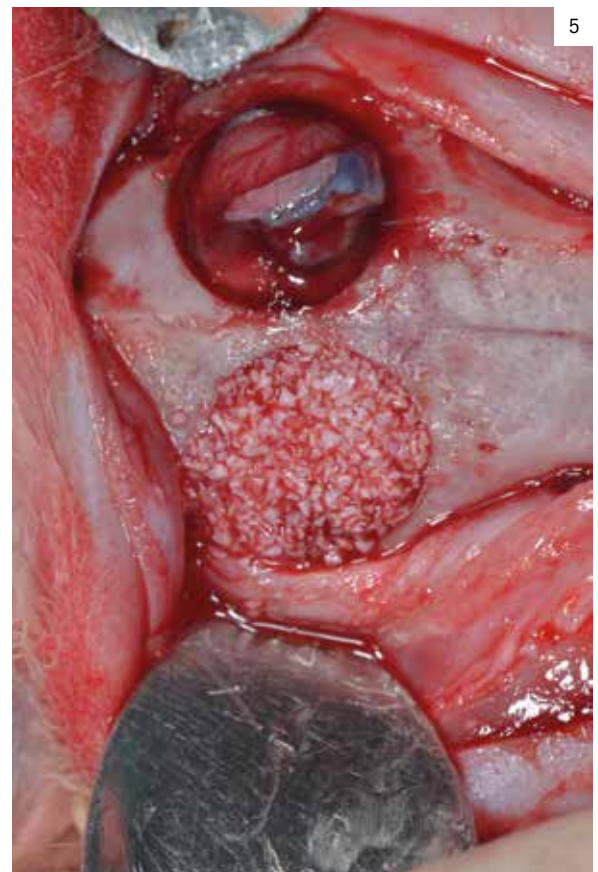
En el estudio se utilizaron 21 conejos de Nueva Zelanda, cada uno con un peso de 3,2 a 4 Kg (promedio de 3,5 Kg). El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Murcia, España (05-09-2012), que siguió las pautas establecidas por la Directiva del Consejo de la Unión Europea (53/2013; 1 de febrero de 2013) para el cuidado y la experimentación de animales.

Los animales fueron alimentados con una dieta diaria de gránulos ad libitum durante todo el período de estudio. Los animales recibieron una inyección intramuscular de 0,5 a 1 mg/Kg de maleato de acepromazina. Quince minutos más tarde, se administró por vía intravenosa anestesia general de 5 a 8 mg/Kg de ketamina más clorbutol con 0,05 mg/Kg de atropina como coadyuvante.

La calvaria de conejo se afeitó y se lavó con Sea4 Encías (agua de mar con ácido hialurónico). Las secciones mediales del cráneo se expusieron a través de una incisión en la piel y una cuidadosa disección subperióstica (Figura 1). Se crearon dos defectos de 6 mm de diámetro (16). El área quirúrgica se irrigó con solución salina fisiológica estéril para eliminar los restos óseos.

Biomaterial dentario

Los premolares mandibulares y los primeros molares (P2, P3, P4, M1) de 6 perros Beagle fueron extraídos bilateralmente bajo anestesia general una



5

Figura 5. Calota expuesta con injerto de diente particulado y zona control sin rellenar.

semana antes (Figura 2). Los dientes con múltiples raíces fueron seccionados en una dirección buco-lingual en la bifurcación usando una fresa de carburo de tungsteno para que las raíces pudieran ser extraídas individualmente, sin dañar las paredes óseas restantes.

Los dientes limpios y secos fueron triturados de inmediato usando el Smart Dentin Grinder, especialmente diseñado para este procedimiento. Las partículas de diente que se obtuvieron fueron de 300-600 y 1200 um, que posteriormente se tamizan a través de un sistema de clasificación especial en dos compartimentos (Figuras 3-4).

Los dientes en partículas se sumergieron en un limpiador básico de alcohol en un recipiente estéril para disolver todos los residuos orgánicos y bacterias durante 10 minutos. A continuación, las partículas se incluyen en EDTA para descalcificar parcialmente las partículas por 2 minutos y finalmente se lavan con solución salina estéril durante 3 minutos. Luego se injertan en los defectos críticos elegidos aleatoriamente. A los 60 días los animales fueron sacrificados.

