



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“CICATRIZACIÓN ALVEOLAR EN RATAS
CON DIETA RICA EN SACAROSA”**

TESISTA:

OD. MARÍA ANASTASIA BARÓ.

DIRECTOR:

PROF. DRA. RUTH FERREYRA DE PRATO

CÓRDOBA, 2010



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Directora

Prof. Dra. Ruth Ferreyra de Prato

Comisión de Seguimiento de Tesis

**Prof. Dra. Silvia López de Blanc
Prof. Dra. Graciela Stutz
Prof. Dr. Daniel Argentino Quiroga**

**A mis hijas Guadalupe y Jazmín
A mi amor Ariel
A mi mamá Diana
A mi hermana Flor**

Agradecimientos

A mi directora Prof. Dra. Ruth Ferreyra de Prato por haberme guiado en la realización de este trabajo con sus conocimientos, experiencia y grandes cualidades personales.

A los integrantes del tribunal evaluador: Prof. Dra. Silvia López de Blanc, Prof. Dr. Daniel Quiroga y Dra. Graciela Stutz, quienes con sus aportes enriquecieron los logros de esta investigación.

A mi amiga y colega Od. Marina Rocamundi por su invaluable colaboración en cada una de las etapas de realización de este estudio, como soporte intelectual y personal brindado con cariño, dedicación y gran compromiso.

Al Ing. Luis Croharé por el tratamiento de imágenes microscópicas, estudios estadísticos, constante apoyo y buena predisposición al trabajo.

A las histotecnólogas Cristina Bertoldi y Agustina Pereira por la realización de los preparados histológicos.

Al Dr. Alberto Riveros por su disponibilidad de tiempo, conocimiento y apoyo brindados con una gran calidez y calidad humana.

A todo el equipo del Laboratorio de Microscopía Electrónica y Microanálisis (LABMEM) de San Luis, por el procesamiento, visualización y análisis de muestras.

Al Od. Ramiro Tomasi y personal docente de la Cátedra de Anatomía Patológica "A" por la asistencia en tareas docentes.

Al Dr. Sebastian Fontana por su aporte en la parte experimental de este trabajo.

Al Dr. Leo Tjäderhane por facilitarme sus trabajos originales.

A la Dra. Maricarmen Carda por su asesoramiento en la interpretación de imágenes de Microscopía Electrónica.

Al Dr. Héctor Gendelman responsable principal de la motivación inicial para continuar con mi formación de post grado.

Al Sr. Luis Mattos por su cuidadosa tarea en el mantenimiento de los animales de laboratorio.

Al Sr. Mario Quiroga por su generosa asistencia informática durante el transcurso de este estudio.

A la Dra. Cristela Aguilera por lo todo lo brindado con tanto cariño en San Luis.

Al Dr. Ariel Nuñez, gran amor y compañero de vida, por darme su apoyo y colaboración constante y sin límites para la realización de este trabajo.

A mis hijas que iluminan mi vida, Guadalupe y Jazmín, por el tiempo concedido.

A mi mamá, por su amor, presencia y ayuda incondicionales.

A la memoria de:

La Dra. Marta Gonzalez de Crosa por su guía en el manejo de animales de laboratorio y gran colaboración desinteresada en la parte experimental de esta investigación.

El Dr. Alberto Lenta por contagiarme su pasión por la docencia y la Anatomía Patológica.

Mi amiga y colega Od. Juliana Castagno de Mazzeo por su permanente motivación y cooperación, desde el inicio de este estudio, siendo siempre una inspiración a continuar; apoyándome en los asuntos académicos pero básicamente en lo personal con mucho cariño y afecto.

CERTIFICACIONES



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Matemática, Astronomía y Física

Ciudad Universitaria (X5000HUA) Córdoba - ARGENTINA

Tel: +54 351 4334051 - Fax: +54 351 4334054

E-mail: beto@famaf.unc.edu.ar

Certifico que la la **Odontóloga María Anastasia Baró**, **DNI 23.287.848** ha realizado en nuestro Laboratorio de Espectroscopía Atómica y Nuclear de la FaMAF, una preparación especial, incluyendo secado en alto vacío, de un conjunto de muestras dentarias de animales de experimentación las que luego fueron observadas y caracterizadas en el Laboratorio de Microscopía y Microanálisis (LABMEM) de la Universidad Nacional de San Luis utilizando el Microscopio Electrónico de Barrido LEO 1450 VP

Córdoba 5 de junio del 2010

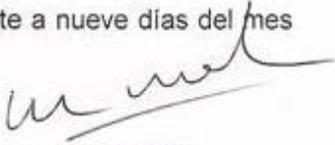
Dr Alberto Riveros de la Vega

INSTITUTO DE BIOLOGIA CELULAR
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

EL DIRECTOR DEL INSTITUTO DE BIOLOGIA CELULAR que suscribe,
C E R T I F I C A : Que María Anastasia Baró, docente de Anatomía
Patológica de la Facultad. de Odontología realizó labores para su Tesis de
Doctorado con el tema "CICATRIZACION ALVEOLAR EN RATA CON
DIETAS RICA EN SACAROSA" en los años
2005 y 2006 en el Bioterio del Instituto de Biología Celular con 45 ratas.

A los efectos que hubiere lugar se expide el presente a nueve días del mes
de Agosto de 2010




Prof. Dr. NORBERTO R. A. CABRAL
DIRECTOR DEL INSTITUTO
DE BIOLOGIA CELULAR
FAC. DE CIENCIAS MEDICAS



LABORATORIO DE MICROSCOPIA Y PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

A.B.O. - FACULTAD DE ODONTOLOGÍA - U.N.C.



Córdoba, 02 de Julio de 2010

Por el presente, dejo constancia que en el Laboratorio de Microscopía del A.B.O. (Área de Biología Odontológica – Facultad de Odontología, U.N.C.), se han realizado trabajos de adquisición y procesamiento de imágenes de preparados histológicos correspondientes a la tesis doctoral titulada: “Cicatrización Alveolar en Ratas con Dieta rica en Sacarosa”, de la Od. María Anastasia Baró.

La histomorfometría se realizó con el software Image Pro Plus 4.51, obteniéndose volares de área, redondez y cantidades de lagunas osteocíticas.

Se llevó a cabo el análisis estadístico descriptivo e inferencial de los datos obtenidos utilizando el software estadístico SPSS.

Para ser presentado ante quien corresponda, se extiende la presente constancia.-

Ing. Luis Croharé
Área de Biología Odontológica



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Odontología
Laboratorio Anatomía Patológica
Cátedra Anatomía Patológica "A"

Por la presente certifico que la Od. María Anastasia Baró ha desarrollado las tareas de procesamiento de muestras de maxilares de ratas del trabajo para optar al título de Doctor en Odontología titulado "CICATRIZACIÓN ALVEOLAR EN RATAS CON DIETA RICA EN SACAROSA" en el período 2006 a 2010.

Se extiende el presente a los 21 días del mes de junio de 2010

Prof. Dra. Ruth Salome Ferreyra de Prato
Profesora Adjunta Encargada
Cát. Anatomía Patológica A
Facultad de Odontología - U.N.C.

ÍNDICE

ÍNDICE

Comisión de Seguimiento de Tesis

Dedicatorias

Agradecimientos

Certificaciones

Índice.....	10
RESUMEN.....	13
SUMMARY.....	14
I. INTRODUCCIÓN.....	15
II. MARCO TEÓRICO.....	17
II. 1. TEJIDO ÓSEO.....	18
II. 1. a) CÉLULAS ÓSEAS.....	18
• Osteoblastos.....	19
• Osteocitos.....	19
• Osteoclastos.....	21
II. 1. b) MATRIZ ÓSEA.....	21
II. 1. c) MACROESTRUCTURA ÓSEA.....	23
II. 1. d) METABOLISMO ÓSEO.....	24
• Remodelado y modelado óseo.....	26
II. 1. e) REPARACIÓN Y REGENERACIÓN ÓSEA.....	29
II. 1. f) CICATRIZACIÓN ALVEOLAR POST EXTRACCIÓN.....	31
• Etapas de cicatrización alveolar.....	32
II. 2. DIETA RICA EN SACAROSA.....	34
III. HIPÓTESIS.....	36
IV. OBJETIVOS.....	38
IV. 1. Objetivo general.....	39
IV. 2. Objetivos específicos.....	39
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
V. 1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	41
V. 2. DIETAS.....	42
V. 2. a) Composición de las dietas.....	42
V. 3. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS.....	45
V. 4. ANÁLISIS DEL MATERIAL DE ESTUDIO.....	46
V. 4. a) Microscopía Óptica.....	46

• Histomorfometría.....	46
• Superficies óseas.....	47
V. 4. b) Microscopía Electrónica de Barrido y EDAX.....	49
V. 4. c) Estudios radiológicos.....	50
VI. RESULTADOS.....	51
VI. 1. MICROSCOPIA ÓPTICA.....	52
VI. 1. a) Análisis descriptivo.....	52
VI. 1. b) Análisis histomorfométrico.....	58
VI. 1. c) Análisis de superficies óseas.....	62
VI. 1. d) Análisis de cantidad lagunas vacías por mm ²	65
VI. 2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	67
VI. 2. a) Análisis descriptivo.....	67
VI. 2. b) Análisis cualitativo con EDAX.....	71
VII. DISCUSIÓN.....	74
VIII. CONCLUSIONES.....	79
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	81
X. ANEXOS.....	93
X. 1. Glosario de abreviaturas.....	94
X. 2. Detalle de mediciones de todos los casos.....	95

RESUMEN

Es conocido que el potencial de reparación ósea está influenciado por una variedad de mecanismos bioquímicos, biomecánicos, hormonales, patológicos y factores como la dieta y sus componentes; todos rigen comportamiento y función de las células encargadas de formar nuevo hueso. Varios autores sugieren que una dieta rica en sacarosa, podría cambiar el balance del calcio y la composición ósea en animales, alterando la mineralización de tejidos duros. El mecanismo por el cual esto se produce no es claro. La cicatrización alveolar post extracción reúne características particulares que la convierten en una herida única, en animales y en humanos.

El **objetivo** general de este trabajo es evaluar y cuantificar la respuesta biológica durante la cicatrización alveolar post extracción en ratas con dieta rica en sacarosa.

Se utilizaron 42 ratas Wistar, de ambos sexos, que fueron divididas en dos grupos: Experimental, alimentadas con dieta modificada de Stephan Harris (43% de sacarosa) y Control con balanceado estándar. Se anestesiaron y se extrajeron primeros molares inferiores, derecho e izquierdo, luego fueron sacrificadas a las 0hs., 14, 28, 60 y 120 días.

Las muestras fueron fijadas, descalcificadas con EDTA e incluidas en parafina y se obtuvieron cortes para Microscopía Óptica (histomorfometría). Para Microscopía Electrónica de Barrido y sonda EDAX fueron metalizadas con Carbono y Oro para su observación y análisis.

El análisis histomorfométrico muestra diferencias significativas de tamaño entre lagunas osteocíticas de ambos grupos a los 28 y 60 días siendo de mayor tamaño en los experimentales. En Microscopía Electrónica se observaron diferencias morfológicas y una estructura fasciculada o reticular colágena en los experimentales; que al análisis cualitativo con EDAX expone escasa presencia de calcio y fósforo, con respecto a los controles.

En **conclusión**, una dieta rica en sacarosa produce modificaciones en la mineralización, morfología y calidad del tejido óseo que se forma en el alveolo post extracción dentaria.

SUMMARY

It is known that the potential for bone repair is influenced by a variety of biochemical, biomechanical, hormonal and pathological mechanisms, and by factors such as diet and its components; all of them control the behavior and the functioning of the cells responsible for new bone formation. Several authors suggest that a high sucrose diet could change the balance of calcium and bone composition in animals, altering the mineralization of hard tissues. The mechanism by which this occurs has not been determined yet. Alveolar healing post-extraction has special characteristics that convert it into a unique wound, in animals and human beings.

The general **aim** of this study is to evaluate and quantify the biological response during alveolar healing post-extraction in rats fed on a high sucrose diet.

42 Wistar rats, male and female, were used; they were divided into two groups: Experimental, fed on a modified Stephan Harris diet (43% sucrose), and Control, fed on a balanced standard diet. After being anesthetized, lower first molars, right and left, were extracted. Afterwards, they were killed at 0 hours; 14, 28, 60 and 120 days. The specimens were fixed, decalcified with EDTA and included in paraffin, and sections were obtained for Optical Microscopy (histomorphometry). For Scanning Electron Microscopy with EDAX they were metalized with Au and/or C for observation and analysis.

The histomorphometric analysis demonstrates significant differences in size among the osteocytic lacunae of both groups at 28 and 60 days, being those in the experimental group larger in size. In Electron Microscopy, morphologic differences and a fasciculated or reticular collagenic structure were observed in experimental cases; their qualitative analysis with EDAX displays a spectrum with a limited presence of calcium and phosphorus in relation to the Control group.

In **conclusion**, a diet high in sucrose causes modifications in the mineralization, morphology and quality of the bone tissue which is formed in the alveolus after tooth extraction.

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

Se sabe que el potencial de reparación ósea está influenciado por una variedad de mecanismos bioquímicos, biomecánicos, celulares, hormonales, patológicos y factores externos como la **dieta y sus componentes**; que rigen el comportamiento y la correcta función de las células encargadas de formar el nuevo hueso.

Dentro de los elementos comunes que forman parte de la dieta diaria de la población en general, encontramos a la **sacarosa** o azúcar común que puede ser excesiva en algunos individuos.

Se han publicado diversos estudios que demuestran que una dieta rica en sacarosa produce alteraciones en el metabolismo mineral de humanos, induciendo cambios en el balance del calcio¹. En animales de experimentación; se observaron alteraciones en la composición ósea² y variaciones en la mineralización de los tejidos duros, elementos dentarios y hueso³, teniendo en cuenta que el proceso de formación de ambos tiene similitudes considerables⁴. En la dentina se advirtió que disminuye el grado de mineralización⁵ y la cantidad de dentina a formarse⁶; en el tejido óseo se demostró que altera sus propiedades mecánicas^{7,8}, con una marcada disminución de las concentraciones de calcio y fósforo, de la densidad ósea y de la resistencia a la fractura en ratas de ambos sexos⁹.

El mecanismo por el cual esta dieta afecta en forma negativa al metabolismo óseo no está todavía muy claro. Pero según se informa puede producir intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia, esto indirectamente produce efectos deletéreos sobre el hueso¹⁰. Las consecuencias de esta dieta sobre la absorción de calcio, el contenido de calcio del hueso y sus propiedades mecánicas continúan siendo controversiales. Li K et al². sugieren que los efectos nocivos producidos están más relacionados con variaciones en las propiedades materiales del hueso cortical que con cambios osteoporóticos.

Teniendo en cuenta los efectos producidos y el incremento que ha tenido la sacarosa en la dieta de la población en general, se plantea este estudio para describir lo que se observa en alvéolo post extracción de ratas.

II. MARCO TEÓRICO

II. MARCO TEÓRICO

II. 1. TEJIDO ÓSEO

El hueso es el principal componente del esqueleto que posibilita la acción mecánica de la musculatura, protege órganos vitales y alberga a la médula ósea, además de servir como reservorio de calcio, fósforo y otros iones. A pesar de su rigidez es un tejido vivo y dinámico que mantiene su estructura gracias a un equilibrio entre actividades opuestas.

Dentro de su microestructura esta compuesto por células, matriz orgánica e inorgánica y factores señaladores solubles, todos implicados en un proceso continuo de renovación y organizados espacialmente e integrados en dos jerarquías macroscópicas: el hueso trabecular y el cortical¹¹ (Figura II.1).

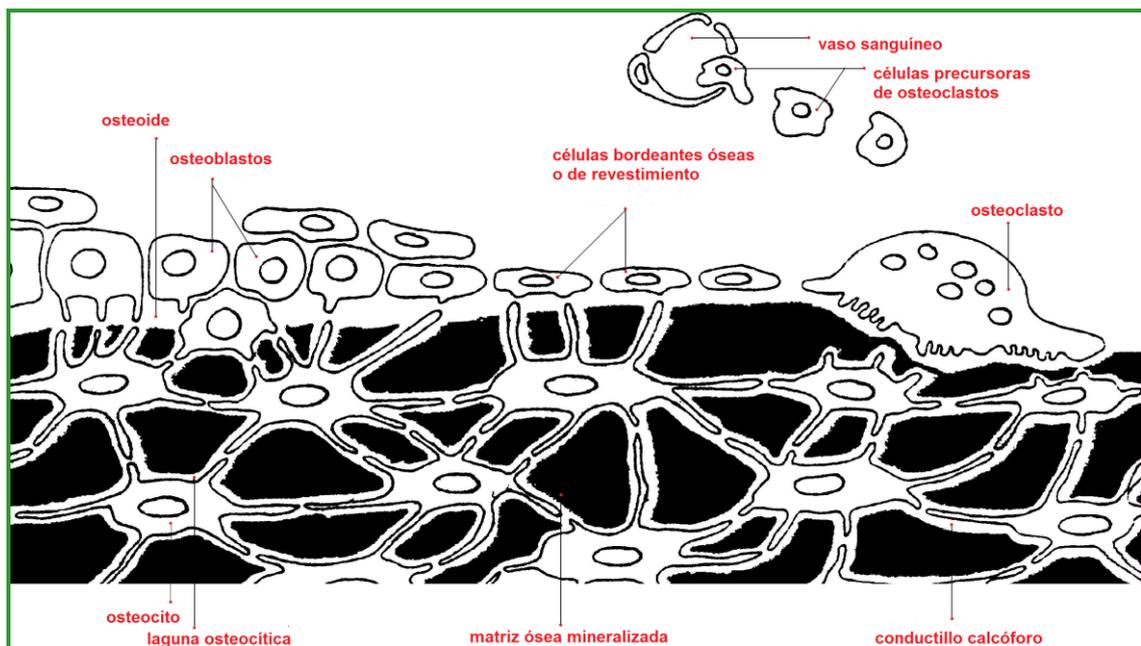


Figura II.1: Esquema de los componentes del tejido óseo¹⁷

II. 1. a) CÉLULAS ÓSEAS

Los componentes celulares del tejido óseo consisten en células precursoras osteogénicas, osteoblastos, osteocitos, osteoclastos, además de elementos hematopoyéticos de la médula ósea.

Las células precursoras osteogénicas están presentes en todas las superficies óseas no resortivas, y tapizan la capa profunda del periostio que

recubre la superficie externa del hueso y del endostio que cubre las superficies medulares internas.

El **periostio** es una resistente capa vascular de tejido conectivo que cubre al hueso pero no a las superficies articulares; la capa externa llamada fibrosa, consiste en tejido conectivo denso e irregular, con vasos sanguíneos que penetran en los canalículos intraóseos; la interna es delgada y pobremente definida, se denomina capa osteogénica por estar formada de células preosteoblásticas y osteoblásticas.

El **endostio** es una sola capa celular que contiene Células Mesenquimáticas Indiferenciadas (MSCs) y que carece de componente fibroso¹².

