

# ANÁLISIS HISTOLÓGICO E HISTOMORFOMÉTRICO DEL MATERIAL RESIDUAL OBTENIDO DURANTE LA COLOCACIÓN DE IMPLANTES DENTALES EN SITIOS CON ELEVACIÓN DE PISO DE SENO MAXILAR PREVIAMENTE INJERTADOS.

Esteban Cascante. \*

David Chin Wo. \*

Andrés Felipe Vieira. \*\*

Adriana Rodriguez. \*\*\*

\* Odontólogo. Universidad Latina de Costa Rica. Residente de Posgrado de Periodoncia, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana.

\*\* Odontólogo, Especialista en Periodoncia. Pontificia Universidad Javeriana. Profesor de Postgrado, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana.

\*\*\* Bacterióloga, Magistra en Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Profesora Asociada, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana.

## RESUMEN

**Antecedentes:** La reabsorción ósea severa en maxilar superior de un paciente edéntulo y la neumatización de seno maxilar, hacen que la colocación de implantes en dicha zona sea imposible sin la previa reconstrucción mediante la técnica de elevación de piso de seno maxilar con el uso de distintos materiales. **Objetivo:** Examinar histológicamente las características del material residual obtenido durante la colocación de implantes dentales posterior al injerto durante el procedimiento de elevación de piso de seno maxilar. **Métodos:** se analizaron 11 muestras de sitios donde se realizó previamente la elevación de piso de seno maxilar, 4 grupo control (Bio-Oss®) y 7 grupo prueba (Bio-Oss® + Puros®) obtenidas de 6 a 12 meses después de la elevación de piso de seno maxilar. Se realizó análisis histológico e histomorfométrico, utilizando tinción de eosina y hematoxilina, posterior análisis con software libre para cuantificación y aplicación de prueba estadística Wilcoxon (Mann-Whitney). **Resultados:** Después de procesada la muestra, histológicamente para ambos grupos se observaron las partículas de injerto rodeadas de hueso nuevo, células osteoides y osteoblastos. Material de injerto en contacto íntimo con hueso nuevo y líneas de aposición ósea con recambio activo. Histomorfométricamente se observó un promedio de 34% de hueso compacto en grupo control (xenoinjerto) y 27% en el grupo prueba (xenoinjerto + aloinjerto), la prueba estadística arrojó un valor de  $p = 0.25$ . **Conclusiones:** Grupo control y grupo prueba ambos resultaron en reabsorción y formación de hueso nuevo, no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la utilización de xenoinjerto como único material o en combinación con aloinjerto para la elevación de seno maxilar y posterior colocación de implantes dentales, donde no hubo diferencias en cuanto a la oseointegración o estabilidad en el momento de la colocación de los implantes.

## SUMMARY

**Background:** Severe bone resorption in a maxillary edentulous patient; and pneumatization of the maxillary sinus, make the placement of dental implants in that area, impossible without prior reconstruction, using the technique of maxillary sinus floor lift, with the use of different biomaterials. **Objective:** To examine histologically the characteristics of the residual material obtained during the placement of dental implants after the procedure of maxillary sinus floor lift.

**Methods:** Analysis of 11 cores obtained from sites that were regenerated by an elevation of the maxillary sinus floor, 4 cores in control group (Bio-Oss) and 7 cores in group test (Bio-Oss + Puros®) obtained from 6 to 12 months after the elevation of the maxillary sinus floor. Histological and histomorphometric analysis was performed using hematoxylin and eosin staining, further analysis with free software application for quantification and statistical analysis using a Wilcoxon (Mann-Whitney) test. **Results:** After the sample was processed, histologically both groups showed surrounded graft particles by new bone, osteoid cells and osteoblasts. There was graft material in intimate contact with new bone and bone apposition lines with active zones. Histomorphometrically an average of 34% of compact bone in control group (xenograft) and 27% in the test group (allograft + xenograft), however the statistical test shows a value of  $p = 0.25$ . **Conclusions:** Both control and test group resulted in resorption and new bone formation, there is not a statistically significant difference between the use of xenograft as a single material or in combination with allograft for sinus lift and subsequent placement of dental implants, also there were no differences in osseointegration or stability at the time of placement of the implants.

**PALABRAS CLAVE:** Injerto Óseo, Aloinjerto, Xenoinjerto, Elevación de Seno Maxilar, Hueso Mineralizado, Histomorfometría.

## INTRODUCCION

La reabsorción del reborde alveolar y la neumatización del seno maxilar después de la extracción dental, limita la cantidad y calidad de hueso necesario para la colocación del implante con éxito, sobre todo, en los pacientes edéntulos en maxilar superior posterior. <sup>(1,2)</sup> Actualmente, el éxito de un implante está determinado no solo por su supervivencia, en términos de oseointegración, sino por el resultado estético que se obtenga al ser rehabilitado de manera funcional. Este resultado depende en gran parte del volumen óseo del lecho receptor, razón por la cual al encontrar disminuidos las dimensiones del reborde alveolar, se convierte en un requisito fundamental la restauración de hueso nuevo para la obtención de un resultado adecuado. <sup>(1,3)</sup>

Algunos autores que han manejado casos donde el soporte de hueso es insuficiente, han escrito acerca de las diferentes técnicas de aumento del volumen y la altura del hueso del piso del seno maxilar donde se requiere colocar el implante. La técnica más utilizada es la de ventana lateral, descrita por diferentes autores (Cadwell-Luc, Boyne, Tatum) y ha sido demostrada la alta tasa de supervivencia de los implantes en varias revisiones sistemáticas. <sup>(4-12)</sup>

Estos métodos de tratamiento tradicionales para promover la regeneración ósea, utilizan principalmente injertos óseos o materiales sintéticos para llenar el defecto y proporcionar un soporte estructural. <sup>(13,14)</sup> Dentro de los tipos de injertos están los autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y los materiales aloplásticos. <sup>(14-19)</sup>

El hueso autógeno reúne los requisitos físicos y biológicos de un injerto con función odontogénica, a través de la síntesis de nuevo hueso a partir de células mesenquimales que se diferencian en osteoblastos (fenómeno conocido como osteoinducción) y servir como andamio

para el nuevo hueso (osteoconducción). Sin embargo, la dificultad para obtener el injerto y la morbilidad del mismo generan la necesidad de utilizar materiales de diferentes orígenes.<sup>(20,21)</sup>

Injerto alogénico (misma especie) y xenogénico (bovino), son las alternativas de materiales más utilizadas.<sup>(13)</sup> El aloinjerto con hueso liofilizado desmineralizado, tiene como característica principal la liberación de proteína morfogenética ósea (BMP), con capacidad de inducir el cambio de células pluripotenciales en osteoblastos lo que acelera el proceso de osteogénesis.<sup>(17,22)</sup> El xenoinjerto, de origen bovino, presenta un trabeculado similar al hueso humano al igual que su porosidad, sin embargo, sus partículas son más grandes y aunque tiene como característica principal la osteoconducción, también difiere en cuanto a su modelo de remodelación fisiológica y respuesta al proceso de reabsorción.<sup>(13, 18)</sup>

Los estudios que evalúan la calidad del nuevo hueso, buscan medir y observar cuatro factores principales: (1) porcentaje de formación de nuevo hueso, (2) porcentaje de partículas de injerto, (3) la presencia de tejido conectivo y (4) porcentaje de contacto del hueso neo formado con las partículas de material residual remanente del injerto. Todo esto con muestras tomadas en el momento de la colocación de los implantes orales.<sup>(14, 17, 19, 20, 23)</sup>

El propósito de la investigación fue proveer, mediante un análisis histológico e histomorfométrico, información acerca del recambio óseo y como consecuencia de esto la disponibilidad del material de injerto en el momento de la colocación de implantes orales. El valor de dicho análisis radica en reforzar las bases científicas para la elección del material de injerto a utilizar en la regeneración ósea en conjunto con la elevación de piso de seno maxilar.<sup>(24)</sup>

La combinación de los biomateriales, específicamente xenoinjerto y aloinjerto, se supone, permite optimizar y hacer más eficiente el proceso de recambio de las partículas de injerto y la formación de hueso nuevo, lo cual es vital para que se dé el proceso de oseointegración biológicamente plausible en el momento de la colocación de un implante dental.<sup>(20, 21, 23)</sup>

Las propiedades de osteoconducción del xenoinjerto, formando un andamiaje a partir del cual las células osteogénicas periféricas estimulen y formen hueso neoforado, en combinación con las propiedades osteoinductivas del aloinjerto, que permitirán una mayor tasa de reabsorción y aposición ósea, hacen relevante investigar la combinación de ambos biomateriales, y analizar si histológicamente es más eficaz y eficiente en el proceso de regeneración ósea y futura colocación de implantes orales.<sup>(25)</sup>

A partir de ahí el cuestionamiento de la investigación cuestionamiento fue ¿Cuáles son las características histológicas e histomorfométricas del material residual obtenido durante la colocación de implantes dentales, posterior al procedimiento de elevación de piso de seno maxilar, injertados con una combinación de aloinjerto y xenoinjerto comparado con sitios en los que se utilizó únicamente Xenoinjerto en muestras obtenidas entre 6 a 12 meses posterior a la elevación de piso de seno maxilar?

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El presente estudio observacional descriptivo de corte transversal se realizó de acuerdo a las normas de investigación en sujetos humanos establecidos y se ajustó a las normas científicas, técnicas y administrativas, con el aval del Comité de Investigación y Ética de la Facultad de

Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana (CIEFOUJ), en Bogotá, Colombia (proyecto OD-0122).

Se tomó el material residual durante la colocación de implantes dentales de pacientes que hayan sido sometidos al procedimiento de elevación de piso de seno maxilar entre el primer semestre del 2013 y el primer semestre del 2014, libres de enfermedad periodontal del posgrado de periodoncia de la facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana. Los pacientes incluidos en la investigación debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión: reborde alveolar residual menor a 5 mm, que no consuman más de 10 cigarrillos al día, pacientes ASA 1 y 2, que no padezcan de sinusitis crónica y previa firma del consentimiento informado para donación de tejidos y órganos aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Pontificia Universidad Javeriana.

A los pacientes se les realizó un exhaustivo examen diagnóstico que incluyó: la historia médica y odontológica, con evaluación oral y radiográfica completa, además de una adecuada planeación quirúrgica y protésica.