Un defecto se llenó con gránulos de diente triturado (Grupo A). El segundo defecto no se llenó usándolo como control y se cubrieron los defectos con una membrana de colágeno (Grupo B), (Figura 5). Posteriormente. Las muestras se asignaron a los grupos de prueba utilizando un software de aleatorización (www.randomization.com).

La analgesia se administró mediante inyección de Novalgín (50 mg/Kg de peso corporal) y se administró amoxicilina (0,1 ml/Kg por vía intramuscular) al final de la cirugía.

Los animales se mantuvieron en una habitación especialmente diseñada para animales experimentales y se alimentaron con una dieta estándar de laboratorio.

Análisis estadístico

Los valores se registraron como media-desviación estándar. Para la comparación de las medias se aplicó una prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras relacionadas, suponiendo un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$). Si la distribución de dos variables pareadas en dos muestras relacionadas es la misma. Esta prueba tiene en cuenta la magnitud de las diferencias entre dos variables pareadas. Se consideraron como hipótesis nula los medios iguales, mientras que la existencia de diferencias significativas entre los medios actuó como una hipótesis alternativa. Como diferencias significativas entre los medios existentes, la hipótesis nula fue rechazada. Todos los datos se expresaron como promedios medios y desviación estándar. Se utilizó la prueba t de Student para analizar las diferencias entre las varia-

bles. El análisis estadístico se realizó utilizando SPSS 15.0 software (SPSS, Chicago, IL, EE.UU.). La significación se estableció como $p < 0,05$.

Resultados

Análisis Histomorfométrico

La histomorfometría encontró un total de hueso neoformado de $47 \pm 4,6\%$ en defectos tratados con Dentin Grinder, con diferencias significativas entre las muestras de control ($3 \pm 1,3\%$). (Tabla I). Este hallazgo reveló diferencias significativas entre el material de relleno en comparación con el grupo de control (Figura 6). También hubo diferencias significativas entre este período de estudio y los resultados obtenidos a los 60 días.

Radiovisiografía

En la imagen 7 podemos observar una condensación de partículas óseas más homogéneas y estables que en el hueso con Dentin Grinder a los 60 días de su colocación (Figura 7)

60 días / Microscopia óptica

Para los grupos tratados con diente particulado, las imágenes se caracterizaron por un predominio de hueso neoformado maduro bien organizado por osteonas, aunque todavía había áreas de hueso desorganizado con alta celularidad, aunque en una pequeña proporción del tejido óseo total (Figura 8).

El grupo control mostró una mayor organización de tejido conectivo y mucho hueso inmaduro desorganizado en el grupo control (Figura 9).