Osteoblastos

Son células de forma cúbica, de 10 μ de diámetro aproximadamente, citoplasma basófilo y ricas en una isoenzima específica de la fosfatasa alcalina, se hallan en contacto directo con las superficies óseas formando grupos compactos de una sola capa de espesor.

Son formadoras de hueso, maduras y metabólicamente activas; secretan el componente orgánico de la matriz ósea llamado osteoide, colágeno tipo I, proteínas no colagénicas y factores de crecimiento (GFs). El osteoide tras un proceso de mineralización o deposición de sales de fosfato cálcico le otorga al hueso su fuerza y rigidez¹¹.

A medida que la actividad formadora de hueso se va completando, algunos osteoblastos desaparecen por un proceso de apoptosis, otros se convierten en osteocitos, mientras que varios de ellos permanecen en las superficies endostales y periostales como células bordeantes óseas o también llamadas células de superficie¹³.

Osteocitos

Son las células más abundantes del tejido óseo y constituyen, aproximadamente, el 95 % del componente celular^{14,15}. Los osteocitos son osteoblastos maduros atrapados en matriz mineralizada que no se dividen ni secretan osteoide¹⁶, están implicados en el control de la concentración extracelular de calcio y fósforo, así como también en el proceso de remodelación adaptativa a través de las interacciones de célula a célula en respuesta al entorno local; manteniendo así la homeostasis del hueso y garantizando su vitalidad.

Miden aproximadamente 10 x10 μ de alto y ancho por 15 μ de longitud, ocupan una pequeña cavidad o laguna dentro de la matriz, **lagunas osteocíticas**, y se comunican por una red de procesos citoplasmáticos a través de canalículos cilíndricos, hacia vasos sanguíneos y otros osteocitos, conformando un sistema de microcirculación ósea, para emitir y recibir señales entre ellos, los osteoblastos y con las células bordeantes óseas¹⁷; estas conexiones por uniones estrechas hacen del hueso un sincicio funcional¹⁸. La

principal conexina (proteína transmembrana) es la Cx 43 expresada en los osteocitos, osteoblastos y también en osteoclastos^{19,20}.

El espacio en la matriz que rodea las inmediaciones de la célula y los procesos citoplasmáticos formando la laguna y los canalículos osteocitarios, respectivamente, genera una red tridimensional interconectada a través de la cual transitan líquido intersticial y pequeñas moléculas, aportando así la porosidad característica²¹. Los canalículos de la matriz, que albergan a las prolongaciones citoplásmicas se llaman calcóforos.

A esta red se la conoce como *sistema lacuno-canalicular* (LCS), presenta una distribución espacial organizada en relación con la continua remodelación ósea normal²² y cobra especial importancia en el tránsito metabólico, intercambio de sustancias y nutrición de las células. Una de las principales funciones que se le atribuye al osteocito y al LCS es la capacidad de sensar y transducir los estímulos mecánicos que actúan sobre el hueso²³.

La ubicación estratégica de los osteocitos en el interior de la matriz ósea hace que sean excelentes candidatos para detectar la necesidad de remodelación durante la adaptación funcional a las cargas y de reparar microfracturas, en ambos casos transmiten señales a las células efectoras encargadas de la formación y resorción óseas. Funcionan como mecanorreceptores que traducen el estímulo mecánico en señales bioquímicas, captando las fuerzas mecánicas a través de proteínas de membrana (integrinas) ancladas a la matriz extracelular, las cuales reconocen el estrés mediante cambios en la presión del flujo a través del LCS^{24,25}.

En el hueso, a este proceso se lo ha dividido en 4 etapas:

- 1) **acoplamiento mecánico**: detección de las cargas por células mecanosensibles,
- 2) **acoplamiento bioquímico**: conversión de la señal física en señal bioquímica,
- 3) **transmisión de la señal bioquímica** y
- 4) **respuesta de células efectoras**²⁶.

Estas trayectorias de las señales, así como la expresión del Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β) y Proteínas Óseas Morfogenéticas (BMP), estimulan la diferenciación y la actividad de los osteoblastos, reducen su apoptosis y mejoran la formación ósea. Las expresiones del Factor de Crecimiento Fibroblástico-23 (FGF-23) y Proteína de Matriz Dentinaria-1 (DMP-1) contribuyen al control osteocítico del metabolismo óseo²⁷.

En trabajos de Bozal *et al.*²⁸ y de Ferreyra *et al.*²⁹ se ha visto que el osteocito responde a estímulos mecánicos e inflamatorios agrandando significativamente el tamaño de su laguna a las 24 horas de aplicado el estímulo, cambiando la forma elíptica de la misma haciéndola redondeada. Posteriormente, los mismos autores comprobaron que esta respuesta morfológica se hacía evidente ya desde las 2 horas de aplicado el estímulo y

antes de que en el hueso se manifiesten cambios en el patrón de reabsorción y formación^{30,31}.

Si bien con frecuencia se considera al osteocito una célula poco activa lo expresado aquí demuestra que desempeña un rol central en el mantenimiento de las propiedades biomecánicas y en la vitalidad del tejido óseo.

Osteoclastos

Son células multinucleadas (de hasta 10 a 12 núcleos), de citoplasma acidófilo, que miden aproximadamente 100 μ de diámetro, ricas en Anhidrasa Carbónica y Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP), se desarrollan a partir de monocitos originados en el tejido hematopoyético de la médula y se disponen sobre las superficies óseas de manera aislada o en grupos poco numerosos; reabsorben hueso y son controlados por mecanismos hormonales y celulares.

Es característico de estas células que la zona de su membrana que está en relación con el tejido óseo se encuentre con pliegues o "ribete en cepillo". A ambos lados de la zona de plegamiento la membrana se aplanada y se adhiere más íntimamente al hueso, así el espacio comprendido entre ambos, es un microambiente que se halla aislado del intersticio medular. El segmento de citoplasma adyacente a la zona aplanada está libre de organelas y se la denomina zona clara, contiene abundantes filamentos de actina que se relacionan con la capacidad de traslación de la célula³².

II. 1. b) MATRIZ ÓSEA

La matriz ósea es la responsable de las extraordinarias propiedades biomecánicas del hueso: las fibras colágenas le proporcionan flexibilidad y resistencia a la tensión mientras que las sales minerales le confieren dureza, rigidez y resistencia a la compresión.

Consiste en una red compleja de macromoléculas que participa activamente en el metabolismo celular y regula el comportamiento de las células que están en contacto con ella¹²; está formada por un componente inorgánico y otro orgánico.

La parte inorgánica se compone principalmente de fosfato cálcico y la precipitación de estos elementos en forma cristalina, depende de la acción de las diferentes proteínas no colagénicas de la matriz. Las concentraciones en humanos de calcio y fósforo representan el 99% y el 85%, respectivamente, del contenido total de éstos en el organismo. Los cristales minerales del hueso se deben clasificar como apatitas, más que como hidroxiapatita, de acuerdo a su composición de carbonatos y combinaciones de fosfato y calcio amorfas³³.

El componente orgánico se halla integrado por proteínas colagénicas (85 a 90%): colágeno tipo I (>95%) y colágeno tipo IV (<5%) y una pequeña proporción de otras proteínas no colagénicas (10 a 15%) de gran importancia para la proliferación y diferenciación celular, así como también, para la adhesión célula-célula y célula-sustrato.

Han sido descritas las siguientes proteínas^{34,35,36,37}:

Glicoproteínas fosforiladas

- Colágeno tipo I: las moléculas de colágeno se unen transversalmente con moléculas de piridina.
- Osteonectina (ONN): tiene gran afinidad por los iones de calcio, puede actuar como inhibidor del crecimiento de los cristales de apatita, pero tiene importante acción en el inicio de la mineralización.
- Sialoproteína Ósea (BSP): implicada en la adhesión celular y es un importante nucleador de cristales de apatita e indicador temprano de diferenciación osteoblástica.
- Osteopontina (OPN): implicada en la adhesión celular de osteoblastos y osteoclastos, producida por células mesenquimáticas en las primeras fases de diferenciación osteoblástica.
- Fibronectina (FNN): no es exclusiva del hueso, promueve la mineralización mediante la fijación de los cristales de hidroxiapatita.
- Vitronectina (VNN): involucrada en la fase inicial de la adhesión celular en superficies implantarias.
- Osteoprogesterina (OPG): también denominada Factor Inhibidor de Osteoclastogénesis (OCIF), forma parte de la familia del Factor de Necrosis Tumoral, producida por células mesenquimales y osteoblastos, inhibe la diferenciación osteoclástica.

Glicoproteínas gamma-carboxiladas

- Osteocalcina (OCN): regula la maduración mineral, tamaño y renovación del cristal de apatita, es el mayor producto de osteoblastos y osteocitos.

Proteoglicanos

- Biglicán: se relaciona con los preosteoblastos y con la agrupación de cristales minerales en ausencia de Sialoproteína ósea.
- Decorin: importante función en la formación de la red de colágeno.

Glicosaminoglicanos (mucopolisacáridos)

- Ácido hialurónico: presente en las fases iniciales de la matriz extracelular no mineralizada.

Fosfolípidos y lipoproteínas

- Realizan el reagrupamiento de las vesículas matriciales en las membranas nucleares y actúan como nucleadores de cristales de hidroxapatita.

Enzimas

- Fosfatasa alcalina (ALP): marcador de la mineralización y del fenotipo osteoblástico.
- Fosfatasa ácida (TRAP): es específica de la expresión osteoclástica.
- Metaloproteinasas (MMP): degradan colágeno tipo I y IV, proteoglicanos y fibronectina. Son reguladas por Inhibidores Tisulares de Metaloproteinasas de Matriz (TIMPs).

Prostaglandinas

Producidas por células mesenquimáticas indiferenciadas (MCSs) y osteoblastos, en un principio la Prostaglandina E2 (PG-E2) tiene efecto resortivo sobre el hueso, pero también favorece la síntesis de colágeno tipo I y la producción de Factor de Crecimiento Similar a la Insulina (IGF).

II. 1. c) MACROESTRUCTURA ÓSEA

Podemos diferenciar dos tipos de hueso: **esponjoso o trabecular** y **cortical o laminar** (denso o compacto); también se puede incluir aquí lo que llamamos hueso reticular (woven bone) que se observa durante el desarrollo embrionario, en la formación del callo durante la cicatrización de una fractura y en algunos estados patológicos con formación de hueso displásico como el hiperparatiroidismo o la enfermedad de Paget³⁸. Esta formado por manojos de fibras colágenas organizadas al azar y espacios vasculares de forma irregular cubiertos de osteoblastos; normalmente este tipo de hueso es reemplazado por esponjoso o cortical.

El **hueso cortical** provee protección y soporte, aparece como compacto o denso, las laminas óseas se adosan estrechamente sin dejar cavidades, es remodelado por medio de canales vasculares que invaden el hueso embrionario desde las superficies endostales y periostales; esto forma las tablas internas y externas de los huesos planos y la superficie externa de los huesos largos. La resistencia de este tipo óseo es 10 veces mayor a un mismo volumen de hueso trabecular.

Ningún límite exacto puede marcarse entre los distintos tipos de hueso, debido a que uno se va convirtiendo en el otro e histológicamente poseen los mismos elementos constitutivos. Entre el nacimiento y la madurez el esqueleto aumenta de tamaño y la fuerza adapta sus partes a demandas mecánicas, entre otras³⁹.

La unidad estructural ósea (BSU) primaria del hueso cortical o compacto es una **osteona**, también conocido como sistema haversiano, que consiste en

un cilindro de hueso laminar en forma de anillos concéntricos orientados longitudinalmente, con un canal neurovascular central llamado conducto de Havers. Entre las láminas concéntricas de matriz mineralizada se encuentran las lagunas elípticas que albergan a los osteocitos. Canales de orientación horizontal, conductos de Volkmann, conectan osteonas adyacentes proporcionando conductos vasculares y linfáticos para el intercambio metabólico y el tráfico de las señales solubles como hormonas y proteínas.

La dependencia vascular del hueso está acentuada por la rica red que penetra en su estructura asegurando que no haya células a una distancia mayor de 200 μm de la fuente nutricia.

El **hueso esponjoso o trabecular** yace entre las superficies óseas corticales o compactas y no está estructurado por osteonas, sino que presenta un patrón de nido de abejas, o más bien, láminas intersticiales dispuestas en forma superpuestas, no concéntricas, formando tabiques o placas llamadas **trabéculas** que contienen espacios más o menos amplios e irregulares ocupados por médula ósea y elementos hematopoyéticos. Los vasos sanguíneos penetran directamente en el hueso esponjoso y permiten el intercambio de nutrientes con los osteocitos⁴⁰.

El trabeculado no se orienta al azar, es perpendicular a las fuerzas externas, su distribución y organización espacial es direccional (anisotrópica) para proveer el soporte estructural necesario, siempre dependiendo de la localización anatómica. Está diseñado para responder rápidamente a las necesidades fisiológicas, teniendo en cuenta la densidad celular por unidad de volumen con respecto al hueso cortical. Se puede distinguir una trabécula primaria formada por fibras colágenas estructuradas en forma paralela entre sí y una trabécula secundaria, resultado del proceso de remodelación y delimitada por una línea ondulada o festoneada basófila⁴¹.

II. 1. d) METABOLISMO ÓSEO

La dinámica funcional del tejido óseo está sujeta a factores locales y hormonales; que intervienen en los procesos metabólicos a través de la regulación del calcio, del fósforo y del balance ácido-base del organismo⁴².

Tres de las hormonas calciotropas que afectan directamente al hueso son: la calcitonina, la vitamina D y la hormona paratiroidea.

La **calcitonina** es secretada por las células parafoliculares de la glándula tiroides, en respuesta a un nivel de calcio sumamente creciente en el plasma y sirve para inhibir la actividad metabólica celular dependiente del calcio, es hipocalcemiante, también tiene efectos inhibitorios en la resorción (Ganong et al 2006) frenando la actividad osteoclástica (por un mecanismo aun desconocido) y se sugiere que acelera el proceso de reparación ósea⁴³; también facilita la recuperación del nivel basal de calcio. En el intestino inhibe la absorción de calcio sin afectar a la de fósforo.

La **hormona paratiroidea** (PTH) se sintetiza en la glándula paratiroides y su principal función se relaciona con el aumento de la calcemia. Esta acción la realiza actuando directamente sobre los receptores en el hueso y el riñón e indirectamente sobre el intestino. Activa a los osteoblastos, que expresan una serie de factores para activar la resorción de hueso por parte de los osteoclastos; lo cual moviliza calcio desde el hueso e incrementa el flujo del mismo y mantiene el nivel de calcio extracelular del cuerpo relativamente constante. También es la principal reguladora de la excreción de calcio: disminuye la filtración renal y aumenta la reabsorción tubular, aunque por sus efectos a otros niveles, la PTH puede aumentar la calciuria⁴⁴.

La **vitamina D** y su derivado activo el 1,25 – dihidroxicolecalciferol, promueven la formación de proteínas a las que se les adosa el calcio, estimula la absorción intestinal y reabsorción renal de calcio. Es decir que su función tiene órganos diana iguales a los de la PTH (hueso, riñón e intestino); entonces PTH y vitamina D tienen acciones sinérgicas sobre los niveles de calcio en sangre.

El metabolismo óseo también se ve afectado por una serie de proteínas y factores de crecimiento, liberados por plaquetas, macrófagos y fibroblastos. Estos elementos pueden inducir a las células mesenquimales indiferenciadas a migrar, proliferar y diferenciarse en células óseas⁴⁵.

Dentro de las proteínas que mejoran la formación ósea encontramos: Proteínas Óseas Morfogenéticas (BMPs), Factor de Crecimiento Similar a la Insulina (IGF), Factor de Crecimiento Transformante (TGF), Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF) y Factor de Crecimiento Fibroblástico (FGF), entre otros⁴⁶.

Las BMPs son un grupo de glicoproteínas derivadas de la matriz ósea que dirigen el desarrollo embriológico de células, es decir que inducen diferenciación celular. Aunque típicamente presentes solo en cantidades/minuto en el cuerpo, varias BMPs han sido sintetizadas usando tecnología recombinante de ADN y están actualmente en ensayos clínicos para evaluar su potencial en el tejido óseo en los seres humanos^{47,48}.

Las acciones biológicas de las BMPs son mediadas por receptores específicos en la membrana celular que son del tipo serina/treonina cinasas, los cuales fosforilan proteínas intracitosólicas, llamadas *SMAD*, activándolas y envían señales hacia el núcleo de los genes que responden a las BMPs⁴⁹. Son recogidas, inicialmente, de la matriz extracelular de hueso y producidas por MSCs y osteoblastos, actúan más en la diferenciación osteoblástica que en su proliferación e inducen a la producción de osteocalcina⁵⁰.

Se han identificado BMP-1 hasta BMP-16 y cabe destacar la función de la BMP-7, llamada también Proteína Osteogénica-1 (OP-1) que es osteoinductiva⁵¹, actúa en la reparación de huesos largos, hueso alveolar, la diferenciación de osteoblastos, condroblastos y adipocitos⁵².

De acuerdo a la secuencia de aminoácidos se revela que pertenecen a la familia del Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β)^{53,54}; éste y otros factores de crecimiento son proteínas solubles y multifuncionales, producidas por una gran variedad de células, que operan en el hueso uniéndose a

receptores específicos de membrana, situados en la superficie de la célula sobre la que actúan y a partir de allí, intervienen en la regulación de la angiogénesis, formación ósea, síntesis de matriz extracelular y control de la actividad mediada por células. Junto a osteonectina, osteocalcina y fibronectina son activadores celulares y facilitan su migración⁵⁵.

Remodelado y modelado óseo

El esqueleto cuenta con la habilidad de renovarse continuamente mediante el proceso de remodelamiento óseo (*turnover*) que comienza tempranamente, en el útero, y continúa hasta la muerte del individuo. Corresponde al reemplazo periódico de hueso viejo y dañado por hueso nuevo, en el mismo sitio, reparando el daño por fatiga o microfracturas del tejido que pudieran producirse por la acumulación de mineral. Este proceso es el responsable de la completa regeneración del esqueleto adulto cada 10 años⁵⁶.

Las poblaciones celulares que participan en este proceso secuencial - los osteoblastos y osteoclastos- actúan bajo distintos mecanismos de control molecular y en conjunto, estas células forman una estructura anatómica temporal, denominada Unidad de Remodelado Óseo (URO)⁵⁷, ejecutan la remodelación ósea y la cantidad de hueso formado por ésta, se llama **unidad básica estructural**. Una serie de estímulos afectan el recambio óseo en cantidad y calidad de tejido producido, incluyendo hormonas, citocinas y estímulos mecánicos⁵⁸.

El remodelado es un proceso cíclico que comienza con el hueso en estado de reposo y culmina de igual manera. En todo el esqueleto y en un período de tiempo dado millones de estas UROs se encuentran operando en diferentes estadios del ciclo. Para que se inicie el proceso debe existir una correcta comunicación osteoblasto-osteoclasto asociados en tiempo y espacio en la misma URO y diferentes estímulos entre los que se encuentran: generación de microfracturas con pérdida de carga mecánica, baja concentración del Calcio en el líquido extracelular (LEC) y alteración en la concentración de hormonas y citoquinas.