Se incluyeron en el grupo control el material residual obtenido de pacientes con injerto 100% bovino mineralizado desproteinizado particularizado (Bio-Oss, Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland), este es un xenoinjerto con propiedades osteoconductoras con lenta tasa de reabsorción y comprobada efectividad en los procedimientos de elevación de piso de seno maxilar. Y en el grupo prueba se utilizó una combinación 1:1 del mismo xenoinjerto particularizado (Bio-Oss, Geistlich AG, Wolhusen, Switzerland) con aloinjerto mineralizado cancelar particularizado (Puros Cancellous Particulate, Zimmer Dental Inc, Carlsbad, Calif), el aloinjerto se obtiene de hueso de cadáver humano tratado biológicamente con un proceso patentado de 5 pasos (Tutoplast Process, Tutogen Medical GmbH, Neunkirchen am Brand, Germany)<sup>(26, 27)</sup>. Al momento de la elevación, el biomaterial utilizado fue escogido a criterio del operador.

### **Toma de biopsia**

Antes de tomar la biopsia, se midió la altura ósea entre el material regenerativo y la cresta residual por medio de tomografías computarizadas. Las muestras fueron tomadas de la zona donde se realizó la elevación de seno maxilar, se tomaron muestras de 2mm de diámetro con una trefina (Salvin Dental Specialties 2mm x 10mm #TREP-H-SHORT-2) estandarizada y se colocaron en formol para ser enviadas a laboratorio de histotecnología. (Figura 1)

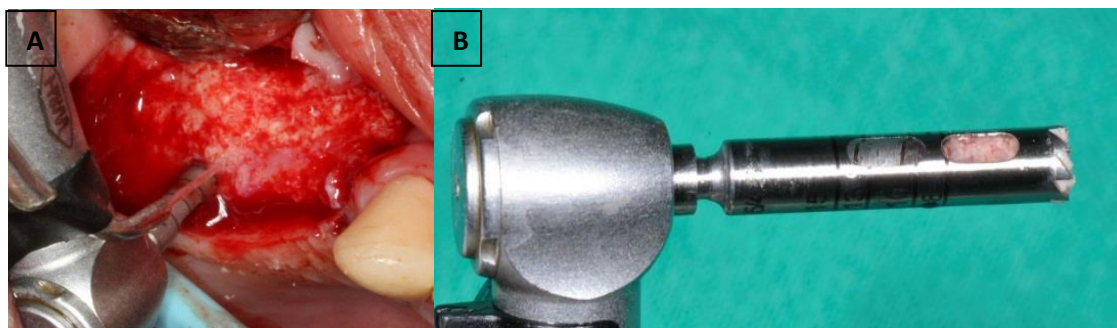


Figura 1.(A) Proceso de obtención de muestra durante la colocación de implante dental. (B) Trefina de 2 mm x 10 mm utilizada para obtención de muestra.

### **Análisis histológico**

Se tomaron muestras del material residual de 2 mm x 10 mm previo a la colocación de los implantes, se depositaron en una solución de formol neutro al 10% para su preservación y se enviaron para un laboratorio de histotecnología para el procesamiento técnico de inclusión en parafina, previa descalcificación de los mismos.

### **Procedimiento**

Se decalcificaron los especímenes con ácido nítrico durante 5 días con el fin de eliminar el material inorgánico y de ésta manera los especímenes pueden ser cortados y teñidos en el micrótopo. Las muestras se preservaron en un dispositivo conocido como procesador de tejidos por 12 horas, el cual contiene 12 vasos con los siguientes líquidos; 1 vaso con formol al 10% buferado con carbonato de sodio, 7 vasos alcoholes absolutos, 2 vasos con xiloles y 2 vasos con parafina, cada hora hasta completar el ciclo. Una vez terminado este proceso se confeccionó un bloque de parafina de bajo punto de fusión con el tejido embebido y se realizarán cortes de 2-4 micras en el micrótopo. Los cortes se colocaran en baño maría y se depositaron en una lámina porta objetos que se introducen en una estufa a 45° centígrados por 20 minutos para la remoción de la parafina. Se realizó la tinción rutinaria con hematoxilina y eosina, introduciendo los especímenes secuencialmente en tres vasos que contienen xiloles durante 5 minutos con el fin de eliminar la parafina que todavía quedan en el tejido. Fueron sumergidas y pasadas por tres vasos que contienen alcoholes absolutos y por un tiempo de 5 minutos en cada recipiente. Fueron teñidos con Hematoxilina por 1 minuto, se lavaron con agua, se introduce en agua amoniacal (para eliminar residuos de parafina y otros contaminantes como suciedad) y se sacaron inmediatamente para lavar con agua corriente. Se tiñeron en Eosina por 20 segundos, se lavaron con agua y por último se realizará el montaje de la lámina con resina sintética.

### **Análisis histomorfométrico**

La evaluación histomorfométrica de la muestra, se realizó por medio del microscopio óptico de luz, Olympus Bx51 (Tokio, Japón). Se capturaron imágenes con una magnificación de 4x a 40x mediante una cámara digital asociada al microscopio, además se utilizó técnica de luz polarizada para evaluar la refringencia de las estructuras. La cuantificación de las muestras se realizó con un software de dominio público (NIH Image, Us National Institutes of Health, disponible en internet en <http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>).

La diferenciación de hueso compacto maduro con respecto al material de injerto y otras estructuras, se realizó evaluando las características de hueso maduro con las tinciones utilizadas y la presencia de osteocitos. Los parámetros evaluados fueron: (1) porcentaje de hueso compacto, (2) porcentaje de material residual de injerto.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de las variables se realizó mediante una prueba de Wilcoxon (Mann-Whitney) para variables independientes no paramétricas, con un valor asignado de  $\alpha = 0.05$ , este análisis se realizó sobre el porcentaje de área de hueso y de material residual de injerto.

## RESULTADOS

Fue de gran importancia observar las diferencias que presentaba cada caso, por lo que se decidió presentar la descripción cualitativa de las muestras evaluadas de manera individual, y así poder destacar características propias de cada zona histológicamente analizada.

### Muestra 1 Prueba

Muestra tomada de zona previamente injertada con combinación de xenoinjerto y aloinjerto. La muestra fue tomada 50 semanas posterior a la elevación de piso de seno maxilar.

Al análisis histológico se observó presencia de hueso neoformado con aspecto de hueso maduro trabeculado que abraza material de injerto de aspecto hialino, y actividad celular con presencia de osteoblastos. En las microfotografías a 40x, se observó médula ósea y tejido conjuntivo en contacto con material de injerto óseo. La presencia de osteocitos demostró la formación activa de tejido óseo nuevo en íntima relación con material de injerto. Además se identificó tejido conectivo con fibroblastos, lo que permite inferir la posible formación de puentes de tejido colágeno que permitirán mantener el volumen de la regeneración. En la imagen con luz polarizada se aprecian zonas de hueso maduro con zonas inmaduras y material de injerto óseo. (Figura 2)

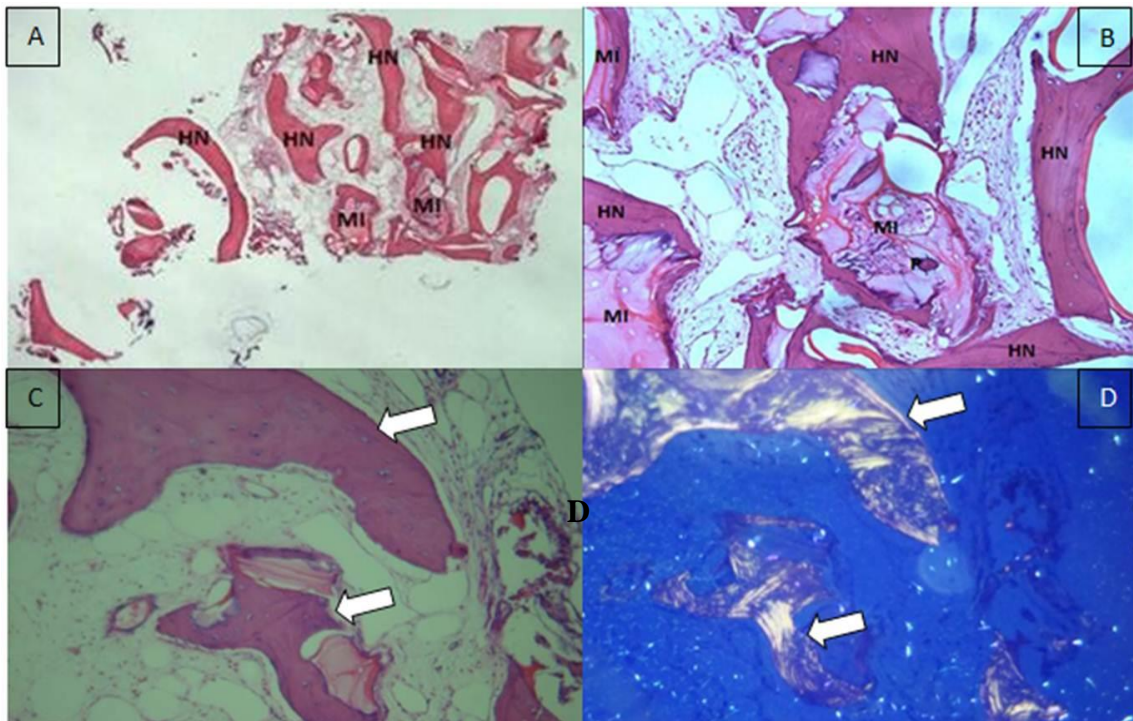


Figura 2. (A) magnificación de 4x. Se observa hueso neoformado (HN) diferenciable de las partículas de material de injerto óseo (MI). (B) en magnificación de 20x se observa hueso neoformado (HN) en contacto y rodeando partículas de material de injerto óseo (MI) con médula ósea y tejido conectivo. (C) Se observó a 20x zona de hueso trabeculado señalado con flechas. (D) Se observó a 20x zona de hueso maduro con zonas inmaduras y material de injerto óseo.

(D) En magnificación a 20x se observa la misma zona con luz polarizada la flecha señala hueso trabeculado maduro con zonas de hueso inmaduro.

