



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación

D^a Rebeca Rivas Ballester

2024



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Rebeca Rivas Ballester

doctorando del Programa de Doctorado en

Ciencias de la salud (Plan 2013)

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación

y dirigida por,

D./Dña. Fabio Camacho Alonso

D./Dña. Maria del Rosario Tudela Mulero

D./Dña.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 27 de Septiembre de 2024

Fdo.:

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia

AGRADECIMIENTOS

A todos los que han formado parte de este proyecto y en especial a mis directores de tesis, Dr. Fabio Camacho Alonso y la Dra. María del Rosario Tudela Mulero, así como a la Dra. Ana María Mercado Díaz, por transmitir tanto amor por la investigación y haberme dado la oportunidad de seguir formándome a su lado.

A mi familia por su amor eterno e incondicional. En especial a mi primo Raúl, al que admiro y deseo mucha prosperidad en su nueva etapa como doctorando en Toronto.

A mi gran apoyo y compañero de vida, por motivarme en lo profesional y personal a seguir mejorando cada día.

A mi abuela, por haber sido ejemplo de bondad, fortaleza, trabajo y esfuerzo. Dejaste en todos nosotros un legado maravilloso y un amor infinito que perdurará por siempre. Siempre serás la luz que nos guía.

A todos ellos, gracias.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACB: hueso cortical autólogo

ACTI: Área Científico y Técnica de Investigación

ADN: ácido desoxirribonucleico

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

ASA: Sociedad Americana de Anestesiología

BBM: mineral óseo bovino

BMP: proteína morfogenética ósea

BMP-2: proteína morfogenética ósea 2

BGLAP: Proteína gamma-carboxiglutamato (gla) ósea

Ca: calcio

CaP: fosfato de calcio

Ca²⁺: Calcio

Ca₃(PO₄)₂: Fosfato de calcio

Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂: hidroxiapatita

CBCT: tomografía computarizada de haz cónico

CBD: contaminantes bacterianos presentes en los restos óseos

cm: centímetros

CONSORT: Declaración de Estándares Consolidados de Informes de Ensayos

CO₂: dióxido de carbono

CT: tomografía computarizada

DBM: matrices óseas desmineralizadas

DEX: dexametasona

DMEM: medio de cultivo Eagle modificado de Dulbecco

DMSO: Dimetilsulfóxido

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EDX: espectrometría de rayos X de energía dispersiva

EGF: factor de crecimiento epidérmico

ELISA: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

FBC: Frios Bone CollectorA

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos

FDBA: aloinjerto óseo liofilizado

FGF: factor de crecimiento de fibroblastos

FESEM: microscopio electrónico de barrido de emisión de campo

g: gramos

HA: hidroxapatita

HGF: factor de crecimiento hepatocitario

IGF: factor de crecimiento similar a la insulina

IGF I: factor de crecimiento similar a la insulina 1

IGF II: factor de crecimiento similar a la insulina 2

kV: kilovoltaje

min: minuto

ml: mililitros

mm: milímetros

mm²: milímetros cuadrados

mg: miligramos

mg/mL: miligramos por mililitro

MPa: megapascal

MTT: método de reducción de metil tiazol tetrazolio

nm: nanómetros

P: fósforo

PBS: solución salina tamponada con fosfato

PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas

pg/ml: picogramos por mililitro

PH: potencial de hidrógeno

PO₄³⁻:ión fosfato

PRGF: plasma rico en factores de crecimiento

RNasa: ribonucleasa

ROG: regeneración ósea guiada

rpm: revoluciones por minuto

SACE: Servicio de Cultivo de Tejidos del Servicio de Apoyo a las Ciencias Experimentales

SFB: suero bovino fetal

TC: tomografía computarizada

TCP: fosfatos tricálcicos

TGF: factor de crecimiento transformador

TGF- β : factor de crecimiento transformador beta

TGF- β 1: factor de crecimiento transformador beta 1

UH: unidades Hounsfield

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

UFC: unidades formadoras de colonias

α -TCP: fosfato tricálcico alfa

α' -TCP : fosfato tricálcico alfa prima

β -TCP: fosfato tricálcico beta

γ -TCP: fosfato tricálcico gamma

μ g: microgramos

μ m: micrómetro

μ g/mL: microgramos por mililitro

μ L: microlitro

$^{\circ}$ C: grados centígrados

RESUMEN

Objetivo: Comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de la recolección de partículas autólogas durante la cirugía de implantes utilizando fresado de baja velocidad sin irrigación y fresado de alta velocidad con irrigación. **Materiales y métodos:** Treinta pacientes con ausencia bilateral de dientes de 3.6 y 4.6 fueron asignados aleatoriamente a dos grupos (Grupo 1: fresado a baja velocidad sin irrigación y Grupo 2: fresado a alta velocidad con irrigación) y se colocaron 60 implantes dentales individuales. Se registró la temperatura en la punta de cada fresa y se pesó el hueso extraído; también se analizaron el tamaño de las partículas y los niveles de Ca y P. Después del cultivo de osteoblastos, se evaluaron la viabilidad celular, el ensayo del ciclo celular, la migración celular, la concentración de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la formación de nódulos mineralizados. **Resultados:** Aunque la temperatura de las fresas fue ligeramente mayor en el grupo 1, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$), sin embargo, la cantidad de hueso cosechado fue mayor ($p < 0,001$), el tamaño de las partículas fue mayor ($p = 0,019$), y los niveles de Ca y P también fueron mayores ($p = 0,582$ y $p = 0,860$). En relación con la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico, en el grupo 1 se observó mayor proliferación celular, mayor número de células en las fases G2/M y S, mayor capacidad de migración celular, mayor concentración de VEGF y mayor cantidad de formación de nódulos mineralizados. **Conclusiones:** El fresado a baja velocidad sin irrigación no produce un aumento significativo de la temperatura ósea en comparación con el fresado convencional. Sin embargo, se obtiene una mayor cantidad de hueso, con partículas óseas de mayor tamaño y mayores niveles de Ca y P; además, la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico es mayor con esta técnica; pero son necesarios más estudios clínicos.

Palabras clave: fresado a baja velocidad sin irrigación, fresado a alta velocidad con irrigación, hueso extraído, actividad de osteoblastos, potencial osteogénico.

ABSTRACT

Objective: To compare the osteoblastic activity and osteogenic potential of autogenous particle harvesting during implant surgery using low-speed drilling without irrigation and high-speed drilling with irrigation. **Materials and Methods:** Thirty patients with bilateral missing teeth of 3.6 and 4.6 were randomised into two groups (Group 1: low-speed drilling without irrigation and Group 2: high-speed drilling with irrigation) and 60 single dental implants were placed. The temperature at the tip of each drill was recorded and the harvested bone was weighed, particle size and Ca and P levels were also analysed. After osteoblast culture, cell viability, cell cycle assay, cell migration, vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration, and mineralised nodules formation were assessed. **Results:** Although the temperature of the drills was slightly higher in group 1, no statistically significant differences were observed ($p \leq 0.05$), however, the amount of harvested bone was higher ($p < 0.001$), the size of the particles was higher ($p = 0.019$), and Ca and P levels were also higher ($p = 0.582$ and $p = 0.860$). In relation to osteoblastic activity and osteogenic potential, higher cell proliferation, higher number of cells in G2/M and S phases, higher cell migration capacity, higher VEGF concentration, and higher amount of mineralised nodule formation were observed in group 1. **Conclusions:** Low-speed drilling without irrigation does not result in a significant increase in bone temperature compared to conventional drilling. However, a greater amount of bone is obtained, with larger bone particles and higher Ca and P levels; in addition, osteoblastic activity and osteogenic potential is higher with this technique; but further clinical studies are necessary.

Keywords: Low-speed drilling without irrigation, high-speed drilling with irrigation, harvested bone, osteoblast activity, osteogenic potential.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	18
1.1.	Características del hueso maxilar y propiedades	19
1.2.	Hueso autólogo y sustitutos óseos	20
1.2.1.	Propiedades de los autoinjertos y sustitutos óseos	20
1.3.	Sustitutos óseos: tipos.....	25
1.3.1.	Materiales aloplásticos	25
1.3.2.	Xenoinjertos	30
1.3.3.	Aloinjertos	31
1.3.4.	Autoinjertos	32
1.3.4.1.	Tipos de hueso autólogo según densidad: cortical y esponjoso	33
1.3.4.2.	Tipos de hueso autólogo según área de obtención: zonas y características	34
1.3.4.3.	Hueso autólogo particulado	36
1.3.4.4.	Tamaño de las partículas según recolección.....	43
1.3.4.5.	Tipos de fresado: revoluciones por minuto e irrigación	43
1.3.4.6.	Temperatura, velocidad, torque del fresado quirúrgico y sobrecalentamiento	47
1.3.4.7.	Densidad ósea y fresado quirúrgico	49
2.	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	53
2.1.	Justificación	53
2.2.	Objetivos.....	57
3.	METODOLOGÍA	62
3.1.	Reclutamiento y características de los pacientes.....	62
3.2.	Procedimiento quirúrgico	63
3.3.	Temperaturas de fresado	65

3.4.	Análisis de la cantidad de hueso recogido durante la osteotomía del implante	65
3.5.	Estudio del tamaño de partículas y propiedades químicas (niveles de Ca y P) mediante el análisis de la composición mineral del hueso	67
3.6.	Viabilidad celular (ensayo de proliferación celular)	67
3.7.	Ensayo del ciclo celular.....	69
3.8.	Migración celular (ensayo de cicatrización de heridas)	70
3.9.	Determinación de la concentración de VEGF en la matriz de partículas óseas..	71
3.10.	Ensayo de mineralización de matriz mediante tinción con rojo de alizarina....	71
3.11.	Análisis estadístico	72
4.	RESULTADOS	76
4.1.	Temperaturas de fresado	76
4.2.	Análisis de la cantidad de hueso extraído durante la osteotomía sobre implantes	78
4.3.	Estudio del tamaño de partículas y propiedades químicas (niveles de Ca y P) mediante análisis de la composición mineral ósea	78
4.4.	Viabilidad celular (ensayo de proliferación celular)	80
4.5.	Ensayo del ciclo celular.....	81
4.6.	Migración celular (ensayo de curación de heridas)	83
4.7.	Determinación de la concentración de VEGF en matriz de partículas óseas....	84
4.8.	Ensayo de mineralización de matriz mediante tinción con rojo de alizarina....	85
5.	DISCUSIÓN	89
6.	CONCLUSIONES	109
7.	BIBLIOGRAFÍA	113
8.	ANEXO I	143
9.	ANEXO II	144

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La rehabilitación dental en pacientes parcial o totalmente edéntulos con implantes dentales es un tratamiento habitual en la práctica clínica diaria con resultados predecibles a largo plazo (Chiapasco y Zaniboni, 2011). Con los grandes avances en implantología dental, la rehabilitación sobre implantes se ha convertido en el plan de tratamiento idóneo para la reposición de dientes perdidos o con pronóstico imposible (Liang y cols., 2017).

La ausencia de dientes suele ser resultado de una extracción dental, un traumatismo o de agenesia dental (Al-Ani y cols., 2017; Esposito y cols., 2008; Streckbein y cols., 2019). La pérdida dental está asociada a la reabsorción ósea del hueso alveolar y a la formación de defectos óseos en la cresta ósea maxilar (Reich y cols., 2011). En este sentido, son diversos los factores que pueden dar lugar a defectos óseos del proceso alveolar, tales como infecciones dentales, traumatismos dentoalveolares, trauma quirúrgico debido a la extracción o enfermedad periodontal. Los defectos óseos afectan a la colocación del implante, ya que se traducen en un volumen óseo insuficiente a nivel vertical y/o horizontal, y en el peor de los casos a una relación intermaxilar inadecuada, dificultando el tratamiento, además, desde un punto de vista funcional y estético (Sorní y cols., 1999; Hoexter., 2002; Esposito y cols., 2006, Aloy-Prósper y cols., 2011; Chiapasco y Zaniboni, 2011; Liang y cols., 2017).

La ausencia de dientes a partir del tercer mes puede provocar una atrofia local de la cresta alveolar debido a la falta de fuerzas masticatorias y de estímulos funcionales (Atwood, 1971; Atwood, 1979; Streckbein y cols., 2019). La necesidad de recuperar la función masticatoria ha dado lugar a que el número de implantes dentales empleados para la reposición de dientes perdidos haya aumentado exponencialmente en los últimos años (Stillman y Douglass, 1993; Murdock y Hoque, 1998; Manzano-Moreno y cols., 2013). Los implantes dentales osteointegrados de titanio constituyen un tratamiento seguro con tasas de éxito de alrededor del 95% a largo plazo (Moraschini y cols., 2015; Bernabeu-Mira y cols., 2021). La estabilidad primaria juega un papel fundamental en la oseointegración de los implantes (Lioubavina-Hack y cols., 2006). Para garantizar la

estabilidad primaria del implante, su osteointegración y, por tanto, el éxito a largo plazo es necesario un volumen óseo adecuado (Buser y cols., 1999; Peñarrocha-Diago y cols., 2005; Aghaloo y Moy, 2007; Esposito y cols., 2008; Aloy-Prósper y cols., 2011; Manzano-Moreno y cols., 2013; Liang y cols., 2017; Streckbein y cols., 2019). En este sentido, un volumen óseo inadecuado es la principal limitación de esta terapia, comprometiendo la supervivencia del implante y contraindicando este tratamiento en un gran número de casos (Andersson y cols., 1995; Hunt y Jovanovic, 1999; Manzano-Moreno y cols., 2013).

Los defectos óseos en el hueso maxilar pueden solucionarse con ayuda de técnicas regenerativas asociadas a injertos óseos. El injerto óseo puede ser de diferentes orígenes: autólogo o tratarse de sustitutos óseos, que pueden ser alogénicos, xenogénicos o aloplásticos, dependiendo de su origen (Hung y cols., 2020). El objetivo final es la reconstrucción de la estructura y funcionalidad del hueso maxilar.

1.1. Características del hueso maxilar y propiedades

El hueso maxilar se compone de dos porciones (Jordana y cols., 2017): (1) una porción mineral (alrededor del 70% del tejido) compuesto por fosfato cálcico (calcio, Ca: 35,5%; fósforo, P: 18,5%; iones en forma de trazas). La cristalinidad y la relación Ca/P (que es entre 1,61 y 1,66) dependen de la edad y el tipo de hueso (cortical o esponjoso); (2) una porción orgánica (alrededor del 30%) de proteína (compuesto por un 95% de colágeno tipo I).

El hueso maxilar consta de una corteza exterior o cortical y una parte interna medular o hueso trabecular. La resistencia a la compresión del hueso es de 150 MPa para hueso cortical y 7 MPa para hueso trabecular. El hueso maxilar está sujeto a un proceso de remodelación ósea mediante fenómenos constantes de reabsorción y aposición ósea. Estos procesos son imprescindibles para mantener la estructura ósea y para la adaptación a nuevas condiciones (Raggatt y Partridge, 2010; Shimizu y cols., 2023). Las cargas mecánicas desempeñan papeles importantes en la remodelación ósea. Durante el proceso de remodelación, los osteocitos desempeñan funciones cruciales como mecanosensores para traducir la tensión mecánica en señales reguladoras en los osteoblastos y los

osteoclastos (Bonewald., 2006; Klein-Nulend y cols., 2013; Lai y cols., 2015; Shimizu y cols., 2023). Sin embargo, los mecanismos moleculares precisos por los cuales los estímulos mecánicos afectan la función de los osteocitos aún no están claros (Shimizu y cols., 2023).

En este sentido, los osteocitos, que están incrustados en las lagunas óseas, constituyen más del 90% de los componentes celulares del hueso maduro (Shimizu y cols., 2023). Los osteocitos ubicados en los tejidos óseos están expuestos a diversas fuerzas, incluida la gravedad, la compresión y la tensión (Wang y cols., 2019; Shimizu y cols., 2023).

A diferencia de muchos otros órganos, los huesos humanos cicatrizan en respuesta a lesiones o tratamientos quirúrgicos. La reparación ósea es un proceso que utiliza el potencial regenerativo endógeno para restaurar la estructura ósea original, sin aumentar el volumen óseo. Aunque comparte ciertas similitudes con la reparación ósea, la regeneración ósea es un proceso complicado y bien orquestado, que generalmente involucra elementos para promover la formación de nuevos tejidos mineralizados y conduce a un aumento de volumen óseo (Ai-Aql y cols., 2008; Hu y Olsen, 2016).

1.2. Hueso autólogo y sustitutos óseos

1.2.1. Propiedades de los autoinjertos y sustitutos óseos

La reparación ósea es una compleja cascada de procesos biológicos controlados por numerosas citoquinas y factores de crecimiento que proporcionan señales en el lugar de la lesión, permitiendo a las células madre y a las células inflamatorias migrar y desencadenar el proceso de cicatrización (Jordana y cols., 2017). De este modo, es imprescindible el desarrollo de materiales óseos que sirvan como matriz osteoconductiva para la liberación de los factores de crecimiento necesarios para la óptima regeneración ósea y que proporcionen un espacio tridimensional y un soporte mecánico (Garai y Sinha, 2014; Liao y cols., 2014; Wubneh y cols., 2018).

Los sustitutos óseos deben poseer una serie de propiedades para que puedan ser utilizados en reconstrucción ósea, como una composición química similar a la del hueso

maxilar, microporosidad, tamaño de partícula, y unas cualidades de superficie y rugosidad específicas (Buser, 2009). Según la evidencia científica el sustituto óseo ideal (Greenwald y cols., 2001; Giannoudis y cols., 2005) debe ser biocompatible, bioabsorbible, fácil de usar, económico, con una integridad estructural similar a la del hueso, (Giannoudis y cols., 2005) una matriz osteoconductora y, además, debe contener factores osteoinductores, capaces de reclutar y estimular células encargadas de la formación y la reparación ósea (Jordana y cols., 2017).

En la actualidad, no existe ningún sustituto óseo que cumpla todos los requisitos mencionados, por lo que estos sustitutos se utilizan frecuentemente en combinación con hueso autólogo, con una membrana barrera, con material de osteosíntesis o bien con otros medios de estabilización ósea (Jordana y cols., 2017).

La porosidad de un biomaterial condiciona sus propiedades mecánicas y el crecimiento óseo. Distinguimos, por un lado, la microporosidad debida a los poros de tamaño $\leq 10 \mu\text{m}$, la cual representa los espacios entre los granos o cristales del biomaterial y permite la difusión de fluidos biológicos e intercambios iónicos (Ca^{2+} y PO_4^{3-}); y, por otra parte, la macroporosidad debida a poros con diámetros mayores a $100 \mu\text{m}$, que guían en profundidad a las células (Jordana y cols., 2017).

El modo de integración del injerto en el área receptora depende principalmente de su origen y composición (Khoury y Hanser, 2015). Los aloinjertos, xenoinjertos, así como el material aloplástico de origen sintético o natural, poseen propiedades osteoconductoras, es decir, actúan a modo de andamio para el crecimiento de hueso nuevo y por tanto quedan integrados formando parte del hueso nuevo regenerado (Khoury y Hanser, 2015). No obstante, los autoinjertos son osteoinductivos, osteogénicos y osteoconductoros, es decir, poseen una mayor capacidad regenerativa en comparación con los otros tipos de injertos. Por ello, el hueso autólogo se considera el estándar de oro en las técnicas de aumento óseo (Khoury y Hanser, 2015).

- **Propiedades de los autoinjertos y sustitutos óseos: osteoconducción**

La osteoconducción es la capacidad que posee un material para permitir y guiar el crecimiento óseo en su interior, con una reabsorción paulatina de la matriz implantada (Albrektsson y Johansson, 2001). La formación ósea alrededor de la superficie de los implantes depende de la acción de células óseas diferenciadas. Estas células pueden originarse a partir de preosteoblastos/osteoblastos preexistentes que se activan por un traumatismo o en células reclutadas a partir de células mesenquimales primitivas mediante osteoinducción (Frost, 1989; Frost 1989).

La osteoconducción está condicionada en gran parte por la osteoinducción previa. Se necesitan varios tipos de factores de crecimiento óseo para la formación de nuevo hueso. En el año 1980 Albrektsson estudió la osteoconducción y remodelación ósea *in vivo* y llegó a la conclusión de que para la formación ósea es necesaria la llamada “vascularización completa” (Albrektsson y cols., 1980). Los factores de crecimiento son tanto mitogénicos como angiogénicos (Trippel y cols., 1996). En la literatura científica hay evidencia de que los factores de crecimiento que regulan el tejido óseo incluyen el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF I, II), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento transformador beta (TGF- β) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Estos factores de crecimiento son proteínas que sirven como agentes de señalización para las células (Trippel y cols., 1996).

Además, el crecimiento óseo no ocurre sin un suministro de sangre adecuado (Albrektsson y Johansson, 2001). Sin embargo, en el caso de los implantes, la conducción ósea depende tanto de las condiciones para la regeneración ósea, como del biomaterial utilizado y sus respuestas (Albrektsson y cols., 1981).

- **Propiedades de los autoinjertos y sustitutos óseos: osteoinducción**

La osteoinducción es la capacidad que tiene un material para promover la formación de hueso nuevo en el sitio receptor. Se trata del reclutamiento de células inmaduras y la estimulación de estas células para que se conviertan en preosteoblastos (Frost, 1989; Frost, 1989). Se trata del procedimiento mediante el cual las células primitivas, indiferenciadas y pluripotentes son estimuladas para convertirse en nuevas células formadoras de hueso.

Además de las células óseas diferenciadas (osteoblastos), los osteoclastos y osteocitos, el hueso y los tejidos adyacentes contienen una serie de células menos diferenciadas. Estas células indiferenciadas son de gran importancia para la formación ósea, cicatrización o estabilidad del implante. Estas células indiferenciadas pueden ser reclutadas para formar células osteoprogenitoras (Young, 1963) y, posteriormente, convertirse en células óseas diferenciadas con el estímulo correcto (el agente inductivo), una célula mesenquimatosa indiferenciada puede transformarse en un preosteoblasto, un proceso que constituye la inducción ósea (Albrektsson y Johansson, 2001).

En la evidencia científica se ha demostrado que los estímulos físicos, tales como el estrés o los tipos de señales eléctricas aplicadas de otro modo, influyen, directa o indirectamente, en la inducción ósea (Bassett, 1968; Dealler, 1981).

Se ha sugerido que los principales parámetros para conseguir una osteoinducción exitosa son: i) composición química de los materiales y las propiedades de disolución relacionadas, las cuales crean un ambiente rico en iones de calcio y de fosfato, ii) la geometría (porosidad, interconectividad y tamaño del poro) que ayuda al aporte de nutrientes y de oxígeno y al reclutamiento de las células madre, iii) la topografía de la superficie y los microporos, que determinan el área superficial específica y afecta a la diferenciación osteogénica de las células indiferenciadas tanto directamente (diferenciación mediada por la adhesión) o indirectamente (vía absorción/ precipitación de las proteínas endógenas relevantes), iv) la especie y la genética de los modelos animales y v) el sitio de implantación (Wang y cols., 2014; Wubneh y cols., 2018).

- **Propiedades de los autoinjertos y sustitutos óseos: osteointegración**

La osteointegración da como resultado un contacto directo entre el hueso y la superficie del implante sin una capa fibrosa intermedia (Brånemark y cols., 1977; Schroeder y cols., 1981; Albrektsson y Johansson, 2001; Salomó-Coll y cols., 2021). La osteogénesis, la osteoinducción y la osteoconducción son fenómenos interrelacionados, pero no idénticos, que concurren en la neoformación ósea. Además, la osteointegración es un proceso que depende de estos fenómenos (Brånemark y cols., 1977; Albrektsson y cols., 1981; Albrektsson y Johansson, 2001).

Osteogénico, osteoinductor y osteoconductor son propiedades que deben estar presentes en el injerto óseo ideal (Albrektsson y Johansson, 2001). En este sentido, el hueso autólogo es rico en células osteogénicas y factores de crecimiento que le atribuyen una excelente biocompatibilidad, además de propiedades osteoconductoras, osteoinductivas y osteogénicas (Streckbein y cols., 2019). Estas propiedades pueden variar entre los diferentes tipos de sustitutos óseos (Albrektsson y Johansson, 2001). Aunque recientemente se están desarrollando sustitutos óseos que contienen células osteogénicas expandidas en cultivo o factores de crecimiento osteoinductivos (Albrektsson y Johansson, 2001).

Se considera fundamental que todas estas propiedades estén presentes en los biomateriales puesto que deben desempeñar varias funciones en la regeneración ósea, entre las que se encuentran la resistencia mecánica, la biodegradabilidad y la capacidad de soporte y de inducir la diferenciación de las células regenerativas. Hasta la fecha, ningún biomaterial cumple con todos estos criterios. No obstante, combinando ciertos biomateriales que contengan características específicas puede eludirse alguna de sus limitaciones. Por tanto, varios estudios se han centrado en desarrollar y caracterizar biomateriales bioactivos y biodegradables.

1.3. Sustitutos óseos: tipos

1.3.1. Materiales aloplásticos

Los injertos aloplásticos son materiales sintéticos cuya función primaria es rellenar defectos óseos. Estos materiales tienen la ventaja de tener una disponibilidad ilimitada ya que son elaborados fisicoquímicamente de manera industrial, la manipulación es sencilla, son fáciles de almacenar y son materiales de gran calidad. El inconveniente que puede presentar es la aparición de reacciones a cuerpo extraño, dependiendo éstas de la biocompatibilidad del material (Juang y Hon, 1994; Chiba y cols., 2003).

1.3.1.1. Materiales poliméricos

Derivado de la palabra griega, polis: “muchas” y meros: “unidades”. Generalmente se dividen en dos categorías: biodegradables como el colágeno, gelatina, poli(ácido láctico) (PLA) y poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y no biodegradables como el poli(etileno) (PE), poli(etileno tereftalato) (PET) y poli(metil metacrilato) (PMMA) (Buchko y cols., 2001; Zong y cols., 2002).

Son utilizados para aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad, diseño flexible, superficie modificable, leve peso y naturaleza dúctil. Sin embargo, los polímeros tienen baja resistencia mecánica comparada a los metales y las cerámicas, lo que los hacen a menudo ideales para reconstrucción de tejidos blandos (Buchko y cols., 2001; Zong y cols., 2002).

1.3.1.2. Materiales metálicos

Algunos ejemplos son el acero inoxidable, aleaciones base-Co, Ti y sus aleaciones, las cuales han sido ampliamente utilizadas, desde principios del siglo XX, como sustitutos de tejidos duros. Sin embargo, el módulo de elasticidad del acero y las aleaciones Co-Cr es diez veces mayor que el del hueso natural; por esto, se han presentado complicaciones debido a ciertas incompatibilidades mecánicas y estructurales entre el implante y el tejido duro. Los metales poseen una gran resistencia mecánica a la tracción, resistencia a la fatiga, ductilidad y tenacidad en comparación con los materiales cerámicos y poliméricos.