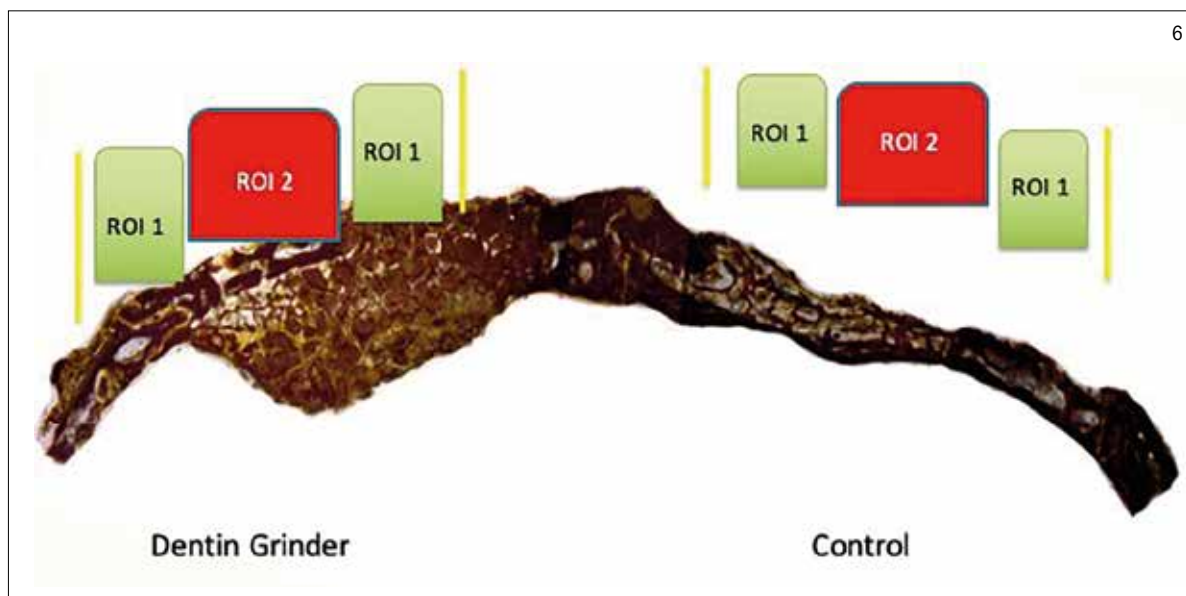


Figura 6. Zonas de ROI de Dentin Grinder y control para histomorfometría.

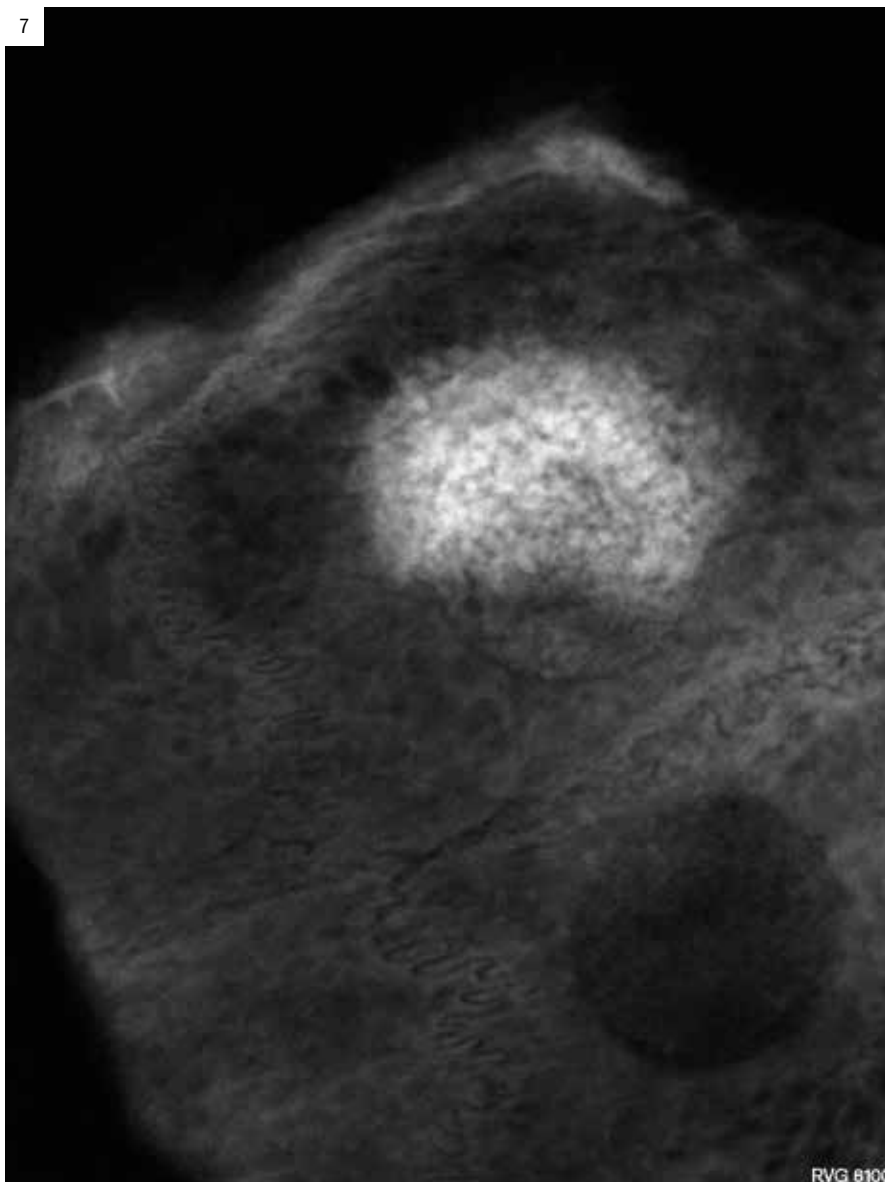


Figura 7. Radiografía de calota a 60 días de evolución.