## Muestra 2 Prueba

Muestra tomada de reborde edéntulo de maxilar superior, 50 semanas posterior a la elevación de piso de seno maxilar, se utilizó una combinación de xenoinjerto y aloinjerto. En este caso se observó menor presencia de hueso neoformado con aspecto de hueso esponjoso maduro y zonas de tejido óseo inmaduro, además con escasas partículas de injerto óseo.

Al análisis en una magnificación mayor, de 20X, se definieron zonas con menor cantidad de osteocitos y células óseas. En contacto con el hueso formado se apreció la formación de lagunillas y espacios medulares, que se pueden interpretar como partículas de injerto rodeadas por hueso compacto. En la microfotografía con luz polarizada se observó un hueso trabeculado esponjoso con zonas inmaduras y material de injerto, el hueso maduro presentó una refringencia que lo diferencia de las zonas inmaduras y de material de injerto (figura 3).

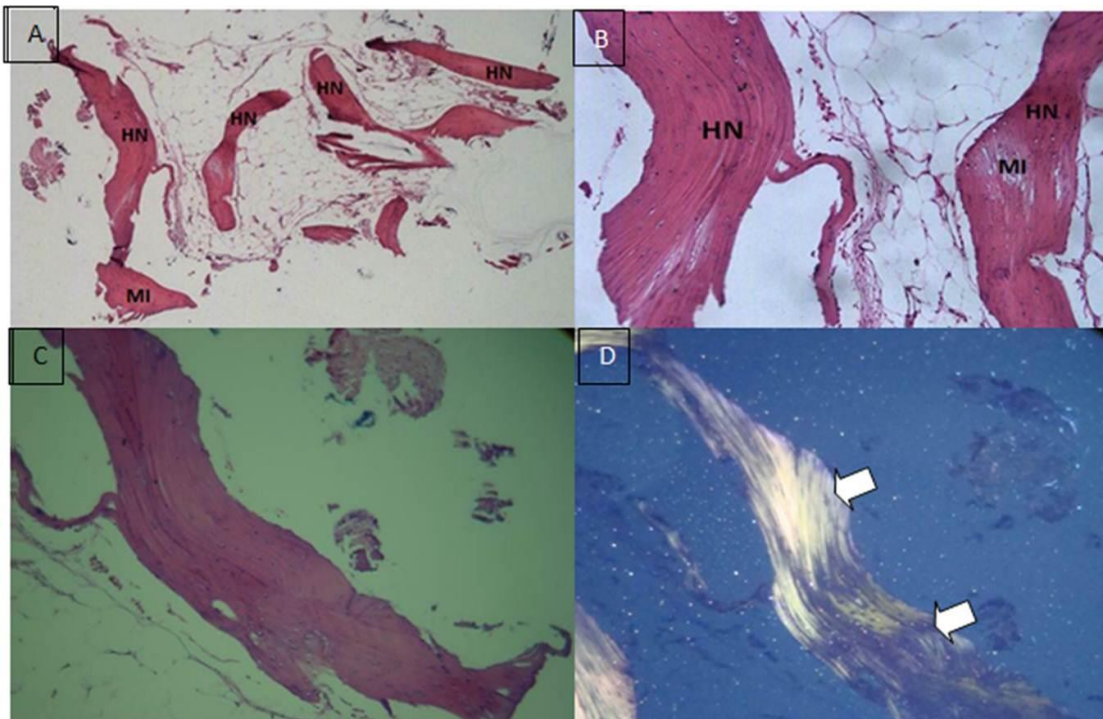


Figura 3. (A) magnificación de 4x. Se puede observó hueso neoformado (HN) disperso difícilmente diferenciable de las partículas de injerto. (B) en magnificación de 20x se observó hueso neoformado (HN) y se logró diferenciar partículas de material de injerto (MI). (C) En 20x se observó zona de hueso trabeculado. D) En magnificación a 20x se observa con luz polarizada la misma zona de C, las flechas señalan hueso trabeculado maduro con zonas inmaduras.

## Muestra 3 Prueba

Tejido tomado del sitio 50 semanas después de realizar una cirugía de elevación de piso de seno maxilar. Se observó combinación de hueso esponjoso maduro en íntima relación con material de injerto óseo. Al análisis de la muestra en una magnificación de 20x (figura 4) se pudo diferenciar tejido óseo con presencia de osteocitos y osteoblastos, estas estructuras óseas se encontraron en relación directa con partículas de injerto óseo.

Histológicamente se observaron espacios medulares y lagunillas en las partículas de injerto óseo, además de líneas basófilas de aposición ósea claramente definidas en áreas de relación estrecha del hueso compacto con el biomaterial, esto es compatible con un proceso de reabsorción del material y formación de nuevo tejido óseo. Al observar la muestra con luz polarizada no se evidenció una gran refringencia ya que el hueso presente en este caso fue un hueso trabeculado inmaduro en fase de transición hacia la maduración ósea. (Figura 4)

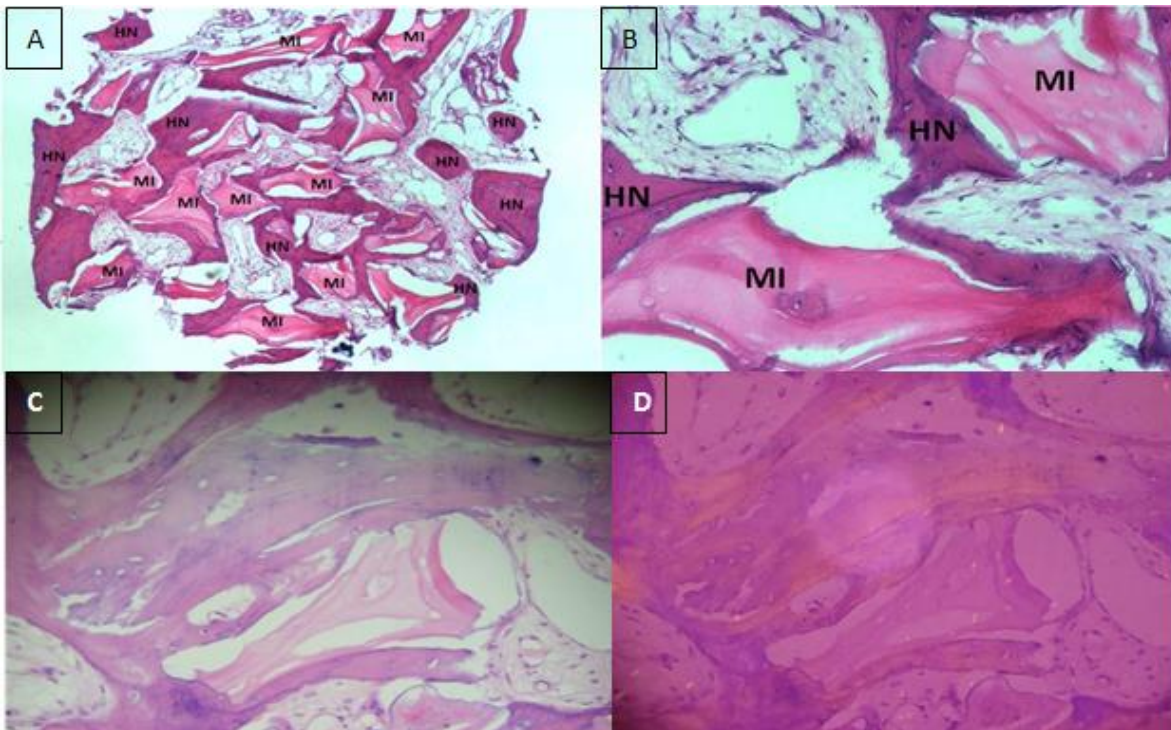


Figura 4. (A) magnificación de 4x. Se observó hueso neoformado (HN) rodeando partículas de injerto (MI) fácilmente distinguibles con tejido conectivo y espacios medulares. (B) En magnificación de 20x se diferenciaron zonas de hueso neoformado (HN) con osteocitos y partículas de injerto (MI) en íntima relación. (C) En magnificación de 20x se observó zona de injerto óseo y hueso neoformado. (D) Se observa la misma zona con luz polarizada, nótese la diferencia de refringencia de un hueso inmaduro.

#### **Muestra 4 Prueba**

Muestra tomada de 50 semanas posterior a la realización de cirugía de elevación de piso de seno maxilar, en esta muestra se observó un hueso compacto, con características de avanzada madurez y abundantes células óseas. En microfotografías a 20x y 40x resultó difícil establecer la diferencia entre el hueso neoformado y de las partículas de material de injerto.



Al análisis de la muestra en una magnificación de 20x se logró diferenciar líneas de aposición ósea en tejido óseo maduro rodeando hueso inmaduro. Con luz polarizada se logra diferenciar el hueso esponjoso maduro con zonas de hueso inmaduro, esto fue notable debido al comportamiento del hueso maduro que refringe la luz. (Figura 5)