La apoptosis del osteocito produce señales regulatorias que desencadenan la diferenciación osteoclástica para iniciar la reparación del hueso dañado. Los osteocitos determinarán qué parte del hueso se degradará ya que censan estímulos y mediante sus prolongaciones dendríticas envían señales químicas (citoquinas), que se encuentran involucradas en la interacción celular, hacia la superficie ósea. En este sentido, dos de las señales osteocíticas potenciales involucradas en la iniciación del remodelamiento son el TGF- β y el óxido nítrico (NO), las que inducirían en las células de la progenie osteoblástica, la secreción del Factor Estimulante de Colonia de Macrófagos (f-SCM), citoquina indispensable para el reclutamiento, diferenciación y supervivencia de células del linaje osteoclástico. Este grupo de citoquinas pertenece al sistema regulador del remodelamiento óseo llamado: Sistema RANK - RANKL - OPG⁵⁹

- RANKL: ligando situado en la superficie de osteoblastos.
- RANK: receptor del anterior situado en la membrana de osteoclastos.
- OPG (Osteoprotegerina): proteína sintetizada por osteoblastos.

La PTH estimula la liberación al medio del ligando del receptor activador del factor nuclear NF- κ B (RANKL); este factor es una proteína sintetizada por osteoblastos, células en reposo y células del estroma. El RANKL se unirá al receptor-activador del factor nuclear RANK, que se encuentra presente en la membrana del preosteoclasto, favoreciendo su diferenciación, activación a osteoclasto maduro y sobrevivida, inhibiendo su apoptosis. La osteoprotegerina (OPG) es un receptor trampa (*señuelo*) que actúa como antagonista del RANKL. Es una proteína liberada por los osteoblastos en forma soluble para proteger al esqueleto de una excesiva resorción ósea. Al unirse al RANKL lo bloquea para su unión al RANK inhibiendo la diferenciación y activación del precursor osteoclástico y aumentando su apoptosis, por lo cual la relación RANKL/OPG es indicativa de la osteoclastogénesis⁶⁰.

El proceso de remodelación implica las siguientes etapas (Figura II.2):

- Activación de las células osteogénicas precursoras.
- Resorción activa del hueso.
- Período de descanso o reversión.
- Formación de hueso nuevo.

La **activación** produce la atracción desde la circulación de precursores osteoclásticos mononucleares, cuya diferenciación celular a multinucleados es realizada por citoquinas provenientes de las células en reposo que tapizan la superficie ósea y otras células del mesénquima. Los preosteoclastos se pegan a la superficie a reabsorber mediante receptores de integrinas, presentes en sus membranas, que tienen la particularidad de unirse a determinados péptidos presentes en la matriz extracelular que contienen la secuencia arginina-glicina-aspártico. Dicha unión delimita un compartimento denominado "laguna de resorción" y desencadena la polarización del osteoclasto que emite prolongaciones citoplasmáticas llamadas "ribete en cepillo" a través de las cuales volcará sus productos iniciando la siguiente fase denominada de resorción propiamente dicha.

Durante la **fase resorptiva** una bomba de protones (H⁺) específica y otros canales iónicos presentes en la superficie activa del osteoclasto producen una disminución considerable del pH en la laguna de resorción. Esta acidificación es acompañada por la secreción de una serie de enzimas lisosomales tales como Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP) y Catepsina K, así como metaloproteasas de la matriz (MMP) entre las que se encuentran colagenasas, como la MMP-9. La disminución del pH en forma conjunta con la liberación de enzimas que presentan actividad máxima a pH ácido, produce la degradación del cristal de hidroxapatita y en forma subsiguiente la del colágeno, creando cavidades u hoyos erosivos denominadas "lagunas de Howship"⁶¹ en el hueso trabecular y túneles

cilíndricos en el hueso cortical⁶². Generalmente se encuentra sólo uno o a lo sumo dos osteoclastos en el mismo sitio resortivo pero, en condiciones de resorción exagerada, es posible encontrar hasta cuatro o cinco células resortivas^{63,64}. Este proceso es rápido ya que dura aproximadamente 10 a 12 días finalizando con la apoptosis del osteoclasto y es seguida por la fase reversa.

En la etapa de **reversión** la laguna de resorción es reemplazada por monocitos y osteocitos, que fueron liberados de la matriz mineralizada durante la resorción, y por preosteoblastos que fueron reclutados para comenzar a formar nuevo hueso. En esta etapa es donde se producen las señales de acoplamiento más importantes y los osteoblastos son atraídos al lugar donde se generó previamente la resorción.

La **formación** comprende dos etapas, una en la que los osteoblastos sintetizan primeramente la matriz del osteoide y luego otra que regulan su mineralización. Los osteoblastos provienen de progenitores mesenquimáticos que pueden proliferar y diferenciarse a precursores osteoblásticos, preosteoblastos y osteoblastos maduros⁶⁵ desde los tejidos conectivos circundantes. Los osteocitos también participan en la finalización del proceso de formación ya que secretan una citoquina denominada *esclerostina* que tiene la particularidad de suprimir la función osteoblástica^{66,67}.

La remodelación incluye una continua remoción de tejido óseo seguida por una síntesis de nueva matriz y su mineralización en la misma superficie⁶⁸.

Este proceso, junto con la reparación, es el único mecanismo por el cual se forma nuevo hueso en los adultos⁶⁹, el mismo puede conservar o remover pero no adiciona o aumenta hueso⁷⁰; es decir que resorción y neoformación están íntimamente acoplados y el resultado es que no hay cambios en la masa ósea.

Un ciclo completo de aposición y resorción (turnover) lleva entre 6 y 9 meses⁷¹ en humanos y en condiciones de normalidad, independientemente, que se trate de hueso compacto o esponjoso ya que ambos poseen la misma estructura histológica⁷². Este tiempo se lo conoce como **sigma** y su duración es distinta de acuerdo a la especie en cuestión.

A diferencia del remodelado, el **modelado** no se encuentra acoplado, la formación puede producirse donde previamente no existió resorción, siendo así el responsable del crecimiento en largo y ancho de los huesos⁷³.

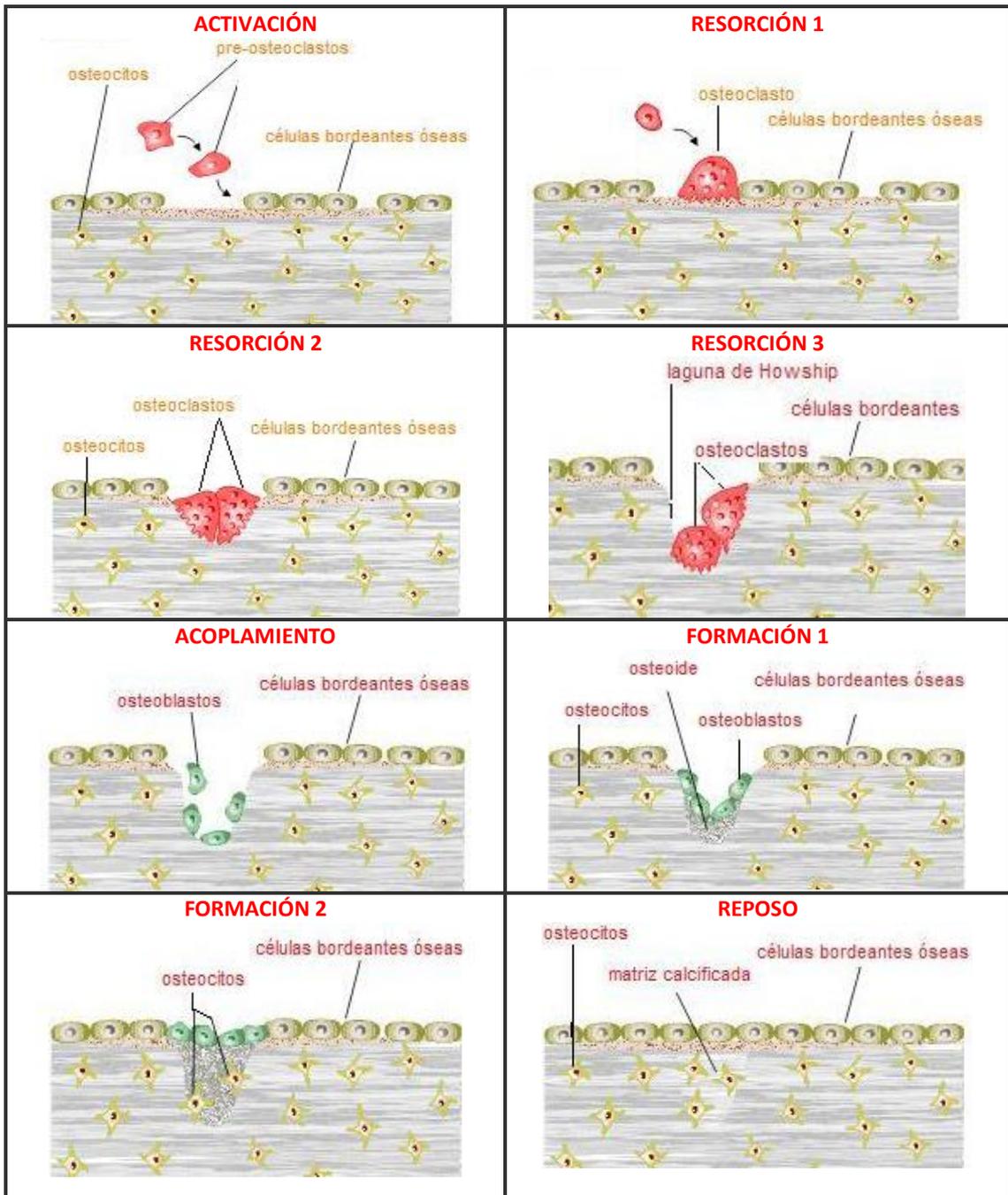


Figura II.2: Esquema ciclo de remodelado óseo⁷⁴

II. 1. e) REPARACIÓN Y REGENERACIÓN ÓSEA

Varias de las funciones fisiológicas del organismo: síntesis de colágeno, mineralización y respuesta vascular, entre otras; son las que se ponen en marcha ante un trauma o una lesión sobre el tejido óseo. En la biología del ser humano los procesos cicatrizales son vitales, éstos estimulan la diferenciación

y multiplicación celular para restituir los tejidos perdidos o lesionados ante una injuria.

El proceso de reparación involucra una cascada de eventos que comienza con la formación del coágulo de fibrina, tapón inicial de plaquetas, degranulación del contenido de los gránulos α en el sitio y liberación de distintos factores de crecimiento: Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas ácido y básico (PDGF α y PDGF β), Factor de Crecimiento Transformante β 1 y β 2 (TGF- β), Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF) y Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF). Todos ellos tienen la característica de ser mitógenos e interactúan con los diferentes componentes de la matriz extracelular y células presentes en el lugar de la lesión⁷⁵ para estimularlas a entrar en ciclo celular.

La angiogénesis es un proceso de neoformación vascular sobre una red preexistente, es esencial para el desarrollo y reparación del hueso, no sólo para el suficiente suministro nutritivo y el transporte de macromoléculas e invasión de células, sino también porque gobiernan el microambiente metabólico. A pesar de su papel central, muy poco se sabe sobre los procesos iniciales de formación vascular y la función de la microvasculatura durante la reparación de hueso.

El desarrollo de un hematoma que rodea el área del defecto es el acontecimiento inicial, que va acompañado de un aumento significativo de la permeabilidad microvascular y del caudal de sangre. Con la reabsorción del hematoma y la maduración vascular, decrece la permeabilidad mientras se incrementa la densidad vascular y la perfusión tisular⁷⁶.

Los vasos sanguíneos alrededor de la lesión reciben la señal de producir enzimas como proteasas, que degradan la membrana basal endotelial y bajo el estímulo del Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF) y angiopoyetinas 1 y 2, comienzan a formar brotes de nuevas células endoteliales, que también son estimuladas por una baja tensión de oxígeno en los tejidos dañados. Estos brotes migran hacia el interior de la lesión acompañados de fibroblastos que forman matriz extracelular para el soporte y maduración posterior de los capilares^{77,81}. Estos estímulos son los necesarios para que se diferencien las células osteocompetentes que van a realizar la reparación del tejido óseo perdido o lesionado.

En el tejido óseo tanto reparación como regeneración se llevan a cabo a través de un grupo de células denominadas, de acuerdo a su capacidad de mitosis, **estables o quiescentes**, que sólo funcionan bajo determinadas circunstancias; se mantienen en estado latente y son estimuladas por una injuria a diferenciarse desde células mesenquimales en las necesarias para devolver al tejido morfología y función perdidas.

El mecanismo por medio del cual se produce la reparación ósea ha sido descrito por Parfai⁷⁸, lo denominó coupling, y se relaciona íntimamente con la diferenciación del osteoblasto y la presencia indispensable de capilares.

En el esqueleto adulto, es llevada a cabo por estructuras anatómicas temporales, llamadas Unidades Básicas Multicelulares (BMU), dentro de las cuales, los osteoblastos y los osteoclastos mantienen relaciones espaciales. La

estructura anatómica característica de una BMU es: un vaso capilar, el cual juega el papel más importante, ya que es la fuente nutricia de las células mesenquimales que se van a diferenciar en osteoblastos. Estas células mesenquimales son los pericitos, planos y estrellados, originados en la cresta neural, que revisten y soportan los capilares y vénulas, compartiendo membranas basales con las células endoteliales. Al diferenciarse en osteoblastos, es notable su ausencia en los sinusoides. Aunque las señales para la diferenciación del osteoblasto son aditivas, la señal esencial primaria proviene de la alta concentración de factores de crecimiento liberados en el sitio de la lesión.

Durante la etapa de reparación, los fibroblastos presentes en el tejido granulación formado en el sitio de la lesión, constituyen el soporte para la creciente vasculatura y forman la matriz colágena. Los osteoblastos secretan osteoide, que va mineralizándose en forma gradual, formando un callo reticular en el lugar de la fractura, el cual actúa como puente entre los fragmento de tejido óseo. La resistencia al movimiento del tejido formado es débil en los primeros momentos, pero a medida que el callo continúe su osificación, aumentará su resistencia a las fuerzas mecánicas.

El proceso se completa durante la etapa de remodelación, en la cual, el hueso es restaurado a su forma, estructura y resistencia original. Las fuerzas locales actuantes durante este período condicionan la densidad, geometría, espesor y orientación del trabeculado para una mejor adaptación a las demandas mecánicas del sector.

II. 1. f) CICATRIZACIÓN ALVEOLAR POST EXTRACCIÓN

Estas características particulares han hecho que sea motivo de diferentes estudios, en animales de experimentación, en condiciones normales y también bajo distintas circunstancias que pueden alterar el normal curso de este proceso. Se ha visto que el modelo experimental en animales tiene grandes similitudes con lo que sucede en humanos, tanto en la cicatrización alveolar como en los cambios remodelativos del reborde residual⁸¹.

La secuencia de etapas de reparación, desde el mismo momento de la extracción dentaria, ha sido descrita en estudios histológicos, radiográficos e histomorfométricos en modelos experimentales sobre ratas, perros y monos^{82,83,127,84}. Las observaciones publicadas en estos modelos no siempre son representativas de lo que ocurre en humanos, sin embargo, son comparables con modelos de estudios histológicos de cicatrización ósea post extracción en humanos que han confirmado ampliamente las observaciones provenientes de estudios en animales^{85,86,87}.

Es importante recordar que el metabolismo óseo de humanos, ratas y perros, tiene una cinética propia en cada etapa, al igual que los mecanismos desencadenados durante la cicatrización posterior a una exodoncia. Se sabe

que en humanos este proceso es mas lento que en perros⁹⁰ y también que en ratas, ya que éstas tienen un índice de actividad metabólica cinco veces mas rápida que el humano⁸⁸.

Etapas de cicatrización alveolar

La exodoncia activa inmediatamente, una secuencia de inflamación temprana, reparación y remodelación tardía. El alvéolo se llena de sangre proveniente de los vasos cortados, los cuales contienen proteínas y células dañadas. Estas células inician la formación de una red de fibrina que junto con las plaquetas forman un coágulo en las primeras 24 horas. Este coagulo actúa como una matriz física dirigiendo el movimiento de las células, incluyendo las células mesenquimales y los factores de crecimiento.

Las bacterias de la cavidad bucal colonizan el coágulo y generan una inflamación aguda del tejido que lo rodea favoreciendo la llegada de neutrófilos y macrófagos al sitio de la herida para digerir las bacterias y los restos celulares, liberando factores de crecimiento y citocinas que inducen y amplían la migración celular⁸⁹.

Dentro de los 2 días posteriores a la extracción podemos observar al microscopio remanentes de ligamento periodontal residual adherido al margen del alveolo.

La inflamación generada provoca una disminución del pH (4-6) y de la tensión parcial de oxígeno (hipoxia), ambos procesos son los estímulos necesarios para que comience la revascularización del coágulo, la migración de células pluripotenciales, osteocompetentes, la mitogénesis de células osteoprogenitoras y también de fibroblastos; dando lugar a la formación de un tejido de granulación con una importante red vascular. También aparecen osteoclastos que se ubican a lo largo de la cresta ósea y producen una severa resorción del hueso alveolar durante los 4 a 7 días siguientes post extracción⁹⁰.

Al final de la primera semana se observa una delicada línea de trabeculado óseo con osteoblastos, principalmente, en el tercio medio y apical del alveolo junto con abundante tejido conectivo y capilares neoformados⁹¹. Emergiendo desde el hueso maduro de las paredes alveolares son visibles fibras colágenas birrefringentes (menores de 5 μm de diámetro) que se extienden dentro del tejido de granulación en el interior del alveolo y que cursan entre la línea de osteoblastos y el centro mismo alveolar. El relleno alveolar de hueso reticular se extiende desde el margen con trabéculas de disposición ordenada que se irradian hacia el centro del alvéolo.

En la segunda semana, debido a la progresiva neoformación ósea, el alvéolo esta ocupado con tejido conectivo maduro y hueso inmaduro reticular en la porción apical del alvéolo⁹². Osteoblastos robustos y procesos que asemejan dedos de trabeculado primario se alinean sobre fibras de colágeno tipo III que junto con los remanentes de ligamento periodontal forman un marco preliminar a lo largo del cual se orientan las trabéculas. Estas fibras, ópticamente activas, se componen de haces de fibras más finas y se mantienen dentro de la matriz ósea⁹³, colaborando en la migración de células osteoprogenitoras a partir de las cuales se diferencian osteoblastos que forman

el trabeculado óseo. Amler et al.⁹⁴ describió por primera vez, una red de fibras argirófilas muy ordenada en la periferia del alvéolo post extracción humano, que se asemeja a las fibras de colágeno tipo III y IV descritas en la matriz ósea.