En la figura 10 se observa la mayor formación de hueso y un gran mantenimiento de las paredes óseas de la calota en la zona lateral derecha (Figura 10)

Discusión

Desde el primer resultado en el que los dientes generaron huesos como lo demuestra el estudio de Urist en el que examinó la generación de hueso después de aplicar el diente desmineralizado en partes distintas del hueso, no se ha investigado la capacidad del diente para generar huesos. Ideal para la reconstrucción de defectos de tejido duro. Tiene capacidad de formación ósea, osteoconducción, osteoinducción y osteointegración, y no desencadena reacción de cuerpo extraño asegurando una la curación rápida (17-20). Nuestros resultados revelan una interacción similar

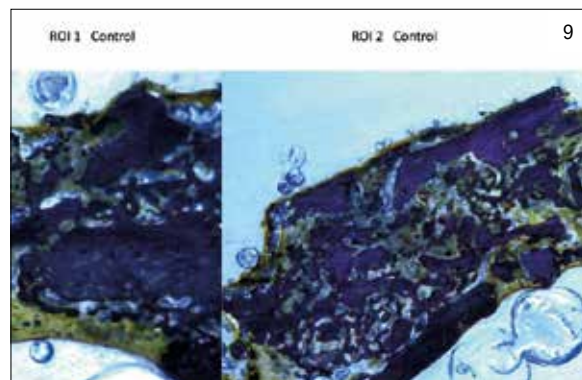
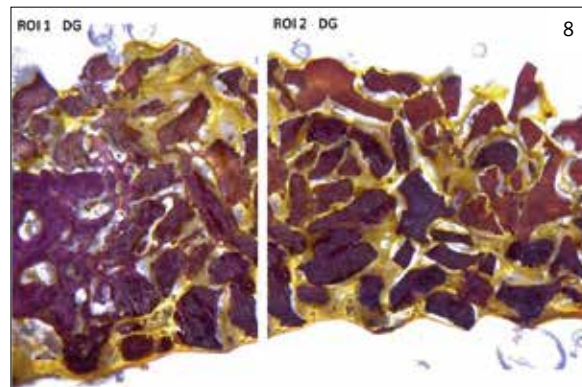


Figura 8. Biopsia de Dentin Grinder donde se observa un hueso nuevo, con osteonas maduras y nuevo hueso alrededor de las partículas a 90 días. Tinción picrosirius- hematoxilina x20.

Figura 9. Biopsia de la zona de control donde se observa una gran cantidad de hueso neoformado, inmaduro, desorganizado a los 60 días de evolución.

Figura 10. Biopsia de la zona de control donde se observa poca formación ósea y en la zona de Dentin Grinder con mayor formación ósea.

entre la dentina mineralizada y las células osteogénicas que unen y producen la matriz ósea mineralizada directamente sobre el andamio dejado por el diente particulado (14-15).

El material de injerto óseo derivado del diente tiene una característica que no presenta antigenicidad, mejora las capacidades de remodelación del hueso estimulando la osteoinducción. Entre una variedad de

materiales de injerto óseo disponibles, la elección del material de injerto debe ser dictada por la extensión de los defectos y los fines de procedimiento, el injerto óseo derivado de los dientes puede ser considerado como una opción dada su origen autógeno y resultados clínicos e histológicos favorables cuando la extracción de los dientes es necesaria. Aunque la dentina desmineralizada expone el crecimiento de-

rivado de la matriz y los factores de diferenciación para la osteogénesis efectiva, el hueso recién formado y la dentina desmineralizada residual son débiles para soportar el anclaje del implante. Por el contrario, nuestro procedimiento SDG (Smart Dentin Grinder) permite la preparación de dentina en partículas libre de bacterias a partir de dientes autólogos recién extraídos, listos para ser utilizados inmediatamente como material autólogo en la misma sesión.