Sin embargo, presentan problemas como puede ser la corrosión debido al contacto del metal con el fluido corporal. Como consecuencia de esta corrosión, se liberan iones metálicos con una gran facilidad para incorporarse al torrente sanguíneo y cuyo efecto puede ser muy perjudicial (Di Silvio y cols., 2002; Fukuba y cols., 2021)

De todos los biomateriales utilizados actualmente para el reemplazo de hueso, es reconocido que el titanio comercialmente puro (Ti c.p.) y la aleación Ti6Al4V, son los de mejor comportamiento *in vivo*, debido a su excelente equilibrio entre propiedades mecánicas, fisicoquímicas y biofuncionales. Sin embargo, a pesar de sus excelentes prestaciones, una de las principales limitaciones que presentan estos biomateriales y que, en muchos casos, comprometen la fiabilidad de los implantes es su mayor rigidez con respecto a la del hueso, lo cual produce el apantallamiento de tensiones (stress shielding) que promueve la reabsorción alrededor del implante, con el consiguiente riesgo de aflojamiento, fractura del hueso y/o del titanio (Di Silvio y cols., 2002; Fukuba y cols., 2021).

1.3.1.3. Materiales cerámicos: hidroxiapatita, fosfatos cálcicos, biocerámicas bifásicas

Es fundamental para la ingeniería tisular la creación de un material adecuado que constituya una matriz para el crecimiento de hueso nuevo, por el hecho de regular el comportamiento de las células, como la proliferación y diferenciación celular (Yang y cols., 2014; Wubneh y cols., 2018). En la evidencia científica ha sido estudiada la osteoconducción de una gran variedad de materiales sintéticos, para la reconstrucción de defectos óseos (Garai y Sinha, 2014; Wang y cols., 2014). Estos materiales compuestos están diseñados para imitar los componentes que forman el hueso, para eliminar las respuestas celulares específicas y para proporcionar un ambiente ideal para la formación de hueso (Wang y cols., 2014; Wubneh y cols., 2018). De este modo, la hidroxiapatita (HA) y los fosfatos cálcicos han sido utilizados exitosamente como materiales de injertos óseos para la regeneración de los defectos del hueso debido a sus propiedades físicas y químicas, y su similitud estructural al hueso natural. Los materiales basados en fosfato de

calcio han sido aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para las aplicaciones clínicas en el campo de la cirugía dental y ortopédica (Yang y cols., 2014; Yu y cols., 2017).

El desarrollo de fosfato de calcio de dos fases o cerámicas de fosfato cálcico bifásicas con >99% de estructura cristalina consistente en un 60% de HA y un 40% de β -fosfato tricálcico (β -TCP) en forma de partícula, hizo posible controlar la capacidad de reabsorción del β -TCP y al mismo tiempo mantener su propiedad osteoconductiva (Garai y Sinha, 2014); además de acelerar la biorreabsorción de la HA. De este modo, estas cerámicas pueden ser clasificadas como reabsorbibles por su contenido en β -TCP, a la vez que, la presencia de HA en la estructura retrasa la reabsorción del material permitiendo su presencia en el organismo el tiempo necesario para la formación del nuevo callo óseo.

El éxito de este biomaterial radica en las propiedades de la matriz (como su biocompatibilidad, osteoconductividad y grado de degradación) y de la arquitectura de la matriz (su porosidad, el tamaño del poro y la morfología de la superficie) (Garai y Sinha, 2014; Yu y cols., 2017; Hongshi y cols., 2018; Millan y cols., 2018). Gracias a esta característica inductiva el poro de esta cerámica permite alcanzar una mejor regeneración incluso en grandes defectos óseos, sin la adición de factores de crecimiento exógenos (Yu y cols., 2017; Hongshi y cols., 2018).

La principal característica de las cerámicas bifásicas es que tanto la HA como el β -TCP son osteoconductivos (Garai y Sinha, 2014; Yang y cols., 2014). Esta propiedad osteoconductiva puede estimular la unión de las células formadoras de hueso desde el hospedador, así como la migración celular y la formación de vasos sanguíneos. De este modo, HA y β -TCP pueden liberar activamente iones de calcio y de fosfato influyendo en la concentración iónica local con el fin de desencadenar y proporcionar la fuente necesaria para la deposición de calcio en la matriz y así favorecer su posterior remodelación (Yang y cols., 2014). Histológicamente, se ha demostrado que este sustituto óseo se integra completamente en una red secundaria formada por hueso esponjoso, dando lugar a una organización ósea casi completa de la antigua área del defecto (Bansal y cols., 2014). En consecuencia, las matrices de HA/ β -TCP son los materiales bioactivos más adecuados para la implantación en áreas de soporte de carga, pudiendo proporcionar una estabilidad

estructural inicial (Bansal y cols., 2014; Yang y cols., 2014). Además, la hidroxiapatita y el beta-fosfato tricálcico han demostrado tener una buena biocompatibilidad debido a que están compuestos por los mismos iones que el principal componente mineral del hueso y no produce toxicidad sistémica o reacción inmunológica (Garai y Sinha, 2014; Yang y cols., 2014).

Las características estructurales de las cerámicas a nivel macro y micrométrico también se han establecido como posibles influencias en el potencial osteoinductivo de estos biomateriales (Yang y cols., 2014). Así mismo, la topografía de la superficie y la rugosidad del biomaterial a un nivel micrométrico y nanométrico afectan a la unión, la señalización, la proliferación y la diferenciación de las células. Diferentes investigaciones de las cerámicas bifásicas como materiales de injerto óseo en la reparación de defectos óseos y periodontales han demostrado producir resultados más favorables que otro tipo de materiales ya que tienen el potencial de completar el proceso de regeneración en defectos óseos de tamaño crítico (Jain y cols., 2014; Yang y cols., 2014).

- Fosfatos cálcicos

Las formas cristalinas en las que se pueden presentar los distintos tipos de fosfatos tricálcicos (TCP) son: β -TCP, α -TCP, α' -TCP y γ -TCP. En este sentido, es la forma de β -TCP la que posee mejores características biológicas en comparación con sus análogos. Es un material que es ampliamente utilizado en clínica como sustituto del injerto óseo (Gallinetti y cols., 2014; Jain y cols., 2014) por sus propiedades osteoconductoras, estabilidad estructural, biocompatibilidad y por poseer un equilibrio favorable entre absorción y degradación. Dichas características hacen que sea un material favorable para llevar a cabo una regeneración ósea tisular (Jain y cols., 2014; Bouler y cols., 2017; Wang y cols., 2017). Este material posee una osteoconductividad alta a la vez que presenta una reabsorción relativamente fácil en los fluidos corporales y en otras soluciones (Lee y cols., 2013; Yang y cols., 2014; Wang y cols., 2017; Millan y cols., 2018). Esta particularidad se traduce en un bajo riesgo de desencadenar una reacción inmunológica al no ser identificado por el organismo como un material extraño y no permanecer durante mucho tiempo en el mismo. Esto conlleva consecuencias adversas a la hora de lograr la

formación ósea (Lee y cols., 2013; Millan y cols., 2018), ya que, la tasa de curación del hueso disminuye radicalmente si la reabsorción del material ocurre de forma más rápida que la formación de nuevo tejido óseo.

- **Hidroxiapatita**

La hidroxiapatita (HA) es un material inorgánico de origen natural, el cual forma parte del tejido mineralizado de los huesos y del esmalte de los dientes en los seres vivos. Su composición química es $[(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)]$ (Jain y cols., 2014; Khajuria y cols., 2015). Se utiliza como material de sustitución ósea debido a su composición química similar a la del hueso. Tiene una relación calcio-fosfato de 1'67 (Jain y cols., 2014; Liao y cols., 2014). Además, este componente inorgánico principal del hueso, presenta propiedades bioactivas, biodegradables y osteoconductoras. También son conocidas sus características de biocompatibilidad, no toxicidad, y de ausencia de respuesta inflamatoria e inmunogénica cuando se implantan dentro del tejido conectivo y de los tejidos óseos, y es capaz de formar un enlace químico directo con los tejidos óseos adyacentes, de manera que la deposición de cristales minerales de hueso puede ocurrir directamente sobre la superficie de las partículas de apatita implantadas (Jafarian y cols., 2008; Pinheiro y cols., 2014). Por todo ello, es una de las opciones más comúnmente utilizadas en la regeneración ósea (Garai y Sinha, 2014; Liao y cols., 2014). Los biomateriales de HA se encuentran disponibles en varias formas como cementos de HA, HA no porosas, HA porosas, HA de tamaño nanométrico y como biocerámicas presentando en esta última una estructura más densa (Jain y cols., 2014). La hidroxiapatita sintética ha sido preparada usando una variedad de métodos, como la precipitación a partir de una solución, de deposición hidrotermal, hidrólisis, síntesis mecano-química y técnicas de sol-gel. Comúnmente, los implantes de HA sintética se obtienen mediante la preparación de partículas de HA de tamaño nano o micrométrico y luego, proporcionándole la morfología o arquitectura deseada (Garai y Sinha, 2014). La hidroxiapatita en forma de matrices porosas, sustratos o gránulos ha sido ampliamente investigada para el uso en aplicaciones biomédicas, así como para la cirugía maxilofacial, periodontal y oral y para las reconstrucciones esqueléticas, demostrado que la adición de HA a las matrices óseas es

capaz de mejorar la osteoconductividad y biocompatibilidad de las mismas (Garai y Sinha, 2014; Liao y cols., 2014). Sin embargo, existen ciertas limitaciones debido a su fragilidad inherente, su baja solubilidad *in vivo* (persistiendo muchas partículas residuales) y a sus pobres propiedades mecánicas para ser utilizado como material de reemplazo durante la reparación de un hueso que soporta cargas (Garai y Sinha, 2014; Liao y cols., 2014; Yang y cols., 2014). Con el objetivo de paliar su no biorreabsorción, se ha recurrido al uso de biocerámicas bifásicas compuestas por TCP e HA, a un tamaño nano de partículas de hidroxiapatita con una alta relación superficie-volumen (Garai y Sinha, 2014).

1.3.2. Xenoinjertos

En lo que se refiere a los xenoinjertos, estos injertos provienen de una especie no humana (Shibuya y Jupiter, 2015). Los xenoinjertos están hechos de minerales óseos de origen animal, cuyo componente orgánico es eliminado para evitar el riesgo de inmunogenicidad o transmisión de enfermedades (Jordana y cols., 2017). En este sentido, poseen una antigenicidad significativamente mayor que los aloinjertos, requieren un procesamiento más estéril, lo que finalmente puede resultar en una reducción de sus propiedades osteoinductivas. Si bien, debido a la alta disponibilidad de material, este tipo de injertos pueden resultar menos costosos y disminuir el trauma de la técnica quirúrgica (Shibuya y Jupiter, 2015). El xenoinjerto más comúnmente utilizado en cirugía es el de origen bovino (Shibuya y Jupiter, 2015).

La hidroxiapatita bovina constituye un excelente material osteoconductor y, debido a sus propiedades de no reabsorción, se comporta como un excelente estabilizador del espacio tridimensional para la formación de hueso nuevo durante la cicatrización (Albrektsson y Johansson, 2001).

1.3.3. Aloinjertos

Los aloinjertos se obtienen de otros individuos de la misma especie y se someten a intensos procesos de esterilización (Shibuya y Jupiter, 2015). Es el trasplante de un fragmento óseo de un individuo a otro (Jordana y cols., 2017). Se preparan utilizando una combinación de diferentes procedimientos de procesamiento, lo cual hace que las propiedades de los aloinjertos varíen considerablemente (Shibuya y Jupiter, 2015). Un proceso de esterilización más potente puede eliminar las posibilidades de transmisión de enfermedades e infecciones, esto a su vez reduce sus propiedades osteogénicas y osteoinductivas. Para matrices óseas desmineralizadas (DBM), el injerto se toma de cadáveres. Durante el proceso desmineralización industrial y liofilización del injerto óseo, la estabilidad mecánica se ve dañada por la matriz ósea desmineralizada resultante. En el cuerpo, DBM es osteoconductora, incluso osteoinductiva, gracias a las proteínas y factores de crecimiento que contiene (Jordana y cols., 2017; Finkemeier, 2022) y su neovascularización es rápida. Sin embargo, sus propiedades varían según el proceso industrial al que son sometidas y al donante (Aspenberg y cols., 1990; Jordana y cols., 2017; Finkemeier, 2022).

En un estudio realizado por Chávarri-Prado y cols., en 2024 compararon el mineral óseo bovino (BBM) con el aloinjerto óseo liofilizado (FDBA) en una elevación sinusal. Para ello, 20 pacientes recibieron una elevación de seno con acceso lateral con FDBA o BBM. La altura del injerto durante el postoperatorio se midió con una tomografía computarizada de haz cónico (CBCT). Seis meses después se colocaron los implantes y se tomaron biopsias para su análisis histológico. Las diferencias entre grupos fueron estadísticamente significativas para la reducción de altura y para el hueso neoformado ($p \leq 0,05$) pero no para la cantidad de biomaterial residual y el tejido conectivo no mineralizado ($p \geq 0,05$). Se concluyó que el porcentaje de hueso recién formado 6 meses después de realizar una elevación de seno con acceso lateral usando FDBA fue significativamente mayor que cuando se usó BBM, aunque la reducción de la altura del injerto también fue significativamente mayor para el grupo FDBA (Chávarri-Prado y cols., 2024).

En otro estudio realizado por Galindo-Moreno y cols., en el año 2018 compararon los resultados clínicos e histológicos de dos injertos realizados con distintos materiales: (a) aloinjerto y (b) xenoinjerto, ambos combinados con hueso autólogo y posteriormente cubiertos con una membrana de colágeno para la elevación sinusal. Para ello, se reclutaron catorce pacientes que necesitaban una elevación de seno unilateral. Siete de los cuales recibieron un injerto compuesto por hueso cortical autólogo (ACB) y hueso bovino anorgánico en una proporción de 1:1; los otros siete pacientes recibieron ACB mezclado con un aloinjerto en la misma proporción. Las biopsias óseas se obtuvieron 6 meses después de la elevación del seno nasal en el momento de la colocación de los implantes. Se realizaron y analizaron las muestras histomorfológica, hispatológica e inmunohistoquímicamente. Los resultados obtenidos fueron que después de 12 meses de carga funcional, todos los implantes en ambos grupos eran clínica y radiológicamente exitosos. Histomorfométricamente, aunque la formación ósea inicial no fue significativamente diferente entre grupos, el injerto se reabsorbió más rápido en el grupo de aloinjerto. Los análisis histológicos revelaron un mayor contenido celular, con cuatro veces más de líneas osteoides y mayor vascularización en el grupo de xenoinjerto. El marcador de células estromales mesenquimales (Musashi-1) también se expresó más en el grupo en el que se realizó xenoinjerto ($p=0,019$). Por lo que concluyeron que ambos injertos compuestos generaban un sustrato adecuado para poder recibir tratamiento con implantes dentales después de la curación. En comparación con el compuesto de xenoinjerto, el compuesto de aloinjerto muestra una reabsorción y una disminución más rápida de la acción biológica después de 6 meses (Galindo-Moreno y cols., 2018).

1.3.4. Autoinjertos

A pesar del aumento de nuevos sustitutos de injertos óseos, el hueso autólogo sigue siendo la opción ideal para injertos óseos (Mazock y cols., 2004; Springer y cols. 2004; Flanagan, 2010; Klijn y cols., 2010). Según lo informado por Jensen y cols., en 2006, el injerto óseo autólogo supera al hueso bovino inorgánico y al β -TCP en términos de potencial osteogénico (Jensen y cols., 2006).

Un injerto óseo autólogo se obtiene del propio paciente, por lo tanto tiene más probabilidades de ser incorporado que los aloinjertos o xenoinjertos. También tiene propiedades osteogénicas e inductivas que pueden ayudar a favorecer la cicatrización, así como aumentar el porcentaje de hueso vital sobre el relleno o biomaterial no vital en el resultado final. No obstante, la obtención de un autoinjerto añade un área quirúrgica adicional a la cirugía reconstructiva y mayor posibilidad de complicaciones en el sitio donante (Banwart y cols., 1995; Chou y cols., 2007; Shibuya y Jupiter, 2015).

El hueso autólogo tiene la capacidad de liberar factores de crecimiento osteoinductivos como la BMP (proteína morfogenética ósea) que facilita la generación ósea, estimulando la proliferación y diferenciación de células relacionadas con la osteogénesis. Sin embargo, el proceso de recolección de hueso autólogo causa un daño en el tejido donante (Flanagan, 2010). A los pacientes con necesidad de rehabilitarse con implantes orales les cuesta aceptar la creación de un segundo campo quirúrgico como área donante para la recolección de hueso. Por lo tanto, el método de recolección que mejor minimice el daño adicional al paciente es el más recomendado. En implantología, se han aplicado diferentes injertos óseos autólogos combinados con diferentes técnicas quirúrgicas de reconstrucción ósea, como la regeneración ósea guiada (ROG) o el injerto en bloque (Blanco y cols., 2005; McAllister y cols., 2007; Flanagan, 2010).

1.3.4.1. Tipos de hueso autólogo según densidad: cortical y esponjoso

El tejido óseo se puede clasificar en dos tipos: (a) hueso cortical (hueso denso) y (b) hueso trabecular (hueso esponjoso). La diferencia entre estos dos tipos de hueso reside en la porosidad. El hueso cortical posee una porosidad entre 5% y el 15%, y en el hueso esponjoso oscila entre el 40% y el 95%. Anatómicamente, el hueso cortical podemos encontrarlo en la diáfisis de huesos largos formando una fina capa que rodea la zona trabecular de las epífisis y las metáfisis (Morgan y cols., 2018).

El hueso esponjoso o trabecular tiene la particularidad de que es un material altamente poroso. Las propiedades mecánicas del hueso esponjoso vienen determinadas esencialmente por su porosidad. Posee una alta porosidad frente al hueso cortical. Sus

propiedades, así como la disposición arquitectónica de la red trabecular contribuyen al comportamiento de este tipo de hueso e influyen en su calidad ósea (Morgan y cols., 2018).

1.3.4.2. Tipos de hueso autólogo según el área de obtención: zonas y características

Los injertos óseos autólogos son utilizados fundamentalmente para restaurar grandes volúmenes de atrofia ósea alveolar (Fretwurst y cols., 2015; Streckbein, y cols., 2019). El motivo es que este hueso posee unas proteínas, como las proteínas morfogenéticas óseas, células óseas vitales y minerales en contraposición con los aloinjertos o xenoinjertos (Misch y cols., 1992; Misch, 1997; Nevins y cols., 1998; Simion y cols., 1998; Hunt y Jovanovic, 1999; Manzano-Moreno y cols., 2013).

Además, el autoinjerto es el único que posee propiedades osteogénicas, osteoinductivas y osteoconductoras (Schlegel y cols., 2003; Springer y cols., 2004; Misch, 2010; Papadimitriou y cols., 2013;). Asimismo, este injerto óseo autólogo produce un menor coste de material y además evita el riesgo de enfermedades por transmisión o antigenicidad.

El injerto óseo se utiliza habitualmente para la regeneración de defectos óseos alrededor de dientes e implantes (Hämmerle y Lang, 2001; Hanes, 2007; Papadimitriou y cols., 2013;), así como para preparar el lecho del implante (Buser y cols., 1996; Papadimitriou y cols., 2013). Esto normalmente se produce en combinación con otras técnicas como la ROG (Papadimitriou y cols., 2013). Actualmente se utiliza hueso autólogo solo o en combinación con otros tipos de injertos óseos. Encontramos disponibles para su extracción diferentes zonas, instrumentos y métodos (Becker y cols., 1998; Lee y cols., 2009; Mordenfeld y cols., 2010; Papadimitriou y cols., 2013).

Según la literatura científica, existen diferentes zonas donantes extraorales de hueso autólogo como el cráneo, costillas, tibia, peroné y cresta ilíaca. Todos ellos conducen irremediabilmente a una morbilidad añadida para el paciente (Zouhary, 2010; Nkenke y Neukam, 2014; Khoury y Hanser, 2015). De la cresta ilíaca podemos obtener

importantes cantidades de hueso pero, debido a su gran componente esponjoso, está expuesta a un mayor riesgo de reabsorción a largo plazo (Chiapasco y Zaniboni, 2011). La calota craneal ofrece cantidades relevantes de hueso altamente corticalizado, lo que ha demostrado ser menos propenso a la reabsorción. El único límite suele estar representado por la poca aceptación por parte de los pacientes, aunque la morbilidad es mucho menor que el relacionado con la cresta ilíaca (Chiapasco y cols., 2006; Chiapasco y cols., 2009; Chiapasco y Zaniboni, 2011). En conclusión, la obtención de hueso en estas zonas conlleva intrínsecamente riesgos asociados con su recolección. Por lo tanto, los avances en implantología han de desarrollar nuevos enfoques quirúrgicos para la obtención de hueso a nivel intraoral y nuevos biomateriales que permitan así una regeneración ósea apropiada, con una disminución de las tasas de morbilidad derivadas de la cirugía para la obtención de hueso autólogo de forma extraoral.

- Áreas donantes intraorales

El injerto de hueso autólogo se puede obtener de una forma menos invasiva en la propia cavidad oral, mediante la recolección de este hueso de manera intraoral (Chiapasco y Zaniboni, 2011), para la reconstrucción de defectos óseos de pequeño y mediano tamaño. Las zonas donantes intraorales tienen la ventaja de que se encuentran próximas el sitio donante y receptor, por lo que muchas veces en la propia cirugía se tiene acceso a ellas, con lo que la morbilidad en estos casos es mucho menor (Khoury y Hanser, 2015). En la evidencia científica, son varios los sitios donantes intraorales que se han propuesto como áreas para la recolección de hueso, los cuales vienen representados por: el propio maxilar, mentón, zona retromolar mandibular, sínfisis mandibular y la rama mandibular (Chiapasco y Zaniboni, 2011, Papadimitriou, 2013). El hueso que se obtiene de estas áreas posee una cortical densa que generalmente está menos expuesta a la reabsorción ósea a largo plazo como ocurre con el hueso esponjoso (Chiapasco y Zaniboni, 2011).

- Bloques óseos

Cuando necesitamos una gran cantidad de hueso para poder reconstruir bidimensional o tridimensionalmente un defecto óseo de la cresta alveolar, debemos acudir a injertos de bloque óseo corticoesponjoso, los cuales pueden obtenerse de la sínfisis mandibular (en el área del mentón), áreas retromolar y paramolar (cresta oblicua externa) o de zonas edéntulas, ya que el maxilar ofrece sólo pequeñas cantidades de autoinjertos, principalmente de hueso trabecular (Khoury y Hanser, 2015). Sin embargo, los bloques óseos mandibulares están compuestos principalmente por hueso cortical y en menor medida por hueso esponjoso, por lo que son más resistentes a la revascularización y, en consecuencia, pueden tener un menor potencial de regeneración (Khoury y Hanser, 2015).

En un estudio clínico realizado por Khoury y Hanser en el año 2015, en el cual se analizaba el resultado de la recolección de bloques óseos mandibulares de la cresta oblicua externa en la zona retromolar, se identificó la cresta oblicua externa como un lugar idóneo para la obtención del bloque óseo (Khoury y Hanser, 2015). Las variaciones anatómicas en los sitios donantes dan como resultado injertos con diferencias morfológicas dependiendo del grosor y extensión de la cresta oblicua externa. Demostando, además, que se pueden extraer con éxito volúmenes de hueso mandibular relativamente grandes con una baja tasa de complicaciones (Khoury y Hanser, 2015).

1.3.4.3. Hueso autólogo particulado

Los injertos óseos particulados se utilizan en casos de defectos óseos pequeños o periimplantarios, como dehiscencias y fenestraciones, y también es posible la combinación con técnicas de ROG (Von Arx y cols., 1998; McAllister y Haghghat, 2007; Aloy-Prósper y cols., 2011). Este hueso particulado se puede obtener durante la propia cirugía de colocación del implante sin necesidad de una segunda área quirúrgica. (Chiapasco y Zaniboni, 2011). Estas partículas de hueso autólogo se pueden obtener del mentón, rama mandibular, tuberosidad maxilar o el torus mandibular. Además, se pueden

utilizar membranas biocompatibles para evitar la dispersión de las partículas (Simion y cols., 2007; Pieri y cols., 2008; Aloy-Prósper y cols., 2011).

- **Recolección de partículas de hueso**

Las partículas de hueso autólogo se pueden adquirir triturando bloques óseos con un molino de hueso o utilizando técnicas quirúrgicas durante los procedimientos de la osteotomía del implante (Liang y cols., 2017). En la práctica clínica se utilizan diversas técnicas de recolección de hueso autólogo particulado durante el curso de la cirugía de implantes. Las diferentes técnicas pueden influir en las propiedades del injerto, como capacidad de osteogénesis y la reabsorción en el tiempo (Flanagan, 2010; Miron y cols., 2013).

En la bibliografía científica se describen tres técnicas para la recolección de partículas óseas: filtros óseos, rascadores óseos y el propio hueso particulado que queda atrapado en las fresas quirúrgicas para la colocación del implante (Aloy-Prósper y cols., 2011).

- **Partículas de hueso obtenidas mediante filtros óseos**

Los filtros óseos se conectan a los diferentes sistemas de aspiración y nos permiten recoger partículas óseas que quedan retenidas en el filtro, dejando pasar también sangre, líquido de irrigación y saliva del paciente. Por esta razón, aunque se considera una técnica conservadora al no ser necesario abrir una segunda área quirúrgica (Flanagan, 2010), algunos autores (Young y cols., 2001; Young y cols., 2002; Manzano-Moreno y cols., 2013) observaron que se encontraron significativamente más microorganismos en las partículas óseas recolectadas con filtros óseos que con los otros métodos, provocando un mayor riesgo de contaminación biológica.

Según la evidencia científica la infección tiene un impacto perjudicial sobre las tasas de éxito del tratamiento de implantes dentales, regeneración tisular guiada y ROG (Young y cols., 2001; Young y cols., 2002; Manzano-Moreno y cols., 2013). Según otras investigaciones, la *Prevotella intermedia* parece colonizar los implantes más fácilmente en pacientes parcialmente dentados en comparación con pacientes totalmente desdentados (George y cols., 1994). Además, inhibe la actividad de la fosfatasa alcalina

en células osteoblásticas *in vitro*, por lo que puede afectar a la formación ósea (Murata y cols. 1997). Así, un estudio examinó esos restos óseos recolectados durante la cirugía de implantes dentales para identificar los contaminantes microbianos y comparar los efectos de dos protocolos de aspiración diferentes sobre los niveles de contaminación microbiana (Young y cols., 2001). Para lo cual, se seleccionaron aleatoriamente veinticuatro pacientes parcialmente dentados asignados en dos grupos con características similares y sometidos a recolección de hueso utilizando el Frios Bone Colector (FBC) durante la cirugía para insertar dos implantes dentales. En el grupo S (usando un estricto protocolo de aspiración), la recolección ósea se produjo únicamente dentro del sitio quirúrgico. En grupo NS (utilizando un protocolo de aspiración no estricto), el control de recolección de hueso y líquido tisular se logró utilizando la misma punta de succión. Las muestras de hueso fueron inmediatamente transportadas para su análisis microbiano. Finalmente, concluyeron que si se recolectan restos óseos para su implantación alrededor de implantes dentales, deben recogerse con un protocolo riguroso de aspiración (solo dentro del área quirúrgica) para minimizar los contaminantes bacterianos. Estos restos óseos recolectados en la cavidad bucal pueden ser particularmente susceptibles a la contaminación microbiana, ya que los microorganismos viables pueden alcanzar hasta 10⁹ unidades formadoras de colonias (UFC) por ml de saliva (Young y cols., 2001). Por tanto, la implantación de partículas óseas recolectadas en la cavidad oral puede ser causa de contaminación iatrogénica y aumentar el riesgo de fracaso del aumento óseo cuando realizamos injertos con partículas óseas obtenidas mediante aspiración para reconstruir el hueso alrededor de implantes dentales.