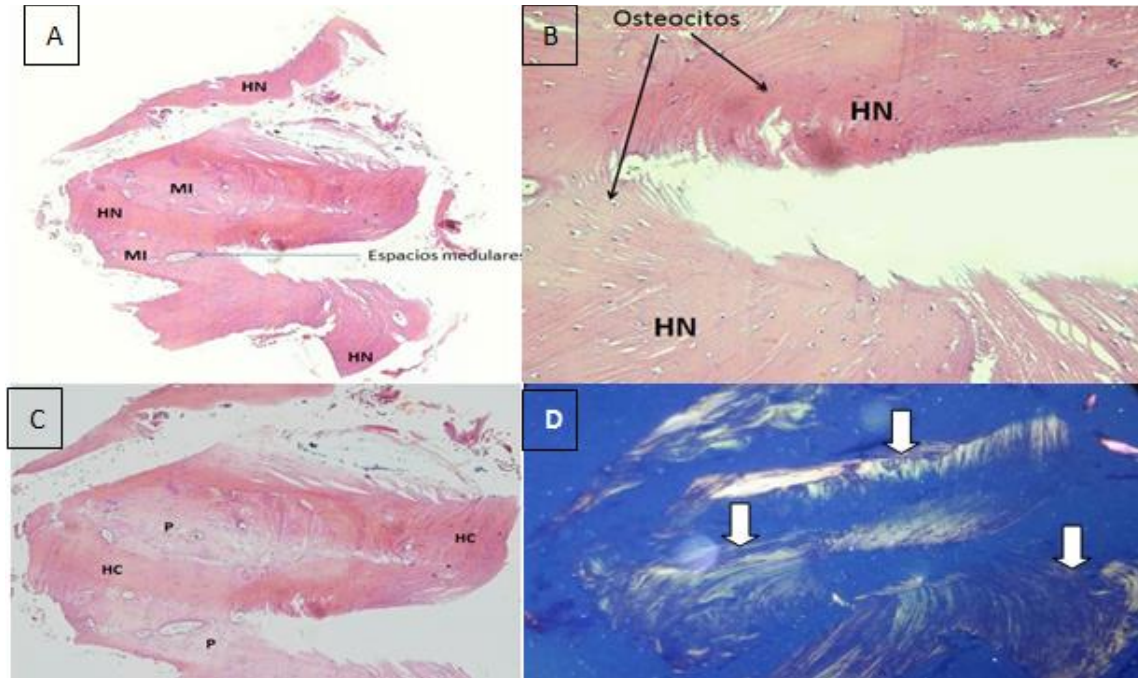


Figura 5. (A) Magnificación de 4x. Se logró observar estructura ósea con hueso compacto neoformado (HN) (B) En magnificación a 40x se diferenciaron con mayor detalle espacios medulares en el material de injerto y osteocitos en el hueso neoformado (HN). (C) A 20x se observó zona de hueso maduro con partículas de injerto óseo (P) (D) Se analizó la misma zona con luz polarizada y se observó hueso maduro con mayor refringencia señalado con las flechas

## Muestra 5 Prueba

Muestra tomada 50 semanas posterior al procedimiento de elevación de piso de seno maxilar, las microfotografías mostraron una muestra con hueso neoformado esponjoso maduro rodeando pocas partículas de injerto óseo y abundante presencia de tejido conectivo. En magnificación de 20x se observaron patrones de hueso medular con estructuras celulares óseas, osteocitos y osteoblastos, rodeando partículas de injerto óseo.

Existió predominio de tejido conectivo con vasos sanguíneos, lo cual permite interpretar que se ha establecido un proceso de angiogénesis y vascularización del tejido óseo neoformado. Las zonas de hueso neoformado con luz polarizada demostraron un tejido óseo maduro con zonas inmaduras, que presentaron una gran refringencia en las zonas de mayor maduración. (Figura 6)

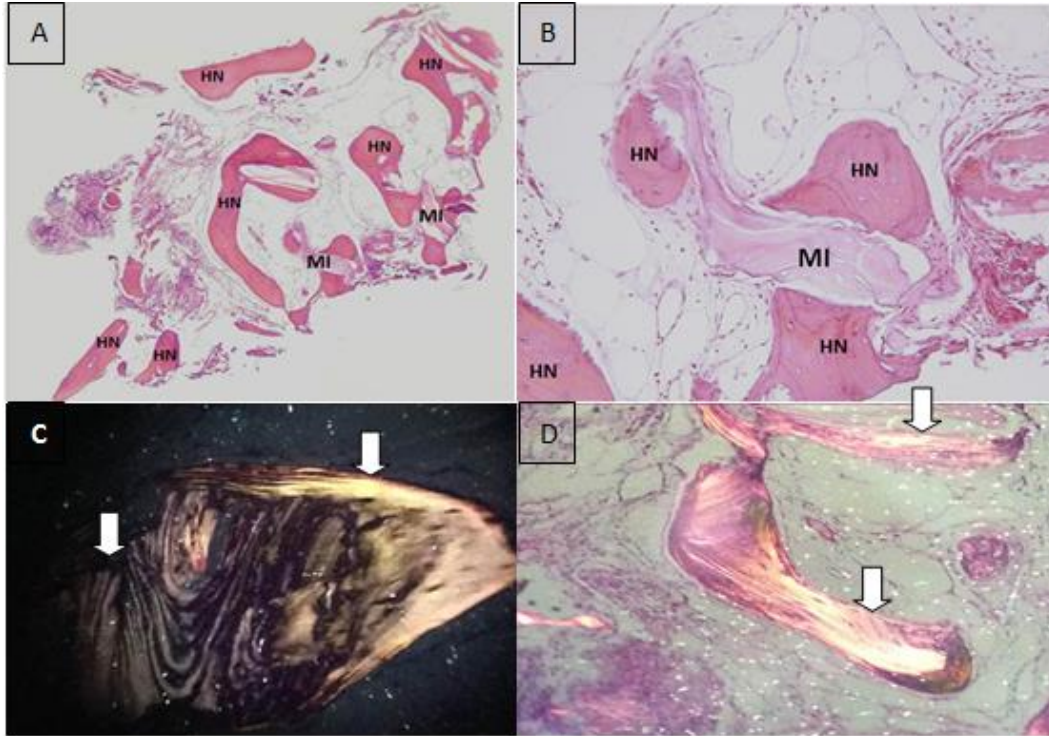


Figura 6. (A) Magnificación de 4x. En muestra de combinación de xenoinjerto y aloinjerto se observaron zonas de hueso neoformado (HN) rodeando material de injerto óseo (MI) (B) En magnificación de 20x se observó hueso neoformado (HN) rodeando material de injerto (MI). (C) En magnificación a 20x se observa con mayor detalle el hueso neoformado con luz polarizada y se observa las zonas de hueso maduro señaladas. (D) Diferente zona a 20x se observó con luz polarizada zonas marcadas de mayor maduración ósea

## Muestra 6 Control

Muestra tomada 48 semanas posterior a la elevación de piso de seno maxilar, en la cual se utilizó xenoinjerto solamente. Se observó una cortical ósea madura y gruesa adecuadamente conectada entre sí, con médula ósea y escasos espacios medulares. Se analizó la muestra a 40x y se observaron osteocitos y línea de aposición ósea, aún a gran aumento resultó imposible diferenciar posibles partículas de xenoinjerto dentro de la muestra. Al analizar la muestra en luz polarizada se identificaron claramente osteonas, con sistemas de Havers y su sistema laminar concéntrico, que ilustran claramente un hueso maduro compacto en un proceso de neoformación ósea. (Figura 7)

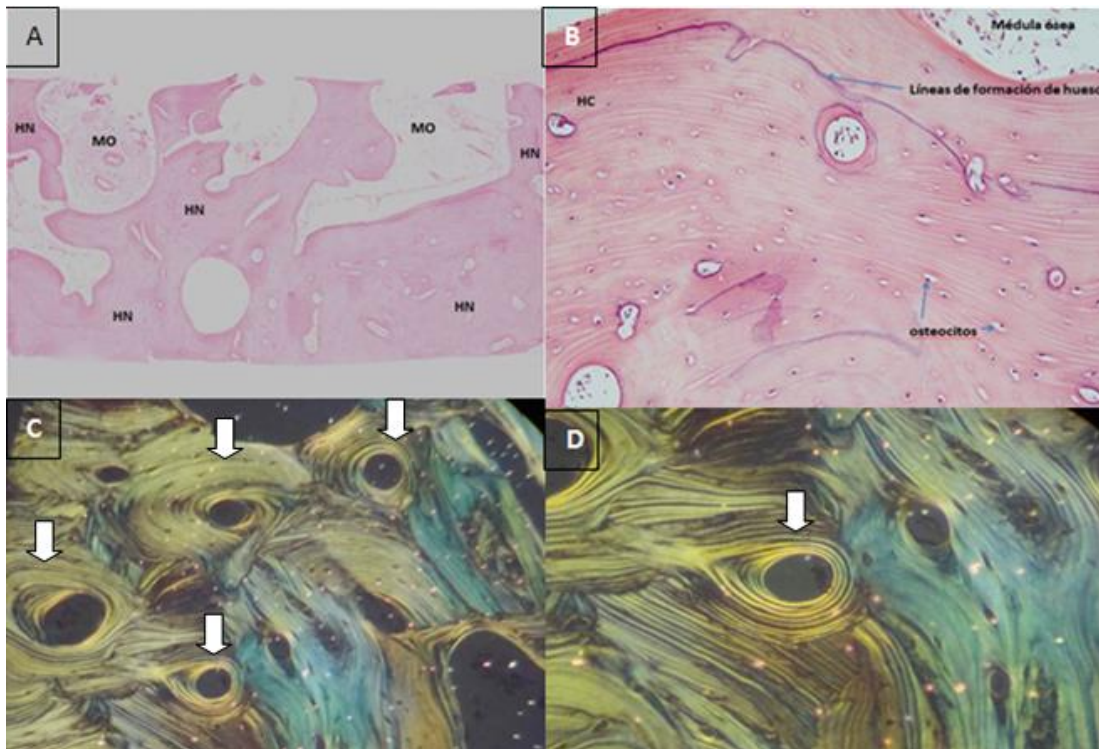


Figura 7. (A) En magnificación a 4x Se observó hueso compacto neoformado (HN) y médula ósea (MO) (B) A 40x se observó hueso compacto (HC) con presencia de vasos sanguíneos y líneas de formación de hueso (C) A 10x con luz polarizada se observó múltiples osteonas características del hueso compacto. (D) se observa bajo luz polarizada a 20 x los sistemas de Havers en mayor detalle.

## Muestra 7

### Control

Muestra de grupo control que se realizó elevación de piso de seno maxilar con xenoinjerto, la muestra se tomó 40 semanas después. Se observó hueso compacto rodeado de tejido conectivo, al analizar la muestra a mayor magnificación se lograron diferenciar partículas de injerto incorporadas al hueso compacto, pero aún en aumento mayor, 20x y 40x resultó difícil establecer una gran diferenciación entre el material de injerto y el hueso compacto.