Además, a pesar de las propiedades inductivas, la dentina mineralizada se integra con el hueso recién formado, creando un sitio sólido para el anclaje de los implantes dentales. De hecho, hay autores que describen estudios clínicos que indican que la inserción y carga del implante se puede realizar en mandíbulas inferiores y superiores 2-3 meses en una malla de diente triturado (20-21).

Conclusiones

Consideramos que la dentina autógena puede considerarse como un estándar para la preservación del hueso alveolar y relleno de defectos críticos de 6 mm. Actualmente, el diente triturado puede usarse como injerto óseo sin perder la capacidad de regeneración ósea, manteniendo el espacio y con menor reabsorción comparado con los defectos sin rellenar.

Resumen

Objetivos

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de nueva formación ósea de los dientes particulados, injertados inmediatamente en los defectos críticos de 6 mm comparados con los sitios sin relleno a 60 días en calotas de conejos de Nueva Zelanda.

Métodos

Se utilizaron 21 conejos de Nueva Zelanda. Se provocaron dos defectos de 6 mm de diámetro en la zona parietal y se rellenaron con diente triturado de seis perros Beagle. Los dientes extraídos fueron triturados usando el Smart Dentin Grinder, especialmente diseñado para este procedimiento. Las partículas de diente que se obtuvieron fueron de 300-600 y 1200 um. Los dientes triturados fueron injertados en defectos críticos de 6 mm de diámetro de manera arbitraria.

Este estudio evaluó la cicatrización de tejidos y la formación ósea mediante análisis histológico e histomorfométrico a los 60 días.

Resultados

Se evaluó la formación ósea alrededor del diente triturado con una mayor formación ósea en el grupo A en comparación con el grupo control a los 60 días ($p < 0,05$). El hueso inmaduro fue menor en el grupo del Dentin Grinder comparado con el grupo control. Hubieron diferencias significativas entre la formación ósea a los 60 días, en el grupo A comparado con el grupo control por la concentración de colágeno en el diente.

Conclusiones

Las partículas de diente triturado autógeno deben considerarse como un nuevo biomaterial adecuado para el relleno de defectos óseos críticos.