Basándonos en los resultados del estudio de Young y cols., en el 2001, se recomienda un estricto protocolo de aspiración cuando los restos óseos sean recogidos dentro de la cavidad bucal. En este sentido, podrían adoptarse medidas adicionales que incluyen el uso de un enjuague bucal preoperatorio (Young y cols., 2001, Lambert y cols., 1997) y la prescripción de medicamentos preoperatorios adecuados como es el uso de antibióticos (Dent y cols. 1997). Dado que este estudio ha confirmado la presencia de patógenos potenciales en restos óseos recogidos, su uso en pacientes inmunodeprimidos está contraindicado (Young y cols., 2001).

En otro estudio realizado por Young y cols., en 2002 demostraron que un estricto protocolo de aspiración reduce los niveles de contaminación bacteriana. En este aspecto, el enjuague bucal con clorhexidina es un enjuague antibacteriano el cual se ha comprobado que reduce las complicaciones infecciosas asociadas con los implantes dentales. En este estudio se examinó el efecto del enjuague preoperatorio con digluconato de clorhexidina al 0,1% sobre los contaminantes bacterianos presentes en los restos óseos (CBD) recolectados. Para ello, veinte pacientes parcialmente desdentados fueron asignados aleatoriamente en grupos iguales y se les realizó la recolección de hueso utilizando el (FBC) durante la inserción de dos implantes dentales. En el grupo T se utilizó un enjuague preoperatorio con clorhexidina, mientras que en el grupo control se utilizó agua esterilizada. Para ambos grupos, se llevó a cabo un estricto protocolo de recolección de hueso. Seguidamente, las muestras de hueso fueron transportadas inmediatamente para análisis microbiano. Se utilizaron morfología microscópica y kits de identificación para detectar los microbios aislados. Se identificaron treinta y nueve especies, en particular *Actinomyces odontolyticus*, *Clostridium bifermentans*, *Prevotella intermedia* y *Propionibacterium propionicum*, las cuales están relacionadas con enfermedades periodontales y periimplantarias. En este caso, las muestras del grupo T (enjuague bucal con clorhexidina) produjeron significativamente menos organismos ($p < 0,001$) que en el grupo C (enjuague bucal con agua esterilizada). Se identificó que los cocos grampositivos eran las bacterias predominantes de ambos grupos. Por lo que se concluyó que si se van a utilizar restos óseos con el fin de aumento óseo, es necesario un enjuague bucal preoperatorio con clorhexidina junto con un estricto protocolo de aspiración para reducir en lo posible la contaminación bacteriana del CBD (Young y cols., 2002).

Otros estudios, coinciden con estos hallazgos, y han demostrado que el uso de un enjuague preoperatorio con clorhexidina es eficaz para reducir la incidencia de infecciones orales asociadas a la colocación de implantes, así como mejorar las tasas de éxito de los implantes (Lambert y cols., 1997).

- **Partículas óseas obtenidas mediante rascadores óseos**

Los rascadores de hueso nos permiten recolectar partículas óseas preservando la vitalidad celular. Es un proceso poco invasivo para el paciente, ya que la técnica se puede realizar en áreas próximas al área del implante. Existen rascadores con hojas cortantes rectas o curvas y de diferentes tamaños que se adaptan perfectamente a la zona ósea donante (Caubet y cols., 2011; Papadimitriou y cols., 2013).

Papadimitriou y cols., en 2013 compararon las partículas óseas obtenidas después de su extracción con 4 instrumentos diferentes. Para ello, las partículas de hueso se recogieron de costillas de vaca con 2 tipos diferentes de cinceles, un raspador y un dispositivo sónico. Seguidamente, dichas muestras fueron examinadas morfológicamente usando microscopía óptica y mediante microscopio electrónico de barrido. Demostraron que en la recolección de partículas óseas con los 4 dispositivos se producían también diferencias en el tamaño y formas de estas, y que a su vez pueden influir en los resultados del procedimiento del injerto. Finalmente, se demostró que la morfología de las partículas óseas recolectadas por los dispositivos convencionales era similar, pero el tamaño y la forma de las partículas óseas producidas por el dispositivo sónico fueron diferentes (Papadimitriou y cols., 2013). Sin embargo, las partículas de hueso extraídas con rascadores óseos son más ricas en hueso cortical que hueso esponjoso en comparación con los otros dos métodos (Zaffe y D'Avenia, 2007; Papadimitriou y cols., 2013).

Maridati y cols., en 2015 demostraron que las partículas de hueso cortical obtenidas utilizando un raspador óseo tienen un efecto positivo en la generación de hueso en la elevación del suelo del seno maxilar, teniendo así un efecto estable en el procedimiento de aumento óseo. Sin embargo, durante el proceso de cirugía clínica, la cantidad de partículas óseas obtenidas por un raspador de huesos dependía de la calidad y densidad del hueso alveolar. En este sentido, la cantidad de partículas óseas es bastante limitada y a menudo es necesaria una operación adicional de colgajo o incluso la apertura de una segunda área quirúrgica para exponer el área de raspado, lo que ocasiona un trauma adicional al paciente (Maridati y cols., 2015).

- **Partículas óseas obtenidas mediante fresado**

La actividad osteogénica y la revascularización posterior a la inserción del injerto son menores en los injertos óseos en bloque que en los injertos óseos particulados (Hammack y Enneking, 1960; Marciani y cols., 1979; Enneking y cols., 1980). Por ello, se ha propuesto una técnica que utilice fresado a baja velocidad para la preparación del lecho del implante para evitar los posibles cambios y efectos biológicos en el tejido óseo inducidos por el calor generado a altas velocidades de fresado (Iyer y cols., 1997; Iyer y cols., 1997; Manzano-Moreno 2013). Debido a que el procedimiento no implica irrigación adicional, las partículas de hueso atrapadas en las fresas se pueden recolectar y utilizar como injertos de partículas para pequeños defectos óseos en el lecho del implante (Anitua y cols., 2007; Manzano-Moreno 2013).

La recogida de partículas de hueso autólogo retenidas en las hendiduras de las fresas de implante es el método más recomendado, ya que evita el riesgo de infección ósea con el uso de filtros, y nos permite recoger partículas más ricas en hueso esponjoso que en hueso cortical, a diferencia de los obtenidos con raspadores óseos (Anitua y cols., 2007). Este material también podría usarse como aditivo para sustitutos óseos para mejorar las propiedades osteoinductivas del injerto. En 2007 Anitua y cols. demostraron en un estudio cuyo propósito fue describir un nuevo sistema de fresado que permitiera al cirujano obtener hueso autólogo que, asociado a un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), pudiera ser utilizado en injertos óseos. Para ello se analizaron mediante microscopía óptica y electrónica, partículas óseas recogidas mediante un sistema de fresado convencional y una propuesta de fresado a baja velocidad. Se recogió sangre de 43 voluntarios y se utilizó para preparar PRGF. Se midieron aspectos cuantitativos del PRGF, como el número de plaquetas y la concentración de factores de crecimiento (factor de crecimiento similar a la insulina [IGF-I], factor de crecimiento transformador [TGF-beta1], factor de crecimiento derivado de plaquetas [PDGF-AB], factor de crecimiento endotelial vascular [VEGF], factor de crecimiento de hepatocitario [HGF] y factor de crecimiento epidérmico [EGF]). Los resultados obtenidos mostraron en el examen microscópico que la estructura ósea y la presencia de células vivas en las partículas de hueso se conservaban en todas las muestras obtenidas mediante fresado a baja velocidad, mientras que el material obtenido mediante fresado convencional no mantenía estas

cualidades. Por lo tanto, el nuevo protocolo de fresado demostró ser mejor que el convencional en base a criterios biológicos, reduciendo el daño al tejido huésped y pudiendo usarse para obtener una masa de hueso autólogo para un injerto posterior en asociación con otros factores de crecimiento autólogos (Anitua y cols., 2007).

La técnica quirúrgica utilizada para preparar la osteotomía del implante es uno de los factores que condicionan la obtención de resultados satisfactorios (Albrektsson y cols., 1981; Bernabeu-Mira y cols., 2021).

Un estudio realizado por Li y cols. en 2020 sugiere que un protocolo de fresado a baja velocidad (50 rpm) que permita al operador obtener células vivas (Li y cols., 2020). Las partículas de hueso recogidas mediante las fresas sin irrigación pueden servir como injertos óseos particulados para rellenar el área del defecto en el lecho del implante (Anitua y cols. 2007; Flanagan, 2010; Manzano-Moreno y cols. 2013; Li y cols., 2020). Este método no requiere pasos de operación adicionales y no causa daño adicional al hueso circundante. Además, en estudios realizados por Kim y cols. (2010) y Oh y cols. (2016) demostraron que no se produce calor adicional que dañe el hueso mientras se fresa a 50 rpm sin irrigación durante la preparación del sitio del implante (Kim y cols., 2010; Oh y cols., 2016). Giro y cols. (2011) concluyeron que el fresado a 50 rpm sin irrigación en una cirugía de implantes producía cambios de temperatura y una osteointegración similares de los implantes en comparación con el fresado a 900 rpm con irrigación. Por tanto, estos estudios demuestran la viabilidad, seguridad y fiabilidad del fresado a baja velocidad (Giro y cols., 2011).

En un estudio realizado por Manzano-Moreno y cols. en 2013, en el cual se evaluó la presencia de osteoblastos viables en muestras de tejido óseo obtenidas mediante fresado o a partir de bloques de hueso corticoesponjoso, así como las capacidades de crecimiento y diferenciación de los osteoblastos. Se procesaron las muestras de tejido óseo de forma independiente y las células fueron cultivadas en una incubadora de CO₂ a 37 °C. La capacidad proliferativa de los osteoblastos se determinó mediante espectrofotometría (MTT) a las 24 y 48 horas de cultivo. Se analizó el ciclo celular mediante citometría de flujo. La diferenciación celular fue estudiada por la tinción rojo de alizarina por los nódulos formados en medio de mineralización y mediante análisis de la fosfatasa alcalina. Se concluyó que en comparación con los osteoblastos derivados de bloques óseos, la

capacidad proliferativa fue mayor a las 24 y 48 horas de cultivo ($p < 0,001$) en los osteoblastos derivados del fresado, los cuales mostraron un aumento significativo de las fases G2/M ($P < 0,014$) y S ($P < 0,001$) en el estudio del ciclo celular. El número de nódulos mineralizados fue proporcional al tiempo de incubación, no habiendo diferencias entre los dos tipos de muestra, lo que también no difirió significativamente en la actividad de la fosfatasa alcalina. Con lo que se concluyó que se obtiene un material de autoinjerto de mayor calidad mediante la recolección de partículas de hueso con fresado a baja velocidad que de bloque de hueso corticoesponjoso. Por lo que, estos resultados sugieren que el hueso obtenido de fresado a baja velocidad es una alternativa sencilla y eficaz al procedimiento clásico de obtención de tejido óseo (Manzano-Moreno y cols., 2013).

1.3.4.4. Tamaño de las partículas según recolección

La evidencia científica ha demostrado que el tamaño óptimo que deberían tener las partículas óseas cuando se utilizan como injertos oscila entre 100 y 300 μm . En el caso de un tamaño menor, estas partículas más pequeñas son absorbidas más fácilmente por los macrófagos con poca o ninguna formación de hueso nuevo (Shapoff y cols., 1980; Papadimitriou y cols., 2013). En este sentido, los resultados del estudio de Chiriac y cols., en 2005 demostraron que las muestras óseas producidas tanto por piezosurgery como con fresado están dentro del rango óptimo de tamaño de partículas (Chiriac y cols., 2005).

1.3.4.5. Tipos de fresado: revoluciones por minuto e irrigación

Una técnica de fresado inadecuada puede producir lesiones en el hueso. La osteonecrosis es el término utilizado en relación con una lesión avascular del hueso, que resulta en la muerte de osteocitos (DiGiovanni y cols., 2007; Omar y McKinley, 2018). La osteonecrosis puede producirse durante el fresado óseo por una lesión térmica. La lesión térmica en el hueso ocurre cuando se genera calor durante una duración y extensión significativas y esto provoca una oclusión vascular, seguida de reabsorción ósea por osteoclastos e hiperactividad en respuesta a una lesión vascular. A esto le sigue el reemplazo del tejido óseo por el adipocito en lugar de por el osteocito (Eriksson y Albrektsson, 1983; Augustin y cols., 2012; Omar y McKinley, 2018). Después de una

lesión térmica a nivel óseo, se producirán cambios osteonecróticos que afectarán a la capacidad del hueso para regenerarse (Eriksson y cols., 1984; Omar y McKinley, 2018).

Clásicamente se ha considerado que, si la temperatura de fresado supera los 47°C durante 1 min o más, se produce osteonecrosis térmica del hueso periimplantario, con fracaso prematuro del implante dental, como así concluyeron Eriksson y Albrektsson en 1983 (Eriksson y Albrektsson, 1983). Sin embargo, esta temperatura no ha sido claramente definida, pues parece estar dentro del rango de 47°C a 55 °C durante 1 minuto (Eriksson y Albrektsson, 1983; Kniha y cols., 2020; Bernabeu-Mira y cols., 2021; Salomó-Coll y cols., 2021).

El aumento de temperatura durante el fresado óseo es un factor multifactorial, el cual está condicionado por la técnica de fresado utilizada, irrigación, velocidad de fresado, carga axial, profundidad de fresado, diseño y desgaste de la fresa, material de fresado y características del hueso tratado (Tehemar, 1999; Mishra y Chowdhary, 2014; Möhlhenrich y cols., 2015; Bernabeu-Mira y cols., 2021).

Varios estudios han investigado el efecto del diámetro de la fresa utilizada en el calor generado durante el fresado. Aparentemente, cuanto mayor es la profundidad de la osteotomía, mayor será el calor generado, ya que el refrigerante no llega al área más profunda del lecho del implante (Sener y cols., 2009; Salomó-Coll y cols., 2021). Sin embargo, falta literatura que analice relación entre la generación de calor y la profundidad de la osteotomía. Además, un mayor desgaste de la fresa puede resultar en una mayor producción de calor y dañar más el tejido óseo (Chacon y cols., 2006; Oh y cols., 2011), afectando así el proceso de osteointegración de implantes (Carvalho y cols., 2011; Oh y cols., 2011).

Otro aspecto a tener en cuenta es que el hueso tiene una baja conductividad térmica, por lo que, durante la preparación del lecho del implante, el desgaste de las fresas puede causar sobrecalentamiento y, en consecuencia, necrosis ósea (Carvalho y cols., 2011; Salomó-Coll y cols., 2021). Esto puede dar lugar a la interposición de tejido fibroso en la interfaz entre el hueso y el implante, influyendo en el proceso de osteointegración, favoreciendo la pérdida ósea y desencadenando en una disminución de la tasa de supervivencia del implante (Tehemar, 1999; Möhlhenrich y cols., 2015; Salomó-Coll y

cols., 2021). Por eso, una técnica quirúrgica atraumática y una buena estabilidad inicial del implante (las cuales están directamente relacionadas con la preparación del lecho del implante) son necesarios para evitar este fenómeno (Albrektsson y Albrektsson, 1978; Van Staden y cols., 2008; Almeida y cols., 2016; Salomó-Coll y cols., 2021).

Por otro lado, la estructura ósea determina la reacción contra el aumento de temperatura. El hueso medular, debido a su mayor vascularización, tiene mejor capacidad de disipación del calor, al contrario que sucede con el hueso cortical (Leunig y Hertel; 1996; Gehrke y cols., 2015; Salomó-Coll y cols., 2021;). Se han descrito muchos dispositivos y técnicas para medir físicamente la cantidad de calor generado durante la preparación del lecho del implante. Existen diferentes dispositivos para medir la temperatura, entre ellos destacan la termografía infrarroja, los que actúan detectando cambios en la superficie a través de una escala de color (Laurito y cols., 2010; Salomó-Coll y cols., 2021; Scarano y cols., 2020) o el termopar, que si se coloca adecuadamente cerca de la zona de trabajo, puede detectar la diferencia de potencial eléctrico entre dos metales, siendo un detector extremadamente sensible de cambios térmicos (Salomó-Coll y cols., 2021). Los métodos más utilizados son termopares y termografía. En la literatura científica hay artículos que comparan termopares y termografía en los cuales se llega a la conclusión de que la termografía es más precisa que los termopares, incluso cuando se utilizan métodos de irrigación (Harder y cols., 2018; Bernabeu-Mira y cols., 2021). Otros artículos, sin embargo, evidencian que si existe irrigación durante el fresado puede interferir en la medición térmica con la cámara termográfica en la zona de fresado (Marković y cols., 2014; Bernabeu-Mira y cols., 2021).

Para llevar a cabo los diferentes estudios experimentales se han utilizado distintos modelos animales. Las características biotermiales (conductividad) de los modelos de tejido animal son supuestamente similares a los de la mandíbula humana, aunque la estandarización de la densidad y la relación entre el hueso cortical y esponjoso no han sido claramente definidos (Bernabeu-Mira y cols., 2021). Con respecto a los materiales sintéticos, los estudios incluidos en la presente revisión solo utilizaron bloques óseos artificiales de poliuretano (Oh y cols., 2016; Bernabeu-Mira y cols., 2021; Salomó-Coll y cols., 2021) o epoxi resina (Fraguas de San José y cols., 2020; Bernabeu-Mira y

cols., 2021), con características biotérmicas no comparables a los de la mandíbula humana.

Otra característica a tener en cuenta es que el tiempo de fresado es significativamente mayor con el fresado a baja velocidad sin irrigación que con el convencional (Oh y cols., 2016; Delgado-Ruiz y cols., 2018; Bernabeu-Mira y cols., 2021).

Por otro lado, la irrigación con suero salino se ha llevado a cabo clásicamente como método contra el sobrecalentamiento óseo (Lindström y cols., 1981; Bernabeu-Mira y cols., 2021). No obstante, la irrigación puede afectar a la visión del operador y dificultar la obtención de hueso autólogo durante el fresado (Flanagan, 2010; Bernabeu-Mira y cols., 2021). El fresado a baja velocidad es una técnica de osteotomía durante la preparación del lecho del implante que utiliza fresado a baja velocidad sin irrigación, en el cual el posible efecto de sobrecalentamiento óseo asociado a la ausencia de irrigación se compensa con la baja velocidad de rotación utilizada (Bernabeu-Mira y cols., 2021). En una revisión sistemática publicada en 2021 por Bernabeu-Mira y cols., se compara el fresado a baja velocidad sin irrigación y a alta velocidad con irrigación durante la colocación de implantes. Entre los estudios incluidos, la velocidad de rotación en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación oscilaba entre 45 y 200 rpm. Finalmente, se concluyó que el fresado a baja velocidad sin irrigación es una técnica térmicamente segura (Bernabeu-Mira y cols., 2021).

Además, la obtención de partículas óseas autólogas que quedan adheridas a las espiras de la fresa durante la osteotomía implantológica ofrece una ventaja importante, pues la utilización de hueso autólogo es el estándar de oro en las técnicas de regeneración ósea (Jung y cols., 2008; Bernabeu-Mira y cols., 2021). En un estudio *in vitro* realizado por Li y cols., en el 2020, se demostró que la cantidad de partículas óseas obtenidas mediante el fresado a baja velocidad sin irrigación era mayor que con el fresado convencional. En este contexto, el fresado a baja velocidad sin irrigación parece ser una técnica más eficiente para cirugías de implantes dentales con regeneración ósea simultánea (Li y cols., 2020), demostrando este método de recolección ósea un mejor rendimiento que el uso de bloques de hueso autólogo (Manzano-Moreno y cols., 2013; Bernabeu-Mira y cols., 2021).

El fresado a baja velocidad tiene varias ventajas sobre el fresado a alta velocidad con irrigación. Entre ellas está la posibilidad de recoger mayor cantidad de hueso entre las espiras de las fresas que no ha sido removido por la irrigación (Anitua y cols., 2007; Oh y cols., 2011). El fresado a baja velocidad también puede proporcionar al operador información más minuciosa sobre la trayectoria de la fresa y una preparación del lecho del implante de forma más precisa (Anitua y cols., 2007; Oh y cols., 2011). En consecuencia, la osteotomía se puede controlar mejor mediante fresado a baja velocidad.

1.3.4.6. Temperatura, velocidad, torque del fresado quirúrgico y sobrecalentamiento

En cuanto a la temperatura, en un estudio realizado por Kim y cols., en 2010 se midió el cambio de temperatura en el hueso de costilla de cerdo durante la preparación del lecho del implante mediante fresado a 50 rpm sin irrigación. Se concluyó que al fresar a 50 rpm sin irrigación no se produce un sobrecalentamiento excesivo (Kim y cols., 2010).

Lógicamente, el tiempo de la osteotomía es significativamente mayor con el fresado a baja velocidad sin irrigación que con el fresado convencional (Oh y cols., 2016; Bernabeu-Mira y cols., 2021). La mayor velocidad de rotación del fresado convencional se traduce en un menor tiempo de fresado en comparación con la baja velocidad del fresado a baja velocidad sin irrigación (Delgado-Ruiz y cols., 2018).

La diferencia significativa en el volumen de la osteotomía podría influir en el torque de inserción requerido del futuro implante dental. Sin embargo, en otro estudio *in vitro* sobre el torque de inserción en función de la velocidad de fresado no se registraron diferencias estadísticamente significativas (Varghai y cols., 2020; Bernabeu-Mira y cols., 2021).

En cuanto a la osteointegración de los implantes dentales con cada protocolo de fresado, la evidencia científica señala que no hay diferencias estadísticamente significativas (Bernabeu-Mira y cols., 2021). En cuanto a los resultados obtenidos referidos al contacto hueso-implante, el nivel y la calidad de la osteointegración (Piattelli y cols., 1998; Bernabeu-Mira y cols., 2021) se concluye que con ambas técnicas se alcanza el proceso de osteointegración. En este contexto, en un estudio clínico en humanos realizado por Pellicer-Chover y cols., en 2017 no registraron diferencias

estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a la pérdida de hueso marginal o la tasa de éxito del implante. Sin embargo, se necesitan más estudios clínicos que impliquen tamaños de muestra más grandes y con un período de seguimiento más prolongado para confirmar estos hallazgos (Pellicer-Chover y cols., 2017).

En un estudio realizado por Oh y cols., en 2011 consideraron sobrecalentamiento cuando la temperatura ósea superaba los 47°C y se midieron los cambios de temperatura durante el fresado a baja velocidad sin irrigación. Se llegó a la conclusión de que la temperatura del hueso no alcanzaba la temperatura crítica de los 47°C, es decir, no se producía sobrecalentamiento, por lo que los resultados de este estudio indicaron que el fresado a baja velocidad sin irrigación podría ser útil para la cirugía de implantes (Oh y cols., 2011).

Giro y cols., en el año 2011 evaluaron el efecto de la técnica quirúrgica sobre la integración del implante realizando osteotomías a 50 rpm sin irrigación y a 900 rpm con irrigación. Los autores concluyeron que ambas técnicas mostraron resultados similares y no afectaron la integración de implantes (Oh y cols., 2011). Gaspar y cols., en el 2013 realizaron un estudio en el que evaluaron las alteraciones histológicas que se producían en tibias de conejos realizando fresado a baja velocidad (50 rpm) sin irrigación y fresado convencional (800 rpm) con irrigación y concluyeron que el efecto de la preparación del lecho del implante en el hueso con ambos protocolos eran similares (Gaspar y cols., 2013).

En otro estudio realizado por Fraguas de San José y cols., en 2020 cuyo objetivo era analizar la influencia de la técnica de fresado en los efectos radiográficos, termográficos y geomorfométricos de las fresas para implantes dentales y el sitio de osteotomía. Realizaron ciento veinte preparaciones del sitio de osteotomía en sesenta resinas epoxi. Analizaron muestras de resina utilizando tres sistemas de fresado de implantes dentales y cuatro técnicas de fresado, cuya velocidad de rotación iba de 45 rpm a 800 rpm sin y con irrigación. Concluyeron que el efecto del enfriamiento debido a la irrigación redujo significativamente la generación de calor durante la preparación del sitio de osteotomía cuando se realizaba el fresado a alta velocidad (Fraguas de San José y cols., 2020).

1.3.4.7. Densidad ósea y fresado quirúrgico

La estabilidad primaria del implante está íntimamente relacionada con la técnica quirúrgica, el diseño del implante y la densidad ósea. En este sentido, algunas investigaciones han demostrado una mayor tasa de éxito en implantes colocados en hueso de mayor densidad. La densidad ósea se puede evaluar en unidades Hounsfield (UH) utilizando tomografía computarizada (TC) convencional (de Elío Oliveros y cols., 2020).

Los estudios térmicos *in vitro* han demostrado que las temperaturas para el fresado a baja velocidad sin irrigación no exceden el umbral crítico para la osteonecrosis incluso en densidades óseas altas (Oh y cols., 2016; Salomó-Coll y cols., 2020; Bernabeu-Mira y cols., 2021). Sin embargo, estos resultados deben ser interpretados con cautela. En un estudio *in vitro* de Salomó-Coll y cols., en 2021 sobre bloques óseos artificiales de diferentes densidades (hueso tipo I versus hueso tipo IV), la temperatura media máxima alcanzada dependió específicamente de la combinación de la velocidad de irrigación y el tipo de hueso (Salomó-Coll y cols., 2020).

El cambio térmico en el protocolo de fresado a más de 800 rpm con irrigación para hueso tipo I ($22,9^{\circ}\text{C} \pm 1,13$) y tipo IV ($21,94^{\circ}\text{C} \pm 1,07$) no mostró diferencias estadísticamente significativas según el tipo de hueso. Con el fresado a 100 rpm sin irrigación se produjo temperaturas máximas mayores en el tipo I ($25,03^{\circ}\text{C} \pm 2,96$) que en el tipo IV ($23,19^{\circ}\text{C} \pm 1,26$), siendo estas diferencias estadísticamente significativas. De igual modo, las temperaturas máximas medias fueron estadísticamente significativamente más altas para el fresado a baja velocidad sin irrigación que para el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación para ambos tipos de densidades. En otro estudio *in vitro* realizado por Oh y cols., en 2016 realizado en bloques óseos de densidad tipo I, las temperaturas máximas medias fueron $40,9^{\circ}\text{C}$ ($37,7\text{--}43,9^{\circ}\text{C}$) para fresado a baja velocidad sin irrigación y $39,7^{\circ}\text{C}$ ($37,8\text{--}43,3^{\circ}\text{C}$) para fresado a alta velocidad con irrigación con diferencias estadísticamente significativas (Salomó-Coll y cols., 2020).