En el tejido conectivo se observó la presencia de fibroblastos y vasos sanguíneos esto permite inferir que se encuentra un proceso de angiogénesis que favoreció la aposición de tejido óseo. En el análisis bajo luz polarizada es llamativo el patrón claro de hueso compacto rodeando partículas de injerto óseo y hueso inmaduro. (Figura 8)

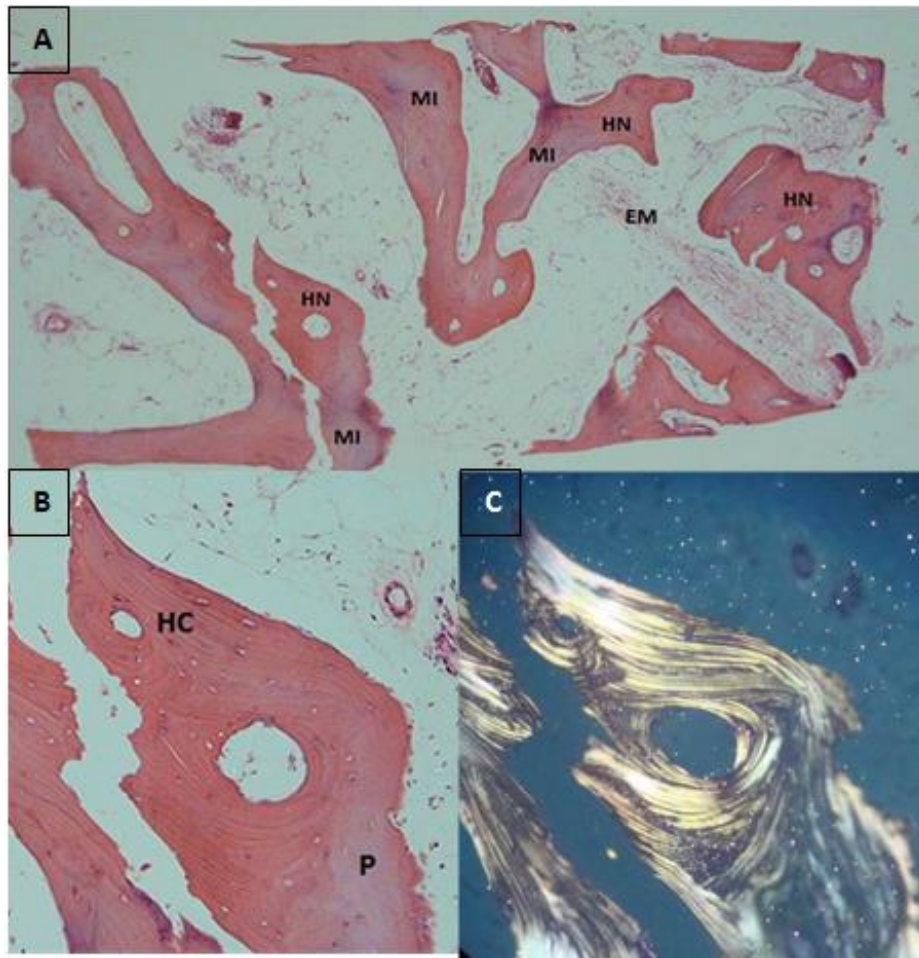


Figura 8. (A) En magnificaciones de 4x. Se observó hueso neoformado (HN) con partículas de material de injerto (MI) encapsuladas y espacios medulares (EM) (C) Zona analizada a 20x de hueso compacto (HC) y material de injerto (P) D) en magnificación de 20x se observa la misma zona con luz polarizada y se apreció el patrón concéntrico de hueso compacto (HC) y zonas inmaduras de posible injerto óseo (P).

### **Muestra 8 Prueba**

Muestra tomada 30 semanas después de haber realizado elevación de piso de seno maxilar, en la cual se colocó una combinación de xenoinjerto y aloinjerto. Se observó una muestra grande con hueso trabeculado denso y claramente diferenciado de la red de tejido conectivo y de las partículas de injerto óseo. En magnificación de 40x se pudo observar la íntima relación entre el hueso neoformado y las partículas de injerto, manteniendo un gran volumen de hueso compacto y de injerto.

Al analizar la muestra en una magnificación mayor se logró observar la presencia de vasos sanguíneos y fibroblastos en el tejido conectivo, mientras que se diferenciaron con claridad las partículas de injerto rodeadas de hueso maduro con células osteoides. En luz polarizada se observó la presencia de hueso trabeculado maduro con zonas inmaduras e injerto óseo. (Figura 9)

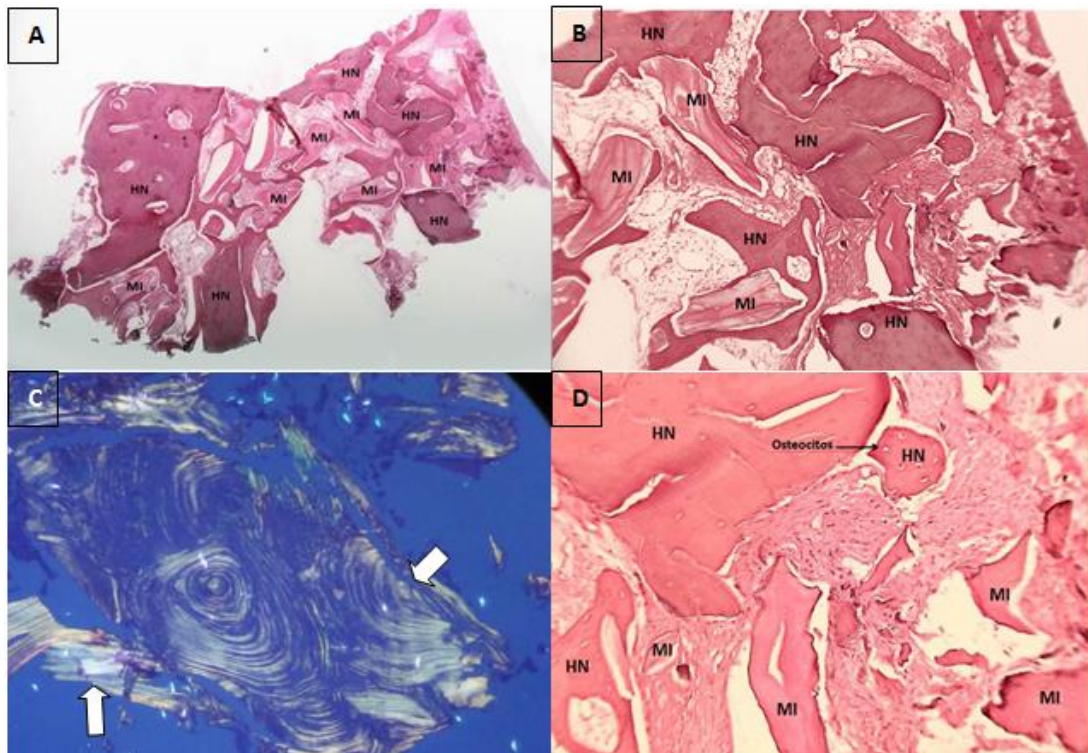


Figura 9. (A y B) En magnificación a 4x se observó hueso neoformado (HN) alrededor de material de injerto óseo (MI). (B) A 20x. Se diferenció con claridad el hueso neoformado (HN) de partículas de material de injerto (MI) (C) en magnificaciones de 20x con luz polarizada se observan áreas señaladas de hueso maduro refringente con zonas inmaduras oscuras (D) en magnificación de 40x es más clara la diferencia de hueso neoformado (HN) con partículas de material de injerto (MI), en el hueso se observan osteocitos que indican la vitalidad ósea de estas zonas.

## Muestra 9 Prueba

Muestra tomada 30 semanas después de la elevación de piso de seno maxilar, en este caso se utilizó xenoinjerto y aloinjerto combinados como materiales de injerto óseo. Se observó una pequeña muestra con poco maduro, además no se evidenciaron con facilidad partículas de injerto óseo.

A magnificación de 20x, se diferenciaron estructuras óseas inmaduras con escasas células osteoides, y espacios medulares. En luz polarizada se observa área de hueso trabeculado maduro con zonas de hueso inmaduro. (Figura 10)

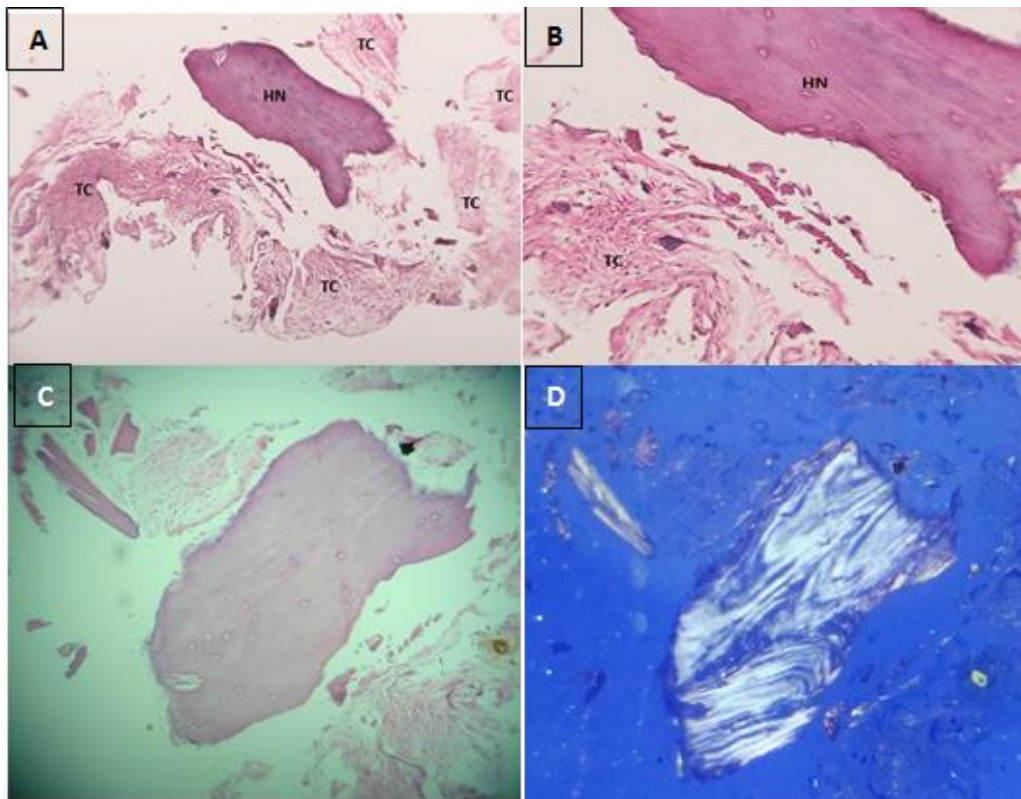


Figura 10. (A) En magnificación de 4x Se observó una muestra pequeña con hueso neoformado (HN) localizado y tejido conjuntivo (TC) abundante. (B) A 10x se observó con mayor claridad el hueso neoformado (HN) y tejido conjuntivo (TC) (C) A 20x se observó zona de hueso maduro. (D) La misma zona de hueso con luz polarizada se observa el hueso trabeculado maduro.