A intervalos posteriores (17, 20 y 30 días post extracción) el hueso alveolar se va remodelando con numerosas líneas de inversión y mezcla de hueso laminar y reticular. Todo esto ocurre mientras el tejido conectivo madura junto al epitelio que va queratinizándose. Hacia la tercera y cuarta semana el sitio de la extracción aparece ocupado por un tejido óseo trabecular, que contiene un gran número de células óseas y una disposición de osteonas primarias, que gradualmente va siendo reemplazado por hueso laminar y matriz ósea; llenando aproximadamente el 88% del volumen alveolar⁹⁵, que se completará a los dos meses de realizada la extracción. El depósito de tejido continuará por varios meses pero no alcanzará el nivel óseo de los dientes vecinos⁹⁶.

Guglielmotti y Cabrini⁹⁷ crearon un modelo experimental en animales que permitió cuantificar la cicatrización alveolar en ratas Wistar sobre la base de parámetros histométricos, incluyendo la densidad de volumen de hueso, entre otros. Las medidas fueron limitadas a un rectángulo perfilado sobre tercio apical del alvéolo. Aunque ningún análisis estadístico fue aplicado, la **densidad** de volumen de hueso máxima fue alcanzada al **día 30** post-operatorio. Los autores publicaron que la **formación** de hueso máxima y el **volumen máximo** alveolar ocurrieron durante el **día 14** después de la extracción de diente.

Dentro de los primeros seis meses posteriores a una extracción dentaria se va a producir la mayor pérdida de los tejidos que rodeaban al elemento dentario, principalmente, el tejido óseo^{98,99}. Atwood¹⁰⁰ dividió en cuatro categorías a los factores que afectan la tasa de reabsorción:

- Anatómicos: cantidad, calidad y forma del hueso residual.
- Metabólicos: hormonas como PTH y Vitamina D que regulan el metabolismo óseo.
- Funcionales: correcta relación céntrica y dimensión vertical en el uso de prótesis.
- Protéticos: uso o no de prótesis que devuelvan anatomía y función.

El grado de reabsorción del reborde residual está estrechamente relacionado con el tiempo de la extracción^{101,102,103}, tanto en maxilar como en la mandíbula; pero Tallgren¹⁰⁴ demostró que la reabsorción de la mandíbula es cuatro veces mayor con respecto al maxilar en humanos.

II. 2. DIETA RICA EN SACAROSA

La **sacarosa** o azúcar común es un elemento de alto consumo constitutivo de la dieta de la población en general. Es un disacárido formado por: alfa-D-glucopiranosil (1->2) -beta-D-fructofuranósido, su fórmula química es: (C₁₂H₂₂O₁₁) y su estructura química se describe en la Figura II.3.:

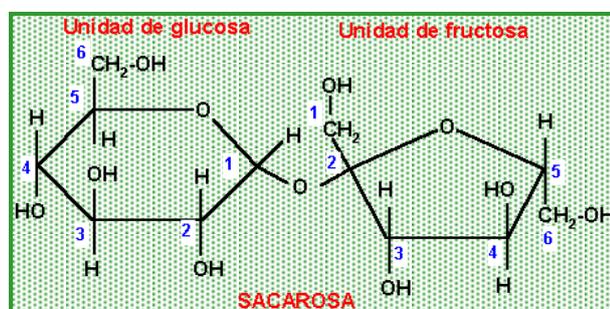


Figura II.3: Esquema de estructura química de sacarosa

Distintos estudios epidemiológicos, mayormente en países industrializados, muestran la relación directa existente entre el mayor consumo de azúcar u otros carbohidratos y el aumento en el deterioro de la salud dental y periodontal¹⁰⁵. Los efectos adversos producidos sobre los tejidos mineralizados (hueso, esmalte y dentina) son motivo de constantes investigaciones debido a la falta de conocimiento del mecanismo por el cual se afectan dichos tejidos.

Son muy conocidos los resultados del gran consumo de hidratos de carbono sobre la superficie del esmalte, favoreciendo el inicio y la progresión de caries por inducción a la producción de ácidos por parte de microorganismos presentes en el biofilm de los elementos dentarios^{39,124}. Porcentajes mayores al 41% de sacarosa en la dieta pueden producir en ratas jóvenes alteraciones en la diferenciación y metabolismo de los odontoblastos, causando disminución del fluido dentinario, con menor formación de dentina y de componentes minerales de la misma¹⁵⁷.

Pékkala et al.¹¹¹ observaron en animales de experimentación, tanto durante la lactancia como en períodos experimentales, una reducción en la dentinogénesis sin cambios en el ancho de la capa de predentina. También notaron un aumento en la calciuria y disminución en la excreción urinaria de fósforo, potasio y sodio; sin producir cambios en los volúmenes de dicha excreción ni alteraciones en los niveles séricos de minerales ni de insulina.

En relación con el tejido óseo se observó que disminuye el volumen y el grosor del hueso trabecular¹⁰⁶ alterando sus propiedades materiales¹⁰⁷, con la consecuente disminución de la resistencia a las fuerzas mecánicas y a las fracturas, en tibias y fémures de ratas^{2,8,108} de ambos sexos; conjuntamente con una reducción de las concentraciones de calcio y fósforo, decreciendo la mineralización⁹.

No se ha determinado cual es la vía y la forma por la cual esta dieta produce los mencionados efectos sobre el tejido óseo. Pero se describe que la ingesta prolongada de sacarosa produce, también, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina en las ratas, lo que conduce a intolerancia a la glucosa e hiperglucemia^{109,110}. Así, el aumento de los niveles de glucosa en sangre induce a la excreción de calcio en orina¹¹¹ y la hiperinsulinemia inhibe la reabsorción tubular renal de calcio^{112,113}.

La ingestión excedida de galactosa, fructosa, glucosa¹¹³ y sacarosa ha sido observada en diferentes estudios y se publicó que producen una respuesta calciurética. Esta respuesta es compatible con los efectos que cada uno de estos constituyentes de la dieta tienen sobre la secreción de insulina y el aumento de la excreción urinaria de calcio.

Todos los trabajos consultados muestran las alteraciones óseas producidas por una dieta rica en sacarosa en diferentes huesos de la economía en animales de experimentación; nada está descrito de lo que ocurre o como influye esta dieta a nivel de los maxilares ni del alveolo post extracción de ratas.

III. HIPÓTESIS

III. HIPÓTESIS

En las ratas alimentadas con una dieta rica en sacarosa la reparación del alvéolo post extracción es más lenta y el hueso que se forma es de menor calidad que en el mismo proceso en ratas alimentadas con una dieta balanceada estándar.

IV. OBJETIVOS

IV. OBJETIVOS

IV. 1. Objetivo general:

Estudiar y cuantificar los efectos producidos por una dieta rica en sacarosa sobre el tejido óseo, durante la cicatrización alveolar post extracción.

IV. 2. Objetivos específicos:

- Realizar el estudio histomorfométrico de las lagunas osteocíticas del tejido óseo.
- Medir cantidad y calidad de hueso neoformado.
- Porcentaje de hueso en reabsorción y en neoformación.
- Comparar tiempos de cicatrización con la dieta rica en sacarosa.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue de tipo experimental, prospectivo y longitudinal. Con una variable independiente, la dieta rica en sacarosa y las variables dependientes de la anterior son la cantidad y calidad del hueso formado y el tiempo que tarde en formarse.

La metodología atraumática usada en este estudio para la extracción de molares⁹⁷ y los métodos histomorfométricos fueron realizados semiautomáticamente, con exactitud, sobre la base de procedimientos estereológicos standards descritos por Weibel¹⁴⁴ que permiten evaluar en números la cicatrización alveolar.

V. 1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 42 ratas Wistar, de ambos sexos, las cuales fueron mantenidas en el Instituto de Biología Celular de la Universidad Nacional de Córdoba, en un ambiente con una temperatura de 22–24°C y luz natural indirecta. Se mantuvieron en condiciones de sanidad adecuadas, mediante la limpieza y desinfección de jaulas, albergues, comederos y bebederos (Figura V.1).



Figura V.1. Ratas Wistar en bioterio.

Los animales recibieron la misma alimentación estándar desde el nacimiento y durante el período de lactancia¹¹⁴ hasta el destete, luego fueron divididos en dos grupos, **control y experimental**, de 21 ratas cada uno y recibieron distintas dietas hasta el sacrificio de los animales, los controles comieron balanceado estándar y los experimentales una dieta modificada de Stephan Harris¹¹⁵ con alto contenido de sacarosa. Cada uno de estos dos

grupos estuvo compuesto por cuatro subgrupos, de acuerdo a los tiempos de sacrificio: 14, 28, 60 y 120 días; mas un animal 0 hs. Control y otro Experimental. Dichos subgrupos estuvieron formados por cinco (5) ratas cada uno (tres hembras y dos machos).

V. 2. DIETAS

El grupo experimental recibió a partir de la tercera semana de vida (21 días, momento del destete), una dieta con alto contenido de azúcar (43% de sacarosa), dieta modificada de Stephan Harris¹¹⁵. La preparación del alimento se llevó a cabo semanalmente debido a que no contenía conservantes; se controlaron estrictamente los ingredientes y sus cantidades. El grupo control recibió una dieta balanceada estándar (Gepsa Feeds, Grupo Pilar, Bs. As., Argentina). Tanto el alimento como el agua de bebida fueron administrados *ad libitum*¹¹⁶.

V. 2. a) Composición de las dietas

Dieta modificada de Stephan Harris - Grupo experimental (Tabla V.1)

Tabla V.1. Composición de la dieta del grupo experimental

Ingredientes	Cantidad (peso %)
Sacarosa	43
Harina de trigo	22
Leche descremada en polvo	32
Polvo de hígado	2
Aceite vegetal	1

Dieta standard - Grupo control (Tabla V.2)

La dieta del grupo control estuvo compuesta por los siguientes ingredientes: harina de pescado, harina de sangre, harina de carne, harina de vísceras de aves, sebo, harina de maíz, soja, trigo, soja poroto tostado, trigo afrechillo, gluten meal, cloruro de sodio, conchilla, bentonita, fosfato de calcio, hueso ceniza, selenio de sodio, iodato de calcio, óxido de cobre, óxido de cinc, óxido de manganeso, sulfato ferroso, vitaminas A, D3, E y C, menadiona, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido pantoténico, biotina, niacina, ácido fólico, cianocobalamina, colina, metionina, antioxidante.

Tabla V.2. Composición de la dieta del grupo control

Componentes	%
Proteína mínimo	24
Extracto etéreo mínimo	6
Fosfato mínimo	0.9
Humedad máximo	13
Fibra máximo	7
Calcio mínimo	1
Calcio máximo	1.2
Minerales totales máximo	8

Valor nutricional de las dietas (Tabla V.3)

Comparación de los valores nutricionales de las dietas de los grupos experimental y control.

Tabla V.3

Componentes Unidades/ Kg	Dieta modificada de Stephan Harris (Dieta rica en sacarosa)	Ewos R3 diet (Dieta standard)	DDR* (Dosis Diaria Recomendada)
Energía, kJ	15560	12600	18420
Proteínas, g	143	240	133
Grasas, g	21.6	50	55
Ac. Linoleico, g	0.8	1.5	2.4
Calcio, g	5.9	10-12	5.6
Fósforo, g	3.9	5-9	4.4
Cloruro de Na, g	3.8	7	6
Magnesio, g	0.47	2	0.4
Potasio, g	6	8	20
Hierro, g	18	190	38.9
Copper, g	5.3	30	5.6
Retinol, mg	0.85	0.36	0.67
dl-α-acetato tocoferol, mg	7.6	63	35
Hidroclorato de Tiamina, mg	2.5	3.3	1.5
Riboflavina, mg	7.1	12	2.8
Hidroclorato de Piridoxina, mg	1.8	4	7.8
Vitamina B12, μg	7.6	20	5.6
Pantotato de Calcio, mg	17.2	10	8.9
Flúor libre, ppm	0.00	0.05	0.00

(*DDR: dosis diaria recomendada. Congreso Nacional de Investigación. Finlandia – 1972).

V. 3. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS

Todos los animales fueron identificados de acuerdo a su grupo y el día que se comenzó a administrar la dieta con alto contenido en sacarosa, recibieron una inyección intraperitoneal con 30/40 mg/kg. de tetraciclina (Terramicina, 100 mg/ml de Hidroclorato de Oxitetraciclina, laboratorio Pfizer) para marcar el inicio de la mineralización ósea durante el tiempo de consumo de la dieta. Las ratas fueron pesadas una vez por semana durante todo el procedimiento para evaluar y comparar el crecimiento.

Cuando los animales pesaron alrededor de 90g fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de 8 mg/100g de clorhidrato de ketamina (Ketalar®, Parke Davis, Morris Plains, NJ) y 1,28 mg/100g de xylazina (Rompun®, Bayer, Leverkusen, Alemania) y luego se desinfectó la zona a tratar con una solución de 0,12 % de digluconato de clorhexidina¹⁴³ (Figura V.2).

Se procedió a realizar la extracción de los primeros molares inferiores, derecho e izquierdo. Se utilizó un explorador dental, como un elevador de exodoncia, previo decolado de los tejidos blandos, y una pinza mosquito para finalizar la extracción^{138,141} (Figura V.2).

Dos días antes del sacrificio se les inyectó, intraperitonealmente, 30/40 mg/kg. de tetraciclina (Terramicina, 100 mg/ml de Hidroclorato de Oxitetraciclina, laboratorio Pfizer) para marcar la mineralización al finalizar la experimentación.

Las ratas fueron sacrificadas a las 0 hs., 14, 28, 60 y 120 días; para esto fueron nuevamente anestesiadas con clorhidrato de ketamina y xylacina, perfundidas con el líquido fijador, por medio de una bomba perfusora, a través de la cual se pasó, primero solución fisiológica y luego formol buffer al 10 %.

Se extrajo el maxilar inferior completo, se lo cortó en sentido sagital en la parte media y los fragmentos se conservaron en formol a 4° C durante 24 horas¹⁴².



Figura V.2. Animales de experimentación.

V. 4. ANÁLISIS DEL MATERIAL DE ESTUDIO

V. 4. a) Microscopía óptica

La mitad derecha fue decalcificada con EDTA a pH neutro durante +/- 30 días y este proceso se controló radiográficamente. Las muestras se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 5 a 7 μm de espesor, modificando el modelo experimental original de Guglielmotti y col.⁹⁷ que muestra el corte a la altura de la raíz mesial del molar extraído. En nuestro modelo el plano de corte atraviesa la zona de dos de las raíces del alveolo perteneciente al primer molar, en sentido buco-lingual, para poder apreciar mayor superficie de tejido neoformado. Se realizaron coloraciones de rutina (Hematoxilina/Eosina) y tricrómico de Masson, para su observación en microscopía óptica convencional (Olympus BX 50F4) a **4,20 y 40X**, de acuerdo a los parámetros a medir.

Histomorfometría

Para la valoración histomorfométrica se digitalizaron las imágenes microscópicas a **40X** y se tomaron, como mínimo 50 lagunas verdaderas, de modo aleatorio siguiendo un patrón en zigzag¹¹⁷. El procedimiento a seguir se llevó a cabo de la siguiente manera¹¹⁸:

- Captura de imágenes mediante una cámara digital conectada a un microscopio óptico a 40X.
- Almacenamiento digital de las imágenes obtenidas.
- Selección semi-automática de las lagunas osteocíticas verdaderas desde las imágenes almacenadas, eliminando manualmente las prolongaciones de las lagunas que las interconectan entre si (Figura V.3)¹³⁰.
- Utilización de un programa analizador de imágenes (Image Pro Plus, Media Cybernetics) para medir las lagunas seleccionadas (Figura V.4).

Los parámetros a medir automáticamente, fueron los siguientes:

- Área de la laguna completa (sin proyecciones canaliculares), que se obtiene directamente del analizador de imágenes.
- Perímetro lacunar.
- Cantidad de lagunas vacías.