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 Justificación

En las últimas décadas, los implantes dentales han sido el tratamiento más importante para la rehabilitación de dientes perdidos. En este sentido, la implantología bucal, como campo de la odontología, ha aumentado la calidad de vida de los pacientes con edentulismo parcial o total al mejorar tanto la salud física de éstos, así como la estética bucal y facial (Homsy y cols., 2023). Así, los implantes dentales osteointegrados de titanio constituyen un tratamiento seguro con altas tasas de éxito de alrededor del 95% en el seguimiento a largo plazo (Moraschini y cols., 2015). Sin embargo, en implantología oral, la disponibilidad ósea es uno de los principales requisitos para la predictibilidad de la técnica, así como el éxito a largo plazo de los mismos, ya que se requiere una cantidad adecuada de hueso para una adecuada estabilidad mecánica del implante dental, lo cual es esencial para su osteointegración en los huesos maxilares (Berglundh y cols., 2003). Una adecuada cantidad y calidad de hueso también es importante para lograr un resultado funcional y estético de los implantes dentales, ya que esto permitirá una óptima posición tridimensional del implante, lo cual permitirá su rehabilitación con la restauración protésica previamente planificada (Benic y HäBermmerle, 2014).

Los defectos óseos horizontales y/o verticales son secuelas de la reabsorción ósea alveolar que se produce después de una exodoncia, una infección o un traumatismo facial (Zhao y cols., 2018; Troiano y cols., 2018). En este sentido, la presencia de estos defectos óseos como consecuencia de la reabsorción o pérdida de la cresta alveolar puede dificultar la colocación de uno o más implantes dentales en una posición adecuada, por lo que en estos casos son necesarios procedimientos quirúrgicos para aumentar el volumen de la cresta ósea ya sea antes o durante colocación de los implantes (Jung y cols., 2008). Actualmente en implantología oral numerosos biomateriales sintéticos son utilizados para la regeneración del hueso perdido. Estos sustitutos óseos se clasifican en tres categorías según sea su composición: cerámicas a base de fosfato cálcico, policristales y polímeros bioactivos (biodegradables o no) (Hung y cols., 2020); las más utilizadas son las cerámicas cálcicas basadas en fosfatos cálcicos y/o hidroxiapatita

(Rojbani y cols., 2011). No obstante, a pesar de la gran similitud con el hueso en términos de estructura cristalina y composición química de estos biomateriales, éstos sólo tienen propiedades osteoconductoras y no osteoinductivas, por lo que el hueso autólogo sigue siendo el estándar de oro para la regeneración ósea maxilar (Mazock y cols., 2004; Springer y cols., 2004); asimismo, la presencia de proteínas como las proteínas morfogenéticas óseas, minerales y células óseas vitales lo convierten en el tratamiento de elección incluso frente a aloinjertos y xenoinjertos, principalmente por su biocompatibilidad y, sobre todo, por sus propiedades osteoconductoras, osteoinductivas y osteogénicas (Streckbein y cols., 2019).

Por otro lado, en situaciones clínicas en las que la cantidad de volumen de hueso que se necesita para reparar un defecto óseo maxilar o mandibular es grande, el bloque óseo autólogo se puede obtener de regiones donantes extraorales como la cresta ilíaca, la metáfisis tibial o la calota craneal (Fretwurst y cols., 2015). Sin embargo, en defectos óseos de tamaño medio podemos obtener una buena cantidad de bloque óseo autólogo a nivel intraoral (sífnisis mandibular, rama ascendente mandibular, tuberosidad maxilar, apófisis coronoides, arbotantes maxilomalares o cigomáticos y exostosis óseas como el torus) de forma más conservadora (Pang y cols., 2021). En el caso de defectos óseos pequeños, podemos recolectar partículas de hueso autólogo durante la propia cirugía de implantes, evitando así la necesidad de una segunda área quirúrgica en la cavidad bucal. En este sentido, las tres técnicas descritas para la recolección de hueso particulado autólogo son: filtros óseos, raspado óseo y el propio hueso particulado que queda retenido en las fresas de implante durante la secuencia de fresado para la colocación de implantes dentales (Aloy-Prósper y cols., 2011).

En cuanto al uso de filtros óseos para la recolección de hueso particulado, existen varios dispositivos comerciales existentes que se pueden acoplar al sistema de succión quirúrgica del sillón dental, permitiendo así la recolección de hueso autólogo producido durante el proceso de osteotomía del implante en la secuencia de fresado para la colocación del implante dental (Graziani y cols., 2007). No obstante, la sangre y la saliva del paciente también pasan a través de estos filtros, por lo que en estos casos existe un alto riesgo de contaminación iatrogénica del hueso autólogo recolectado (Young y cols., 2001; Young y cols., 2002).

En cuanto al uso de raspadores óseos, éstos permiten recolectar hueso cortical autólogo de los huesos maxilares en una región próxima a donde se está realizando la secuencia de fresado para la colocación del implante dental, sin necesidad de realizar una apertura quirúrgica en otra región donante de la cavidad bucal, y evitando así el riesgo de contaminación del hueso extraído que supone el filtro óseo (Zaffe y D'Avenia, 2007; Caubet y cols., 2011).

Finalmente, la recolección de partículas de hueso autólogo retenidas en las espiras helicoidales de las fresas utilizadas para la osteotomía de implantes es el método más recomendado, ya que evita el riesgo de infección ósea por el uso de filtros y además no requiere raspar la cortical ósea cerca del área donante donde se colocará el implante dental (Anitua y cols., 2007). El principal problema de esta técnica es que el fresado convencional del lecho del implante dental a alta velocidad de entre 800 y 1.500 rpm con irrigación con suero fisiológico, reduce la cantidad de hueso recogido en las fresas quirúrgicas (Iyer y cols., 1997; Iyer y cols., 1997). Sin embargo, el uso de solución salina fisiológica para irrigar el lecho quirúrgico es necesario para evitar el sobrecalentamiento óseo cuando se utiliza el protocolo de fresado convencional de alta velocidad, ya que se sabe desde 1983 que el fresado a estas velocidades durante un minuto puede causar temperaturas óseas de hasta 47 °C, lo que puede provocar reabsorción ósea o necrosis (Eriksson y Albrektsson, 1983; Eriksson y cols., 1984). No obstante, los riesgos potenciales de producir osteonecrosis térmica sin utilizar irrigación con solución salina fisiológica durante el fresado para la osteotomía sobre implantes, han sido ampliamente estudiados en los últimos años, demostrando así que se puede conseguir una correcta secuencia de fresado de cualquier tipo de hueso utilizando protocolos de fresado a baja velocidad, entre 45 y 200 rpm sin irrigación (Flanagan, 2010; Bernabeu-Mira y cols., 2021). Además de lograr una mayor cantidad de hueso autólogo particulado con esta técnica de fresado biológico, el protocolo de fresado a baja velocidad permite una mejor visión del campo quirúrgico para el operador y, por tanto, una mayor precisión a la hora de realizar la osteotomía (Flanagan, 2010; Fraguas de San José y cols., 2020). Finalmente, desde el punto de vista clínico, la técnica de baja velocidad ha demostrado una alta tasa de éxito en los implantes dentales siendo esta similar a la obtenida con el fresado convencional (Pellicer-Chover y cols., 2017; Tabassum y cols., 2021).

Hasta la fecha, aunque sabemos que la técnica de fresado a baja velocidad sin irrigación ofrece ventajas quirúrgicas sobre la técnica convencional, permitiendo recolectar una mayor cantidad de hueso particulado autólogo sin riesgo de sobrecalentar los huesos maxilares, existe un desconocimiento en cuanto a si la técnica de fresado afecta a la calidad biológica del hueso extraído. En este sentido, sólo hay un estudio publicado en la literatura científica que compara la proliferación y diferenciación de osteoblastos humanos recolectadas durante la preparación de la osteotomía del implante utilizando estos dos protocolos de fresado diferentes. Los autores concluyeron que la eficacia osteogénica (diferenciación y proliferación) de las partículas de hueso autólogo recolectadas mediante fresado a baja velocidad fue superior en comparación con las muestras de fresado convencional (Tabassum y cols., 2019). Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio fue comparar la actividad de los osteoblastos y el potencial osteogénico de las partículas autólogas recolectadas durante la cirugía de implantes utilizando fresado a baja velocidad sin irrigación y fresado a alta velocidad con irrigación, en un ensayo clínico aleatorizado a boca partida.

2.2 Objetivos

El objetivo general fue comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.

El objetivo general puede ser desglosado en una serie de objetivos específicos que nos permitan sistematizar y responder a los diferentes aspectos que plantea nuestro estudio.

- **Objetivos específicos**

1. Determinar la temperatura de cada fresa implantológica utilizada durante la osteotomía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.
2. Analizar la cantidad de hueso recogido durante la osteotomía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.
3. Estudiar el tamaño y las propiedades químicas (niveles de Ca y P) de las partículas obtenidas mediante la recolección de hueso durante la osteotomía de implantes dentales usando fresado a baja velocidad sin irrigación y fresado a alta velocidad con irrigación.
4. Valorar la viabilidad celular (a los 2, 6 y 12 días de incubación) de los osteoblastos obtenidos mediante la recolección de hueso durante la osteotomía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.
5. Analizar el ciclo celular de los osteoblastos obtenidos mediante la recolección de hueso durante la osteotomía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.
6. Estudiar la capacidad de migración celular (a las 6, 12 y 24 horas de incubación) de los osteoblastos obtenidos mediante la recolección de hueso durante la osteotomía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.

7. Determinar la concentración de VEGF en la matriz de las partículas óseas obtenidas mediante la recolección de hueso durante la osteotomía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.
8. Analizar la formación de nódulos de mineralización ósea por los osteoblastos obtenidos mediante la recolección de hueso durante la osteotomía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación.

METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1. Reclutamiento y características de los pacientes

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Murcia (España) (2630/2019) (Anexo 1) y se realizó entre junio de 2020 y marzo de 2023 en la Clínica Odontológica Universitaria (Universidad de Murcia, Murcia, España). La investigación siguió los requisitos para la realización de ensayos clínicos basados en la Declaración de Estándares Consolidados de Informes de Ensayos (CONSORT) y se registró en ClinicalTrials.gov (NCT06240416). Los sujetos fueron tratados de acuerdo con las directrices establecidas por la declaración de Helsinki para la investigación médica en humanos. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado para participar.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: pacientes mayores de 18 años; ausencia de dientes mandibulares bilaterales 3.6 y 4.6 durante más de 3 meses; densidad ósea normal en el sector posterior mandibular con hueso tipo II/III (rango 500-850 UH) (Norton y Gamble, 2001); ausencia de contraindicaciones médicas para procedimientos quirúrgicos bucales (ASA I/II); y paciente dispuesto a dar su consentimiento informado para participar en el estudio. Los criterios de exclusión fueron: presencia de cualquier enfermedad, afección o medicamento que pudiera comprometer la curación u osteointegración (diabetes mellitus, administración de bifosfonatos u osteoporosis grave); presencia de trastorno mental grave; y pacientes que habían recibido radioterapia de cabeza y cuello durante los 18 meses anteriores. Ninguno de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y fueron invitados consecutivamente a participar en el ensayo declinó la participación. El cálculo del tamaño de la muestra se estima en función de la diferencia en las medias esperadas para el tamaño de partícula en el grupo de baja velocidad (P1) y el grupo de alta velocidad (P2). Así, teniendo en cuenta diferentes varianzas, con una diferencia de medias a detectar de $1,4 \text{ mm}^2$, con una DE de 2,0 en P1 y de 0,8 en P2, para una relación entre tamaños de muestra de 1, con un nivel de confianza del 95% y un potencia del 90%, se estima que son necesarias 27 muestras en cada población, es decir, un total de 54 en total. Se decidió aumentar la muestra en un 10% en ambas poblaciones como plan de contingencia ante posibles fallos o pérdidas en el seguimiento, por lo tanto la muestra incluyó 30 pacientes con un total de 60 muestras (Figura 1). Este cálculo se ha realizado con el software StatCalc:Epiinfo.

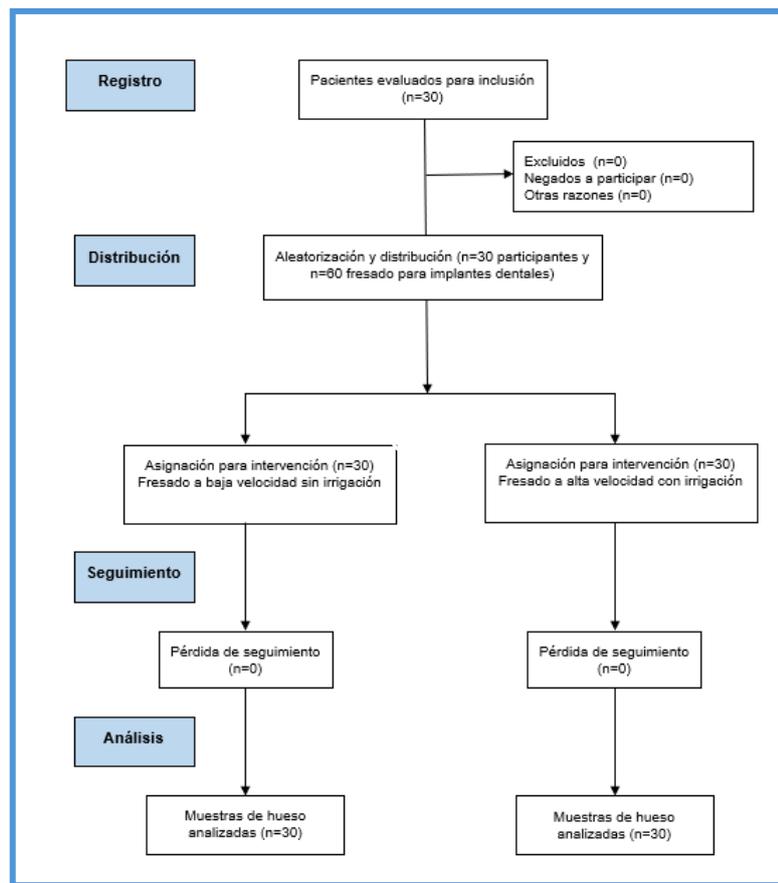


Figura 1. Diagrama de flujo del reclutamiento de pacientes de acuerdo con la declaración CONSORT.

3.2. Procedimiento quirúrgico

En este estudio se colocaron un total de 60 implantes dentales individuales. Cada paciente recibió dos implantes dentales Galimplant® (Nueva Galimplant S.L.U., Sarria, España) de 8 mm de longitud y 4 mm de diámetro colocados 2 mm subcrestal, para la reposición de los dientes ausentes del primer molar mandibular derecho e izquierdo. La cirugía se realizó bajo anestesia local (articaína al 4% con adrenalina 1:100.000) (Septadent, Septodont, Madrid, España), levantando un colgajo mucoperióstico. Para la designación del protocolo de fresado de la osteotomía del implante en cada hemimandíbula, utilizamos un servicio de aleatorización en línea (www.randomization.com). En cada paciente, en una hemimandíbula utilizamos el protocolo de fresado convencional de alta velocidad con irrigación, y en la otra

hemimandíbula realizamos la osteotomía del implante mediante fresado de baja velocidad sin protocolo de irrigación con suero salino.

La secuencia de fresado al utilizar el protocolo convencional a alta velocidad con irrigación fue la siguiente: se inició la osteotomía con la fresa de marcar en forma de lanza de 2,0 mm de diámetro, seguida de una fresa piloto del mismo diámetro, y luego se utilizaron consecutivamente 3 fresas helicoidales más de 2,6, 3,2 y 3,6 mm de diámetro (Figura 2). Todas se utilizaron a una velocidad de fresado de 800 rpm con irrigación y a una profundidad de 10 mm. Por el contrario, la secuencia de fresado cuando se utilizó el protocolo de fresado a baja velocidad sin irrigación fue la misma, pero todas las osteotomías se realizaron a una velocidad de 150 rpm.

Finalmente, una vez insertado el implante dental y el tornillo de cierre, se suturó el colgajo mucoperióstico con sutura simple de poliamida no reabsorbible 4/0, y no se colocaron coronas de provisionalización. En todos los casos la medicación postoperatoria prescrita fue amoxicilina 500 mg cada 8 horas durante 7 días (en casos de alergia a la penicilina se prescribió clindamicina 300 mg cada 8 horas) e ibuprofeno 600 mg cada 8 horas durante 3 días. Todas las cirugías fueron realizadas por un mismo operador experimentado.



Figura 2. Secuencia fresas utilizadas durante el procedimiento quirúrgico.

3.3. Temperaturas de fresado

La temperatura en la punta de cada fresa (lanza 2 mm, piloto 2 mm, piloto 2,6 mm, piloto 3,2 y piloto 3,6 mm) se registró utilizando un termómetro infrarrojo digital Lasergrip® 800 (Etekcity, California, EE. UU.) con un rango de medición de temperatura -50° C a 750° C, siguiendo las instrucciones del fabricante (medición dentro de los 5 segundos posteriores al uso de cada fresa quirúrgica y a una distancia de 28 cm), según lo descrito por Anitua y cols. en el año 2007 (Anitua y cols., 2007) (Figura 3).



Figura 3. Termómetro infrarrojo digital Lasergrip® 800.

3.4. Análisis de la cantidad de hueso recogido durante la osteotomía del implante

Una vez recogidas las muestras óseas en la Clínica Odontológica Universitaria (Universidad de Murcia, Murcia, España), fueron transportadas al Servicio de Cultivo de Tejidos del Servicio de Apoyo a las Ciencias Experimentales (SACE) de la Universidad de Murcia, en un plazo de 10 minutos para su procesamiento inmediato.

Para analizar la cantidad de hueso recolectado durante la secuencia de fresado con los dos protocolos estudiados, las partículas óseas recolectadas de cada fresa de implante (Figura 4) se colocaron en tubos Eppendorf estériles que contenían 2 ml de

medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) al que se le añadió un 1% de antibiótico (penicilina 10.000 U/mL y estreptomicina 10.000 µg/mL) (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) (Figura 5). Para analizar la cantidad de hueso recolectado, los tubos Eppendorf se pesaron antes y después de agregar las muestras de hueso particulado usando una balanza electrónica de precisión (Explorer™ analítica, OHAUS, Nänikon, Suiza) (Figura 6).



Figura 4. Partículas de hueso retenidas en la fresa de implante durante la secuencia de fresado.



Figura 5. Muestras de hueso recolectadas durante la osteotomía del implante.



Figura 6. Balanza electrónica de precisión (Explorer™ analítica, OHAUS, Nänikon, Suiza).

3.5. Estudio del tamaño de partículas y propiedades químicas (niveles de Ca y P) mediante el análisis de la composición mineral del hueso

Tras analizar la cantidad de hueso recogido, 35 mg de cada muestra se utilizaron para el resto de variables del estudio, mientras que el hueso restante se utilizó para valorar el tamaño de las partículas de hueso y analizar sus niveles de Ca y P. Para el estudio de estas dos variables, las muestras se pulverizaron con una fina capa de platino (5,0 nm) utilizando un Leica ACE600 (Leica Microsystems, Heidelberg, GmbH, Mannheim, Alemania), y se observaron mediante microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM) (ApreoS Lovac IML, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.), con un voltaje seleccionado de 5 kV.

Medimos el tamaño en mm^2 de cada partícula ósea utilizando el software de análisis de imágenes ImageJ[®] versión 1.48 (National Institute of Health, Maryland, EEUU). Realizamos el análisis de la composición mineral ósea mediante un sistema microanalítico basado en espectrometría de rayos X de energía dispersiva (EDX). Este sistema permite evaluar la concentración relativa de todos los elementos químicos presentes en el hueso mediante análisis oportunos y mapeo elemental para determinar la distribución mineral. La concentración relativa de cada elemento se indica mediante una escala de colores, donde para cada elemento, el azul oscuro indica el cero absoluto y el blanco indica la concentración absoluta del 100% de ese elemento, lo que permite analizar el porcentaje de Ca y P en cada muestra.

3.6. Viabilidad celular (ensayo de proliferación celular)

De esos 35 mg de hueso, una parte se puso en frascos de cultivo primario de 25 cm^2 con medio α -MEM suplementado suero bovino fetal y con antibiótico al 1% (penicilina 10.000 U/ml y estreptomycin 10.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) y se incubaron a 37° y 5% de CO_2 hasta que las células vivas del tejido (osteoblastos) fueron adheriéndose al frasco. Se cambió el medio cada 3 días. Cuando alcanzaron la confluencia se pasaron a frascos de 75 cm^2 para que se expandieran y así poder tener las células suficientes para realizar los ensayos. Estos ensayos se realizaron entre el cuarto y el séptimo pase, se sembraron osteoblastos en placas de cultivo de 96 pocillos a una densidad de 1×10^3 células por pocillo. La proliferación celular se evaluó

a los 2, 6 y 12 días de incubación mediante el ensayo de (bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difenil tetrazolio) (MTT). Primero, se agregaron 20 μL de MTT (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) a una concentración de 5 mg/mL a 180 μL de medio para dar una concentración final de 1 mg/mL y se incubó durante 4 horas, luego se eliminó el medio y se agregaron a cada pocillo 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) (Figura 7). Los resultados se analizaron midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm utilizando un lector de placas FLUOstar Omega (BGM LabTech, Ortenberg, Alemania) (Figura 8).

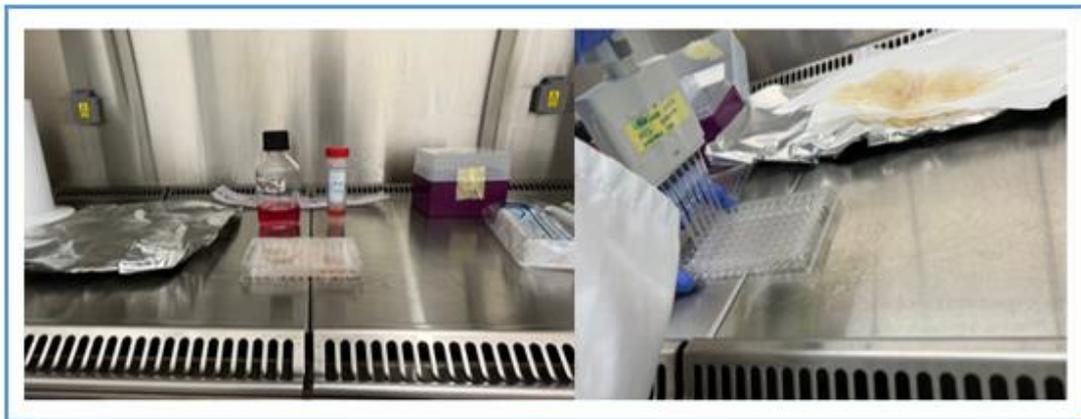


Figura 7. Cabina de flujo laminar Cultair ASB II. Placa de 96 pocillos durante el ensayo de proliferación celular.

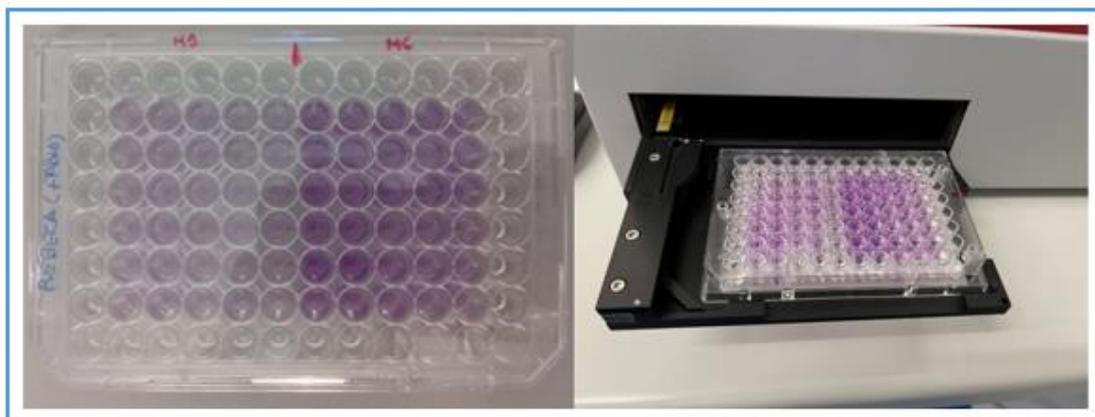


Figura 8. Muestras M5 y M6 a los 12 días en el lector de placas FLUOstar Omega (BFM LabTech Ortenberg, Alemania).

3.7. Ensayo del ciclo celular

Para el ensayo del ciclo celular, también utilizamos osteoblastos entre el cuarto y el séptimo pase. Las células se separaron de los frascos de cultivo utilizando tripsina al 0,05% (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) y ácido etilendiaminotetracético (EDTA) al 0,2% (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España), luego se lavaron y suspendieron en PBS para estudiar el ciclo celular. Se preparó una suspensión de células individuales en 200 μ L de PBS y se añadieron 2 ml de etanol al 70 % helado y PBS al 30 % y se mezclaron vigorosamente. Las células se dejaron enfriar para que pudiera actuar el fijador durante al menos 30 minutos y luego se recogieron mediante centrifugación y se resuspendieron en 800 μ L de PBS. Luego, las células se incubaron a 37°C durante 30 min con 100 μ L de RNasa (1 mg/mL) (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) y 100 μ L de yoduro de propidio (IP) (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) (Figura 9).

El contenido de ADN de las células teñidas se estudió con un citómetro de flujo FACSCalibur™ (Becton Dickinson, California, EE. UU.) utilizando un láser de argón de 488 nm para recopilar los datos de FSC (dispersión directa), SSC (dispersión lateral) y la intensidad del propidio. Fluorescencia de yoduro (FLA-2) de 20000 eventos. Los datos se analizaron mediante el software CELLQUEST y el programa MODFIT (Becton Dickinson, California, EE. UU.), determinando el porcentaje de células en G0/G1, G2/M y S (Figura 10).



Figura 9. Frascos de cultivo durante el procedimiento de ensayo del ciclo celular.



Figura 10. Citómetro de flujo FACSCalibur™

3.8. Migración celular (ensayo de cicatrización de heridas)

Se sembraron osteoblastos entre el cuarto y el séptimo pase en placas de cultivo de 6 pocillos a una densidad de 5×10^5 células por pocillo y luego se incubaron durante el tiempo necesario hasta que alcanzaron un 100% de confluencia. Este tiempo depende de cada muestra. Una vez alcanzada dicha confluencia del 100%, se dejan incubar 24h más. Posteriormente se realizan 3 heridas con una punta de pipeta estéril de $10 \mu\text{L}$. Las células se lavaron brevemente y el medio de cultivo libre de suero se devolvió a las células.

La migración al espacio de la herida se fotografió utilizando un microscopio invertido equipado con una cámara digital en el momento de la herida inicial y en intervalos de tiempo de hasta 6, 12 y 24 horas después de la herida. Las distancias relativas entre los bordes de la monocapa lesionada se obtuvieron mediante recuento de píxeles de 10 sitios de herida, utilizando el software de imagen MIP-4.5[®] (CID, Barcelona, España) y aplicando la fórmula: distancia de migración = distancia inicial del espacio libre de células – distancia a 6, 12 o 24 horas de espacio libre de celular.

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación

3.9. Determinación de la concentración de VEGF en la matriz de partículas óseas

Las partículas de hueso que contenían los Eppendorf estériles se centrifugaron a 217 g durante 6 minutos. Posteriormente se recogieron los sobrenadantes y se usaron para cuantificar los pg/ml de VEGF mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) en la matriz de partículas óseas. El procedimiento se realizó según el protocolo del fabricante. La absorbancia a 450 nm se midió utilizando un lector de placas FLUOstar (BGM LabTech, Ortenberg, Alemania) (Figura 11).