### **Muestra 10 Control**

Muestra tomada 40 semanas posterior a la elevación de piso de seno maxilar, en la cual se utilizó xenoinjerto como único material de regeneración. Las microfotografías mostraron hueso trabeculado claramente diferenciado de las partículas de injerto óseo.

Se observaron líneas de aposición ósea en zonas de contacto entre las partículas de injerto y el hueso neoformado, con presencia de células osteoides. Al analizar la muestra en magnificaciones de 20x y 40x se lograron diferenciar las partículas de injerto óseo con lagunillas y espacios irregulares, estas partículas se encontraron rodeadas y en contacto con hueso inmaduro. En cuanto al tejido conectivo se observó la presencia de fibroblastos y vasos sanguíneos interconectando las diferentes estructuras óseas neoformadas.

Al analizar la muestra con luz polarizada se confirmó la presencia de hueso trabeculado maduro interconectado con hueso inmaduro menos organizado pero en proceso de maduración con osteoblastos en la periferia del hueso y osteocitos en su interior. (Figura 11)

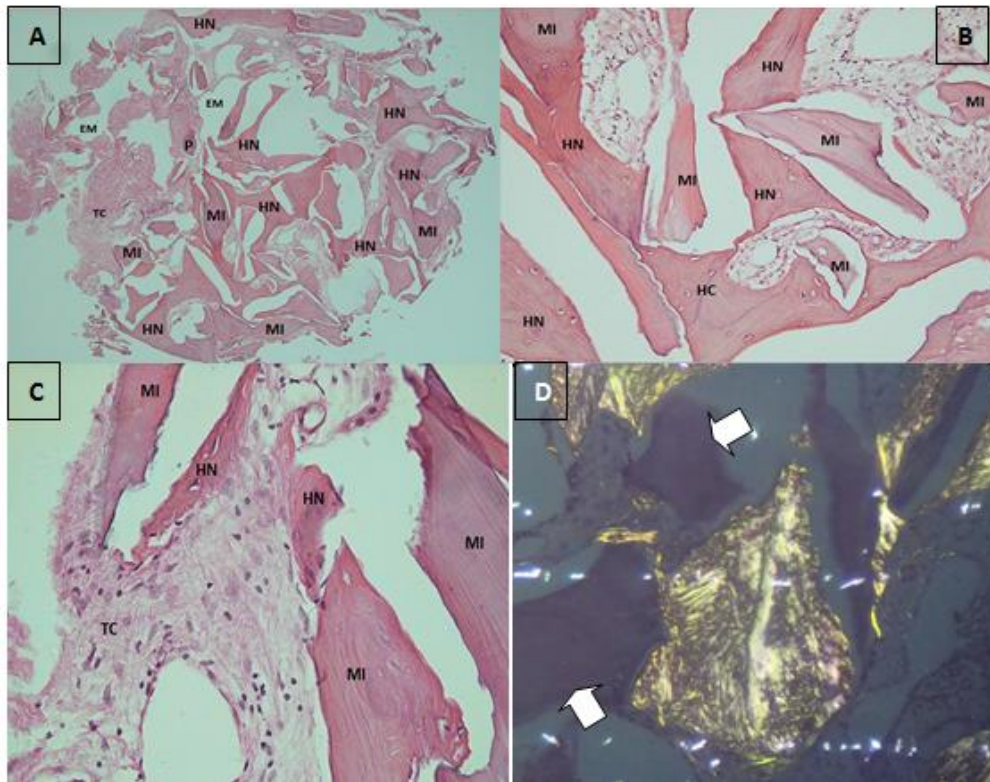


Figura 11. (A) A 4x se observó hueso neoformado (HN) alrededor de material de injerto (MI) con espacios medulares (EM) y tejido conectivo (TC). (B) La magnificación a 20x permitió observar una red interconectada de hueso neoformado (HN) con zonas de injerto óseo (MI). (C) En magnificación de 40x se logró observar el hueso neoformado con osteocitos y partículas de injerto. (D) Con luz polarizada se observó hueso trabeculado maduro y señalado el material de injerto óseo no refringente.

### Muestra 11 Control

Muestra de grupo prueba tomada 40 semanas posterior a la elevación de piso de seno maxilar. La microfotografías mostraron un bloque grande con hueso compacto interconectado y rodeando partículas de injerto óseo claramente diferenciables. Al análisis de las muestras en magnificación de 20x se observó hueso compacto maduro con sistemas de Havers, dicho tejido óseo se encontró en contacto con partículas de injerto óseo en proceso de reabsorción con lagunillas y espacios irregulares. Las imágenes con luz polarizada mostraron un hueso maduro compacto. (Figura 12)

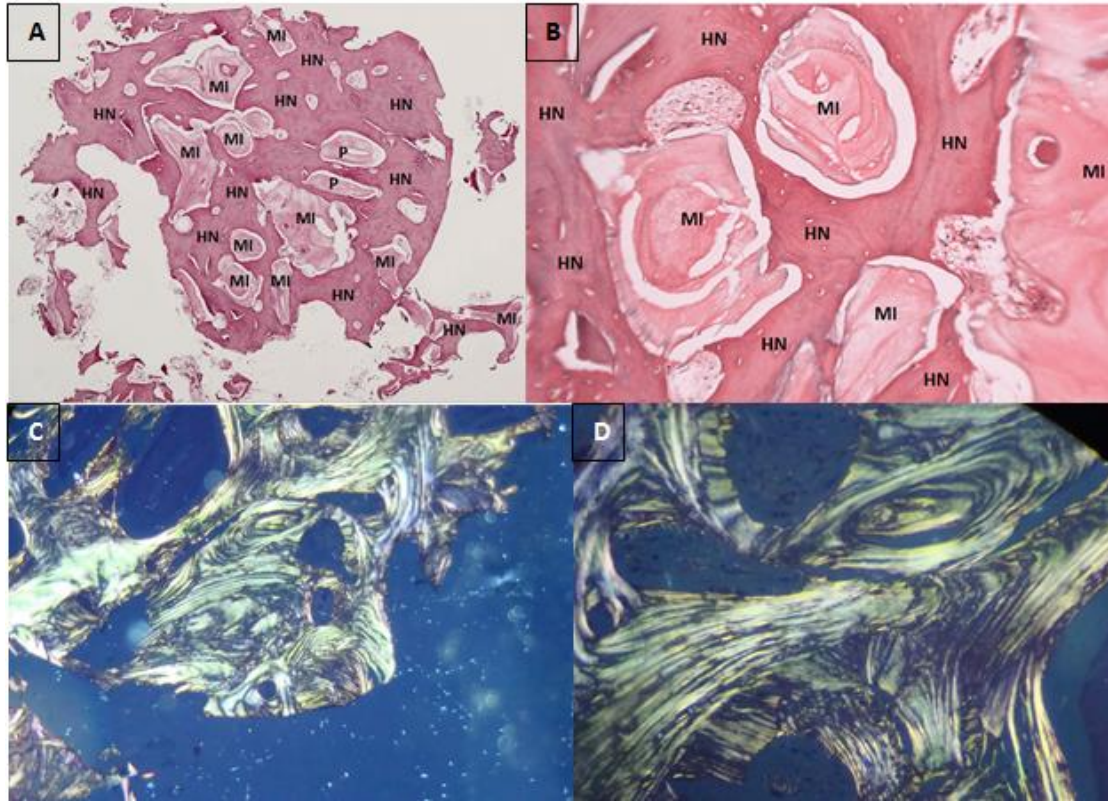


Figura 12. (A) A 4x se observó hueso neoformado alrededor de material de injerto óseo (MI) Y (P) (B) Magnificación de 20x. Se observó hueso compacto neoformado (HN) maduro rodeando partículas de injerto óseo (MI). (C) Se observó zona de hueso compacto con luz polarizada (D) a mayor aumento, 40x, se observó hueso compacto maduro con osteonas bien definidas.

### Análisis histomorfométrico

En la tabla 2 se resumen los valores porcentuales y distribución de los grupos así como la media de cada elemento analizado. En promedio el grupo control al que se le colocó xenoinjerto únicamente demostró mayor cantidad de hueso nuevo formado 34%, mientras el grupo prueba arrojó un promedio de 27%. Pero al realizar el análisis estadístico de Wilcoxon (Mann-Whitney) el valor de p fue de 0.25 lo cual lleva a la interpretación que no existieron diferencias significativas para la formación de hueso compacto entre los dos grupos.

Al realizar el mismo análisis para la cantidad de material residual de injerto el valor p fue de 0.25, lo que muestra que no existen diferencias significativas entre los grupos



Tabla 1. Desglose por muestras y grupos de histomorfometría.			
Tipo de muestra /número	% de Hueso Compacto	% de Material de injerto	% Tejido Conjuntivo
<b>Xenoinjerto (Bio-Oss)</b>			
Muestra 6	44,08%	19,68%	36,23%
Muestra 7	27,42%	13,87%	58,69%
Muestra 10	26,88%	14,88%	58,23%
Muestra 11	37,93%	24,29%	37,77%
<b>Media</b>	<b>34,08%</b>	<b>18,18%</b>	<b>47,73%</b>
<b>Max</b>	<b>44,08%</b>	<b>24,29%</b>	<b>58,69%</b>
<b>Min</b>	<b>26,88%</b>	<b>13,87%</b>	<b>36,23%</b>
<b>Xenoinjerto+Aloinjerto (Bio-Oss++Puros)</b>			
Muestra 1	20,89%	3,80%	75,30%
Muestra 2	15,10%	5,65%	79,24%
Muestra 3	47,36%	19,26%	33,37%
Muestra 4	37,77%	23,19%	39,03%
Muestra 5	15,55%	4,43%	80,01%
Muestra 8	36,03%	29,33%	34,63%
Muestra 9	20,47%	10,35%	69,17%
<b>Media</b>	<b>27,60%</b>	<b>13,71%</b>	<b>58,67%</b>
<b>Max</b>	<b>47,36%</b>	<b>29,33%</b>	<b>80,01%</b>
<b>Min</b>	<b>15,10%</b>	<b>3,80%</b>	<b>33,37%</b>

## DISCUSIÓN

El presente estudio buscó comparar el comportamiento del xenoinjerto versus la combinación de xenoinjerto más aloinjerto en elevaciones de piso de seno maxilar, mediante un análisis histológico e histomorfométrico en 11 muestras. La observación y el análisis estadístico no mostraron diferencias estadísticamente significativas en términos de formación de hueso ni en la cantidad de material de injerto entre las variables analizadas, en un periodo de 6 a 12 meses para la colocación de implantes dentales posterior a las elevaciones.