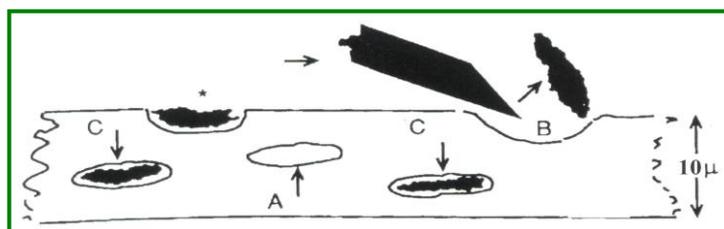


Figura V.3. A – Laguna vacía B – Falsa laguna
C – Laguna verdadera¹¹⁹

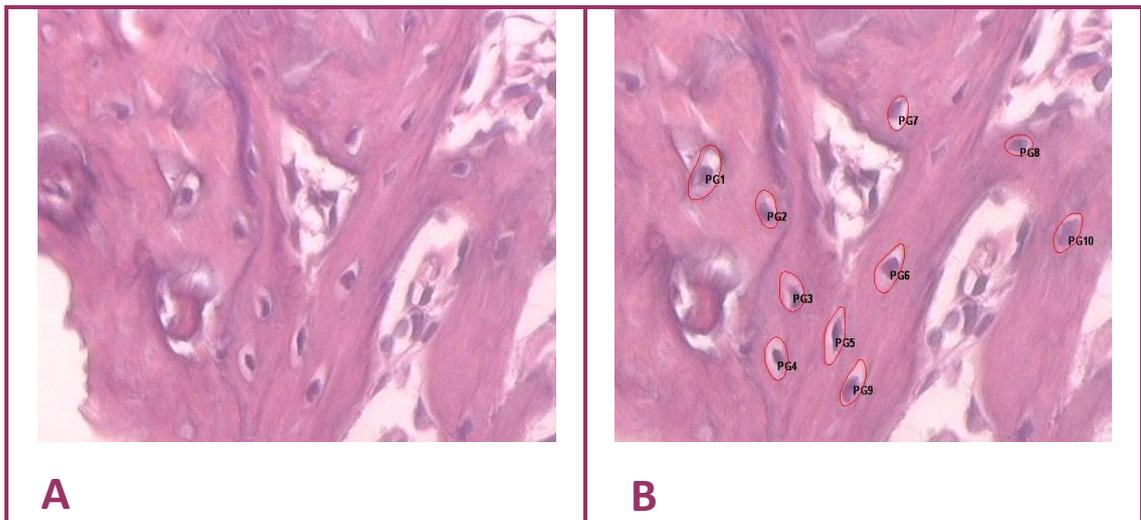
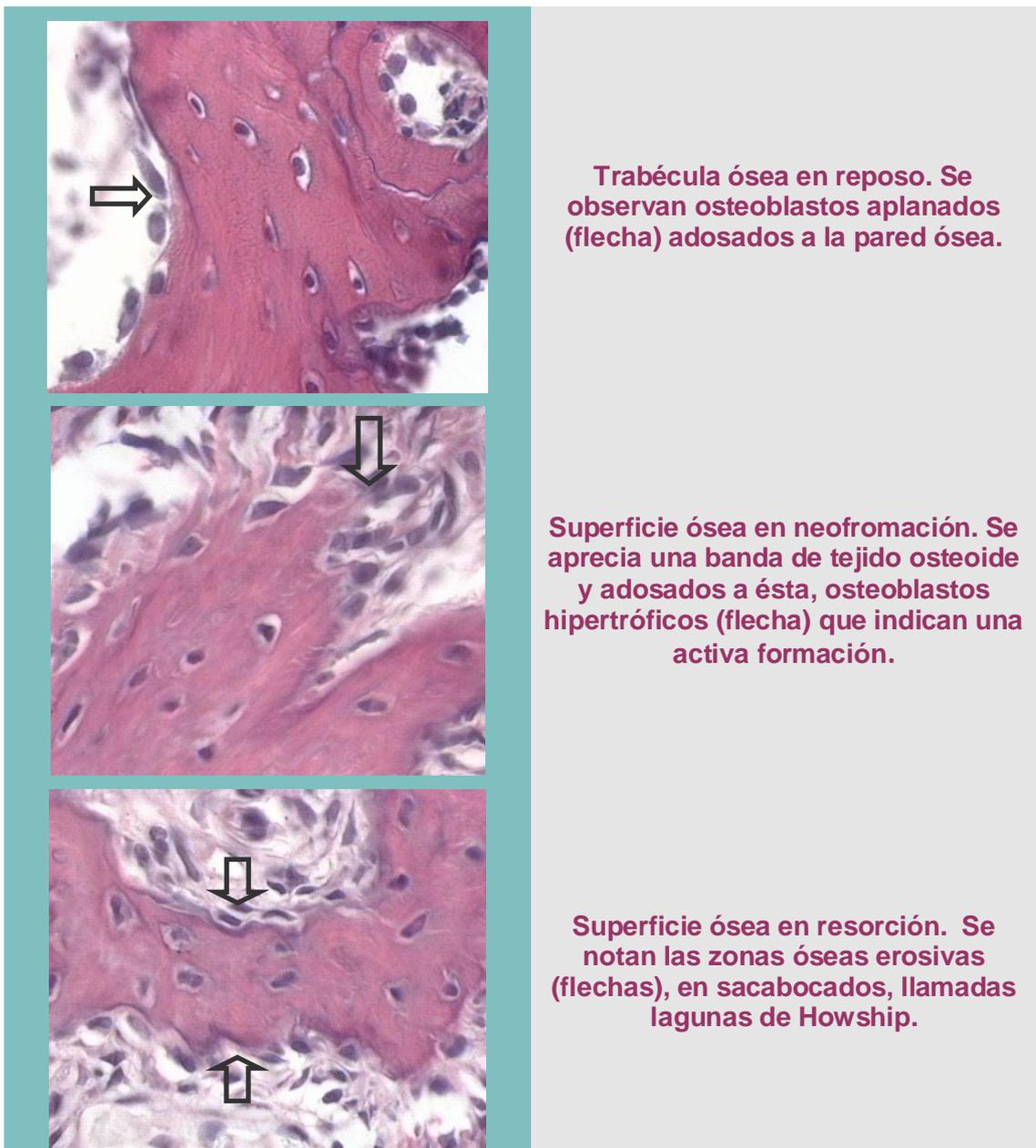


Figura V.4: A: Microfotografía que muestra lagunas osteocíticas para medir (40X). B: El mismo preparado con las lagunas seleccionadas en forma semiautomática para medirlas.

Superficies óseas

Para la medición de los porcentajes de **hueso en reposo**, **neoformación y resorción** se tomó la zona alveolar correspondiente a la bisectriz del ángulo formado por la pared cortical externa y una línea horizontal que pasa por el techo del conducto dentario inferior^{138,143}. Se digitalizaron las imágenes y manualmente se marcaron las zonas, tomando los siguientes parámetros histológicos¹¹⁹ (Figura V.5):

- Área en reposo: superficie ósea lisa, con osteoblastos inactivos de aspecto atrófico, adosados a la pared ósea.
- Área en neoformación: superficie de tejido óseo que presenta un borde de material osteoide, con osteoblastos hipertróficos adosados a ella.
- Área en resorción: superficie ósea erosiva, con lagunas de Howship, con o sin osteoclastos, considerando a éstos como células multinucleadas que presentan un citoplasma basófilo o ligeramente acidófilo.



Trabécula ósea en reposo. Se observan osteoblastos aplanados (flecha) adosados a la pared ósea.

Superficie ósea en neofromación. Se aprecia una banda de tejido osteoide y adosados a ésta, osteoblastos hipertróficos (flecha) que indican una activa formación.

Superficie ósea en resorción. Se notan las zonas óseas erosivas (flechas), en sacabocados, llamadas lagunas de Howship.

Figura V.5. Características celulares de zonas en reposo, neoformación y resorción (hematoxilina – eosina 40X).

Se utilizaron cortes sin colorear para la visualización de la marca de tetraciclinas en un microscopio de fluorescencia (Olympus BX50) y confocal (Olympus Fluoview 300) para observar la mineralización durante el periodo de trabajo. Debido a la continua remodelación del tejido óseo, la fluorescencia se distribuyó en todo el preparado sin mostrar con exactitud el período de mineralización, por este motivo no pudieron ser utilizados para este estudio.

V. 4. b) Microscopía Electrónica de Barrido y EDX

Las muestras fueron preparadas teniendo en cuenta que los materiales biológicos contienen cantidades significativas de agua y baja o nula conductividad eléctrica. El agua de la superficie se evapora, lo cual provoca que la muestra colapse y se distorsione, la baja conductividad puede dar como resultado que se cargue eléctricamente, interfiriendo con el haz de electrones y la emisión de los electrones secundarios de dicha muestra^{120,121,122}.

Las mitades izquierdas mandibulares se conservaron en timol, posteriormente se lavaron y fueron sometidas a 2 ciclos en una lavadora ultrasónica con agua destilada (Biosonic-UC100) luego se secaron en una campana de alto vacío por un período de 7 días (Famaf, U.N.C.). A continuación de estos procedimientos se realizaron:

- 1) Impregnación con carbono con una metalizadora SPI (Labmem, U.N.S.L.), para el **análisis cualitativo** de la fase mineral, a través de una sonda electrónica (EDX probe, Edax, USA) incorporada al microscopio electrónico. El carbono aparece en el inicio del espectro arrojado por la sonda, sin interponerse con los demás componentes minerales existentes en la muestra.
- 2) Colocación de partículas de oro (con la misma metalizadora), metal conductor necesario para lograr excelente calidad y alta definición en la visualización de los preparados a la Microscopía Electrónica de Barrido (LEO 14SOVP SEM, Philips, Holanda), provisto de detector de electrones secundarios y retrodifundidos¹²³ (Figura V.6).

Se realizaron ultramicrofotografías a **100, 200, 400, 600 y 800 aumentos**; y espectros minerales, para análisis descriptivo y de la calidad del tejido óseo neoformado en la zona de extracción y alrededor de la misma, de casos controles y experimentales de 14, 28, 60 y 120 días.



Figura V.6. Preparación de las muestras para MEB.

V. 4. c) Estudios radiológicos

Se realizaron radiografías de todas las mitades mandibulares con el objeto de corroborar que las extracciones se realizaron en forma correcta y sin fracturas de raíces dentarias; además pueden ayudar a detectar posibles cambios óseos en el alvéolo. Sin embargo las mismas ofrecen limitaciones, entre las que se incluyen errores de proyección; por este motivo fueron descartadas para realizar mediciones y estudios estadísticos. Si fueron útiles para corroborar que la descalcificación de las muestras con EDTA previa a la inclusión fue completa.

Análisis estadísticos

Los resultados fueron contrastados estadísticamente mediante el **Test de Student** para Áreas medias de lagunas osteocíticas, **Prueba de Chi Cuadrado** para las Áreas de remodelación ósea y **Test de Mann Whitney** para la cantidad de lagunas vacías por mm².

K

VI. RESULTADOS

VI. RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran la evolución de la cicatrización del alveolo post-extracción a los 14, 28, 60 y 120 días, entre los grupos controles y experimentales.

VI. 1. MICROSCOPIA ÓPTICA

VI. 1. a) Análisis descriptivo

Las descripciones de lo observado histológicamente corresponden a preparados de la zona de los alvéolos post extracción a **4X** y de las lagunas osteocíticas a **40X**, de casos controles y experimentales en cada uno de los tiempos estudiados.

Zona de alvéolos post-extracción (Figura VI.1)

Los cortes panorámicos a **4X** muestran la zona que involucra a dos de los alvéolos dentarios correspondientes al primer molar inferior, en sentido vestibulo-lingual; se puede observar la secuencia de neoformación ósea desde los 14 días a los 120 días. Las diferencias morfológicas y de distribución trabecular entre los grupos son visibles pero se muestran más evidentes a los 28 y 60 días.

El relleno óseo esta compuesto por trabéculas de características, disposición y distribución normales en los controles, mostrando la formación de hueso laminar a los 120 días.

En los casos de animales experimentales, el trabeculado óseo que ocupa el sitio de la extracción, se presenta menos denso que los controles a los 14, 28 y 60 días; luego a los 120 días se observa una esclerosis ósea.

Controles

- 14 días: el trabeculado se observa ordenado, con disposición normal y espacios medulares, ocupando todo el sitio de la extracción ya desde este primer tiempo estudiado. Es notable la diferencia de altura entre la tablas vestibular y lingual, siendo la primera de mayor altura que la segunda.
- 28 días: vemos como el tejido óseo va madurando, pero mantiene una estructura trabecular con espacios medulares, continúa la diferencia de altura de tablas, hay un ligero cambio en la coloración de la parte más cervical de la tabla vestibular.

- 60 días: el tejido óseo que rellena la totalidad del alveolo, se muestra más laminar y hay disminución del tamaño de los espacios medulares, ya se nota con claridad como se van equilibrando las alturas de las tablas vestibulares y linguales por la resorción que se produce post extracción dentaria.
- 120 días: se observa hueso con características claras de aspecto laminar o compacto y menores sitios que albergan médula ósea, los bordes de las paredes alveolares vestibulares y linguales se aprecian redondeados y muy cercanos en altura uno de otro.

Experimentales

- 14 días: se observa una disposición trabecular más desordenada y con menor densidad mostrando una mayor cantidad de espacios medulares que en los controles del mismo tiempo.
- 28 días: el alveolo aparece más ocupado por tejido óseo pero el tercio apical no se ve completo, hay espacios medulares y diferencia de altura entre tablas vestibular y lingual.
- 60 días: el tejido óseo toma una disposición y morfología más ordenada que en los tiempos anteriores y con respecto a los controles, hay menor cantidad de espacios medulares y los bordes de las tablas se observan redondeados.
- 120 días: el hueso claramente se aprecia denso, con aspecto compacto y muy pocos sitios medulares, equilibrándose la altura de tablas vestibular y lingual.

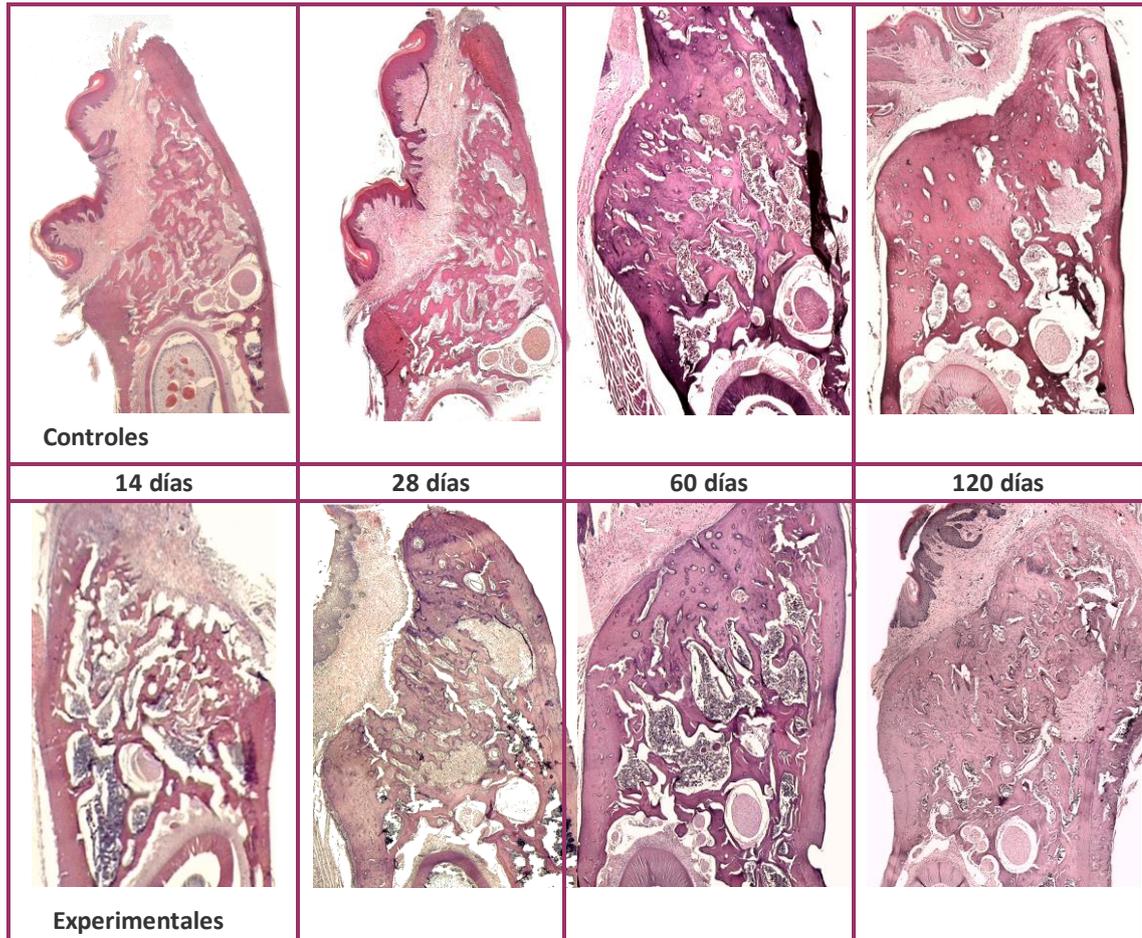


Figura VI.1. Microfotografías de la sección vestibulo-lingual de las mandíbulas en un plano que atraviesa la zona correspondiente a ambos alvéolos del primer molar inferior derecho extraído (hematoxilina - eosina 4X). La tabla vestibular corresponde a la más alta y la más baja es la lingual, en la parte inferior de todos los preparados se observa el diente de crecimiento continuo y el nervio dentario inferior.

Lagunas osteocíticas

Controles

- 14 días de realizada la extracción, se aprecian abundantes trabéculas de neoformación con superficies osteoblásticas, recubiertas de osteoide, osteoblastos cuboidales y osteocitos en sus lagunas que tienen un tamaño medio de $54,0 \mu\text{m}^2$.
- 28 días, el trabeculado óseo está bien conformado, se observan osteocitos en lagunas con sus típicas prolongaciones canaliculares, y algunas superficies quiescentes o en reposo. El tamaño del área media lacunar es de $48,4 \mu\text{m}^2$.
- 60 días post-extracción, el tejido óseo se presenta con líneas basófilas de aposición, lagunas osteocíticas elípticas de contornos bien nítidos de

menor tamaño que en tiempo anterior, $43,3 \mu\text{m}^2$ de área media. Se observan algunas zonas en resorción y otras en reposo con osteoblastos aplanados adosados a las superficies trabeculares.

- 120 días, vemos un intenso remodelado, algunas líneas basófilas y lagunas osteocíticas normales en forma y tamaño, alcanzando $48,0 \mu\text{m}^2$ de área medida.

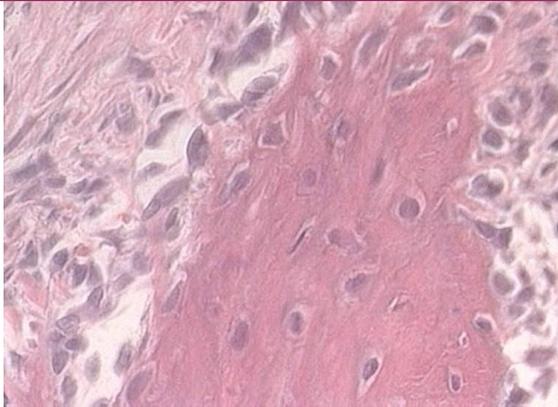
En la Figura VI.2. se observan los detalles de los preparados histológicos de los casos controles en los tiempos mencionados.

Experimentales

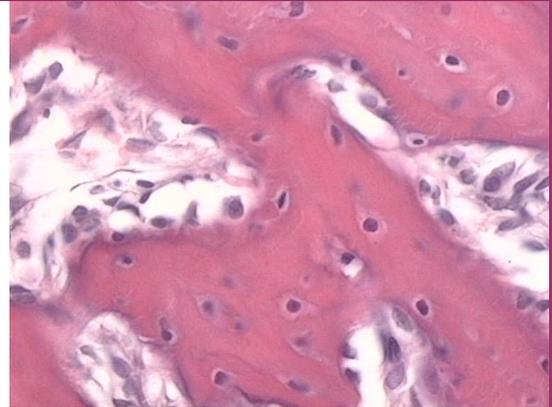
- 14 días después de la extracción, la microfotografía exhibe lagunas osteocíticas de forma y tamaño de área media similar a los controles, $53,3 \mu\text{m}^2$. Se observan algunas líneas basófilas de aposición y una distribución celular uniforme.
- 28 días de experimentación, hay abundantes líneas basófilas, intenso remodelado óseo y lagunas osteocíticas de tamaño mayor de área media que los controles en el mismo tiempo, $52,6 \mu\text{m}^2$, con evidentes prolongaciones canaliculares.
- 60 días post extracción, se aprecian más líneas de aposición ósea, intensamente basófilas, lagunas osteocíticas más grandes que controles del mismo tiempo, midiendo $46,6 \mu\text{m}^2$, nítidas y algunas de aspecto irregular. Algunas zonas en resorción que alternan con zonas en reposo.
- 120 días, las lagunas osteocíticas se ven redondeadas y ligeramente más grandes de áreas que los controles, $46,7 \mu\text{m}^2$. Hay disminución de las zonas basófilas de aposición ósea con respecto a los 60 días y menor actividad de remodelado óseo.

En la Figura VI.3. se observan los detalles de los preparados histológicos de los casos experimentales en los tiempos mencionados.