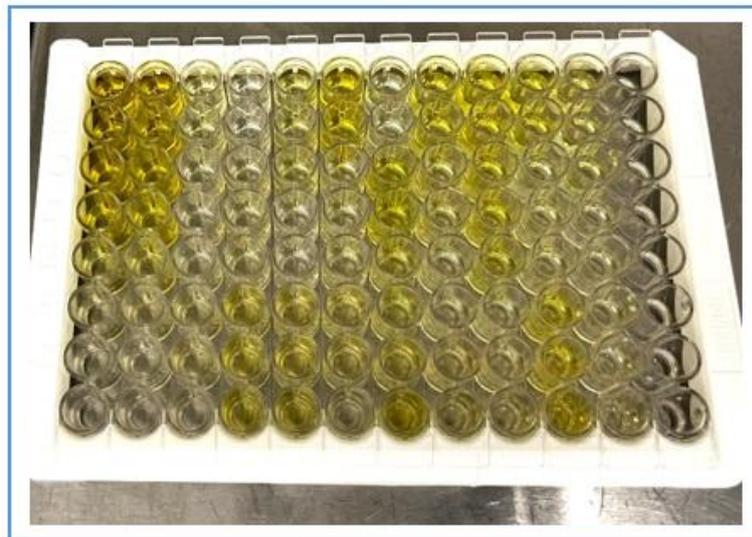


Figura 11. Muestra con ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas para medir la concentración de VEGF en la matriz de partículas óseas.

3.10. Ensayo de mineralización de matriz mediante tinción con rojo de alizarina

La formación de nódulos de mineralización ósea en los osteoblastos se observó mediante tinción con rojo de alizarina. Las células se fijaron durante 10 minutos con una solución de formaldehído neutro al 10% preenfriada (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) antes de la tinción. Después de enjuagar 3 veces con PBS, las células se

incubaron con colorante rojo alizarina Tris-HCl al 0,1% (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España) (Figura 12). Finalmente, las células se lavaron con PBS para eliminar los restos de rojo de alizarina, se secaron y se fotografiaron.

Para el análisis cualitativo se realizó una inspección visual de las muestras como describieron Tabassum y cols., en el año 2020 (Tabassum y cols., 2020).



Figura 12. Muestras de células mediante el ensayo de mineralización ósea mediante tinción rojo de alizarina.

3.11. Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico SPSS 20.0 (SPSS® Inc, Chicago, IL, EE. UU.). Se realizó un estudio descriptivo para cada variable. Las asociaciones entre variables cualitativas se estudiaron mediante la prueba de chi-cuadrado de Pearson. A las variables cuantitativas se les aplicó la prueba t de Student para dos muestras independientes, determinando en cada caso si las varianzas eran homogéneas. Se aceptó significancia estadística para $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Este ensayo clínico aleatorizado a boca partida reclutó a 30 pacientes (16 hombres y 14 mujeres), con una edad media de $53,93 \pm 16,45$ años. De los cuales 22 (73,33%) eran no fumadores y 21 (70%) no consumían alcohol (Tabla 1). La tasa de éxito de la osteointegración de los 60 implantes individuales (30 con fresado de baja velocidad con irrigación y 30 con fresado de alta velocidad sin irrigación) fue del 100% después de dos meses de seguimiento, y todos pudieron rehabilitarse con coronas unitarias atornilladas.

Características	30
Edad: media \pm DE	53,93 \pm 16,45
Género: n (%)	
Hombre	16 (53,33)
Mujer	14 (46,67)
Fumador: n (%)	
No fumador	22 (73,33)
≤ 10	8 (26,67)
11-20	0 (0)
> 20	0(0)
Consumo de alcohol: n (%)	
Ninguno	21 (70,00)
Diario	0 (0)
Consumo de fin de semana	9 (30,00)
* DE = desviación estándar	

Tabla 1. Características de la muestra del estudio

4.1. Temperaturas de fresado

Las temperaturas de fresado en la punta de la fresa piloto (2 mm de diámetro) fueron $26,55 \pm 1,06^\circ \text{C}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y $25,92 \pm 0,86^\circ \text{C}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,099$).

Las temperaturas con fresas helicoidales (2 mm de diámetro) fueron de $26,87 \pm 0,95^\circ \text{C}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $26,26 \pm 0,88^\circ \text{C}$ en el

grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,090$). Las temperaturas utilizando fresas helicoidales (2,6 mm de diámetro) fueron de $27,97 \pm 1,17^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $27,08 \pm 1,23^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,063$). Las temperaturas utilizando fresas helicoidales (3,2 mm de diámetro) fueron de $28,54 \pm 1,08^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $27,66 \pm 0,77^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,070$). Las temperaturas con fresa helicoidal (3,6 mm de diámetro) fueron de $31,76 \pm 0,85^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $30,46 \pm 0,69^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,060$).

Finalmente, las temperaturas medias de todas las fresas fueron $28,34 \pm 0,87^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y $27,48 \pm 0,63^{\circ}\text{C}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,061$) (Figura 13).

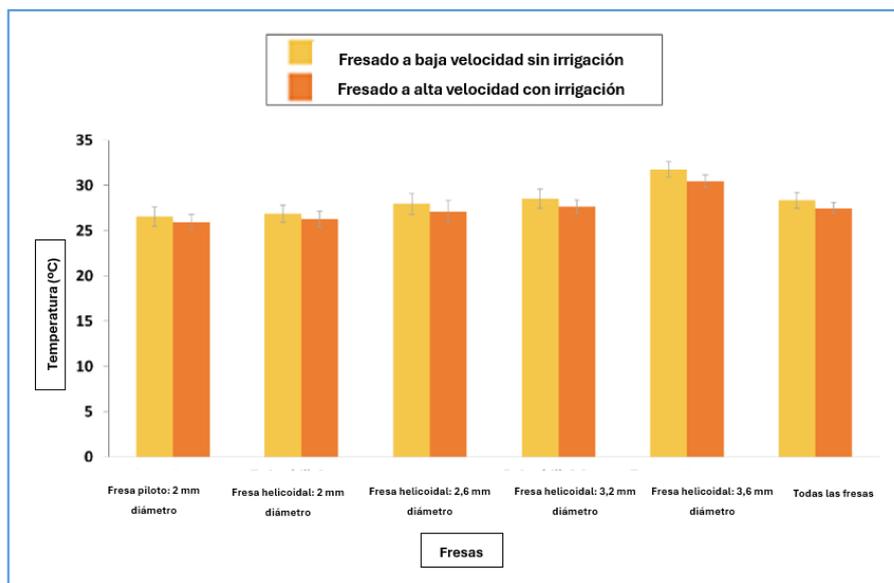


Figura 13. Comparación de las temperaturas de las fresas en ambos grupos de estudio.

4.2. Análisis de la cantidad de hueso extraído durante la osteotomía sobre implantes

El peso medio del hueso extraído fue de $104,51 \pm 31,77$ mg en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $53,65 \pm 11,14$ mg en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) (Tabla 2).

Características	Baja velocidad sin irrigación (n=30)	Alta velocidad con irrigación (n=30)	p-valor
Peso (mg): media \pm DE*	104.51 \pm 31.77	53.65 \pm 11.14	<0.001
Tamaño de partículas (mm²): media \pm DE	2.45 \pm 1.76	1.03 \pm 0.52	0.019
Composición mineral (Peso %): media \pm DE			
Ca	70.93 \pm 1.68	70.26 \pm 3.41	0.582
P	29.06 \pm 1.68	28.91 \pm 2.06	0.860
* DE = desviación estándar			

Tabla 2. Comparación de los grupos de estudio en términos de peso (mg), tamaño de la partícula (mm²) y composición mineral ósea (Ca y P) (% en peso) de las partículas óseas (prueba t de Student).

4.3. Estudio del tamaño de partículas y propiedades químicas (niveles de Ca y P) mediante análisis de la composición mineral ósea

El tamaño medio de las partículas del hueso extraído fue de $2,45 \pm 1,76$ mm² en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $1,03 \pm 0,52$ mm² en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,019$) (Tabla 2) (Figura 14 y 15).

Finalmente, el análisis de la concentración relativa de Ca fue de 70.93 ± 1.68 % de peso en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de 70.26 ± 3.41 % de peso en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.582$); y el análisis de concentración relativa de P fue de 29.06 ± 1.68

% en peso en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de 28.91 ± 2.06 % en peso en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.860$) (Tabla 2) (Figura 16).

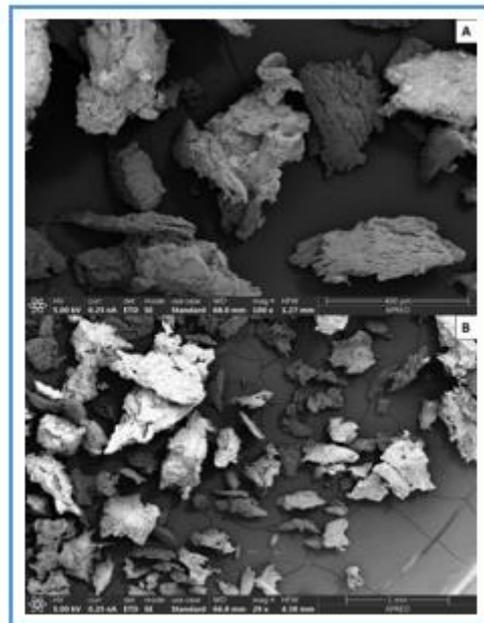


Figura 14. Imagen obtenida mediante FESEM para el estudio del tamaño de las partículas de hueso.

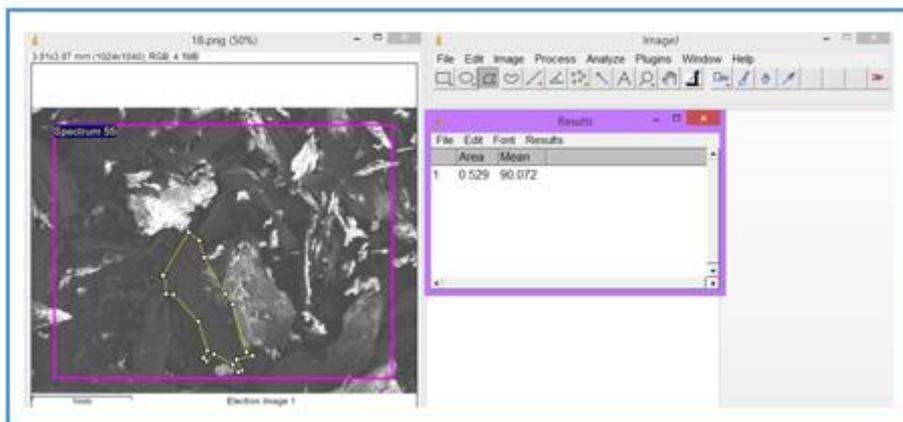


Figura 15. Imagen obtenida mediante FESEM para el estudio del tamaño de las partículas de hueso.

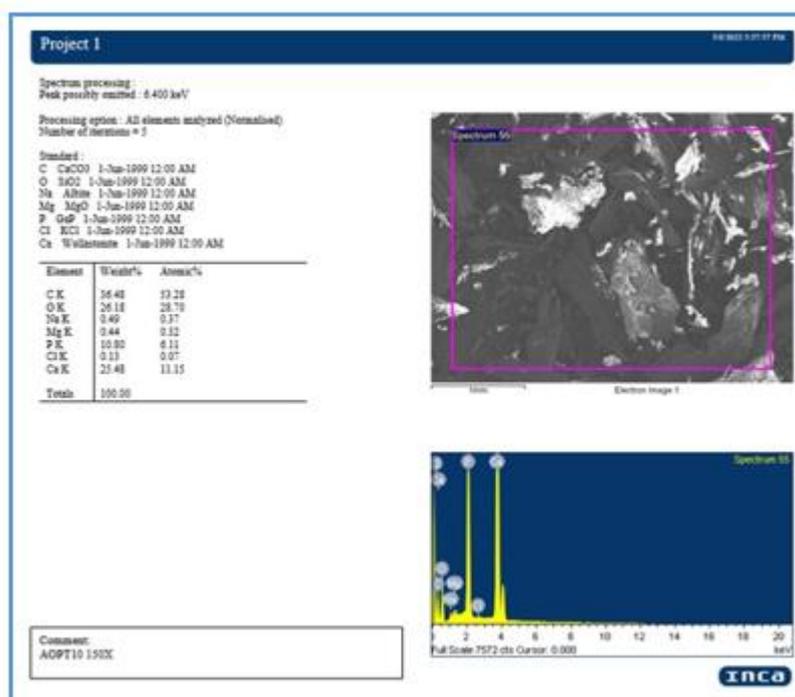


Figura 16. Imagen obtenida mediante FESEM para el estudio de los niveles de Ca y P.

4.4. Viabilidad celular (ensayo de proliferación celular)

La proliferación de osteoblastos obtenida mediante el ensayo MTT mostró una mayor capacidad de proliferación celular en las muestras de hueso recolectadas utilizando fresado a baja velocidad sin irrigación que con fresado a alta velocidad con irrigación en los días 2, 6 y 12. La proliferación celular media en el día 2 fue $0,18 \pm 0,09$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y $0,15 \pm 0,12$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,625$). La proliferación celular media el día 6 fue de $0,56 \pm 0,09$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $0,33 \pm 0,08$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,002$). La proliferación celular media el día 12 fue de $0,85 \pm 0,08$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $0,61 \pm 0,12$ en el de alta velocidad con grupo de irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,003$) (Figura 17).

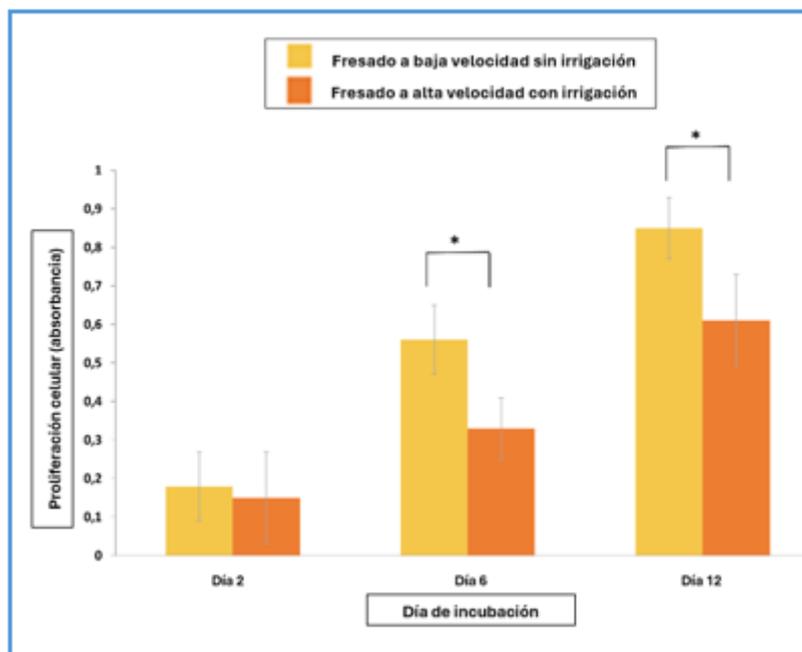


Figura 17. Proliferación celular en los días de incubación 2, 6 y 12 para fresado a alta velocidad con irrigación y a baja velocidad sin irrigación

4.5. Ensayo del ciclo celular

El perfil del ciclo celular fue normal en todos los casos y no se observaron células aneuploides de ADN ni signos de transformación neoplásica (Figura 18). En el estudio del ciclo celular, la media de células en el estadio G0/G1 fue de $65,61 \pm 5,41$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $68,29 \pm 4,12$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,582$). La media de células en el estadio G2/M fue de $23,98 \pm 0,87$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $22,56 \pm 2,51$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,035$). El número medio de células en la fase S fue de $10,41 \pm 0,98$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $9,15 \pm 2,07$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,030$) (Figura 18B) (Figura 19A y 19B).

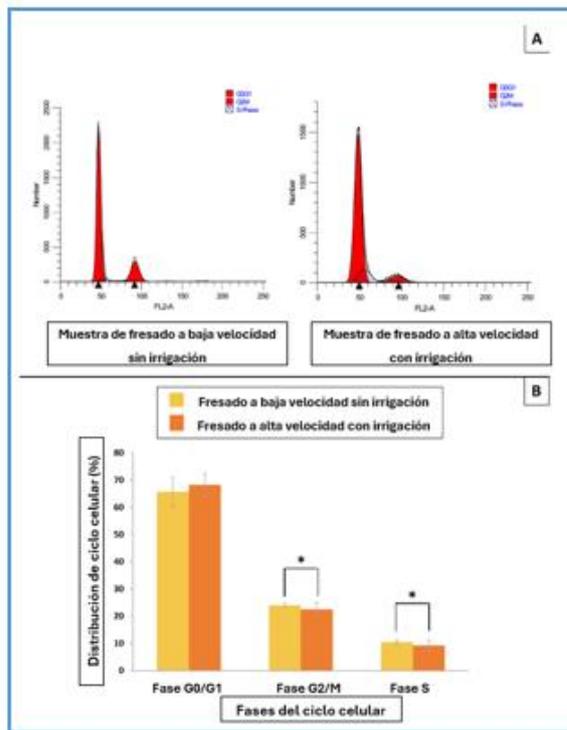


Figura 18A. Ciclo celular con fresado a baja velocidad sin irrigación y con fresado a alta velocidad con irrigación.

Figura 18B. Media de células en estadio G0/G1, G2/M y S.

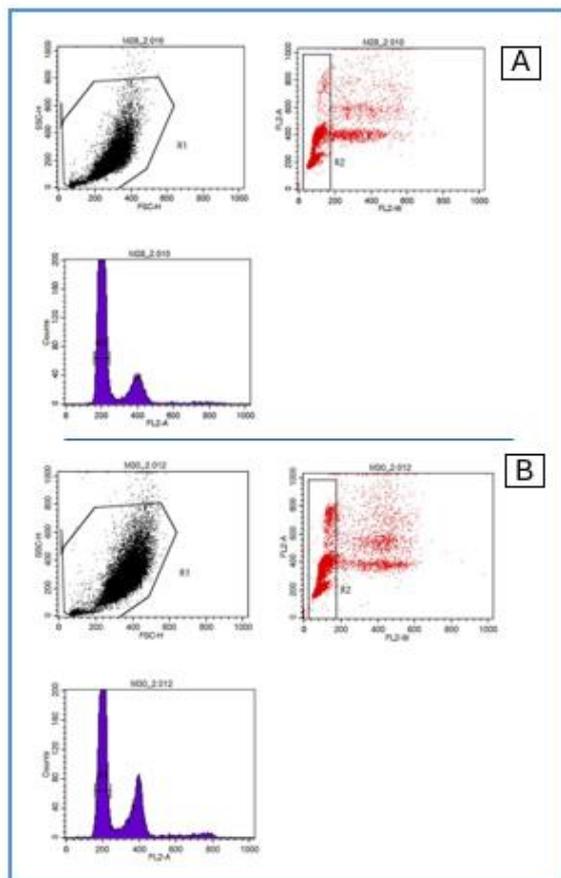


Figura 19A. Citometría de flujo de las muestras recolectadas a baja velocidad sin irrigación.

Figura 19B. Citometría de flujo de las muestras recolectadas a alta velocidad con irrigación.

4.6. Migración celular (ensayo de curación de heridas)

Utilizamos un ensayo de cicatrización de heridas para examinar cómo los diferentes métodos de fresado afectaban las capacidades de migración de 6, 12 y 24 horas de dos grupos de osteoblastos. Después de la formación de la herida, los osteoblastos cercanos al borde del área de la herida se dispersaron ligeramente en ambos grupos de estudio. Después de 6 horas, la distancia de migración media fue de $134,36 \pm 91,68 \mu\text{m}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $86,41 \pm 41,34 \mu\text{m}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,047$). A las 12 horas, la distancia de migración media fue de $257,45 \pm 141,24 \mu\text{m}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $197,65 \pm 91,64 \mu\text{m}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,164$). A las 24 horas la distancia media de migración fue de $391,81 \pm 133,46 \mu\text{m}$ en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $295,02 \pm 119,24 \mu\text{m}$ en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,709$) (Figuras 20 y 21).

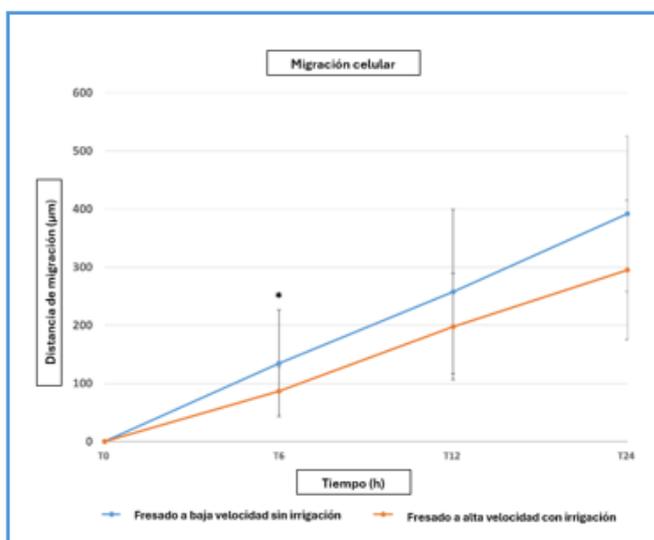


Figura 20. Gráfica de migración celular a las 24 horas de las muestras obtenidas mediante fresado a baja velocidad sin irrigación y fresado a alta velocidad con

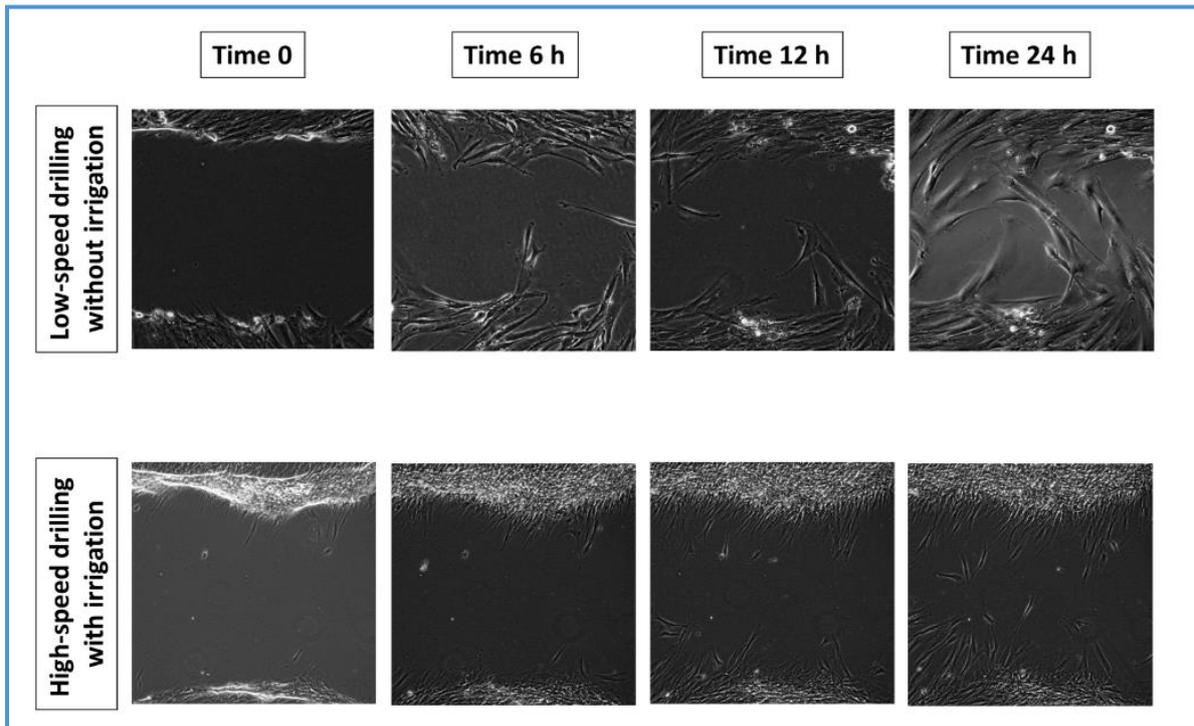


Figura 21. Imágenes obtenidas mediante el software de imagen MIP-4.5[®] (CID, Barcelona, España) a tiempo 0, 6h, 12h y 24 horas de las muestras obtenidas con fresado a baja velocidad sin irrigación y fresado a alta velocidad con irrigación.

4.7. Determinación de la concentración de VEGF en matriz de partículas óseas

La concentración de VEGF mediante ELISA mostró una mayor concentración de VEGF en las muestras de hueso recolectadas utilizando fresado a baja velocidad sin irrigación que el fresado a alta velocidad con irrigación. La concentración media de VEGF fue de $155,23 \pm 94,03$ pg/mL en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación y de $56,61 \pm 28,22$ pg/mL en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,045$) (Figura 22).

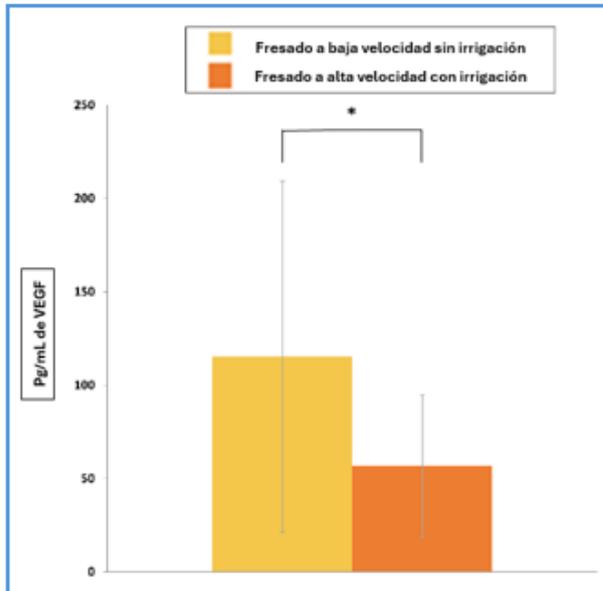


Figura 22. Concentración de VEGF en las muestras de hueso recolectadas mediante ambos protocolos de fresado.

4.8. Ensayo de mineralización de matriz mediante tinción con rojo de alizarina

Los resultados del análisis cualitativo de diferenciación osteogénica del hueso extraído mostraron diferenciación osteogénica para ambas técnicas de fresado. Además, se observó una mayor formación de nódulos mineralizados rojos en la técnica de fresado a baja velocidad sin irrigación en comparación con la de fresado a alta velocidad con irrigación (Figura 23).

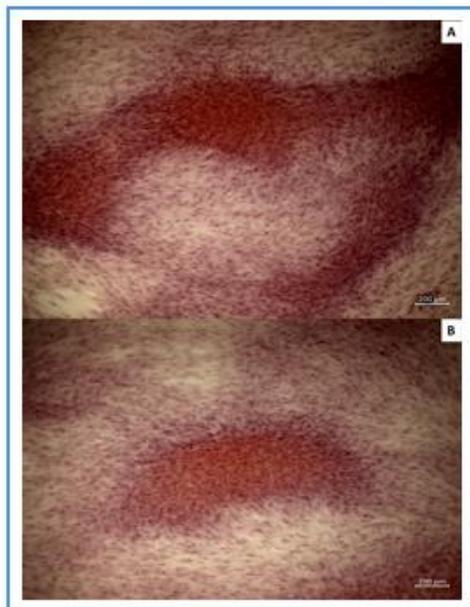


Figura 23. Imágenes obtenidas mediante tinción con rojo de alizarina.