La utilización de sustitutos óseos en el procedimiento de elevación del piso de seno maxilar, se ha probado y reportado con altos índices de éxito, inclusive mostrando un mayor porcentaje de supervivencia de los implantes en comparación con el llamado “Gold Estándar” de los injertos óseos, como lo es el autoinjerto.<sup>(18)</sup> La necesidad de contar con procedimientos de regeneración ósea predecibles para la posterior colocación de implantes orales, ha generado investigaciones de gran validez científica, específicamente en el caso de la elevación de piso de seno maxilar tema sobre el que la literatura arroja múltiples datos y de alto valor para la práctica odontológica.<sup>(29, 30)</sup>

En términos generales, los diferentes sitios regenerados analizados en el presente estudio, mostraron haber producido la formación de nuevo hueso, además de la producción de

dimensiones óseas adecuadas para la colocación de implantes dentales. Tomando en cuenta este elemento, se debe decir que el estudio histomorfométrico realizado, arrojó en promedio, un mayor porcentaje de formación de hueso en el grupo en el que utilizó únicamente xenoinjerto (34% xenoinjerto vs 27% xenoinjerto + aloinjerto), pero por otro lado la reabsorción del material de injerto demostró ser mayor cuando se regeneró con la combinación de xenoinjerto y aloinjerto.

El análisis estadístico concluye que las diferencias de los parámetros de hueso compacto y material de injerto, no son estadísticamente significativas, en este aspecto, la literatura reporta diferentes estudios donde se comparan distintos materiales de injerto en elevación de piso de seno maxilar, sin embargo, la combinación de xenoinjerto y aloinjerto en comparación con solo xenoinjerto no ha sido reportada aun.

Diferentes investigaciones han observado el comportamiento del xenoinjerto, específicamente el Bio-Oss, en el procedimiento de elevación de piso de seno maxilar, el 1999 Piatelli y colaboradores realizaron un análisis histológico e histomorfométrico de elevaciones de seno maxilar en 20 pacientes a los que se le colocó xenoinjerto únicamente, dividieron la toma de muestra en 6, 9, 18 meses y 4 años, al analizar las muestras histológicas a 6 y 9 meses se observó la formación de hueso compacto con sistemas de Havers claramente diferenciados con una neoformación ósea de 30% y 30% de material de injerto remanente, si se compara esto con el grupo control de la presente investigación en la que se utilizó únicamente xenoinjerto, se puede observar un comportamiento similar en la cuantificación de hueso neoformado, pero una diferencia en cuanto al porcentaje de material de injerto remanente.

En el presente estudio se logró observar la presencia de hueso compacto con sistemas Haversianos claramente formados en varias muestras, específicamente del grupo al que se le colocó solamente xenoinjerto, al comparar dicho hallazgo con el estudio de Piatelli y colaboradores <sup>(41)</sup>, podemos inferir que dicho hallazgo está vinculado al tiempo de maduración del tejido óseo neoformado, y que la posibilidad de encontrar hueso compacto maduro alrededor de material de injerto es una posibilidad real.

Sobre la misma línea Tadjoenin y col en 2003 observaron histológica y histomorfométricamente el comportamiento del Bio-Oss al combinarlo en diferentes porcentajes con autoinjerto, dividiendo las muestras en 100% Bio-Oss, 50-50 Bio-Oss y autoinjerto, 80-20 Bio-Oss y autoinjerto y 80-20 Bio-Oss y autoinjerto, al observar los resultados de las muestras a 6 meses de la combinación 50-50 se observó de un 30% a un 33% de hueso neoformado y a 8 meses un 22% de hueso en el grupo de 100% Bio-Oss. En cuanto al rango de hueso neoformado encontraron entre un 23 y un 46% comparable con nuestra investigación que observamos entre un 15% y un 44%. Además en el grupo en el que se colocó 100% xenoinjerto la neoformación ósea si fue realmente menor en comparación con el presente estudio en el que se encontró un 34% de hueso neoformado cuando se utilizó únicamente xenoinjerto.

Froum, Wallace y colaboradores en el 2006<sup>(14)</sup>, realizaron una comparación de los mismos materiales de regeneración utilizados en el presente estudio, pero de manera individual. Histomorfométricamente reportaron un 35% de hueso vital en el grupo injertado con aloinjerto (PUROS) y un 12% de hueso vital en el grupo regenerado con xenoinjerto (Bio-Oss). Si bien en la investigación actual no se utilizó aloinjerto solo como material de injerto, el resultado contrasta que en los dos grupos se utilizó xenoinjerto (Bio-Oss) de manera completa o

combinado con aloinjerto, y el resultado histomorfométrico demostró un mayor porcentaje de hueso neoformado (27% grupo combinado y 34% para el grupo con solo xenoinjerto), si bien se podría atribuir la diferencia entre los resultados presentados en esta investigación y los reportados por Froum y colaboradores<sup>(14)</sup> en los tiempos de obtención de las muestras, ya que las que se reportan en este documento fueron obtenidas con mayor tiempo posterior a las elevaciones, la diferencia es bastante amplia.

En el 2011 Pikdoken y colaboradores<sup>(40)</sup> compararon histológica e histomorfométricamente dos grupos de muestras en las que utilizaron xenoinjerto bovino solo y la combinación de xenoinjerto y autoinjerto en elevaciones de piso de seno maxilar, las muestras la obtuvieron 4 meses después de la elevación. Observaron evidencia de revascularización en zonas de microporos y macroporos del xenoinjerto, con presencia de vasos sanguíneos y médula ósea, característica similar a las muestras de nuestro estudio. Histomorfométricamente observaron una formación de 24% de hueso nuevo en el grupo de solo xenoinjerto, esto es menor a la cuantificación de nuestro estudio en el que encontramos un promedio del 34% de hueso nuevo. Resulta llamativo el tiempo de cicatrización esperado, 4 meses, y este elemento puede ser importante en la neoformación ósea.

Noumbissi y colaboradores en el 2012 compararon la combinación de xenoinjerto y aloinjerto versus la utilización de aloinjerto como grupo control, esto difiere con la presente investigación en la que se definió el xenoinjerto solo como condición del grupo control.<sup>(37)</sup>

En el estudio mencionado, los autores concluyen que el aloinjerto presentó una mayor tasa de reabsorción, pero la formación de nuevo hueso se logró en los dos grupos estudiados, en el análisis histomorfométrico de dicho estudio encontraron una formación de nuevo hueso vital de 40% para el aloinjerto Puros y de un 38% para el xenoinjerto Bio-Oss. Un elemento a recalcar fue, que aunque en el estudio realizaron una cuantificación de hueso nuevo y material de injerto, no se realizó una comparación estadística de los resultados.<sup>(37)</sup>

Si se resume la investigación tomada en cuenta acerca de la utilización del Bio-Oss en el procedimiento de elevación de piso de seno maxilar, se observa que los diferentes autores que cuantificaron histomorfométricamente reportaron porcentajes entre el 12% y el 30% de neoformación ósea en contraste con la presente investigación donde la media de neoformación ósea alcanzó un 34%, esto arroja un mayor porcentaje de hueso neoformado, pero en alta medida comparable y confirmable con las investigaciones existentes de acuerdo a la metodología utilizada.

Aghaloo y Moy, en un meta análisis publicado en el año 2007, reportan una supervivencia del 95.6% para implantes colocados en sitios con diferentes materiales de injerto óseo, propiamente un 93% en sitios donde se utilizó xenoinjerto con respecto al 91% de supervivencia para el aloinjerto y autoinjerto respectivamente, además de una baja heterogeneidad en el diseño de los estudios que analizaron el comportamiento del xenoinjerto.<sup>(18)</sup>

Si bien la supervivencia de los implantes orales no es una variable estudiada en el presente estudio, estos reportes permiten justificar la utilización del xenoinjerto como grupo control desde la evidencia de éxito clínico y científico del biomaterial en el procedimiento de elevación de piso de seno maxilar, en base a su objetivo final que es la colocación exitosa de implantes orales.<sup>(18, 14, 15, 19)</sup>

En la presente investigación la principal variable es la utilización de distintas composiciones de material de injerto óseo y establecer una comparación histológica, del comportamiento de los biomateriales, al comparar un xenoinjerto de origen bovino al 100% y combinar el mismo xenoinjerto con un aloinjerto mineralizado desproteinizado.

Es importante aclarar que existen múltiples variables no controladas por los investigadores que se pueden presentar y que podrían afectar la muestra, como el tamaño y la anatomía de cada seno maxilar injertado, la cantidad de hueso residual del paciente previo a la elevación, el operador que realizó la cirugía tanto la elevación del seno maxilar como la toma de muestra durante la colocación del implante dental.

Se ha podido observar una menor presencia de partículas de aloinjerto, así como una mayor presencia de partículas de xenoinjerto, esto se puede explicar desde la menor tasa de reabsorción que poseen las partículas de xenoinjerto.

La explicación de este comportamiento se podría entender desde el proceso de tratamiento que reciben ambos materiales, en el caso del xenoinjerto se observa un cambio estructural que ocurre en la fase mineral del injerto durante el proceso en que es sometido a temperaturas de 300<sup>0</sup>C, lo cual aumenta el tamaño de las partículas minerales de xenoinjerto aproximadamente al doble al de las partículas de aloinjerto, este último por su parte no experimenta cambios en el tamaño de sus partículas durante el procesamiento.<sup>(37)</sup>

El hallazgo de una más rápida reabsorción y recambio óseo de las partículas de aloinjerto en comparación con las de xenoinjerto es consistente con los hallazgos del estudio clínico de Froum y colaboradores del 2006, en el que observaron una presencia de hasta un 15% más de hueso vital en senos maxilares en los que se utilizó 100% de aloinjerto en comparación con xenoinjerto.<sup>(14)</sup>

Un elemento de discusión y llamativo tanto para los investigadores como para el histopatólogo, fue la escasa presencia de osteoclastos. En los estudios similares revisados realmente no se describe la presencia de osteoclastos, en las muestras analizadas en nuestro estudio se logró observar escasos osteoclastos en su interfase con el hueso, con lagunas de Hawship, lo cual puede generar la pregunta de qué mecanismo de reabsorción se lleva a cabo en las partículas de material de injerto.