Bibliografía

- Delgado-Ruiz RA., Calvo-Guirado JL., Romanos GE. (2014) Critical size defects for bone regeneration experiments in rabbit calvariae: systematic review and quality evaluation using ARRIVE guidelines Clinical Oral Implant Research 0:1-16.
- Chiapasco, M., Zaniboni, M. & Boisco, M. (2006) Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. Clinical Oral Implants Research 17:136-159.
- Choi SY1, Jang YJ, Choi JY, Jeong JH, Kwon TG. (2013) Histomorphometric analysis of sinus augmentation using bovine bone mineral with two different resorbable membranes. Clinical Oral Implants Research 24:68-74.
- Pérez-Sánchez M.J., Ramírez-Glindon E., Lledó-Gil M., Calvo-Guirado J.L. & Pérez-Sánchez C. (2010) Biomaterials for bone regeneration. Medicina Oral, Patología Oral & Cirugía Bucal. 15: 517-522.
- Barone A., Ricci M., Covani U., Nannmark U., Azarmehr I., Calvo-Guirado JL. (2012) Maxillary Sinus Augmentation Using Prehydrated Corticocancellous Porcine Bone: Hystomorphometric Evaluation after 6 Months. Clinical Implant Dentistry and Related Research 14:373-379.
- Calvo-Guirado JL., Ramirez-Fernandez MP., Gomez-Moreno G., Mate-Sanchez JE., Delgado-Ruiz R., Guardia J., Lopez-Man L., Barone A., Ortiz-Ruiz JA., Martinez-Gonzalez JM., Bravo LA. (2010) Melatonin stimulates the growth of new bone around implants in the tibia of rabbits Journal of Pineal Research 49:356-63.
- Calvo-Guirado JL, Garces M., Delgado-Ruiz RA., Ramirez-Fernandez MP, Ferres-Amat E., Romanos GE. (2014) Biphasic b-TCP mixed with silicon increases bone formation in critical site defects in rabbit calvaria. Clinical Oral Implants Research 015 Aug;26(8):891-897.
- Nanci, A. Ten Cate's Oral Histology, 7th ed. Elsevier Inc. (2008), 202-211.
- Min, B. M. Oral Biochemistry. Daehan Narae Pub Co. Seoul. (2007), 22-26.
- Murata, M., Maki, F., Sato, D., Shibata, T., & Arisue, M. (2000). Bone augmentation by onlay implant using recombinant human BMP-2 and collagen on adult rat skull without periosteum. Clin Oral Impl Res, 11., 289-295.
- Akazawa, T., Murata, M., Sasaki, T., Tazaki, J., Kobayashi, M., Kanno, T., Matsushima, K., & Arisue, M. (2006). Biodegradation and bioabsorption innovation of the functionally graded cattle-bone-originated apatite with blood compatibility. J Biomed Mater Res, 76A., 1., 44-51.
- Murata, M., Akazawa, T., Tazaki, J., Ito, K., Sasaki, T., Yamamoto, M., Tabata, Y., & Arisue, M. (2007). Blood permeability of a novel ceramic scaffold for bone morphogenetic protein-2. J Biomed Mater Res, 81B., 2., 469-475.
- Akazawa, T., Murata, M., Hino, J., Nakamura, K., Tazaki, J., Kikuchi, M., & Arisue, M. (2007). Materials design and application of demineralized dentin/apatite composite granules derived from human teeth. Archives of Bioceramics Research, 7., 25-28.
- Kim SG, Kim HK, Lim SC. Combined implantation of particulate dentin, plaster of Paris, and a bone xenograft (Bio-Oss) for bone regeneration in rats. J Craniomaxillofac Surg 2001;29: 282-8.
- Calvo-Guirado JL, Maté-Sánchez de Val JE, Ramos-Oltra ML, Pérez-Albacete Martínez C, Ramírez-Fernández MP, Maiquez-Gosálvez M, Gehrke SA, Fernández-Domínguez M, Romanos GE, Delgado-Ruiz RA. The Use of Tooth Particles as a Biomaterial in Post-Extraction Sockets. Experimental Study in Dogs. Dent J (Basel). 2018 May 6;6(2). pii: E12. doi: 10.3390/dj6020012
- Calvo-Guirado JL, Cegarra Del Pino P, Sapozhnikov L, Delgado Ruiz RA, Fernández-Domínguez M, Gehrke SA. A new procedure for processing extracted teeth for immediate grafting in post-extraction sockets. An experimental study in American Fox Hound dogs. Ann Anat. 2018 May;217:14-23. doi: 10.1016/j.aanat.2017.12.010. Epub 2018 Feb 15. Erratum in: Ann Anat. 2018 May 10;218:213.
- Le Guehennec L., Goyenvalle E., Aguado E., Houchmand-Cuny M., Enkel B., Pilet P., Daculsi G. & Layrolle P. (2005) Small-animal Models for Testing Macroporous Ceramic Bone Substitutes. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials 72:69-78.
- Urist, MR. (1965). Bone: Formation by autoinduction. Science, 150., 893-899.
- Urist, MR., Iwata, H., Ceccotti, PL., Dorfman, RL., Boyd, SD., McDowell, RM., & Chien, C. (1973). Bone morphogenesis in implants of insoluble bone gelatin. Proc Nat Acad Sci USA, 70., 3511-3515.
- Urist, MR., Mizutani, H., Conover, MA., Lietze, A., & Finerman, GA. (1982) Dentin, bone, and osteosarcoma tissue bone morphogenetic proteins. Prog Clin Biol Res, 101., 61-81.
- Kim YK, Kim SG2, Yun PY1, Yeo IS3, Jin SC4, et al. (2014) Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison with traditional grafting materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 117: e39-45.
- Andersson L (2010) Dentin xenografts to experimental bone defects in rabbit tibia are ankylosed and undergo osseous replacement. Dent Traumatol 26: 398-402.