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

En el presente estudio se ha realizado un ensayo clínico aleatorizado en el cual se compara la temperatura de fresado, la cantidad de hueso extraído, así como tamaño y propiedades químicas de las partículas extraídas con dos técnicas de fresado: fresado convencional con irrigación salina y fresado a baja velocidad sin irrigación. Además, se analiza la viabilidad, ciclo celular y migración, concentración de VEGF y mineralización de la matriz ósea.

El aprovechamiento de las partículas de hueso autólogo retenidas en las fresas quirúrgicas permite obtener partículas ricas en hueso esponjoso (Anitua y cols., 2007). Anitua y cols., en el 2007 analizaron y compararon los resultados con ambos tipos de fresado, hallando que la estructura ósea y la presencia de células vivas se conservaba en las muestras obtenidas mediante fresado a baja velocidad, a diferencia del fresado a alta velocidad y con irrigación. Además, para obtener una gran cantidad de partículas de hueso autólogo durante el fresado del implante, debemos evitar el uso de irrigación salina. La ausencia de irrigación salina durante el fresado puede provocar un sobrecalentamiento del hueso debido a altas velocidades durante el fresado, 800 a 1500 rpm (Iyer y cols., 1997; Iyer y cols., 1997). Así, en un estudio publicado por Iyer y cols., en el año 1997 vieron que la cantidad de calor producida por la preparación de la osteotomía del implante dental a diferentes velocidades y los efectos de la producción de calor en el pronóstico del tratamiento con implantes son controvertidos. En la Parte I de este estudio de dos partes, se midió la producción de calor *in vivo* durante la preparación de la osteotomía a velocidad baja (máximo 2000 rpm), intermedia (máximo 30 000 rpm) y alta (máximo 400 000 rpm) en la tibia de conejo. Observaron una relación entre la velocidad de fresado y la producción de calor. Para medir la producción de calor, se insertó una sonda de termopar en un sitio receptor preparado en la cara anteromedial de la metáfisis tibial. Registraron la temperatura mientras se practicaba una osteotomía a 1 mm del sitio del receptor del termopar. Utilizaron agua destilada como refrigerante junto con todos los fresados, y todas las osteotomías fueron preparadas por un solo investigador para eliminar la variable de diferencia en la técnica entre operadores. Observaron una relación inversa entre la velocidad de fresado y la producción de calor. Un análisis de varianza indicó

diferencias significativas en la producción de calor entre las tres velocidades de fresado ($p < 0,05$). Los resultados de la Parte I de este estudio indicaron que para la configuración y el material de la fresa utilizada, el rango de alta velocidad minimiza la producción de calor. Por lo tanto, en la Parte I de este estudio de dos partes, los autores investigaron la producción de calor durante el fresado de osteotomía a tres velocidades diferentes y determinaron que el fresado de alta velocidad producía la menor cantidad de calor cuando se usaban fresas de carburo 700 XL (Iyer y cols., 1997). En la Parte II de este estudio se examinó histológicamente la velocidad y la calidad de la cicatrización después de realizar osteotomías a las tres velocidades mencionadas anteriormente en la mandíbula. Las osteotomías se examinaron histológicamente 2, 4 y 6 semanas después de la operación. Los hallazgos histológicos sugirieron que en las 6 semanas iniciales, la tasa de curación y la calidad de la formación de hueso nuevo fueron mayores después del fresado de alta velocidad que después del fresado de velocidad baja o intermedia. Estos resultados, parecen implicar una relación entre la producción de calor y la cicatrización de las osteotomías (Iyer y cols., 1997).

En este sentido, los protocolos de fresado a baja velocidad, entre 45 y 200 rpm sin irrigación, producen un ligero aumento de la temperatura en la zona de fresado, que no pone en riesgo el hueso maxilar, y el aumento de temperatura disminuye inmediatamente después del fresado (Flanagan, 2010; Omar y McKinley, 2018; Bernabeu-Mira y cols., 2021). Así, en un estudio realizado por Flanagan en 2010 nos habla de que la colocación quirúrgica de implantes dentales requiere una osteotomía y que ese fresado óseo puede generar calor perjudicial en esa área que puede causar necrosis ósea localizada y, posteriormente, puede resultar en un fracaso en la osteointegración del implante dental. Se ha recomendado el enfriamiento mediante irrigación con solución salina para evitar dicho sobrecalentamiento. Sin embargo, esta irrigación puede interferir con la visión del operador e impedir la recolección de restos óseos de las espiras de las fresas de preparación para su uso en injertos autólogos. En este sentido, las fresas de diámetro pequeño pueden generar más calor que las de diámetro mayor y es posible que sea necesario irrigarlas cuando se van a colocar implantes de diámetro más pequeño en hueso denso. Aunque es posible que los nuevos diseños de fresas más cortantes de mayor diámetro no generen calor perjudicial y tengan la capacidad de eliminar gradualmente

cualquier hueso dañado por el calor del fresado anterior. En ese sentido, puede ser seguro no utilizar irrigación en zonas con menor densidad ósea cuando se utilizan fresas de mayor diámetro. Además, el presente artículo también nos habla de que una mayor fuerza y velocidad de fresado pueden minimizar el calentamiento óseo al minimizar el tiempo de operación de fresado en el hueso y la generación de calor. Por lo que es posible que no sea necesaria la irrigación para evitar el calentamiento del hueso durante la osteotomía cuando se utilizan diseños de fresas actuales con una técnica de fresado rápida y ágil (Flanagan, 2010).

De manera similar, en una revisión sistemática de la literatura publicada por Bernabeu-Mira y cols., en el año 2021 se revisaron un total de 626 artículos, de los cuales finalmente se incluyeron 13. Resaltaron que en estudios de fresado durante la osteotomía en colocación de implantes tanto el fresado a baja velocidad sin irrigación (grupo test) como el fresado convencional (grupo de control) mantuvieron las temperaturas por debajo de la temperatura crítica de 47°C. El grupo de prueba produjo una mayor cantidad y propiedades celulares e histomorfológicas más beneficiosas del hueso extraído, con un mayor tiempo de fresado y mayor precisión de la osteotomía ($p < 0,05$). Sin embargo, no se obtuvieron resultados significativos en cuanto al desgaste de la fresa, osteointegración, pérdida de hueso marginal, tasa de éxito de los implantes e histomorfología de la osteotomía del implante dental ($p > 0,05$). Sin embargo, los resultados, en particular sobre la precisión de la osteotomía y la cantidad de partículas de hueso recolectadas, deben interpretarse con cautela porque los resultados se basan en un solo estudio *in vitro*. Así pues, se concluyó que el fresado a baja velocidad sin irrigación parece ser comparable al fresado convencional en la preparación de las osteotomías de implantes dentales. En algunas situaciones, el fresado a baja velocidad sin irrigación puede ofrecer ventajas sobre el fresado convencional. No obstante, los resultados deben interpretarse con cautela debido al bajo porcentaje de estudios clínicos en humanos. En consecuencia, más estudios clínicos serían necesarios para mejorar la evidencia científica sobre este tema (Bernabeu-Mira y cols., 2021).

En este sentido, en 2018 Omar y McKinley hablaron del interés creciente en la cirugía mínimamente invasiva debido a los beneficios que ofrece en los resultados postoperatorios en comparación con los métodos abiertos convencionales de cirugía. Así

pues, uno de los principales factores que determina el protocolo en cirugía mínimamente invasiva es prevenir la osteonecrosis térmica iatrogénica. En dicho estudio se analizaron diversos parámetros de los fresados en cirugías mínimamente invasivas, las cuales reducirían el riesgo de osteonecrosis térmica iatrogénica. Para ello, se utilizaron dieciséis huesos tarsianos frescos congelados y dos huesos metatarsianos, los cuales fueron perforados usando varias configuraciones. Los parámetros considerados fueron la velocidad de fresado, el diámetro de la fresa y la variabilidad cortical interindividual. Las mediciones de la temperatura debido al calor generado en el área de fresado se midieron mediante dos métodos: sonda termopar y termografía infrarroja. Además, los datos obtenidos fueron analizados cuantitativamente. Los resultados mostraron que había una diferencia significativa en las temperaturas generadas con diferentes velocidades de fresado ($p < 0,05$). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en las temperaturas entre los huesos de diferentes individuos y en huesos perforados con diferentes diámetros de fresa. Asimismo, el termopar demostró ser una herramienta significativamente más sensible para medir la temperatura en comparación con la termografía infrarroja. Por lo que en el presente artículo se demostró que el fresado a una velocidad óptima redujo significativamente el riesgo de sufrir daños térmicos iatrogénicos, como la osteonecrosis, manteniendo así la temperatura por debajo del nivel umbral. Aunque diferentes diámetros de las fresas que fueron utilizadas para fresado no produjeron diferencias significativas en la generación de temperatura, es necesario realizar más estudios sobre el impacto mecánico del uso de diferentes diámetros de fresa (Omar y McKinley, 2018).

En este mismo sentido, varios estudios clínicos han demostrado las ventajas potenciales de la extracción de hueso autólogo mediante fresado a baja velocidad sin irrigación en comparación con el fresado a alta velocidad con irrigación (Anitua y cols., 2007; Liang y cols., 2017; Tabassum y cols., 2020). En un artículo publicado por Liang y cols., en el año 2017 cuyo objetivo fue comparar la actividad de los osteoblastos y el potencial osteogénico de células autólogas de las partículas óseas recolectadas mediante tres técnicas diferentes, determinaron el método más ventajoso de recolección de partículas de hueso autólogo. El objetivo del estudio fue examinar las muestras recolectadas, confirmar la existencia de osteoblastos en estas muestras, y comparar la actividad biológica y la potencial osteogénico de partículas óseas aisladas mediante tres

técnicas diferentes: rascadores óseos, fresado a baja velocidad y filtros óseos. Los objetivos adicionales fueron identificar qué método de extracción de partículas óseas es el más ventajoso en la regeneración ósea y proporcionar una base teórica para la recolección y posterior injerto de partículas óseas autólogas, así como conocer las ventajas y desventajas en la recolección de partículas óseas mediante fresado a baja velocidad sin irrigación en comparación con otros métodos. Para lo cual, se recolectaron partículas óseas de 20 pacientes durante la cirugía de colocación de los implantes dentales mediante las tres técnicas mencionadas. Después de cultivar los osteoblastos, fueron evaluadas tanto la proliferación celular, migración, mineralización, transcripción de genes relacionados con la osteogénesis, secreción de proteínas relacionadas con la osteogénesis y el contenido de proteínas osteoinductivas en la matriz de partículas óseas. Demostraron que la actividad de los osteoblastos y el potencial osteogénico fueron mayores en las muestras de hueso recolectadas con rascador óseo y con fresado a baja velocidad que en las muestras obtenidas mediante filtro de trampa ósea. Evidenciaron que el fresado a baja velocidad es una técnica recomendable y efectiva para recolectar partículas de hueso autólogo. Por lo que, en la colocación de implantes, el fresado a baja velocidad puede considerarse la opción de primera línea, y si la cantidad de hueso extraído es insuficiente, se pueden extraer partículas de hueso obtenidas con el raspador óseo.

En este estudio, se comparó por primera vez el fresado óseo a baja velocidad con el método de raspado óseo. Los resultados mostraron que las partículas óseas obtenidas mediante fresado a baja velocidad tienen un alto contenido en densidad celular; una alta capacidad de los osteoblastos para proliferar, migrar, diferenciarse y producir tejido mineralizado; así como una fuerte transcripción de genes relacionados con la osteogénesis (Col-1, BGLAP y BMP-2) y también una fuerte secreción de proteínas relacionadas con la osteogénesis (Col-1, BGP y BMP-2). Aunque el grupo de fresado exhibió un BGP más bajo que el grupo raspador, no hubo diferencias significativas en ningún otro factor entre estos dos grupos, con lo que se demostró que la actividad de los osteoblastos y el potencial osteogénico de los dos grupos de partículas óseas eran similares. Además, como se mencionó anteriormente, el volumen de partículas óseas obtenidas mediante la recolección con raspado óseo era limitada y, a menudo, era necesario recolectar más adicionalmente. En cambio, el método para la obtención de hueso mediante el fresado a

baja velocidad obtuvo más partículas óseas vivas y redujo el daño al tejido huésped, lo que a su vez se traduce en un mejor postoperatorio para los pacientes.

La cantidad de partículas óseas extraídas mediante fresado a baja velocidad en este estudio fue el doble que la cantidad de partículas óseas recolectadas por un raspador óseo en el área del implante. Además, desde un punto de vista histológico, las muestras de tejido extraídas mediante fresado a baja velocidad contienen factores de crecimiento más abundantes que los obtenidos mediante raspado óseo, ya que los primeros incluyen no sólo hueso cortical, sino también esponjoso. También, los factores biológicos como BMP-2 y VEGF en la partícula ósea fueron evaluados. Si bien, la matriz ejerce un gran efecto tanto en la osteogénesis como en la integración. Estas proteínas contenidas en la matriz de partículas de hueso obtenidas con fresado a baja velocidad se encontraron en un nivel significativamente más alto que el de las muestras del grupo de raspado óseo.

Las partículas de hueso extraídas mediante fresado a baja velocidad también se compararon con las extraídas mediante un filtro de hueso. Sin embargo, los resultados experimentales mostraron una gran diferencia en la actividad celular y el potencial osteogénico entre los dos grupos de obtención de hueso. El grupo de fresado a baja velocidad tuvo un número significativamente mayor de osteoblastos que el grupo de filtro de trampa ósea. Además, los niveles de BMP-2 y VEGF en la matriz ósea fueron notablemente más altos que los del grupo de filtro de trampa de ósea. Las partículas de hueso obtenidas usando el filtro trampa de huesos no mostraron ventajas en las capacidades de proliferación, migración celular o en el potencial de proliferación celular, así como en la diferenciación y mineralización en el análisis estadístico. Este hallazgo puede atribuirse al efecto del agua de irrigación, que descompone y arrastra las proteínas biológicas de la matriz (Uchida y cols. 2003; Liang y cols., 2017). La irrigación con suero fisiológico frío también elimina fácilmente las células vivas. Todos estos efectos redujeron en gran medida la actividad biológica de las partículas óseas. Por el contrario, debido a que el fresado a baja velocidad no involucraba irrigación, este método retuvo el complemento completo de células y citoquinas. Es más, en términos de riesgo biológico, las partículas de hueso que permanecían en las espiras de la fresa mediante fresado a baja velocidad eran más fáciles de recoger que los procedentes de la filtración, disminuyendo así la posible contaminación por saliva.

En resumen, la actividad de los osteoblastos y el potencial osteogénico de las partículas de hueso autólogo recolectadas mediante estos tres métodos quirúrgicos se evaluaron para contribuir a encontrar los medios más ventajosos para la recolección de autoinjertos. Así, mediante un análisis exhaustivo se demostró que el fresado a baja velocidad es una técnica ideal para recolectar hueso particulado para injertos. Aunque los métodos de fresado a baja velocidad y el raspador óseo tienen ventajas, el fresado a baja velocidad es el método preferido para recolectar partículas de hueso autólogo, no sólo por el alto potencial osteogénico, sino también porque es más fácil de recolectar, no causa trauma adicional, tiene un bajo riesgo biológico y otros factores. Sin embargo, si al perforar no hay suficientes partículas óseas, puede ser una buena opción expandir el área de la cresta alveolar expuesta y completar el volumen óseo necesario con virutas de hueso obtenidas mediante el método de raspado óseo. Con esta combinación de partículas óseas obtendremos el efecto clínico óptimo (Uchida y cols. 2003; Liang y cols., 2017).

Así pues, hasta la fecha, se conoce que las principales ventajas de utilizar el fresado a baja velocidad sin irrigación frente al fresado a alta velocidad con irrigación son: mayor precisión de la osteotomía, obtenemos una mayor cantidad de hueso, las partículas de hueso son de mayor tamaño, y al no utilizar irrigación y altas velocidades durante la osteotomía, el riesgo de eliminar la capa proteica y los factores de señalización en el hueso es menor, facilitando la presencia de células vivas con mayor actividad celular y mayor potencial osteogénico (Liang y cols., 2017; Tabassum y cols., 2020).

En nuestro estudio comparamos ambas técnicas de fresado analizando: temperaturas de fresado, cantidad de hueso recolectado durante la osteotomía del implante, tamaño de partícula, propiedades químicas (niveles de Ca y P), viabilidad celular, ciclo celular, migración celular, concentración de VEGF y mineralización de la matriz.

En relación a las temperaturas de fresado, la temperatura en la punta de cada fresa (piloto 2 mm, helicoidal 2 mm, helicoidal 2,6 mm, helicoidal 3,2 y helicoidal 3,6 mm) fue ligeramente mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación que en el de alta velocidad con irrigación, alcanzando una temperatura máxima de $31,76 \pm 0,85^{\circ}\text{C}$ utilizando la fresa helicoidal (3,6 mm de diámetro), no se observaron diferencias

estadísticamente significativas en ninguna de las fresas que fueron comparadas, y las temperaturas alcanzadas estuvieron muy por debajo de los 47°C a los que se pueden ocurrir lesiones óseas. La temperatura media alcanzada entre todas las fresas fue muy similar en ambos grupos ($28,34 \pm 0,87^{\circ}\text{C}$ en fresado de baja velocidad sin irrigación y $27,48 \pm 0,63^{\circ}\text{C}$ en fresado de alta velocidad con irrigación), sin diferencias estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos en la literatura científica en relación al aumento de temperatura mediante ambos protocolos son variables, debido a que existe falta de homogeneidad en cuanto al origen de la zona donde se realizaron las perforaciones (bloques artificiales de diferentes materiales, costillas de animales *in vitro*, animales vivos y pacientes); también se ha utilizado una amplia variedad de velocidades de fresado en ambos grupos de estudio (45-200 rpm en fresado de baja velocidad sin irrigación y 800-1500 rpm en fresado de alta velocidad con irrigación salina); y los métodos y áreas donde se mide la temperatura (Bernabeu-Mira y cols., 2021).

En cuanto a la zona donde se realizó el fresado, algunos autores utilizaron bloques artificiales, como bloques de poliuretano (Oh y cols., 2016; Salomó-Coll y cols., 2021; Jang y cols., 2023), bloques de resina epoxi (Fraguas de San José y cols., 2020) y otros autores utilizaron costillas de cerdo (Kim y cols., 2010).

Respecto a los diferentes métodos y ubicaciones donde se mide la temperatura, se utilizaron varios entre los que destacan la T de termopares K (Oh y cols., 2011; Salomó-Coll y cols., 2021), cámaras termográficas (Fraguas de San José y cols., 2020) y termómetros digitales (Anitua y cols., 2007). En cuanto a los lugares donde se mide la temperatura, algunos autores la miden directamente en las perforaciones (Oh y cols., 2016; Salomó-Coll y cols., 2021), otros la miden en la zona donde se está realizando el fresado alrededor de los orificios (Fraguas de San José y cols., 2020), y otros, como nosotros, en la punta de cada fresa (Anitua y cols., 2007). El estudio de Anitua y cols., en 2007 (Anitua y cols., 2007) es metodológicamente el más similar al nuestro, ya que se realiza en pacientes y miden la temperatura en la punta de cada fresa, que observaron al utilizar fresado a baja velocidad sin irrigación, una temperatura de $28,1 \pm 1,9^{\circ}\text{C}$ en la fresa piloto y observamos una temperatura de $26,55 \pm 1,06^{\circ}\text{C}$, observaron una temperatura de $27,5 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$ en todas las fresas helicoidales y obtuvimos $28,34 \pm 0,87^{\circ}\text{C}$; aunque

utilizaron una velocidad de 50 rpm. Es importante señalar que ninguno de los estudios publicados reportó elevaciones de temperatura por encima de los 47°C.

Así, en un estudio publicado por Salomó-Coll y cols., en el año 2021 cuyo objetivo de estudio *in vitro* fue evaluar la influencia del tipo de hueso, el diámetro de la fresa, la velocidad de fresado y la irrigación en la generación de calor al realizar la osteotomía para la colocación de implantes dentales.

Para lo cual seleccionaron seis bloques de espuma de poliuretano que simulaban hueso tipo I (denso) y tipo IV (blando). De ellos, cada bloque fue sometido a dos condiciones experimentales diferentes para cada fresa (2 y 3,5 mm de diámetro): seguidamente, se crearon subgrupos: (a) revoluciones por minuto (50, 100 u 800 rpm) y (b) irrigación (con o sin irrigación). Se vio que, en el grupo de fresa de 2 mm, la temperatura máxima alcanzada fue prácticamente idéntica: $23,73 \pm 2,28^{\circ}\text{C}$ fueron alcanzados en el hueso cortical y $23,74 \pm 2,03^{\circ}\text{C}$ en el hueso esponjoso. Para 3,5 mm, los grupos mostraron resultados similares ($25,01 \pm 1,88^{\circ}\text{C}$ para cortical y $24,05 \pm 1,88^{\circ}\text{C}$ para hueso trabecular). Por consiguiente, en cualquier tipo de hueso, la presencia de líquido irrigador ayudaba a controlar la temperatura máxima ($p=0,001$). Al comparar las fresas de 2 mm y 3,5 mm, la mayoría de las diferencias se encontraron a 100 rpm sin irrigación ($p<0,001$) y a 800 rpm con irrigación ($p=0,001$). Se demostró que la temperatura máxima alcanzada siempre estuvo por debajo del umbral crítico que puede causar osteonecrosis, lo que a su vez demuestra que tanto la irrigación externa con velocidades de fresado más altas como el fresado sin irrigación con velocidades más bajas fueron métodos efectivos para evitar la generación excesiva de calor. En este sentido, bloques de hueso artificiales fabricados de poliuretano fueron seleccionados considerando que sus propiedades mecánicas son comparables a las del hueso esponjoso y cortical humano.

En cuanto a la fuerza aplicada durante la preparación del lecho del implante, la mayoría de los estudios *in vitro* anteriores han aplicado cargas constantes mediante sistemas neumáticos (Benington y cols., 2002). Además, como la pared ósea del lecho y la superficie de la fresa quirúrgica quedan en íntimo contacto, la irrigación salina puede tener problemas para prevenir el sobrecalentamiento (Tehemar, 1999), por lo que fresado

debe ser intermitente, permitiendo que la solución salina acceda a toda la longitud de la osteotomía. Además, esto permite la eliminación de partículas óseas, manteniendo así la eficiencia de corte de las fresas utilizadas.

Los resultados mostraron que las diferencias en la densidad ósea es uno de los principales factores que influyen en los cambios de temperatura. Así pues, al utilizar fresas de 2 mm de diámetro, los dos tipos del hueso no mostraron diferencias en la temperatura máxima alcanzada. Sin embargo, si los efectos de la irrigación y el fresado sí se considera la velocidad, se pueden sacar varias conclusiones. Usar irrigación proporcionó un mejor control de la temperatura máxima alcanzada. El uso de la irrigación con velocidades más altas (800 rpm) aseguró un mejor control de la temperatura debido a la disipación del calor por el refrigerante, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Además, también se analizó la relación entre la velocidad de fresado y la irrigación. El uso de la irrigación también aseguró el alcance de temperaturas máximas más bajas a altas velocidades de fresado. En el hueso cortical, se alcanzaron temperaturas más altas en 100 rpm que los de 50 rpm; sin embargo, en cuanto al hueso trabecular se refiere, las temperaturas en las dos velocidades eran iguales. Sin embargo, el presente estudio presentaba varias limitaciones, pues las temperaturas se evaluaron a una única profundidad de 10 mm; no habiendo pues comparaciones con perforaciones más superficiales o profundidades más profundas, lo que podría haber llevado a resultados diferentes; además, las fresas no fueron esterilizadas entre las osteotomías y se limpiaron los restos de bloques óseos con solución salina. En este sentido, algunos autores han demostrado que el autoclave puede reducir la eficiencia de corte de las fresas, lo que podría influir en la generación de calor durante el fresado (Jochum y Reichart, 2000).

A su vez, en otro estudio realizado por Oh y cols., en 2016 evaluaron la generación de calor durante el procedimiento de fresado a baja velocidad sin irrigación y alta velocidad con irrigación. En este estudio se utilizaron diez bloques de hueso artificial que eran similares al hueso D1 humano cuya temperatura inicial fue 37,0°C. Cinco de los bloques fueron perforados un total de 60 veces a una velocidad de 50 rpm sin irrigación y los otros cinco bloques a una velocidad de 1.500 rpm con irrigación. Los cambios de temperatura fueron medidos utilizando termopares. Las temperaturas máximas medias obtenidas durante el fresado a baja velocidad sin irrigación fueron 40,9°C y 39,7°C para

el fresado a alta velocidad con irrigación. Demostraron que, aunque existía diferencia significativa entre los dos grupos, el fresado a baja velocidad no produjo sobrecalentamiento (Oh y cols., 2016).

Por otro lado, en un estudio realizado por Fraguas de San José y cols., en el año 2020, hablaron de la importancia de la osteointegración como parte fundamental en el proceso de curación ósea alrededor de los implantes dentales y, por tanto, esencial en el pronóstico de estos (Fraguas de San José y cols., 2020). Así pues, algunos autores han informado de tasas de éxito del 95% relacionadas con la supervivencia de los implantes dentales después de 10 años de seguimiento (Chappuis y cols., 2013). Sin embargo, la cicatrización del tejido óseo alrededor de los implantes dentales se considera de naturaleza multifactorial, con muchos factores relacionados con el calor generado durante el fresado en el sitio del implante, tales como: presión, estado, movimiento, velocidad y duración del fresado por parte del operador, diseño de la fresa del implante, nitidez o definición de la fresa, sistema de irrigación, sistema de implante dental, espesor cortical, estado del hueso, profundidad de fresado, edad del paciente y densidad ósea. Se habla así de que el calor producido por el proceso de fresado durante la preparación del lecho de la osteotomía podría influir en el desarrollo de la osteointegración, ya que el tejido óseo es muy sensible a las lesiones térmicas. A su vez, se ha informado que el calor transferido al tejido óseo puede causar hiperemia, necrosis y fibrosis o incluso aumentar la actividad de los osteoclastos (Möhlhenrich y cols., 2015). Así, Eriksson y Albrektsson en el año 1983 informaron que un umbral de temperatura de alrededor de 47°C podría causar daños irreversibles a tejidos óseos y, por tanto, fracaso de la osteointegración cuando la osteotomía se mantiene durante un minuto (Eriksson y Albrektsson, 1983). En este sentido, Scarano y cols., informaron que el uso repetido de las fresas provoca que estas se desgasten y reduce su eficiencia, provocando esto que la temperatura aumente cada vez que se utiliza la misma (Scarano y cols., 2007). Del mismo modo, Möhlhenrich y cols., en el año 2015 informaron que el desgaste de la fresa para implantes dentales está directamente relacionado con el número de veces que se utiliza, la presión aplicada, técnica de esterilización y densidad ósea con la que se han utilizado (Möhlhenrich y cols., 2015). Además, los residuos en las fresas de implantes podrían reducir su capacidad de corte y aumentar el tiempo de fresado, lo cual parece correlacionarse con el aumento de

temperatura (Tabrizi y cols., 2017). Sin embargo, Kim y cols., en el año 2010 demostraron que velocidades de fresado más bajas no aumentan el calor transferido a los tejidos óseos a pesar del aumento del tiempo de trabajo (Kim y cols., 2010).