En el 2014 Albrektsson y colaboradores<sup>(42)</sup> hablan de un equilibrio inmunológico e inflamatorio posterior a una reacción de cuerpo extraño posterior a la colocación de un biomaterial, y en el que la disrupción de ese complejo equilibrio se da por la aparición de células y elementos propios de un proceso infeccioso.

La intencionalidad del presente estudio fue observar si la combinación del xenoinjerto con aloinjerto permite combinar las bondades de ambos materiales, al permitir que la baja tasa de reabsorción del xenoinjerto permita una mayor ganancia volumétrica posterior a la elevación del seno maxilar y el recambio óseo del aloinjerto que presente una mayor cantidad de hueso vital en el momento de la colocación de implantes dentales.

A falta de más investigaciones de este tipo, no es posible confirmar o negar inequívocamente esta premisa sumado al tamaño de la muestra de nuestro estudio, pero el análisis histológico es consistente con lo visto en otras investigaciones, y se observa que la presencia de hueso

neoformado maduro, de actividad celular consistente con recambio óseo activo y de líneas de aposición ósea en ambos grupos, confirma la viabilidad del xenoinjerto por sí solo y en combinación con aloinjerto en procedimientos de elevación de piso de seno maxilar para la posterior colocación de implantes orales.

El presente estudio permite presentar un modelo replicable para aumentar la evidencia existente y establecer una conducta a seguir en la práctica clínica, estudios con mayor cantidad de muestras y con seguimiento de la supervivencia de los implantes es necesaria para confirmar los hallazgos actuales.

## CONCLUSIONES

No se encontró una diferencia significativa en cuanto a la neoformación ósea y reabsorción del material de injerto entre la utilización de xenoinjerto (Bio-Oss®) o xenoinjerto + aloinjerto (Bio-Oss® + Puros®) como material para elevación de piso de seno maxilar para posterior colocación de implantes dentales. Tanto el grupo control como el grupo prueba, resultaron en reabsorción y formación de hueso nuevo sin mostrar diferencias en cuanto a la oseointegración o estabilidad en el momento de la colocación de los implantes.

Se debe recomendar seguimiento de los implantes colocados, aunque la supervivencia de los implantes no ha sido una de las variables de la presente investigación, si es un parámetro de gran validez para establecer el porcentaje de éxito del procedimiento regenerativo, y poder basar en mayor evidencia un criterio clínico.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Puleo DA, Nanci A. Understanding and controlling the bone-implant interface. *Biomaterials*. 1999 Dec;20(23-24):2311-21.
2. Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont*. 1998 Sep-Oct;11(5):391-401.
3. Misch C. Bone classification, training keys to implant success. *Dent Today* 1989 ;(8):39-44.
4. Sharan A, Madjar D. Maxillary sinus pneumatization following extractions: a radiographic study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008 Jan-Feb;23(1):48-56
5. Radi JN, Becerra F, Otálvaro N. Cirugía de elevación del piso de seno maxilar. I. Consideraciones básicas generales. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*. 2003; 14(1): 84-91.
6. Barrachina M, Cabello G, Olmos G, González D. Tratamiento implantológico de la zona posterior del maxilar superior. Elevación del seno maxilar. *RCOE*. 2000 Ene-Feb; 7(1).
7. Muñoz C, Romero M, Vallecillo M. Cinco casos de elevación del seno maxilar con autoinjertos. Estudio clínico, radiológico y análisis con MEB. *RCOE*. 2002 Mar-Abr; 7(2).
8. Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg* 1980; 38(8):613-816.

9. Stern A, Green J. Sinus lift procedures: an overview of current techniques. *Dent Clin North Am.* 2012 Jan;56(1):219-33
10. Tatum H Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions. *Dent Clin North Am.* 1986 Apr; 30(2): 207-29.
11. Summers RB. A new concept in maxillary implant surgery: the osteotome technique. *Compendium.* 1994 Feb;15(2):152, 154-6
12. Boyne PJ. Analysis of performance of root-form endosseous implants placed in the maxillary sinus. *J Long Term Eff Med Implants.* 1993;3(2):143-59.
13. Browaeys H, Bouvry P, De Bruyn HA literature review on biomaterials in sinus augmentation procedures. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2007 Sep;9(3):166-77.
14. Froum SJ., Wallace SS., Elian N, Cho S, Tarnow DP. Comparison of mineralized cancellous bone allograft (Puros) and anorganic bovine bone matrix (Bio-Oss) for sinus augmentation: histomorphometry at 26 to 32 weeks after grafting. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2006 Dec;26(6):543-51.
15. Valentini P, Abensur DJ. Maxillary sinus grafting with anorganic bovine bone: a clinical report of long-term results. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003 Jul-Aug;18(4):556-60.
16. Wallace SS, Froum SJ. Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systemic review. *Ann Periodontol* 2003 Dec;8(1):328–343.
17. Feuille F, Knapp CL, Brunsvold MA. Clinical and histologic evaluation of bone replacement grafts in the treatment of localized alveolar ridge defects. Part 1: Mineralized freeze-dried bone allograft. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003 Feb ;23(1):29–35.
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.
19. Tadjoeidin ES, de Lange GL, Bronckers AL, Lyaruu DM, Burger EH. Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss) as bone substitute for sinus floor elevation. A retrospective, histomorphometrical study of five cases. *J Clin Periodontol.* 2003 Mar;30(3):261-70.
20. Yildirim M, Spiekermann H, Handt S, Edelhoff D. Maxillary sinus augmentation with the xenograft Bio-Oss and autogenous intraoral bone for qualitative improvement of the implant site: a histologic and histomorphometric clinical study in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001 Jan-Feb;16(1):23-33.
21. Hatano N, Shimizu Y, Ooya K. A clinical long-term radiographic evaluation of graft height changes after maxillary sinus floor augmentation with a 2:1 autogenous bone/xenograft mixture and simultaneous placement of dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Jun;15(3):339-45.
22. Hofmann A, Konrad L, Hessmann, K, chle R, Korner J. Rompe JD, Rommens PM. The influence of bone allograft processing on osetoblast attachment and function. *J OrthopRes.*2005;23(1):846-852.
23. Pıkdöken L, Gürbüzer B, Küçükodacı Z, Urhan M, Barış E, Tezulaş E. Scintigraphic, histologic, and histomorphometric analyses of bovine bone mineral and autogenous bone mixture

in sinus floor augmentation: a randomized controlled trial--results after 4 months of healing. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Jan;69(1):160-9.

**24.** Nasr HF, Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone and bone substitutes. *Periodontology* 2000 1999;19(1):74-86.

**25.** Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/ complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontology* 2000. Vol. 47, 2008, 172-192.

**26.** Moore M, Linthurst Jones A, Gaskins B et al. Adaptation of ANSI/AAM/ISO 11137 method 2B sterilization validation for medical devices to tissue banking. Presented at American Association of the Tissue Banks Annual Meeting; Chicago, IL; August 2004.

**27.** Quattlebaum JB, Mellonig JT, Hensel NF. Antigenicity of freeze-dried cortical bone allograft in human periodontal osseous defects. *J Periodontol.* 1988 Jun;59(6):394-7.

**28.** Trombelli L. Which reconstructive procedures are effective for treating the periodontal intraosseous defect? *Periodontol* 2000. 2005;37:88-105.

**29.** Damien CJ, Parsons JR. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomater.* 1991 Fall;2(3):187-208.

**30.** Kao ST, Scott DD. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2007 Nov;19(4):513-21

**31.** Nkenke E, Stelzle F. Clinical outcomes of sinus floor augmentation for implant placement using autogenous bone or bone substitutes: a systematic review. *Clin. Oral Impl. Res.* 20 (Suppl. 4), 2009; 124–133.

**32.** Bornstein MM, Cionca N, Mombelli A. Systemic conditions and treatments as risks for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24 (Suppl):12-27.

**33.** Li J, Wang H-L. Common implant-related advanced bone grafting complications: classification, etiology, and management. *Implant Dent.* 2008 Dec;17(4):389-401.

**34.** Lundgren S, Andersson S, Gualini F, Sennerby L. Bone reformation with sinus membrane elevation: a new surgical technique for maxillary sinus floor augmentation. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2004;6(3):165-73.

**35.** Esposito M, Grusovin MG, Rees J, Karasoulos D, Felice P, Alissa R, Worthington H, Coulthard P. Effectiveness of sinus lift procedures for dental implant rehabilitation: a Cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol.* 2010 Spring;3(1):7-26.

**36.** Felice P, Pistilli R, Piattelli M, Soardi E, Barausse C, Esposito M. 1-stage versus 2-stage lateral sinus lift procedures: 1-year post-loading results of a multicentre randomised controlled trial. *Eur J Oral Implantol.* 2014 Spring;7(1):65-75.

**37.** Noubissi SS, Lozada JL, Boyne PJ, Rohrer MD, Clem D, Kim JS, Prasad H. Clinical, histologic, and histomorphometric evaluation of mineralized solvent dehydrated bone allograft (Puros) in human maxillary sinus grafts. *J Oral Implantol.* 2005;31(4):171-9

- 38.** Jensen, S, Terheyden, H, “Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials,” *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, vol. 24, pp. 218–236, 2009.
- 39.** Boyan BD, Ranly DM, McMillan J, Sunwoo M, Roche K, Schwartz Z. Osteoinductive ability of human allograft formulations. *J Periodontol*. 2006 Sep;77(9):1555-63.
- 40.** Pıkdöken L, Gürbüzer B, Küçükodacı Z, Urhan M, Barış E, Tezulaş E. .Scintigraphic, histologic, and histomorphometric analyses of bovine bone mineral and autogenous bone mixture in sinus floor augmentation: a randomized controlled trial--results after 4 months of healing. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011 Jan;69(1):160-9.
- 41.** Piattelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piattelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Nov-Dec;14(6):835-40.