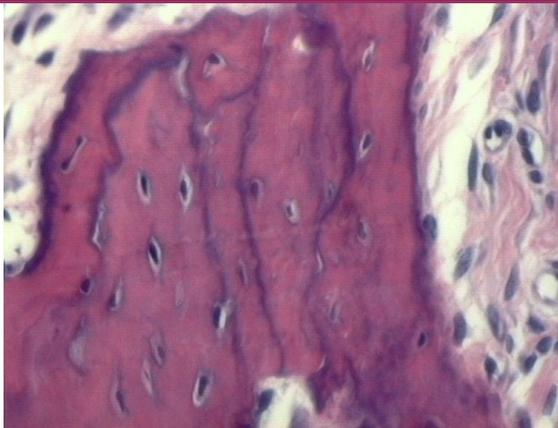
Controles



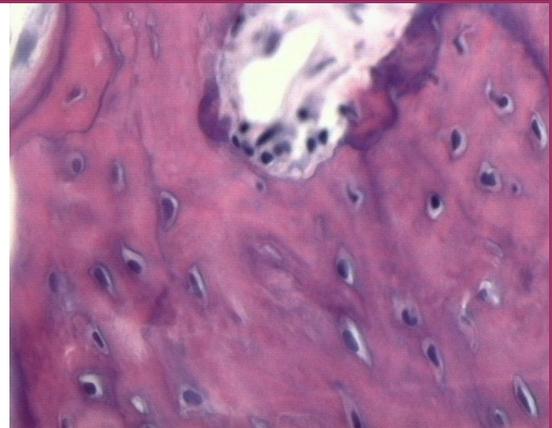
14 días: Se observa trabécula ósea con intensa neoformación rodeada por fibrocitos, células preosteoblásticas y osteoblastos hipertróficos adosados que secretan matriz osteoide y los osteocitos dentro de sus lagunas.



28 días: Las trabéculas óseas presentan características y disposición ordenada con superficies quiescentes que muestran células de superficie. En el interior de la trabéculas osteocitos con lagunas de límites netos con prolongaciones canaliculares típicas.



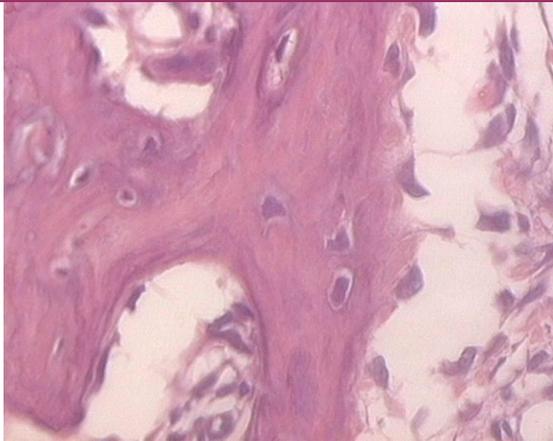
60 días: El tejido óseo muestra trabéculas con numerosas líneas de inversión basófilas, con lagunas elípticas bien definidas. El borde superior de la trabécula muestra resorción, a la derecha zona en reposo con osteocitos aplanados y médula ósea fibrosa con trayectos vasculares.



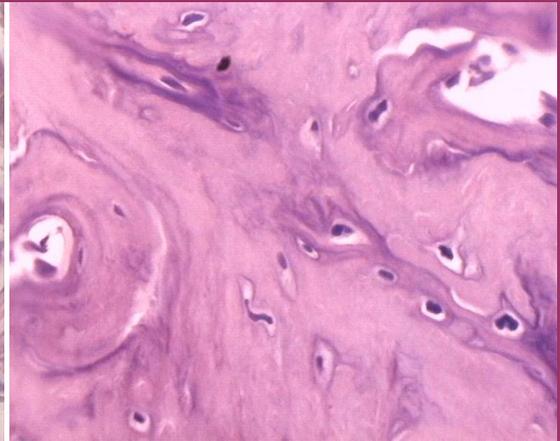
120 días: Tejido óseo laminar, compacto con signos de remodelación, algunas líneas basófilas y bordes en reposo. Las lagunas se presentan acintadas con límites nítidos. En la parte superior se observa un túnel con superficie en reabsorción, con sacabocados, que indica la continua remodelación.

Figura VI.2. Histología de las muestras **controles**, en todos los tiempos estudiados (hematoxilina - eosina 40X).

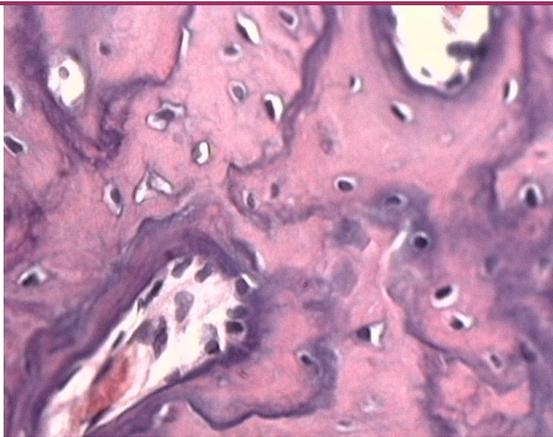
Experimentales



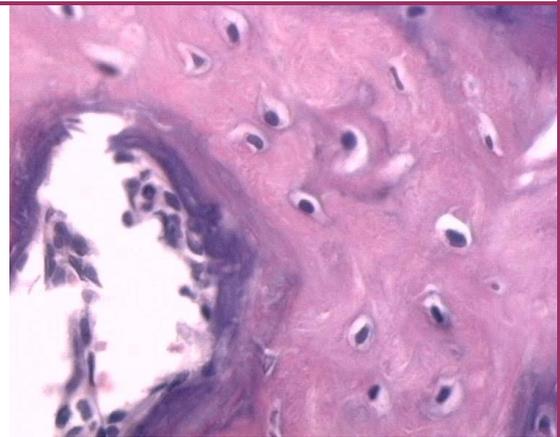
14 días: La imagen microscópica muestra trabéculas neoformadas más finas, con bordes en activa formación, que presentan lagunas osteocíticas de forma y tamaño semejantes a los controles.



28 días: Las trabéculas muestran líneas basófilas evidentes y canales de Havers junto a una osteona primaria en el lado izquierdo. Varias líneas inversas muestran intenso remodelado óseo, con lagunas osteocíticas más redondeadas e irregulares con prolongaciones.



60 días: Se observa continuo remodelado óseo, con numerosas líneas de aposición, basófilas, canal de Havers en el extremo superior derecho con área en resorción. Lagunas osteocíticas de mayor volumen en general, algunas con bordes irregulares que sugieren cambios displásicos en el tejido óseo formado.



120 días: Lagunas osteocíticas elípticas cercanas a las superficies en reposo. Otras lagunas de conformación más redondeada, en las trabéculas de hueso compacto. Menos líneas de inversión y menor actividad remodeladora ósea.

Figura VI.3. Histología de las muestras **experimentales**, en todos los tiempos estudiados (hematoxilina – eosina 40X).

VI. 1. b) Análisis histomorfométrico.

La medición histomorfométrica de las lagunas osteocíticas nos permitió valorar la calidad del tejido óseo neoformado. En los diferentes tiempos estudiados se vieron diferencias morfológicas entre los grupos, siendo las experimentales más irregulares, redondeadas en su forma y de mayor tamaño que los controles. Las mayores diferencias de áreas de lagunas osteocíticas medidas se encontraron a los 28 días (Figura VI.4) y 60 días (Figura VI.5). En los tiempos de 14 y 120 días las diferencias entre ambos grupos fueron bastantes menos notorias.

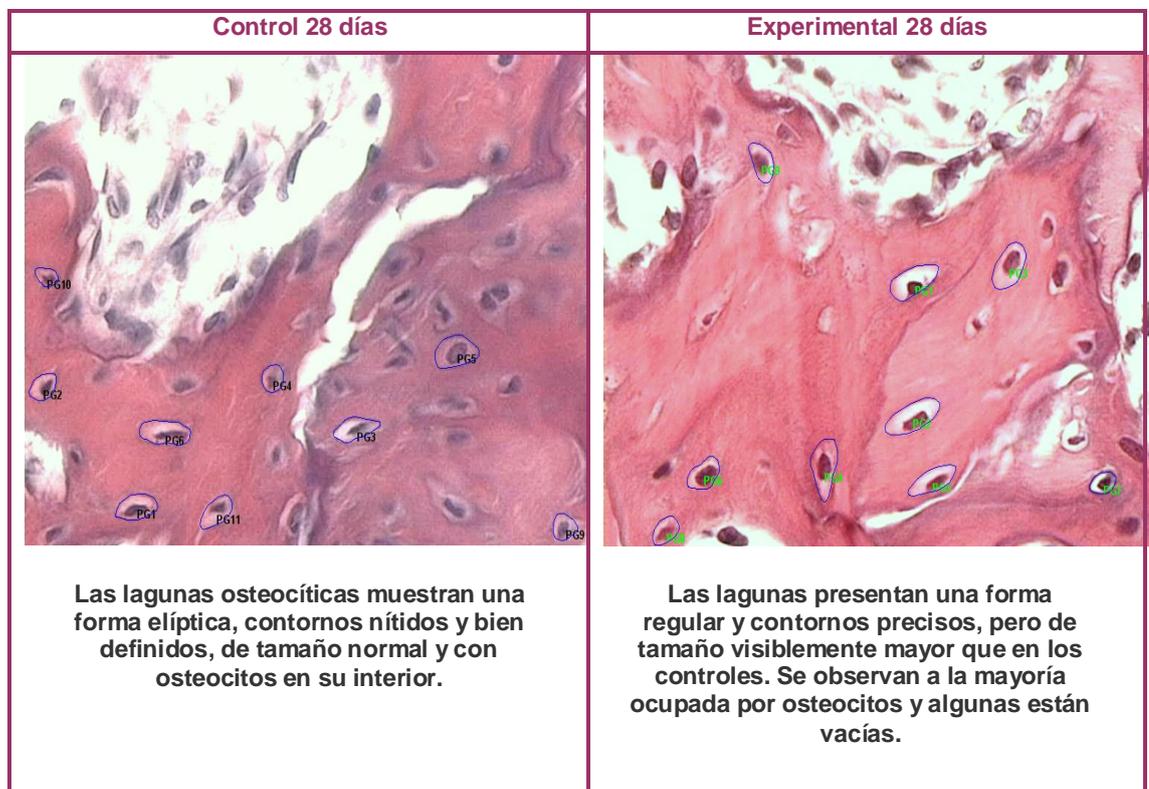


Figura VI. 4. Lagunas medidas en forma semiautomática a los 28 días de los dos grupos. Se observan líneas basófilas de aposición y zonas de notable actividad celular evidenciando la dinámica ósea en controles y experimentales.
(Hematoxilina – eosina 40X)

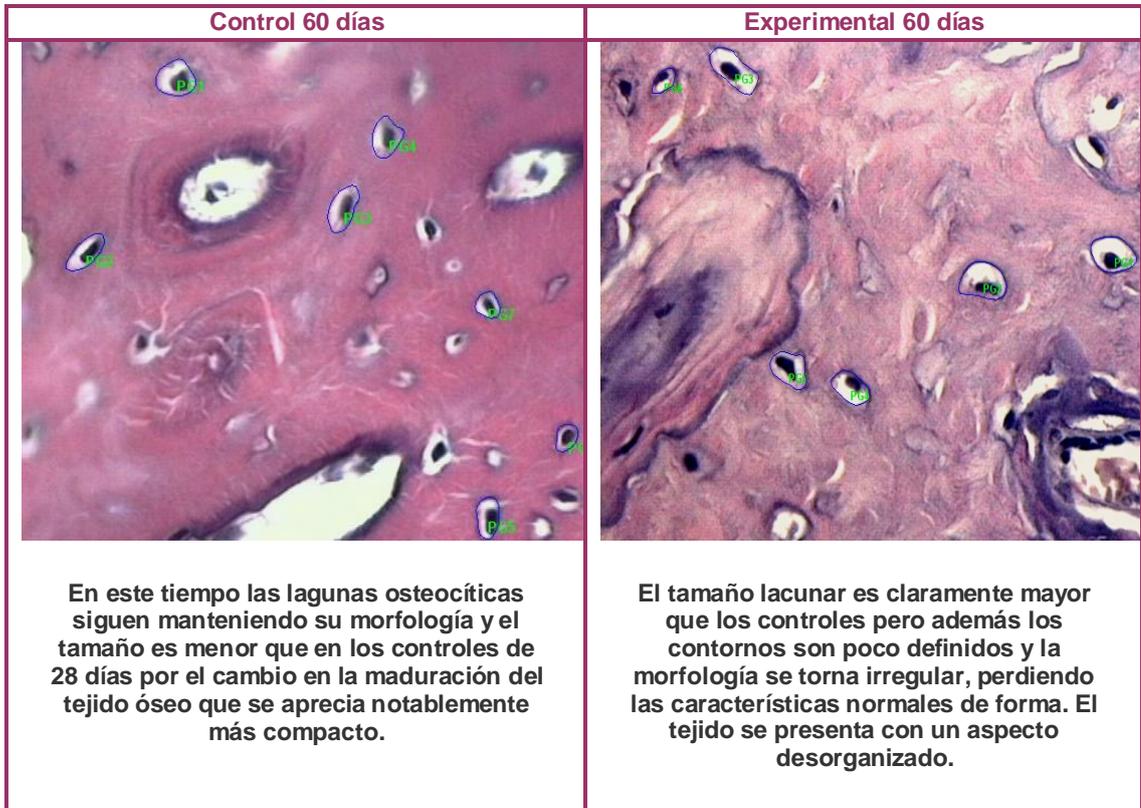


Figura VI. 5. Lagunas medidas en forma semiautomática a los 60 días de ambos grupos. Se aprecian las diferencias del tamaño lacunar, de la morfología y disposición del tejido óseo mostrando un aspecto diferente, desordenado y con líneas de inversión en los experimentales. (Hematoxilina – eosina 40X).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se tomaron los valores de las áreas medias de las lagunas osteocíticas como variable principal de controles y experimentales en los tiempos planteados. Los datos obtenidos de las mediciones se analizaron mediante el **Test de Student**, tomando como significativo el valor de **p<0,05**. (Tabla VI.1)

Los valores mostraron que el tamaño de las lagunas osteocíticas a los 14 días fue, mínimamente, mayor en los controles que en los experimentales, pero esta diferencia hallada no fue significativa.

Las mayores discrepancias se observaron a los 28 y 60 días, encontrándose **significativamente incrementados (*)** los tamaños de las lagunas osteocíticas en los casos experimentales con respecto a los controles. Teniendo en cuenta que los valores en ambos grupos, a medida que avanzamos en el tiempo, disminuyen en el tamaño del área lacunar debido a que el tejido óseo se va tornando más compacto. A los 120 días se muestran valores de áreas entre controles y experimentales sin diferencias significativas, con un leve incremento de tamaño en ambos grupos pero valores muy cercanos entre sí.

Tabla VI.1.

Tiempo	14 días		28 días		60 días		120 días	
	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental	Control	Experimental
Area media (μm^2)	54,0	53,3	48,4	52,6	43,3	46,6	46,0	46,7
Error estándar	1,1	1,2	1,4	1,2	0,9	1,0	1,1	1,0
Máximo	134,4	148,5	224,3	142,9	103,4	140,7	128,8	117,3
Mínimo	16,6	18,7	13,3	16,6	13,2	14,0	11,5	9,5
Laguna medidas (n)	353	329	337	327	329	314	338	328
Valor p=	0,56		0,02 *		0,01 *		0,62	

La distribución de los datos obtenidos se muestra en un diagrama de cajas, en el cual se aprecian los máximos y mínimos, junto con los valores extremos encontrados en las mediciones (Figura VI.6). Nótese que el máximo valor extremo encontrado fue a los 28 días del grupo control, pero como se puede observar en el detalle de todas las mediciones expresadas en los Anexos de este trabajo, corresponde a uno (1) solo de los casos estudiados.

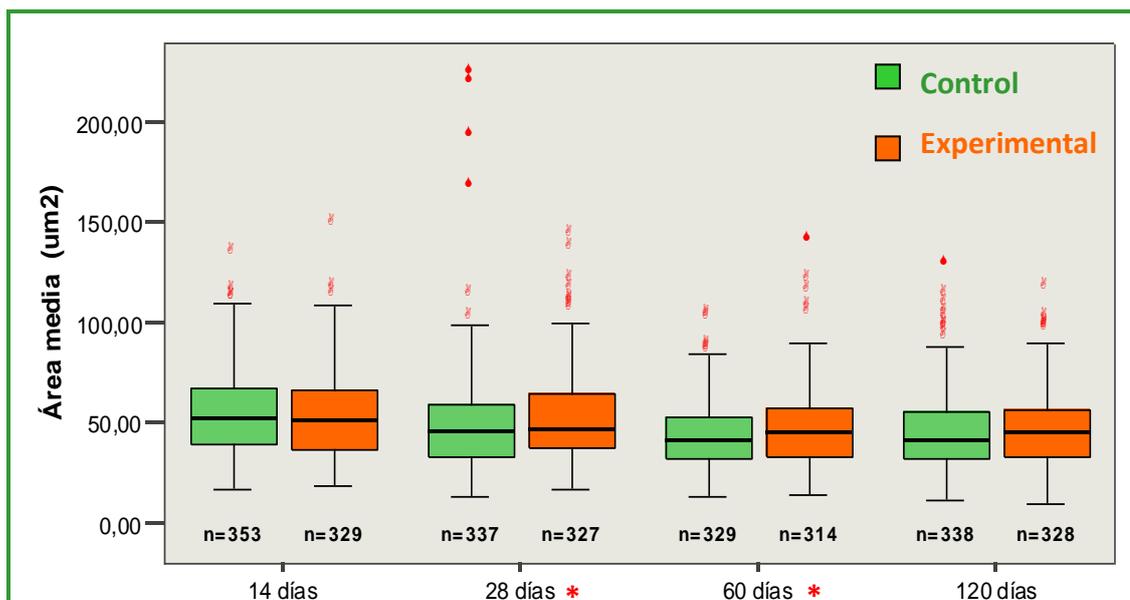


Figura VI.6. Distribución de valores de áreas medias de lagunas osteocíticas.
(*: $p < 0,05$)

La curva evolutiva del tamaño lacunar nos muestra como a los 14 días el tamaño de lagunas no son significativamente diferentes y los controles son de mayor tamaño que los experimentales. La mayor variabilidad encontrada a los 28 días guarda relación inversa con la maduración tisular, es decir, a mayor osificación se ve menor tamaño de áreas de lagunas osteocíticas; esto se aprecia con una inversión de la curva entre los grupos para evidenciar las diferencias significativas encontradas a los 28 y 60 días siendo mayores las experimentales; pero la variación con respecto al tiempo expresa disminución del tamaño del área lacunar en estos dos momentos. A los 120 días el tamaño de los controles aumenta con respecto a los experimentales que no sufren, prácticamente, cambios en este tiempo (Figura VI.7).