En cuanto a la cantidad de hueso extraído, en nuestro estudio el peso medio del hueso extraído fue mucho mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación que en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas. De manera similar, Li y cols., (Li y cols., 2020) en el año 2020 realizaron ochenta osteotomías en un modelo de hueso mandibular simulado con resina epoxi que se dividieron en dos grupos. En el grupo control el fresado se realizó a 800 rpm con irrigación, mientras que el grupo test el fresado se llevó a cabo a 50 rpm sin irrigación. Las partículas recolectadas adheridas a las espiras de las fresas y dentro de la osteotomía se recogieron y se dejaron secar, después de lo cual se pesaron en una balanza electrónica. Se extrajo significativamente más hueso para todos los diámetros de fresa utilizando fresado a baja velocidad sin irrigación que alta velocidad con irrigación. La dificultad para recolectar hueso en el fresado de alta velocidad con irrigación puede deberse a la mayor fuerza centrífuga de altas revoluciones por minuto, así como a la irrigación profusa (Bernabeu-Mira y cols., 2021), pero la geometría de las fresas helicoidales y la profundidad del fresado también pueden influir en la cantidad de hueso extraído (Lim y cols., 2017). En este sentido, en el año 2010 Park y cols. (Park y cols., 2010) realizaron un estudio *in vitro* en mandíbulas bovinas en el que compararon tres sistemas de implantes diferentes con fresas helicoidales utilizando siempre fresas de alta velocidad de 1000 rpm con irrigación a una profundidad de fresado de 10 milímetros. En el grupo 1 se utilizaron fresas con forma paralela, en el grupo 2 se utilizaron fresas con forma cónica y en el grupo 3 se utilizaron fresas con forma cónica y escalonada. Los resultados indicaron que la mayor cantidad de hueso se obtuvo con el uso de fresas helicoidales con forma paralela, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de estudio.

Adicionalmente, cuando analizamos las partículas óseas con FESEM, con respecto al tamaño de las partículas recolectadas, en nuestro estudio el tamaño medio de partícula fue mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación que en el grupo de fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas. Tabassum

y cols., en el año 2019 (Tabassum y cols., 2019) obtuvieron resultados similares, pues obtuvieron partículas de hueso autólogo de veinte pacientes utilizando fresado de baja velocidad a 50-150 rpm sin irrigación y fresado de alta velocidad a 800 rpm con irrigación. Estos autores observaron que en las muestras que se habían obtenido con el protocolo de baja velocidad tenían un tamaño de partícula mayor en comparación con las del fresado convencional. Finalmente, al analizar los niveles de Ca y P, en nuestro estudio obtuvimos valores muy similares para ambos grupos independientemente de la técnica de fresado. Aunque no podemos comparar estos datos porque no existe ninguna publicación científica donde se analice esta variable, la similitud en los niveles de Ca y P obtenidos al comparar ambas técnicas podría deberse a la similitud en la arquitectura ósea de las partículas obtenidas con cualquiera de los dos protocolos de fresado. Asimismo, Anitua y cols., en el año 2007 (Anitua y cols., 2007) observaron con análisis de microscopía óptica una gran similitud en las partículas en relación a su arquitectura ósea y la preservación de las trabéculas óseas, encontrando proporciones similares de hueso cortical y esponjoso independientemente de la técnica de fresado.

En relación con la viabilidad celular, en nuestro estudio la proliferación de osteoblastos obtenida mediante el ensayo MTT mostró una mayor capacidad proliferativa celular en las muestras de hueso recolectadas utilizando fresado a baja velocidad sin irrigación que las obtenidas con fresado a alta velocidad con irrigación en los días 2, 6 y 12, con diferencias estadísticamente significativas en los días 6 y 12. Del mismo modo, en el año 2019, Tabassum y cols., (Tabassum y cols., 2019) también compararon la proliferación de osteoblastos de las células obtenidas por el contenido de ADN entre ambos protocolos de fresado en los días 4, 7 y 12. En este caso, los resultados obtenidos fueron muy similares a los de nuestro estudio porque mostraron una mayor capacidad de proliferación celular las muestras de hueso recolectadas usando fresado a baja velocidad sin irrigación que fresado a alta velocidad con irrigación en los días 4, 7 y 12, con diferencias estadísticamente significativas en los días 7 y 12. Esto podría deberse, como se ha observado por Liang y cols., en año 2017, a que la irrigación con suero fisiológico durante la cirugía de implantes descompone y elimina las proteínas naturales y los factores de señalización del hueso y elimina las células vivas (Liang y cols., 2017), lo cual ya ha sido comentado anteriormente. Estas proteínas biológicas y factores de

señalización están involucrados en diversos mecanismos celulares como la proliferación, diferenciación y quimiotaxis de osteoblastos y osteocitos (Miron y cols., 2013). En el año 2013 cuando Miron y cols., nos hablaron de que los injertos óseos autólogos obtenidos mediante diferentes técnicas de recolección se comportan de manera diferente durante el proceso de consolidación del injerto. No obstante, las razones subyacentes no se comprenden completamente. Una teoría es que las técnicas de recolección pueden tener un impacto en el número y la actividad de las células trasplantadas que contribuyen al proceso de consolidación de este injerto. Para probar esta teoría, se recolectaron injertos óseos porcinos con cuatro procedimientos quirúrgicos diferentes: molino de hueso, piezocirugía, fresado óseo y raspador óseo. Después de determinar la viabilidad celular, se evaluó la liberación de moléculas que afectan la formación y reabsorción ósea mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa y un inmunoensayo. Además, la actividad mitogénica y osteogénica de los medios condicionados se evaluó en un bioensayo con células óseas aisladas. Concluyeron que la viabilidad celular y la liberación de moléculas que afectan la formación ósea fueron mayores en las muestras recolectadas mediante molino de hueso y raspador de hueso en comparación con muestras preparadas mediante fresado óseo y piezocirugía. Con el procedimiento de recolección también se veía afectada la expresión genética, por ejemplo, las muestras de molinos de huesos y raspadores de huesos revelaron una expresión significativamente mayor de factores de crecimiento como la proteína morfogenética ósea-2 y el factor de crecimiento endotelial vascular en comparación con los obtenidos por las otras dos modalidades (Miron y cols., 2013).

En este sentido, Liang y cols., en el año 2017 (Liang y cols., 2017) compararon la proliferación de osteoblastos obtenidos mediante ensayo MTT a partir de partículas recolectadas mediante fresado a baja velocidad a 50 rpm sin irrigación, raspador y suspensión ósea obtenida con filtro óseo, en los días 2, 4, 6, 8, 10 y 12. La proliferación de osteoblastos fue mayor en las partículas recolectadas mediante fresado a baja velocidad sin irrigación y raspador que en las obtenidas con filtro óseo, con diferencias estadísticamente significativas en los días 6, 8, 10 y 12.

Respecto al ensayo del ciclo celular, en nuestro estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el estadio G0/G1 entre ambos protocolos de

fresado, pero se observó un mayor número de osteoblastos en los estadios G2/M y S en las muestras obtenidas con fresado a baja velocidad sin irrigación al compararlas con las muestras obtenidas con fresado de alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas. De la misma manera, Manzano-Moreno y cols. obtuvieron resultados similares en el año 2013 (Manzano-Moreno y cols., 2013) al comparar el ciclo celular de los osteoblastos en partículas óseas obtenidas con fresado baja velocidad a unas 20-80 rpm sin irrigación y con una fresa redonda con irrigación para obtener un pequeño bloque de hueso corticoesponjoso, pues aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el número de osteoblastos en estadio G0/G1 entre ambas técnicas, el número de osteoblastos en estadios G2/M y S en las muestras obtenidas con fresado a baja velocidad sin irrigación fue mayor con diferencias estadísticamente significativas. Estos resultados indican que los osteoblastos de las muestras obtenidas mediante fresado baja velocidad sin irrigación sintetizan más material genético necesario para la división celular (Shimizu y cols., 2023), como así demostraron en el estudio que realizaron Shimizu y cols., en 2023, en el cual se expusieron células similares a osteocitos murinos MLO-Y4 a TF y sus reacciones se examinaron basándose en perfiles de expresión génica, evidenciando que la estimulación a fuerza de tensión detuvo el ciclo celular en G2/M en células MLO-Y4.

Al analizar la capacidad de migración celular de los osteoblastos, en nuestro estudio el ensayo de cicatrización de heridas mostró una mayor capacidad de migración celular en muestras de hueso recolectadas mediante fresado a baja velocidad sin irrigación que con irrigación a alta velocidad a las 6, 12 y 24 horas, con diferencias estadísticamente significativas a las 6 horas. De manera similar, Liang y cols., en el año 2017 (Liang y cols., 2017) también observaron que los osteoblastos de partículas óseas recolectadas mediante fresado a baja velocidad sin irrigación salina o raspador óseo tenían una mayor capacidad de migración celular que los osteoblastos de partículas obtenidas por filtro óseo, a 6, 12 y 24. horas. Es por ello que los autores concluyeron que la técnica de fresado sin irrigación a baja velocidad es una práctica factible, segura y confiable para la obtención de partículas de hueso autólogo para autoinjerto con osteoblastos con alta capacidad de migración celular, lo que permite una rápida regeneración ósea.

En cuanto al VEGF, es uno de los factores de crecimiento más importantes para la regulación del desarrollo vascular y la angiogénesis, así como influyente en la reparación ósea (Hu y Olsen, 2016). Como se demuestra en un estudio realizado por Hu y Olsen en el año 2016 donde se demuestra que el VEGF es uno de los factores de crecimiento más importantes para regulación del desarrollo vascular y la angiogénesis. Dado que el hueso es un órgano altamente vascularizado y la angiogénesis juega un papel importante en la osteogénesis, el VEGF también influye en el desarrollo esquelético y reparación ósea en la vida postnatal. Sin embargo, si bien es cierto que en muchos pacientes esta reparación y regeneración ósea es comprometida, esto puede atribuirse a un suministro de sangre deficiente; por tanto, la modulación de los niveles de VEGF en los huesos es esencial para tratar la reparación y regeneración ósea en muchos pacientes comprometida.

En nuestro estudio, la determinación de la concentración de VEGF en la matriz de partículas óseas mostró una mayor concentración de VEGF en muestras de hueso recolectadas utilizando fresado a baja velocidad sin irrigación que en fresado a alta velocidad con irrigación, con diferencias estadísticamente significativas, lo que podría tener un gran efecto tanto en la osteogénesis como en la integración del injerto óseo. De manera similar, Liang y cols., en el año 2017 (Liang y cols., 2017) también observaron que esta proteína contenida en la matriz de partículas de hueso perforadas a baja velocidad se encontraba en un nivel significativamente más alto que el de las muestras obtenidas mediante raspador o filtro óseo. Los resultados obtenidos en el presente estudio indicaron que este tipo de partículas óseas tenían una fuerte conductividad para la vascularización temprana y para la posterior osteogénesis del área del injerto.

Finalmente, al analizar la mineralización de la matriz mediante tinción con rojo de alizarina, nuestros resultados de diferenciación osteogénica cualitativa del hueso extraído mostraron diferenciación osteogénica para ambas técnicas de fresado; pero se observó una mayor cantidad de formación de nódulos mineralizados teñidos de rojo en las muestras obtenidas mediante fresado a baja velocidad sin irrigación en comparación con las que pertenecían a fresado a alta velocidad con irrigación. Del mismo modo, en un estudio realizado por Tabassun y cols., en el año 2019 (Tabassun y cols., 2019) observaron una mayor cantidad de formación de nódulos mineralizados en las muestras obtenidas mediante fresado a baja velocidad en comparación con las muestras obtenidas

mediante fresado convencional. De manera similar, los resultados obtenidos por Liang y cols., en 2017 (Liang y cols., 2017) también indicaron niveles significativamente más altos de mineralización en el grupo cuyas muestras fueron obtenidas mediante fresado a baja velocidad sin irrigación y en el grupo en el que se utilizó raspadores óseos en comparación con el grupo en el que se utilizó el filtro óseo. Si bien, como hemos mencionado anteriormente, este hallazgo se puede atribuir al efecto de la irrigación con suero fisiológico, que descompone y elimina las proteínas biológicas de la matriz (Uchida y cols., 2003). Así, en el estudio realizado por Uchida y cols., en el año 2003, investigaron la expresión del ARNm del VEGF junto con sus receptores en el proceso de curación después de una lesión por fresado femoral en un total de 160 ratas. Los eventos celulares implicados en la expresión diferencial de VEGF se estudiaron mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa, inmunocitoquímica e hibridación *in situ*. Finalmente, concluyeron que las isoformas junto con sus receptores pueden desempeñar un papel importante en el proceso de curación.

Además, la irrigación con suero fisiológico frío también elimina fácilmente las células vivas. Todos estos efectos redujeron en gran medida la actividad biológica de las partículas óseas (Liang y cols., 2017). Una de las principales limitaciones del estudio fue que solo pudimos comparar los resultados con el único estudio publicado en la literatura científica que compara la proliferación y diferenciación de células similares a osteoblastos humanos recolectadas durante la preparación de la osteotomía del implante utilizando estos dos protocolos de fresado diferentes; sin embargo, estos autores utilizan algunas de las variables que utilizamos nosotros, pero no todas (Tabassum y cols., 2019). Otra limitación de este estudio fue que el potencial osteogénico se evaluó únicamente mediante la realización de experimentos de cultivo celular. Este es simplemente un estudio *in vitro* y es posible que no se traduzca completamente en situaciones clínicas. En este sentido, se requieren estudios *in vivo* adicionales para evaluar el papel de las partículas óseas recolectadas con estas dos técnicas de fresado diferentes en la formación de hueso nuevo.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. Al estudiar la temperatura de las fresas implantológicas durante la osteotomía de implantes dentales, observamos que en ambos grupos se producía un ligero aumento de la temperatura al incrementar el diámetro de las fresas, pero no se observaron diferencias significativas entre ambos protocolos de fresado.
2. La cantidad de hueso recogido durante la osteotomía de implantes dentales fue mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación, con diferencias estadísticamente significativas.
3. El tamaño medio de las partículas de hueso recolectado durante la osteotomía de implantes dentales fue mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación, con diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, al comparar los niveles de Ca y P de las partículas obtenidas con ambos protocolos de fresado, no observamos diferencias estadísticamente significativas.
4. La viabilidad celular de los osteoblastos a los 2, 6 y 12 días de incubación fue mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación, con diferencias estadísticamente significativas a los 6 y 12 días.
5. El porcentaje de células en fases G2/M y S fue mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación, con diferencias estadísticamente significativas.
6. La capacidad de migración celular de los osteoblastos a las 6, 12 y 24 horas de incubación fue mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación, con diferencias estadísticamente significativas a las 6 horas.
7. La concentración de VEGF en la matriz de las partículas óseas fue mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación, con diferencias estadísticamente significativas.
8. La formación de nódulos de mineralización ósea por los osteoblastos fue ligeramente mayor en el grupo de fresado a baja velocidad sin irrigación, aunque ambos protocolos de fresado mostraron una elevada diferenciación osteogénica.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

Abouzgia MB, Symington JM. Effect of drill speed on bone temperature. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996; 25:394-99.

Ai-Aql ZS, Alagl AS, Graves DT, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J Dent Res* 2008; 87:107-18.

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 Suppl:49-70.

Al-Ani AH, Antoun JS, Thomson WM, Merriman TR, Farella M. Hypodontia: An Update on Its Etiology, Classification, and Clinical Management. *Biomed Res Int* 2017; 9378325.

Albrektsson T. In vivo studies of bone grafts. The possibility of vascular anastomoses in healing bone. *Acta Orthop Scand* 1980; 51:9-17.

Albrektsson T, Albrektsson B. Microcirculation in grafted bone. A chamber technique for vital microscopy of rabbit bone transplants. *Acta Orthop Scand* 1978; 49:1-7.

Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindström J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 1981; 52:155-70.

Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 2001; 10 Suppl 2:96-101.

Almeida KP, Delgado-Ruiz R, Carneiro LG, Leiva AB, Calvo-Guirado JL, Gómez-Moreno G, Malmström H, Romanos GE. Influence of Drilling Speed on Stability of Tapered Dental Implants: An Ex Vivo Experimental Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2016; 31:795-98.

Aloy-Prósper A, Maestre-Ferrin L, Peñarrocha-Oltra D, Peñarrocha-Diago M. Bone regeneration using particulate grafts: an update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011; 16:210-14.

Andersson B, Odman P, Carlsson GE. A study of 184 consecutive patients referred for single-tooth replacement. *Clin Oral Implants Res* 1995; 6:232-37.

Anitua E, Carda C, Andia I. A novel drilling procedure and subsequent bone autograft preparation: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22:138-45.

Aspenberg P, Johnsson E, Thorngren KG. Dose-dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide. *J Bone Joint Surg Br* 1990; 72:1036-37.

Atwood DA. Reduction of residual ridges: a major oral disease entity. *J Prosthet Dent* 1971; 26:266-79.

Atwood DA. Bone loss of edentulous alveolar ridges. *J Periodontol* 1979; 50:11-21.

Bachus KN, Rondina MT, Hutchinson DT. The effects of drilling force on cortical temperatures and their duration: an in vitro study. *Med Eng Phys* 2000; 22:685-91.

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación

Bansal R, Patil S, Chaubey KK, Thakur RK, Goyal P. Clinical evaluation of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate composite graft in the treatment of intrabony periodontal defect: a clinico-radiographic study. J Indian Soc Periodontol 2014; 18: 610-17.

Banwart JC, Asher MA, Hassanein RS. Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity. A statistical evaluation. Spine (Phila Pa 1976) 1995; 20:1055-60.

Bassett CA. Biologic significance of piezoelectricity. Calcif Tissue Res 1968; 1:252-72.

Becker W, Clokie C, Sennerby L, Urist MR, Becker BE. Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: case reports. J Periodontol 1998; 69:414-21.

Benic GI, Hämmerle CH. Horizontal bone augmentation by means of guided bone regeneration. Periodontol 2000 2014; 66:13-40.

Benington IC, Biagioni PA, Briggs J, Sheridan S, Lamey PJ. Thermal changes observed at implant sites during internal and external irrigation. Clin Oral Implants Res 2002; 13:293-97.

Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. Clin Oral Implants Res 2003; 14:251-62.

Bernabeu-Mira JC, Soto-Peñaloza D, Peñarrocha-Diago M, Camacho-Alonso F, Rivas-Ballester R, Peñarrocha-Oltra D. Low-speed drilling without irrigation versus conventional drilling for dental implant osteotomy preparation: a systematic review. *Clin Oral Investig* 2021; 25:4251-67.

Bertl K, Grotthoff VS, Bertl MH, Heimel P, Gahleitner A, Ulm C, Stavropoulos A. A wide mesio-distal gap in sites of congenitally missing maxillary lateral incisors is related to a thin alveolar ridge. *Clin Oral Implants Res* 2017; 28:1038-45.

Blanco J, Alonso A, Sanz M. Long-term results and survival rate of implants treated with guided bone regeneration: a 5-year case series prospective study. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16:294-301.

Bonewald LF. Mechanosensation and Transduction in Osteocytes. *Bonekey Osteovision* 2006; 3:7-15.

Bouler JM, Pilet P, Gauthier O, Verron E. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response. *Acta Biomater* 2017; 53:1-12.

Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1977; 16:1-132.

Buchko CJ, Kozloff KM, Martin DC. *Biomaterials* 2001; 22:1289.

Buser D, Dula K, Hess D, Hirt HP, Belser UC. Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. *Periodontol* 2000 1999;19:151-63.

Buser D, Dula K, Hirt HP, Schenk RK. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54:420-32.

Buser D. 20 years of guided bone regeneration in implant dentistry, 2nd ed. Berlin: Quintessence Publishing Co, 2009: 272 p.

Carvalho AC, Queiroz TP, Okamoto R, Margonar R, Garcia IR Jr, Magro Filho O. Evaluation of bone heating, immediate bone cell viability, and wear of high-resistance drills after the creation of implant osteotomies in rabbit tibias. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011; 26:1193-201.

Caubet J, Petzold C, Sáez-Torres C, Morey M, Iriarte JI, Sánchez J, Torres JJ, Ramis JM, Monjo M. Sinus graft with safescraper: 5-year results. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; 69:482-90.

Chiba A., Kimura S., Raghukandan K., Morizono Y. Effect of alumina addition on hydroxyapatite biocomposites fabricated by underwater- shock compaction. *Mat Sci Eng A* 2003; 350:179-83.

Chacon GE, Bower DL, Larsen PE, McGlumphy EA, Beck FM. Heat production by 3 implant drill systems after repeated drilling and sterilization. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64:265-69.

Chappuis V, Buser R, Brägger U, Bornstein MM, Salvi GE, Buser D. Long-term outcomes of dental implants with a titanium plasma-sprayed surface: a 20-year prospective case series study in partially edentulous patients. *Clin Implant Dent Relat Res* 2013; 15:780-90.

Chávarri-Prado D, Jones A, Pérez-Pevida E, Diéguez-Pereira M, Estrada-Martínez A, Cabezón-Palacios R. Comparison Between Corticocancellous Allograft and Bovine Xenograft for Sinus Augmentation: A Radiographic, Histologic, and Histomorphometric Clinical Study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2024; 44:309-19.

Chiapasco M, Zaniboni M, Boisco M. Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. *Clin Oral Implants Res* 2006;17 Suppl 2:136-59.

Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24:237-59.

Chiapasco M, Zaniboni M. Failures in jaw reconstructive surgery with autogenous onlay bone grafts for pre-implant purposes: incidence, prevention and management of complications. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2011; 23:1-15.

Chiriac G, Herten M, Schwarz F, Rothamel D, Becker J. Autogenous bone chips: influence of a new piezoelectric device (Piezosurgery) on chip morphology, cell viability and differentiation. *J Clin Periodontol* 2005; 32:994-99.

Chou LB, Mann RA, Coughlin MJ, McPeake WT 3rd, Mizel MS. Stress fracture as a complication of autogenous bone graft harvest from the distal tibia. *Foot Ankle Int* 2007; 28:199-201.

Dealler SF. Electrical phenomena associated with bones and fractures and the therapeutic use of electricity in fracture healing. *J Med Eng Technol* 1981; 5:73-79.

Delgado-Ruiz RA, Velasco Ortega E, Romanos GE, Gerhke S, Newen I, Calvo-Guirado JL. Slow drilling speeds for single-drill implant bed preparation. Experimental in vitro study. *Clin Oral Investig* 2018; 22:349-59.

de Elío Oliveros J, Del Canto Díaz A, Del Canto Díaz M, Orea CJ, Del Canto Pingarrón M, Calvo JS. Alveolar Bone Density and Width Affect Primary Implant Stability. *J Oral Implantol* 2020; 46:389-95.

Dent, C.D., Olson, J.W., Farish, S.E., Bellome, J., Casino, A.J., Morris, H.F. & Ochi, S. The influence of preoperative antibiotics on success rates of endosseous implants up to and including stage II surgery: a study of 2,642 implants. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1997; 55: 19–24.

DiGiovanni CW, Patel A, Calfee R, Nickisch F. Osteonecrosis in the foot. *J Am Acad Orthop Surg* 2007; 15:208-17.

Di Silvio L, Dalby MJ, Bonfield W. Osteoblast behaviour on HA/PE composite surfaces with different HA volumes. *Biomaterials* 2002; 23:101-07.

Enneking WF, Eady JL, Burchardt H. Autogenous cortical bone grafts in the reconstruction of segmental skeletal defects. *J Bone Joint Surg Am* 1980; 62:1039-58.

Eriksson AR, Albrektsson T. Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital-microscopic study in the rabbit. *J Prosthet Dent* 1983; 50:101-07.

Eriksson AR, Albrektsson T, Albrektsson B. Heat caused by drilling cortical bone. Temperature measured in vivo in patients and animals. *Acta Orthop Scand* 1984; 55:629-31.

Esposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of various bone augmentation procedures for dental implants: a Cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 21:696-710.

Esposito M, Grusovin MG, Kwan S, Worthington HV, Coulthard P. Interventions for replacing missing teeth: bone augmentation techniques for dental implant treatment. *Aust Dent J* 2009; 54:70-71.

Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84:454-64.

Flanagan D. Osteotomy irrigation: is it necessary? *Implant Dent* 2010; 19:241-49.

Fraguas de San José L, Ruggeri FM, Rucco R, Zubizarreta-Macho Á, Alonso Pérez-Barquero J, Riad Deglow E, Hernández Montero S. Influence of Drilling Technique on

the Radiographic, Thermographic, and Geomorphometric Effects of Dental Implant Drills and Osteotomy Site Preparations. *J Clin Med* 2020; 9:3631.

Fretwurst T, Nack C, Al-Ghraiiri M, Raguse JD, Stricker A, Schmelzeisen R, Nelson K, Nahles S. Long-term retrospective evaluation of the peri-implant bone level in onlay grafted patients with iliac bone from the anterior superior iliac crest. *J Craniomaxillofac Surg* 2015; 43:956-60.

Frost HM. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I. *Clin Orthop Relat Res* 1989; 248:283-93.

Frost HM. The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part II. *Clin Orthop Relat Res* 1989; 248:294-309.

Fukuba S, Okada M, Nohara K, Iwata T. Alloplastic Bone Substitutes for Periodontal and Bone Regeneration in Dentistry: Current Status and Prospects. *Materials (Basel)* 2021; 14:1096.

Galindo-Moreno P, de Buitrago JG, Padiál-Molina M, Fernández-Barbero JE, Ata-Ali J, O Valle F. Histopathological comparison of healing after maxillary sinus augmentation using xenograft mixed with autogenous bone versus allograft mixed with autogenous bone. *Clin Oral Implants Res* 2018; 29:192-201.

Gallinetti S, Canal C, Ginebra MP. Development and characterization of biphasic hydroxyapatite/ b-TCP cements. *J Am Ceram Soc* 2014; 97:1065-73.

Garai S, Sinha A. Biomimetic nanocomposites of carboxymethylcellulose–hydroxyapatite: novel three dimensional load bearing bone grafts. *Colloids Surf B: Biointerfaces* 2014; 115:182-90.

Gaspar J, Borrecho G, Oliveira P, Salvado F, Martins dos Santos J. Osteotomy at low-speed drilling without irrigation versus high-speed drilling with irrigation: an experimental study. *Acta Med Port* 2013; 26:231-36.

Gehrke SA, Bettach R, Taschieri S, Boukhris G, Corbella S, Del Fabbro M. Temperature Changes in Cortical Bone after Implant Site Preparation Using a Single Bur versus Multiple Drilling Steps: An In Vitro Investigation. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015; 17:700-07.

George K, Zafiropoulos GG, Murat Y, Hubertus S, Nisengard RJ. Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. *J Periodontol* 1994; 65:766-70.

Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005;36 Suppl 3:20-27.

Giro G, Marin C, Granato R, Bonfante EA, Suzuki M, Janal MN, Coelho PG. Effect of drilling technique on the early integration of plateau root form endosteal implants: an experimental study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 2011; 69:2158-63.

Graziani F, Cei S, Ivanovski S, La Ferla F, Gabriele M. A systematic review of the effectiveness of bone collectors. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22:729-35.

Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, Khan Y, Laurencin CT, Rosier RN; American Academy of Orthopaedic Surgeons. The Committee on Biological Implants. Bone-graft substitutes: facts, fictions, and applications. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83-A Suppl 2 Pt 2:98-103.

Hammack BL, Enneking WF. Comparative vascularization of autogenous and homogenous-bone transplants. *J Bone Joint Surg Am* 1960; 42-A:811-17.

Hämmerle CH, Lang NP. Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12:9-18.

Hanes PJ. Bone replacement grafts for the treatment of periodontal intrabony defects. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2007; 19:499-512.

Harder S, Egert C, Freitag-Wolf S, Mehl C, Kern M. Intraosseous Temperature Changes During Implant Site Preparation: In Vitro Comparison of Thermocouples and Infrared Thermography. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2018; 33:72-78.

Hoexter DL. Bone regeneration graft materials. *J Oral Implantol* 2002; 28:290-94.

Hongshi M, Chun F, Jiang C, Chengtie W. 3D-printed bioceramic scaffolds: From bone tissue engineering to tumor therapy. *Acta Biomater* 2018; 79:37-59.

Homsí G, Karlsson A, Almotairy N, Trulsson M, Kumar A, Grigoriadis A. Subjective and objective evaluation of masticatory function in patients with bimaxillary implant-supported prostheses. *J Oral Rehabil* 2023; 50:140-49.

Hu K, Olsen BR. The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration. *Bone* 2016; 91:30-38.

Hung CC, Fu E, Chiu HC, Liang HC. Bone formation following sinus grafting with an alloplastic biphasic calcium phosphate in Lanyu Taiwanese mini-pigs. *J Periodontol* 2020; 91:93-101.

Hunt DR, Jovanovic SA. Autogenous bone harvesting: a chin graft technique for particulate and monocortical bone blocks. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999; 19:165-73.

Iyer S, Weiss C, Mehta A. Effects of drill speed on heat production and the rate and quality of bone formation in dental implant osteotomies. Part I: Relationship between drill speed and heat production. *Int J Prosthodont* 1997; 10:411-14.

Iyer S, Weiss C, Mehta A. Effects of drill speed on heat production and the rate and quality of bone formation in dental implant osteotomies. Part II: Relationship between drill speed and healing. *Int J Prosthodont* 1997; 10:536-40.

Jafarian M, Baughman-Eslaminejad MB, Khojasteh A, Mashhadi Abbas F, Dehghan MM, Hassanizadeh R, et al. Marrow-derived mesenchymal stem cells directed bone regeneration in the dog mandible: comparison between biphasic calcium phosphate and

natural bone mineral. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008; 105:14-24.

Jain R, Kaur H, Jain S, Kapoor D, Nanda T, Jain M. Comparison of nano-sized hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate in the treatment of human periodontal intrabony defects. J Clin Diagn Res 2014; 8:74-78.

Jang HJ, Yoon JU, Joo JY, Lee JY, Kim HJ. Effects of a simplified drilling protocol at 50 rpm on heat generation under water-free conditions: an *in vitro* study. J Periodontal Implant Sci 2023; 53:85-95.

Jensen SS, Brogini N, Hjørting-Hansen E, Schenk R, Buser D. Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. Clin Oral Implants Res 2006; 17:237-43.

Jordana F, Le Visage C, Weiss P. Substituts osseux [Bone substitutes]. Med Sci (Paris). 2017; 33:60-65.

Juang H.Y., Hon M.H. Fabrication and mechanical properties of hydroxyapatite-alumina composites. Mat Sci Eng 1994; 2:77-81.

Jung RE, Thoma DS, Hammerle CH. Assessment of the potential of growth factors for localized alveolar ridge augmentation: a systematic review. J Clin Periodontol 2008; 35:255-81.

Jochum RM, Reichart PA. Influence of multiple use of Timedur-titanium cannon drills: thermal response and scanning electron microscopic findings. Clin Oral Implants Res 2000; 11:139-43.

Khajuria DK, Razdan R, Mahapatra DR. Development, in vitro and in vivo characterization of zoledronic acid functionalized hydroxyapatite nanoparticle based formulation for treatment of osteoporosis in animal model. Eur J Pharm 2015; 66:173-83.

Klein-Nulend J, Bakker AD, Bacabac RG, Vatsa A, Weinbaum S. Mechanosensation and transduction in osteocytes. Bone 2013; 54:182-90.

Khoury F, Hanser T. Mandibular bone block harvesting from the retromolar region: a 10-year prospective clinical study. Int J Oral Maxillofac Implants 2015; 30:688-97.

Kim SJ, Yoo J, Kim YS, Shin SW. Temperature change in pig rib bone during implant site preparation by low-speed drilling. J Appl Oral Sci 2010; 18:522-27.

Klijn RJ, Meijer GJ, Bronkhorst EM, Jansen JA. Sinus floor augmentation surgery using autologous bone grafts from various donor sites: a meta-analysis of the total bone volume. Tissue Eng Part B Rev 2010; 16:295-303.

Kniha K, Heussen N, Weber E, Möhlhenrich SC, Hölzle F, Modabber A. Temperature Threshold Values of Bone Necrosis for Thermo-Explantation of Dental Implants-A Systematic Review on Preclinical In Vivo Research. Materials (Basel) 2020; 13:3461.

Lai X, Price C, Modla S, Thompson WR, Caplan J, Kirn-Safran CB, Wang L. The dependences of osteocyte network on bone compartment, age, and disease. *Bone Res* 2015; 3:15009.

Lambert PM, Morris HF, Ochi S. The influence of 0.12% chlorhexidine digluconate rinses on the incidence of infectious complications and implant success. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55:25-30.

Laurito D, Lamazza L, Garreffa G, De Biase A. An alternative method to record rising temperatures during dental implant site preparation: a preliminary study using bovine bone. *Ann Ist Super Sanita* 2010; 46:405-10.

Lee A, Brown D, Wang HL. Sandwich bone augmentation for predictable horizontal bone augmentation. *Implant Dent* 2009; 18:282-90.

Lee JH, Ryu MY, Baek HR, Lee KM, Seo JH, Lee HK. Fabrication and evaluation of porous beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite (60/40) composite as a bone graft extender using rat calvarial bone defect model. *Sci. World J* 2013; 481789.

Leunig M, Hertel R. Thermal necrosis after tibial reaming for intramedullary nail fixation. A report of three cases. *J Bone Joint Surg Br* 1996; 78:584-87.

Li WT, Li P, Piao MZ, Zhang F, DI J. [Study on bone volume harvested from the implant sites with different methods]. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2020; 52:103-06.

Liang C, Lin X, Wang SL, Guo LH, Wang XY, Li J. Osteogenic potential of three different autogenous bone particles harvested during implant surgery. *Oral Dis* 2017; 23:1099-108.

Liao L, Yang S, Miron RJ, Wei J, Zhang Y, Zhang M. Osteogenic properties of PBLG-g-HA/PLLA nanocomposites. *Plos One* 2014; 9:1058-76.

Lim HC, Ha KI, Hong JY, Han JY, Shin SI, Shin SY, Herr Y, Chung JH. Comparison of the Bone Harvesting Capacity of an Intraoral Bone Harvesting Device and Three Different Implant Drills. *Biomed Res Int* 2017; 7819080.

Lindström J, Brånemark PI, Albrektsson T. Mandibular reconstruction using the preformed autologous bone graft. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1981; 15:29-38.

Lioubavina-Hack N, Lang NP, Karring T. Significance of primary stability for osseointegration of dental implants. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17:244-50.

Manzano-Moreno FJ, Rodríguez-Martínez JB, Ramos-Torrecillas J, Vallecillo-Capilla MF, Ruiz C, García-Martínez O, Reyes-Botella C. Proliferation and osteogenic differentiation of osteoblast-like cells obtained from two techniques for harvesting intraoral bone grafts. *Clin Oral Investig* 2013; 17:1349-56.

Marciani RD, Gonty AA, Synhorst JB 3rd, Page LR. Cancellous bone marrow grafts in irradiated dog and monkey mandibles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979; 47:17-24.

Maridati P, Dellavia C, Pellegrini G, Canciani E, Maragno A, Maiorana C. Histologic and Radiographic Comparison of Bone Scraper and Trepine Bur for Autologous Bone Harvesting in Maxillary Sinus Augmentation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015; 30:1128-36.

Marković A, Mišić T, Mančić D, Jovanović I, Šćepanović M, Jezdić Z. Real-time thermographic analysis of low-density bone during implant placement: a randomized parallel-group clinical study comparing lateral condensation with bone drilling surgical technique. *Clin Oral Implants Res* 2014; 25:910-18.

Mazock JB, Schow SR, Triplett RG. Proximal tibia bone harvest: review of technique, complications, and use in maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004; 19:586-93.

McAllister BS, Haghghat K. Bone augmentation techniques. *J Periodontol* 2007; 78:377-96.

Millan C; Vivanco JF; Benjumeda-Wijnhoven IM; Bjelica S; Santibanez JF. Mesenchymal Stem Cells and Calcium Phosphate Bioceramics: Implications in Periodontal Bone Regeneration. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1107:91-112.

Miron RJ, Gruber R, Hedbom E, Saulacic N, Zhang Y, Sculean A, Bosshardt DD, Buser D. Impact of bone harvesting techniques on cell viability and the release of growth factors of autografts. *Clin Implant Dent Relat Res* 2013; 15:481-89.

Misch CM. Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12:767-76.

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación

Misch CM. Autogenous bone: is it still the gold standard? *Implant Dent* 2010; 19:361.

Misch CM, Misch CE, Resnik RR, Ismail YH. Reconstruction of maxillary alveolar defects with mandibular symphysis grafts for dental implants: a preliminary procedural report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992; 7:360-66.

Mishra SK, Chowdhary R. Heat generated by dental implant drills during osteotomy-a review: heat generated by dental implant drills. *J Indian Prosthodont Soc* 2014; 14:131-43.

Möhlhenrich SC, Modabber A, Steiner T, Mitchell DA, Hölzle F. Heat generation and drill wear during dental implant site preparation: systematic review. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2015; 53:679-89.

Moraschini V, Poubel LA, Ferreira VF, Barboza Edos S. Evaluation of survival and success rates of dental implants reported in longitudinal studies with a follow-up period of at least 10 years: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015; 44:377-88.

Mordenfeld A, Hallman M, Johansson CB, Albrektsson T. Histological and histomorphometrical analyses of biopsies harvested 11 years after maxillary sinus floor augmentation with deproteinized bovine and autogenous bone. *Clin Oral Implants Res* 2010; 21:961-70.

Morgan EF, Unnikrisnan GU, Hussein AI. Bone Mechanical Properties in Healthy and Diseased States. *Annu Rev Biomed Eng* 2018; 20:119-43.

Murata T, Ansai T, Takehara T, Kobayashi S, Haneji T. Extracts of *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* inhibit alkaline phosphatase activity in osteoblastic cells in vitro. *Oral Dis* 1997; 3:106-12.

Murdock SH, Hoque MN. Current patterns and future trends in the population of the United States: implications for dentistry and the dental profession in the twenty-first century. *J Am Coll Dent* 1998; 65:29-35.

Nevins M, Mellonig JT, Clem DS 3rd, Reiser GM, Buser DA. Implants in regenerated bone: long-term survival. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998; 18:34-45.

Nkenke E, Neukam FW. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. *Eur J Oral Implantol* 2014; 7 Suppl 2:203-17.

Noble BS, Peet N, Stevens HY, Brabbs A, Mosley JR, Reilly GC, Reeve J, Skerry TM, Lanyon LE. Mechanical loading: biphasic osteocyte survival and targeting of osteoclasts for bone destruction in rat cortical bone. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284:934-43.

Norton MR, Gamble C. Bone classification: an objective scale of bone density using the computerized tomography scan. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12:79-84.

Oh JH, Fang Y, Jeong SM, Choi BH. The effect of low-speed drilling without irrigation on heat generation: an experimental study. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* 2016; 42:9-12.

Oh HJ, Wikesjö UM, Kang HS, Ku Y, Eom TG, Koo KT. Effect of implant drill characteristics on heat generation in osteotomy sites: a pilot study. *Clin Oral Implants Res* 2011; 22:722-26.

Oliveira N, Alaejos-Algarra F, Mareque-Bueno J, Ferrés-Padró E, Hernández-Alfaro F. Thermal changes and drill wear in bovine bone during implant site preparation. A comparative in vitro study: twisted stainless steel and ceramic drills. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23:963-69.

Omar, N.A., & McKinley, J.C. (2018). Measurement of temperature induced in bone during drilling in minimally invasive foot surgery. *Foot (Edinb)* 2018; 35: 63-69.

Pang KM, Shin Y, Park JY, Kim B, Kim SM, Lee JH. Long-Term Outcomes of Implants Placed in Autogenous Onlay Bone Grafts Harvested from Mandibular Ramus and Risk Analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2021; 36:745-54.

Papadimitriou DE, Schmidt EC, Caton JG, Romanos GE. Morphology of bone particles after harvesting with 4 different devices. *Implant Dent* 2013; 22:187-92.

Park SY, Shin SY, Yang SM, Kye SB. Effect of implant drill design on the particle size of the bone collected during osteotomy. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; 39:1007-11.

Pellicer-Chover H, Peñarrocha-Oltra D, Aloy-Prosper A, Sanchis-Gonzalez JC, Peñarrocha-Diago MA, Peñarrocha-Diago M. Comparison of peri-implant bone loss between conventional drilling with irrigation versus low-speed drilling without irrigation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2017; 22:730-36.

Peñarrocha-Diago M, Gómez-Adrián MD, García-Mira B, Ivorra-Sais M. Bone grafting simultaneous to implant placement. Presentation of a case. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005; 10:444-47.

Piattelli A, Piattelli M, Mangano C, Scarano A. A histologic evaluation of eight cases of failed dental implants: is bone overheating the most probable cause? *Biomaterials* 1998; 19:683-90.

Pieri F, Corinaldesi G, Fini M, Aldini NN, Giardino R, Marchetti C. Alveolar ridge augmentation with titanium mesh and a combination of autogenous bone and anorganic bovine bone: a 2-year prospective study. *J Periodontol* 2008; 79:2093-103.

Pinheiro FA, Mourão CF, Diniz VS, Silva PC, Meirelles L, Santos Junior E, Schanaider A. In-vivo bone response to titanium screw implants anodized in sodium sulfate. *Act Cir Bras* 2014; 29:376-82.

Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* 2010; 285:25103-08.

Reich KM, Huber CD, Lippnig WR, Ulm C, Watzek G, Tangl S. Atrophy of the residual alveolar ridge following tooth loss in an historical population. *Oral Dis* 2011; 17:33-44.

Rojbani H, Nyan M, Ohya K, Kasugai S. Evaluation of the osteoconductivity of α -tricalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect. *J Biomed Mater Res A* 2011; 98:488-98.

Rutkowski JL. Vertical Alveolar Ridge Augmentation in Implant Dentistry: A Surgical Manual and Horizontal Alveolar Ridge Augmentation in Implant Dentistry: A Surgical Manual. Tolstunov L, ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey. J Oral Implantol 2016; 42:518.

Salomó-Coll O, Auriol-Muerza B, Lozano-Carrascal N, Hernández-Alfaro F, Wang HL, Gargallo-Albiol J. Influence of bone density, drill diameter, drilling speed, and irrigation on temperature changes during implant osteotomies: an in vitro study. Clin Oral Investig 2021; 25:1047-53.

Scarano A, Carinci F, Quaranta A, Di Iorio D, Assenza B, Piattelli A. Effects of bur wear during implant site preparation: an in vitro study. Int J Immunopathol Pharmacol 2007; 20:23-26.

Scarano A, Lorusso F, Noumbissi S. Infrared Thermographic Evaluation of Temperature Modifications Induced during Implant Site Preparation with Steel vs. Zirconia Implant Drill. J Clin Med 2020; 9:148.

Schlegel KA, Fichtner G, Schultze-Mosgau S, Wiltfang J. Histologic findings in sinus augmentation with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute. Int J Oral Maxillofac Implants 2003; 18:53-58.

Schroeder A, van der Zypen E, Stich H, Sutter F. The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. J Maxillofac Surg 1981; 9:15-25.

Sener BC, Dergin G, Gursoy B, Kelesoglu E, Slih I. Effects of irrigation temperature on heat control in vitro at different drilling depths. *Clin Oral Implants Res* 2009; 20:294-98.

Shapoff CA, Bowers GM, Levy B, Mellonig JT, Yukna RA. The effect of particle size on the osteogenic activity of composite grafts of allogeneic freeze-dried bone and autogenous marrow. *J Periodontol* 1980; 51:625-30.

Shibuya N, Jupiter DC. Bone graft substitute: allograft and xenograft. *Clin Podiatr Med Surg* 2015; 32:21-34.

Shimizu N, Fujiwara K, Mayahara K, Motoyoshi M, Takahashi T. Tension force causes cell cycle arrest at G2/M phase in osteocyte-like cell line MLO-Y4. *Heliyon* 2023; 9:13236.

Simion M, Fontana F, Rasperini G, Maiorana C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clin Oral Implants Res* 2007; 18:620-29.

Simion M, Jovanovic SA, Trisi P, Scarano A, Piattelli A. Vertical ridge augmentation around dental implants using a membrane technique and autogenous bone or allografts in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998; 18:8-23.

Sorní M, Guarinós J, García O, Peñarrocha M. Implant rehabilitation of the atrophic upper jaw: a review of the literature since 1999. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10 Suppl 1:45-56.

Springer IN, Terheyden H, Geiss S, Härle F, Hedderich J, Açil Y. Particulated bone grafts-effectiveness of bone cell supply. Clin Oral Implants Res 2004; 15:205-12.

Stillman N, Douglass CW. The developing market for dental implants. J Am Dent Assoc 1993; 124:51-56.

Streckbein P, Meier M, Kähling C, Wilbrand JF, Langguth T, Schaaf H, Howaldt HP, Streckbein R, Attia S. Donor-site Morbidity after Retromolar Bone Harvesting Using a Standardised Press Fit Cylinder Protocol. Materials (Basel) 2019; 12:3802.

Tabassum A, Kazmi F, Wismeijer D, Siddiqui IA, Tahmaseb A. A Prospective Randomized Clinical Trial on Radiographic Crestal Bone Loss Around Dental Implants Placed Using Two Different Drilling Protocols: 12-Month Follow-up. Int J Oral Maxillofac Implants 2021; 36:175-82.

Tabassum A, Wismeijer D, Hogervorst J, Tahmaseb A. Comparison of Proliferation and Differentiation of Human Osteoblast-like Cells Harvested During Implant Osteotomy Preparation Using Two Different Drilling Protocols. Int J Oral Maxillofac Implants 2020; 35:141-49.

Tabrizi R, Nazhvanai AD, Farahmand MM, Pourali SY, Hosseinpour S. Do increased drilling speed and depth affect bone viability at implant site? Dent Res J (Isfahan) 2017; 14:331-35.

Tehemar SH. Factors affecting heat generation during implant site preparation: a review of biologic observations and future considerations. Int J Oral Maxillofac Implants 1999; 14:127-36.

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación

Trippel SE, Coutts RD, Einhorn TA, Mundy GR, Rosenfeld RG. Growth factors as therapeutic agents. *J Bone Joint Surg* 1996; 78:1272–85.

Troiano G, Zhurakivska K, Lo Muzio L, Laino L, Ciccì M, Lo Russo L. Combination of bone graft and resorbable membrane for alveolar ridge preservation: A systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis. *J Periodontol* 2018; 89:46-57.

Uchida S, Sakai A, Kudo H, Otomo H, Watanuki M, Tanaka M, Nagashima M, Nakamura T. Vascular endothelial growth factor is expressed along with its receptors during the healing process of bone and bone marrow after drill-hole injury in rats. *Bone* 2003; 32:491-501.

van Staden RC, Guan H, Johnson NW, Loo YC, Meredith N. Step-wise analysis of the dental implant insertion process using the finite element technique. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19:303-13.

Varghai K, Eppell SJ, Wang R. Effect of Drilling Speed on Dental Implant Insertion Torque. *J Oral Implantol* 2020; 46:467-74.

von Arx T, Wallkamm B, Hardt N. Localized ridge augmentation using a micro titanium mesh: a report on 27 implants followed from 1 to 3 years after functional loading. *Clin Oral Implants Res* 1998; 9:123-30.

Walsh WR, Pelletier MH, Bertollo N, Lovric V, Wang T, Morberg P, Parr WCH, Bergadano D. Bone ongrowth and mechanical fixation of implants in cortical and cancellous bone. *J Orthop Surg Res* 2020; 15:177.

Wang Z, Ishihara Y, Ishikawa T, Hoshijima M, Odagaki N, Ei Hsu Hlaing E, Kamioka H. Screening of key candidate genes and pathways for osteocytes involved in the differential response to different types of mechanical stimulation using a bioinformatics analysis. *J Bone Miner Metab* 2019; 37:614-26.

Wang L, Zhang B, Bao C, Habibovic P, Hu J, Zhang X. Ectopic osteoid and bone formation by three calcium-phosphate ceramics in rats, rabbits and dogs. *PLoS One* 2014; 9:107-44.

Wang Y, Wang K, Li X, Wei Q, Chai W, Wang S, et al. 3D fabrication and characterization of phosphoric acid scaffold with a HA/ β -TCP weight ratio of 60:40 for bone tissue engineering applications. *PLoS One* 2017; 12:0174870.

Wubneh A; Tsekoura EK; Ayranci C; Uludag H. Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering. *Acta Biomater* 2018; 80:1-30.

Yang W, Both SK, Van Osch GJVM, Wang Y, Jansen JA, Yang F. Performance of different three-dimensional scaffolds for in vivo endochondral bone generation. *Eur Cell Mater* 2014; 27:350-64.

You L, Temiyasathit S, Lee P, Kim CH, Tummala P, Yao W, Kingery W, Malone AM, Kwon RY, Jacobs CR. Osteocytes as mechanosensors in the inhibition of bone resorption due to mechanical loading. *Bone* 2008; 42:172-79.

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; 12:95-103.

Young MP, Korachi M, Carter DH, Worthington HV, McCord JF, Drucker DB. The effects of an immediately pre-surgical chlorhexidine oral rinse on the bacterial contaminants of bone debris collected during dental implant surgery. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13:20-29.

YOUNG RW. Nucleic acids, protein synthesis and bone. *Clin Orthop Relat Res* 1963; 26:147-60.

Yu Z, Kun Z, Rui Z, Xingjiang Y, Xuening C, Zhanwen X, et al. Bone regeneration with micro/nano hybrid-structured biphasic calcium phosphate bioceramics at segmental bone defect and the induced immunoregulation of MSCs. *Biomaterials* 2017; 147:133-44.

Zaffe D, D'Avenia F. A novel bone scraper for intraoral harvesting: a device for filling small bone defects. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18:525-33.

Zhao L, Xu T, Hu W, Chung KH. Preservation and augmentation of molar extraction sites affected by severe bone defect due to advanced periodontitis: A prospective clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res* 2018; 20:333-44.

Zong X, Kim K, Fang D, Ran S, Hsiao BS, Chu B. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer* 43 2002; 16:4403-12.

Zouhary KJ. Bone graft harvesting from distant sites: concepts and techniques. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2010; 22:301-16.

ANEXO

ANEXO I

UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Vicerrectorado de Investigación
e Internacionalización



Comisión de
Ética de
Investigación



INFORME DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA

Jaime Peris Riera, Catedrático de Universidad y Secretario de la Comisión de
Ética de Investigación de la Universidad de Murcia,

CERTIFICA:

Que D. Fabio Camacho Alonso ha presentado la memoria de trabajo del
Proyecto de Investigación titulado " *Comparación de la cantidad y la calidad del
hueso recogido durante la osteotomía implantológica usando el fresado
convencional y el de baja velocidad*", a la Comisión de Ética de Investigación
de la Universidad de Murcia.

Que dicha Comisión analizó toda la documentación presentada, y de
conformidad con lo acordado el día 11 de febrero de dos mil veinte¹, por
unanimidad, se emite INFORME FAVORABLE, desde el punto de vista ético de
la investigación.

Y para que conste y tenga los efectos que correspondan firmo esta certificación
con el visto bueno del Presidente de la Comisión.

Vº Bº
LA PRESIDENTA DE LA COMISIÓN
DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA
UNIVERSIDAD DE MURCIA

Fdo.: María Senena Corbalán García

ID:2630 /2019

¹A los efectos de lo establecido en el art. 19.5 de la Ley 40/2015 de 1 de octubre de Régimen Jurídico del
Sector Público (B.O.E. 02-10), se advierte que el acta de la sesión citada está pendiente de aprobación



Código seguro de verificación: RLxPMvYp-eTUTi5jq-fv0TqToH-0qevdBSP

COPIA ELECTRÓNICA - Página 1 de 1

Este es un copia electrónica generada de un documento administrativo electrónico emitido por la Universidad de Murcia, según el artículo 25.1 c) de la Ley 34/2002, de 1 de
julio. Su autenticidad puede ser contrastada a través de la siguiente dirección: <https://sede.um.es/verificador/>

ANEXO II

Randomized Controlled Trial > Clin Implant Dent Relat Res. 2024 Aug;26(4):795-808.

doi: 10.1111/cid.13355. Epub 2024 Jun 23.

Randomized split-mouth clinical trial comparing osteoblastic activity and osteogenic potential of autogenous particle harvesting during implant surgery without irrigation and with irrigation

Fabio Camacho-Alonso¹, Ana María Mercado-Díaz¹, Rebeca Rivas-Ballester¹, Juan Carlos Bernabeu-Mira², David Peñarrocha-Oltra², María Del Rosario Tudela-Mulero³

Affiliations + expand

PMID: 38922797 DOI: 10.1111/cid.13355

Abstract

Objective: To compare the osteoblastic activity and osteogenic potential of autogenous particle harvesting during implant surgery using low-speed drilling without irrigation and high-speed drilling with irrigation.

Materials and methods: Thirty patients with bilateral missing teeth of 3.6 and 4.6 were randomized into two groups (Group 1: low-speed drilling without irrigation and Group 2: high-speed drilling with irrigation) and 60 single dental implants were placed. The temperature at the tip of each drill was recorded and the harvested bone was weighed; particle size and Ca and P levels were also analyzed. After osteoblast culture, cell viability, cell cycle assay, cell migration, vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration, and mineralized nodule formation were assessed.

Results: Although the temperature of the drills was slightly higher in Group 1, no statistically significant differences were observed ($p \leq 0.05$); however, the amount of harvested bone was higher ($p < 0.001$) and the size of the particles was higher ($p = 0.019$). In relation to osteoblastic activity and osteogenic potential, higher cell proliferation, higher number of cells in G2/M and S phases, higher cell migration capacity, higher VEGF concentration, and higher amount of mineralized nodule formation were observed in Group 1.

Conclusions: Low-speed drilling without irrigation does not result in a significant increase in bone temperature compared to conventional drilling. However, a greater amount of bone is obtained; in addition, osteoblastic activity and osteogenic potential are higher with this technique, but further clinical studies are necessary.

Keywords: harvested bone; high-speed drilling with irrigation; low-speed drilling without irrigation; osteoblast activity; osteogenic potential.

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación

Estudio clínico aleatorizado a boca partida para comparar la actividad osteoblástica y el potencial osteogénico de las partículas óseas recolectadas durante la cirugía de implantes dentales usando el fresado a baja velocidad sin irrigación y el de alta velocidad con irrigación