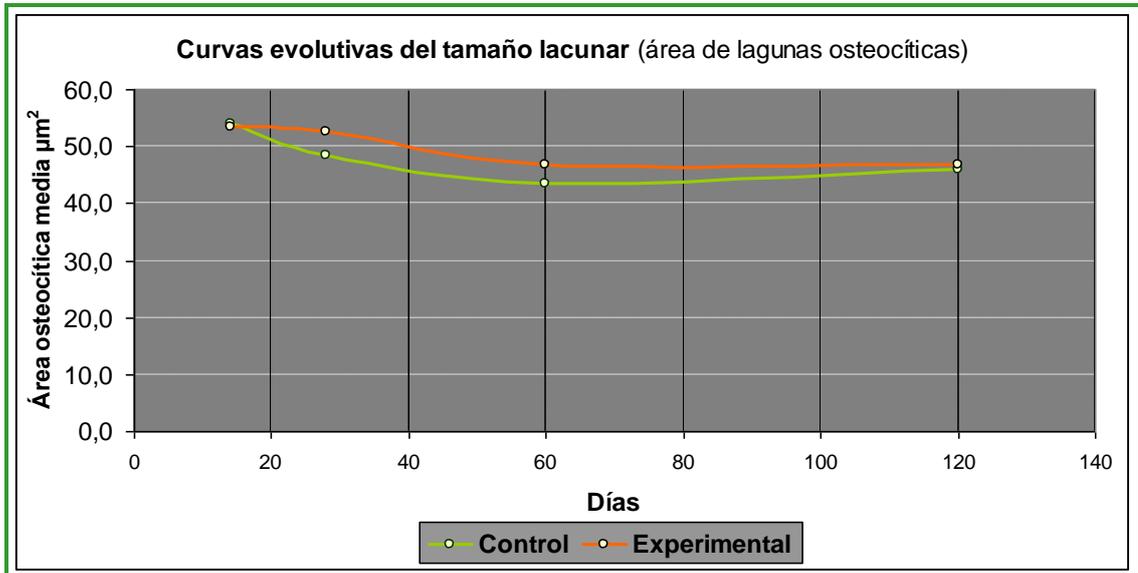


Figura VI. 7. Variación del área de lagunas osteocíticas en función del tiempo.

VI. 1. c) Análisis de superficies óseas

Fueron observadas y medidas las superficies óseas de remodelación de casos controles y experimentales, en todos los tiempos expuestos. Se analizaron los porcentajes de áreas en reposo, neoformación y resorción ósea a **20X**; realizando una marcación con colores negro, verde y rojo, respectivamente (Figura VI.8)

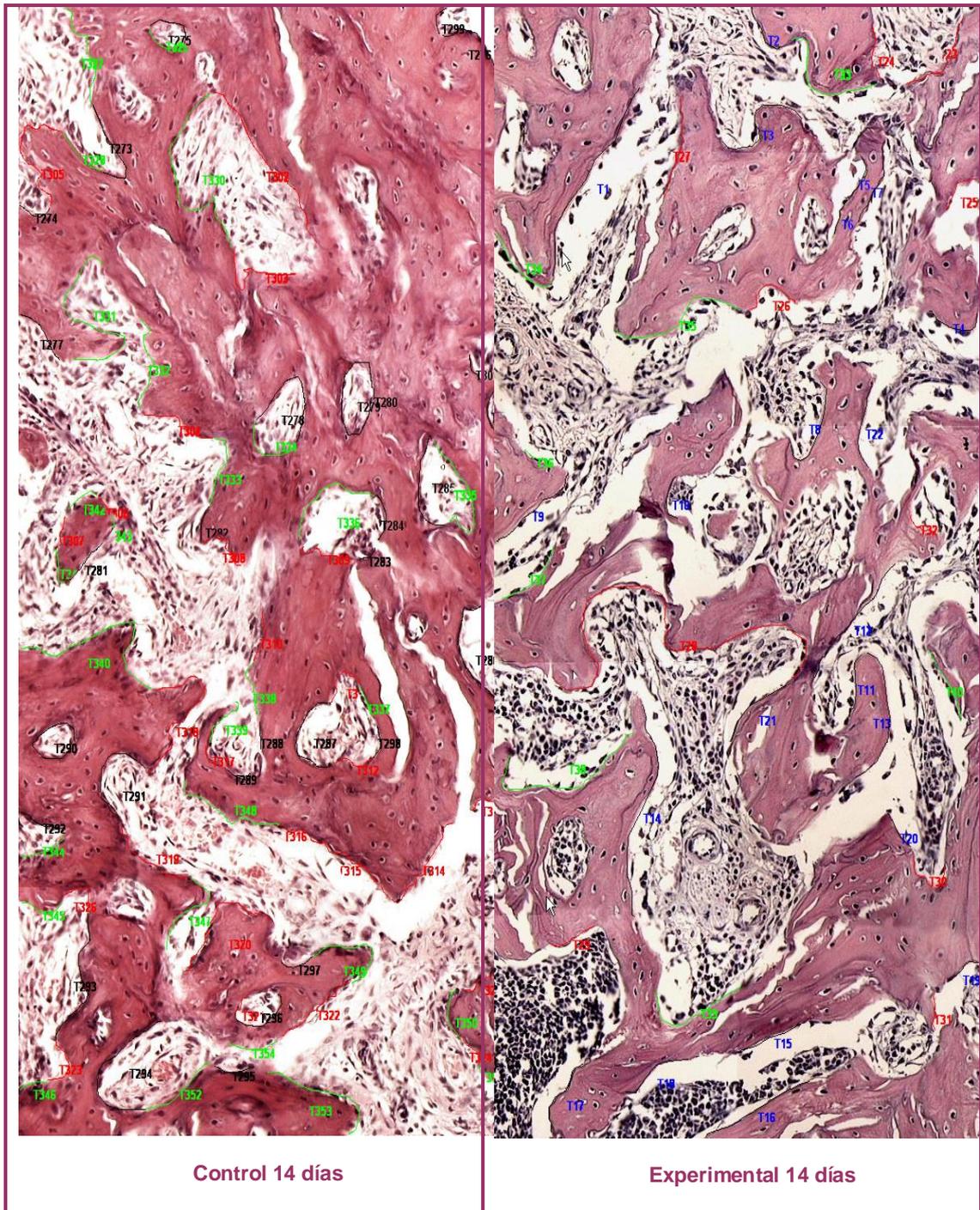


Figura VI.8. Microfotografía que muestra áreas en reposo en negro, neoformación en verde y resorción en rojo. Se observa medula ósea más fibrosa en los controles y mixta, con áreas hematopoyéticas en los experimentales (hematoxilina – eosina 20X).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos de casos controles y experimentales de todos los tiempos fueron expresados en porcentajes y mostraron una distribución y progresión normales entre ambos grupos.

Se realizó un índice de correlación de datos, entre los porcentajes de áreas de remodelación ósea y los tiempos medidos; en el cual los valores cercanos a 1 (uno) indican una fuerte correlación directa (positiva) o inversa (negativa) (Tabla VI.2). Los datos obtenidos tienen relación con lo expresado en la curva de progresión de superficies de remodelado (Figura VI.9.).

Los valores fueron contrastados con la **Prueba de Chi Cuadrado** pero las diferencias entre las superficies de remodelación ósea no fueron estadísticamente significativas.

Tabla VI.2.

Correlaciones entre porcentajes y tiempos de trabajo		Días				Índice de Correlación
		14	28	60	120	
Control	Reposo	44%	53%	56%	60%	0,948
	Resorción	27%	23%	31%	26%	-0,003
	Neoformación	29%	24%	13%	14%	-0,841
Experimental	Reposo	36%	43%	50%	56%	0,937
	Resorción	27%	31%	28%	28%	-0,532
	Neoformación	37%	26%	22%	16%	-0,899

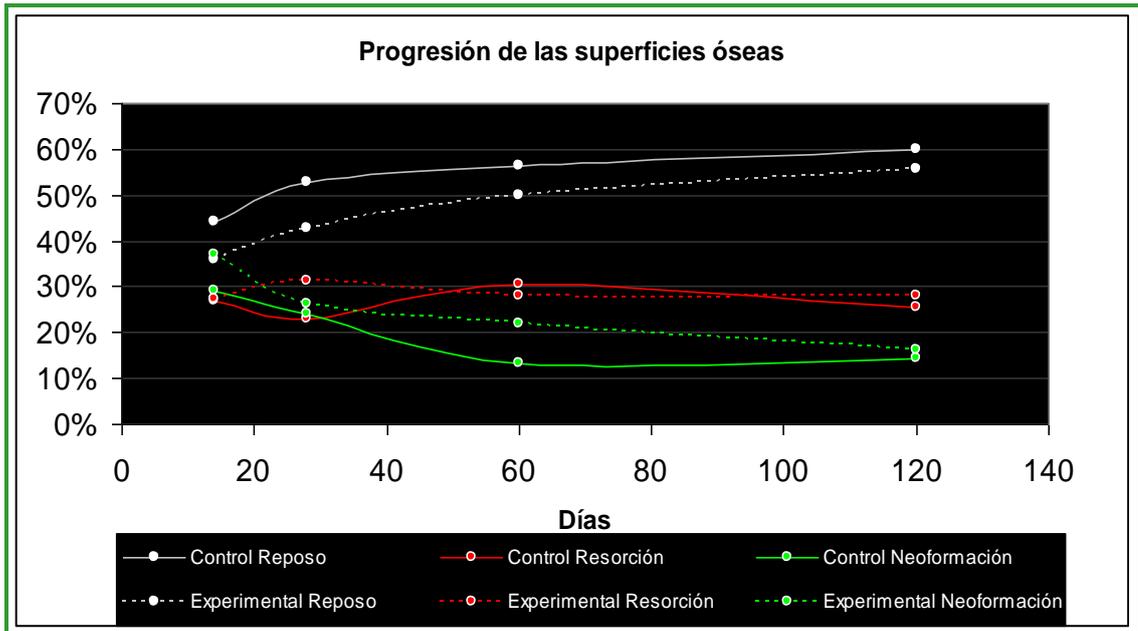


Figura VI. 9. Progresión de las superficies de remodelado en función del tiempo.

Lo que muestra el índice de correlación (Tabla VI.2.) y lo expresado en las curvas de progresión de superficies de remodelado óseo (Figura VI.9.) indican que las superficies de **reposito** son mayores en los controles que en experimentales pero en ambos grupos a medida que avanzamos en el tiempo dichas superficies tienden a ir en aumento.

Las áreas en **resorción** a los 14 días expresan igual porcentaje, para luego aumentar a los 28 días en los experimentales, esto se invierte a los 60 días y el grupo control presenta mayor porcentaje, el cual a los 120 días disminuye y los experimentales muestran mayor resorción pero con valores muy cercanos entre ambos grupos.

Las zonas en **neoformación** muestran una relación inversa con respecto al tiempo, es decir a mayor cantidad de días medidos hay menor neoformación ósea, en los dos grupos estudiados; pero se observa que la misma es mayor en los experimentales con respecto a los controles.

VI. 1. d) Análisis de cantidad de osteocitos y lagunas vacías por mm^2

Se midieron la cantidad de lagunas vacías en relación a la cantidad de osteocitos por mm^2 , en casos controles y experimentales, encontrándose lagunas vacías en todos los tiempos estudiados pero en mayor cantidad a los 14 días de experimentales con respecto a los controles (Figura VI.10.).

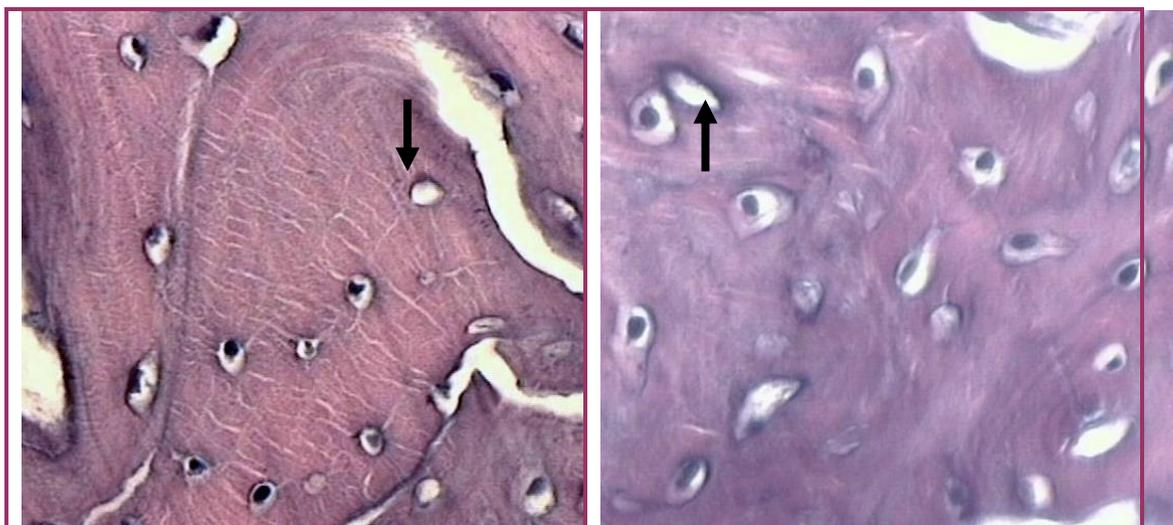


Figura VI.10. La microfotografía muestra lagunas osteocíticas de casos **experimentales**, notándose la presencia de lagunas vacías (flechas) (hematoxilina – eosina 40X).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores encontrados fueron contrastados con el **test no paramétrico de Mann Whitney**, encontrándose diferencias **significativas (*)** en el número de lagunas vacías a los **14 días**. Si bien los demás valores mostraron diferencias en sus cantidades, no fueron significativas en los demás tiempos medidos (Tabla VI.3.). La cantidad de osteocitos por mm² fue mayor en el grupo control que en los experimentales en todos los tiempos estudiados.

Tabla VI.3.

Tiempos estudiados	Cantidad de Osteocitos por mm ²		Contraste estadístico	Test de Mann Whitney Lagunas vacías por mm ²		Significación estadística
	Valor medio			Valor medio		
	Control	Experimental		Control	Experimental	
14 días	1643	1591	14 días	65	113	0,04 *p < 0,05
28 días	1651	1395	28 días	88	107	0,08 No sig.
60 días	1392	1390	60 días	122	101	0,20 No sig.
120 días	1395	1391	120 días	72	80	0,82 No sig.

La distribución de los datos de la cantidad de lagunas vacías por mm^2 y los valores extremos encontrados se expresó en un diagrama de cajas (Figura VI.11). Se puede observar que la mayor cantidad de lagunas vacías y el valor mas extremo encontrados, se presentaron a los 14 días (*) en el grupo experimental. Los demás tiempos analizados mostraron diferencias entre los grupos pero mantuvieron una distribución uniforme de los valores hallados.

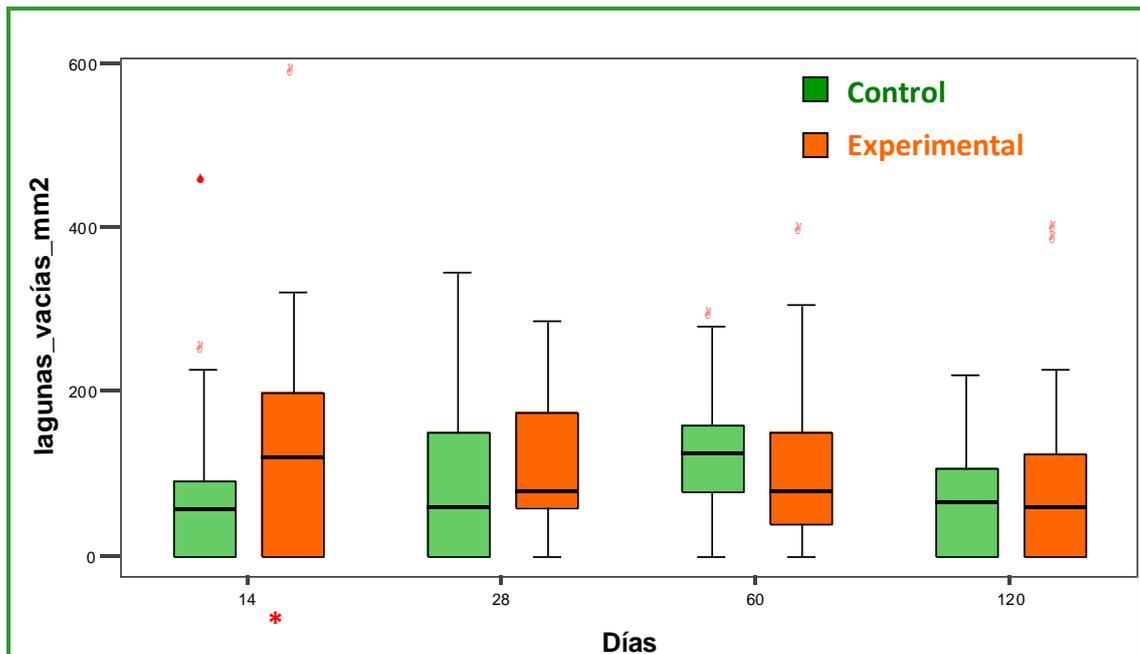


Figura VI.11. Distribución de la cantidad de lagunas vacías por mm^2 encontradas en todos los tiempos medidos. (*: $p < 0,05$)

VI. 2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

VI. 2. a) Análisis descriptivo

Las imágenes muestran la comparación descriptiva de casos controles y experimentales en todos los tiempos estudiados. Se observa una cronología de maduración ósea en los controles hasta mostrar un hueso de características laminares a los 120 días.

En todas las ultramicrofotografías pueden observarse las interconexiones entre los osteocitos a través de sus conductillos calcóforos (Figuras VI.12, 13, 14 y 15).

Controles

- 14 días: la estructura ósea se observa con características normales en su morfología, están presentes las lagunas osteocíticas y sus conductillos calcóforos que albergan las prolongaciones de los osteocitos que los interconectan entre si.
- 28 días: el tejido óseo muestra claramente su trabeculado con una distribución uniforme, se observa con detalles la red que forma el sistema canalículo-lacunar y las prolongaciones celulares, así como también los conductos de Havers presentes en la superficie ósea.
- 60 días: la estructura ósea ha cambiado en este tiempo y toma una disposición más compacta con respecto a los tiempos anteriores, en la superficie externa de las muestras se aprecia la distribución uniforme de lagunas osteocíticas.
- 120 días: el hueso adopta una forma madura, compacta y laminar, con una estructura que se observa de aspecto cristalino, con muy pocos espacios medulares en el tejido.

Experimentales

- 14 días: vemos una estructura ósea menos densa que en los casos controles, pero con una disposición y distribución trabecular normal, se observan lagunas osteocíticas y sus proyecciones canaliculares.
- 28 días: se aprecian en detalle los tamaños lacunares, notoriamente, mas grandes que los controles y con una morfología redondeada. El tejido óseo muestra, en algunas áreas, estructuras de aspecto fibrilar.
- 60 días: en la zona del alveolo, todavía puede apreciarse la estructura fibrilar, antes descrita, con un aspecto fasciculado, colagénico, de apariencia desordenada, con algunas estructuras globulares, que al análisis cualitativo con EDX demostraron no estar calcificadas por completo.
- 120 días: el tejido se ve organizado, completamente, tomando una apariencia similar a los controles en cuanto a su estructura compacta, pero se aprecia con menor densidad.

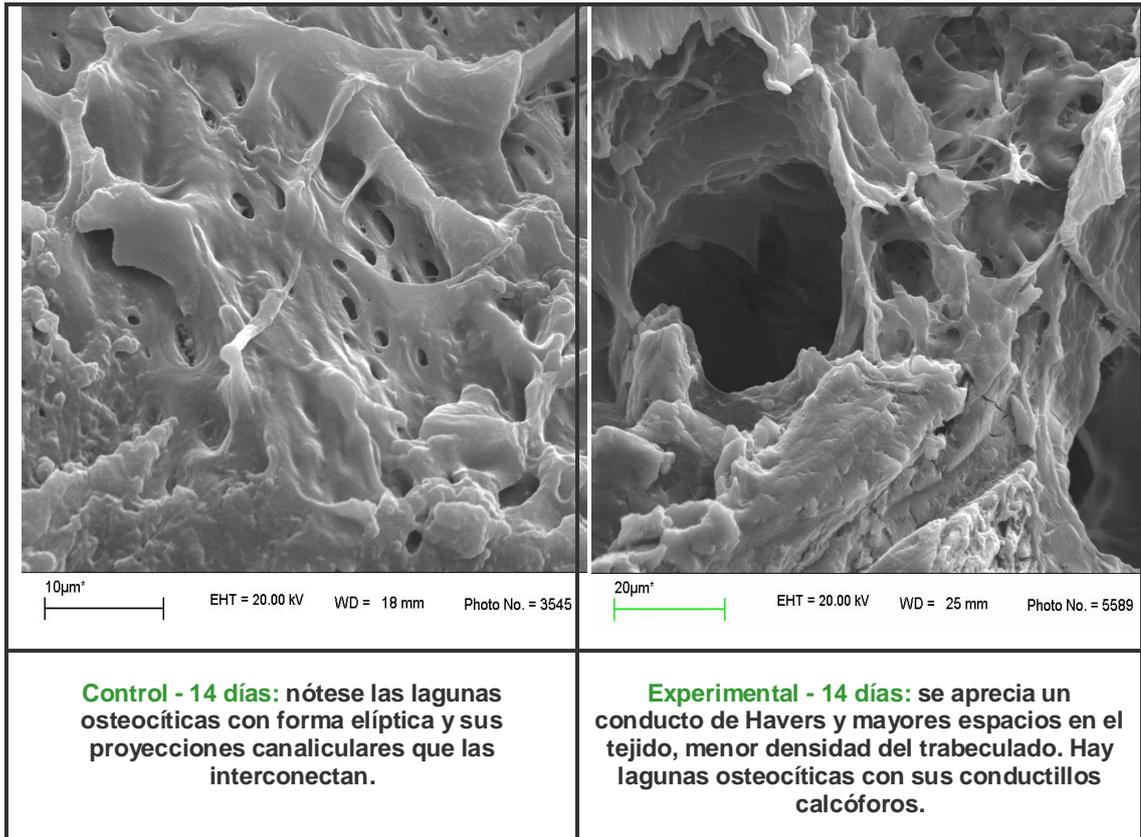


Figura VI.12. Ultramicrofotografías que muestran el contraste de la estructura ósea de grupos control y experimental.

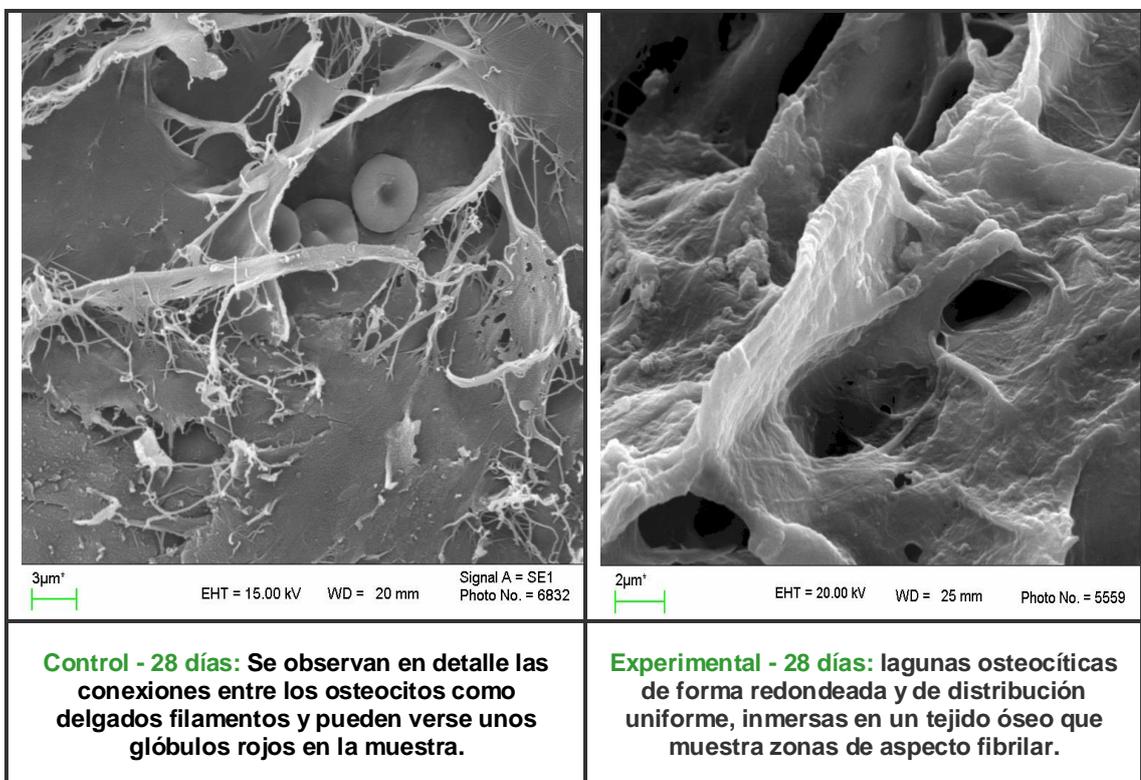


Figura VI.13. Ultramicrofotografías a mayor magnificación que muestran detalles celulares y de morfología lacunar en grupos control y experimental.

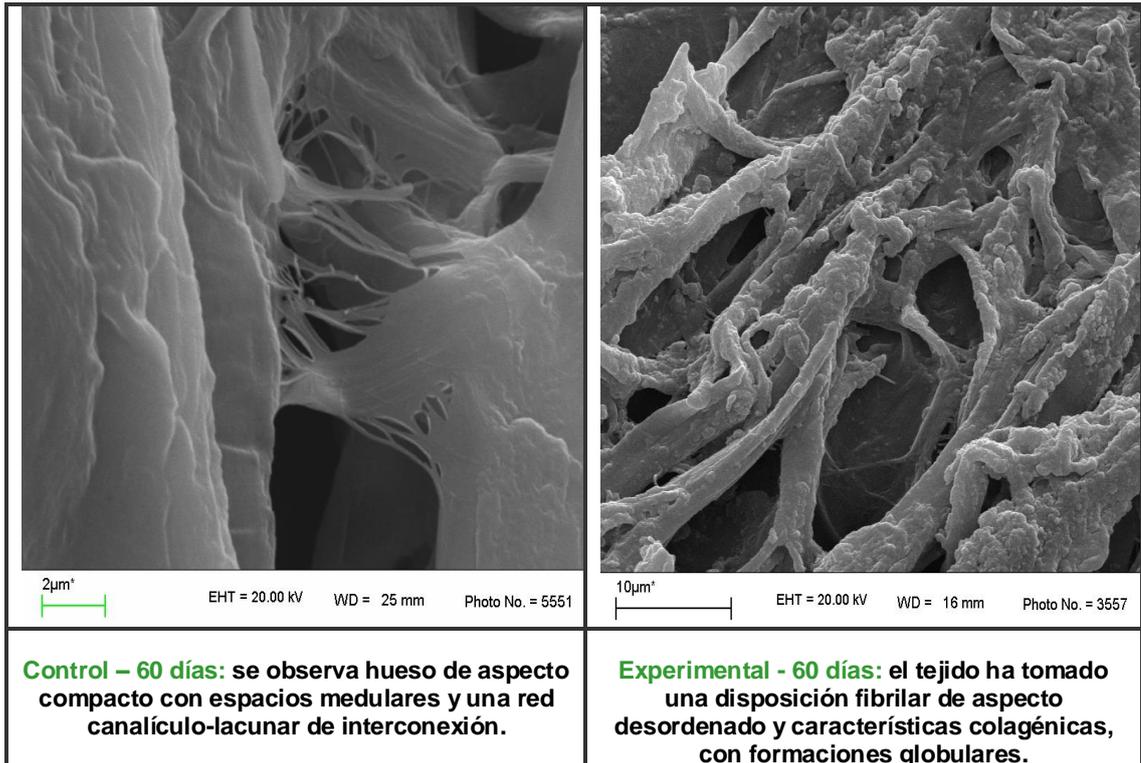


Figura VI.14. Ultramicrofotografía que revela la estructura ósea madura del control y la forma fasciculada que adopta el experimental.

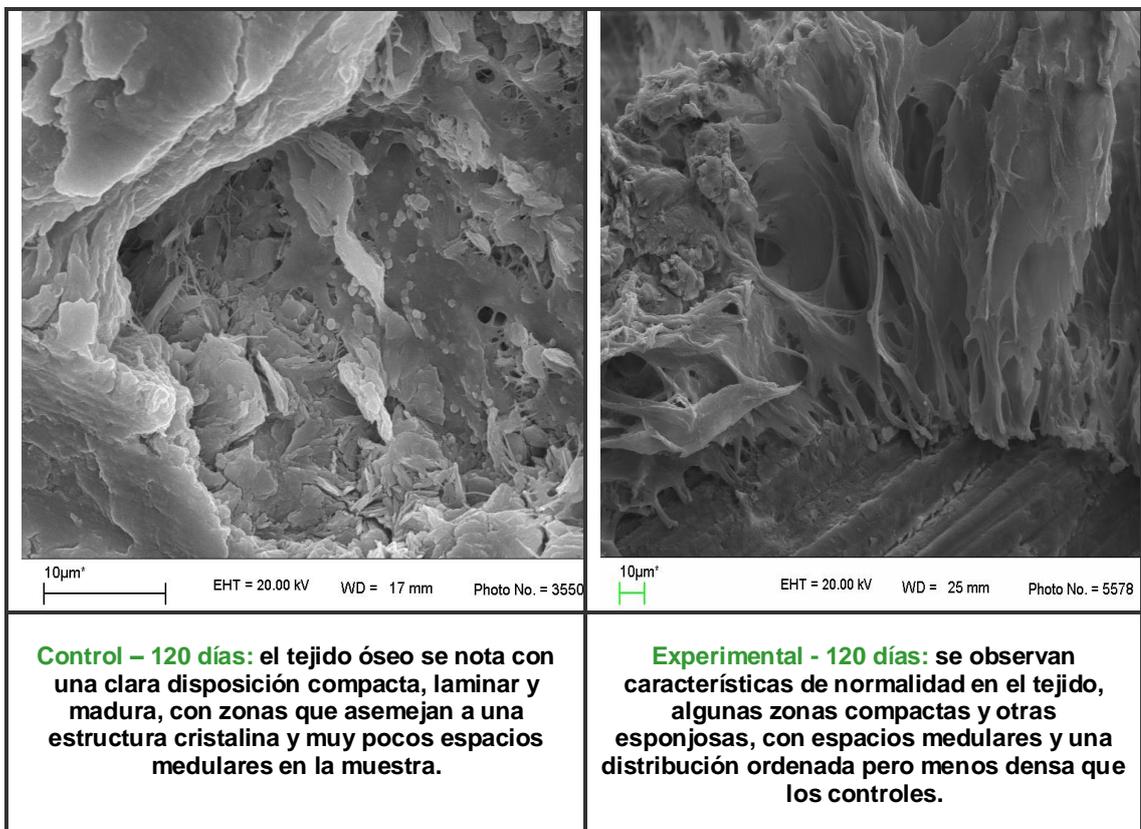


Figura VI.15. Distribución y estructura normal del tejido óseo en el control y características similares de normalidad en el experimental pero con una densidad menor.

VI. 2. b) Análisis cualitativo con EDAX

En el espectro descriptivo y cualitativo de los componentes de la muestra analizada, arrojado por esta sonda, las diferencias encontradas entre los picos de Calcio y Fósforo, son evidentes y notorias entre controles y experimentales en todos los tiempos estudiados mostrando la menor cantidad de estos elementos en el tejido óseo de los casos experimentales.

Este análisis refleja calidad del hueso en cuanto a sus componentes minerales, no cuantifica a cada uno de ellos, pero la altura del pico expresado en el espectro muestra mayor o menor presencia de los mismos.

El Carbono aparece al inicio debido a que es el material con el que se cubren las muestras para este estudio y el Oxígeno presente en los tejidos, es el segundo pico que se observa en los diagramas (Figuras VI. 16, 17, 18 y 19).

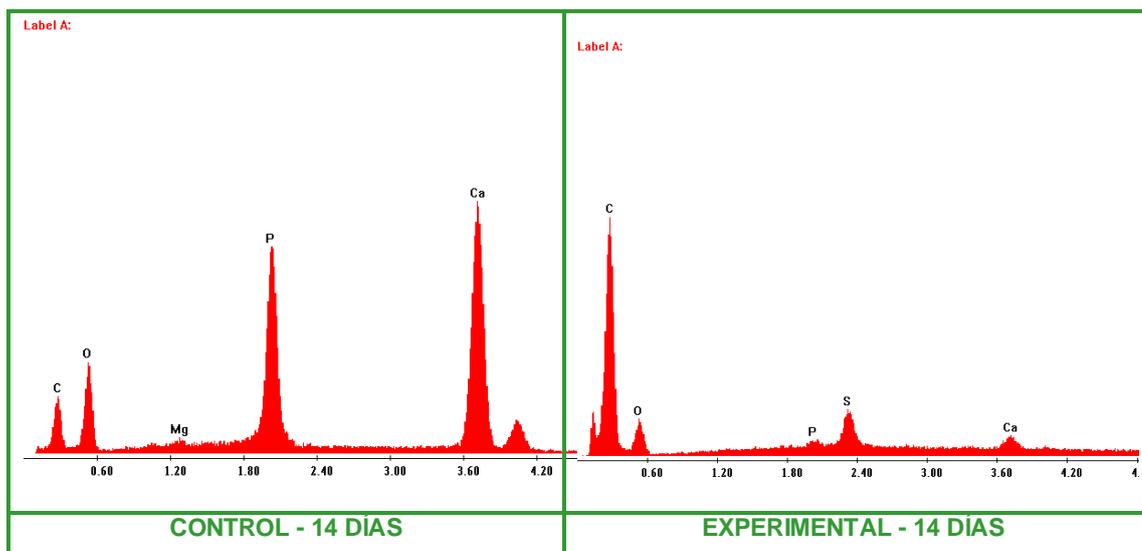


Figura VI.16. Se notan claramente las diferencias de Calcio y Fósforo entre controles y experimentales, también se observa una pequeña cantidad de magnesio (Mg) en los controles y en los experimentales el mayor pico lo muestra el azufre (S).

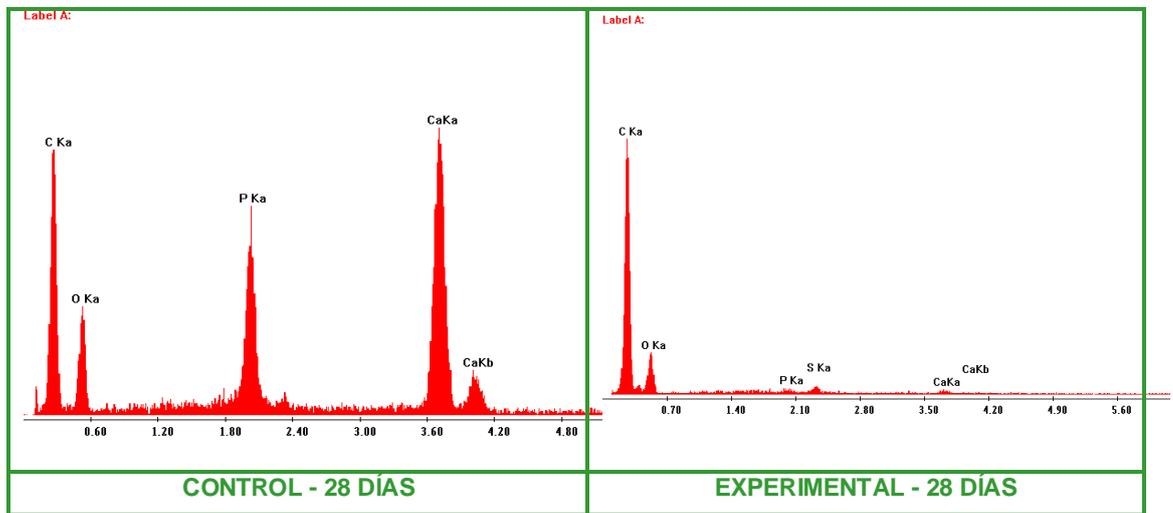


Figura VI.17. Se observan picos importantes de Calcio y de Fósforo en los controles y muy pequeños en los experimentales, evidenciando una calcificación deficiente en este grupo; sigue presente una mínima cantidad de azufre en este último grupo.

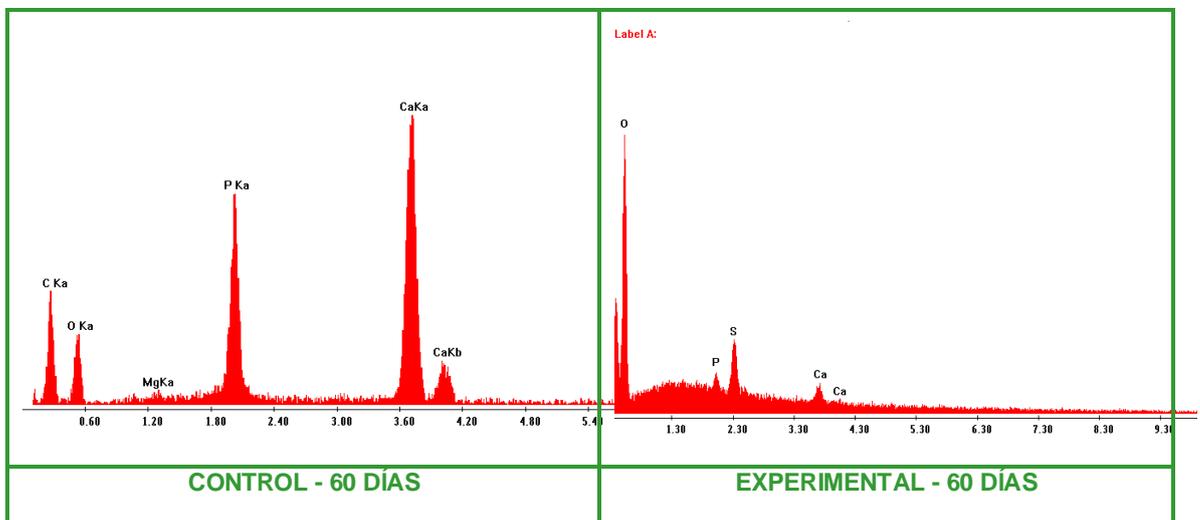


Figura VI.18. Presencia notoria de Calcio y Fósforo en los controles con una mínima cantidad de magnesio (Mg); en los experimentales se aprecian picos de estos elementos y de azufre (S) de mayor tamaño que a los 28 días.

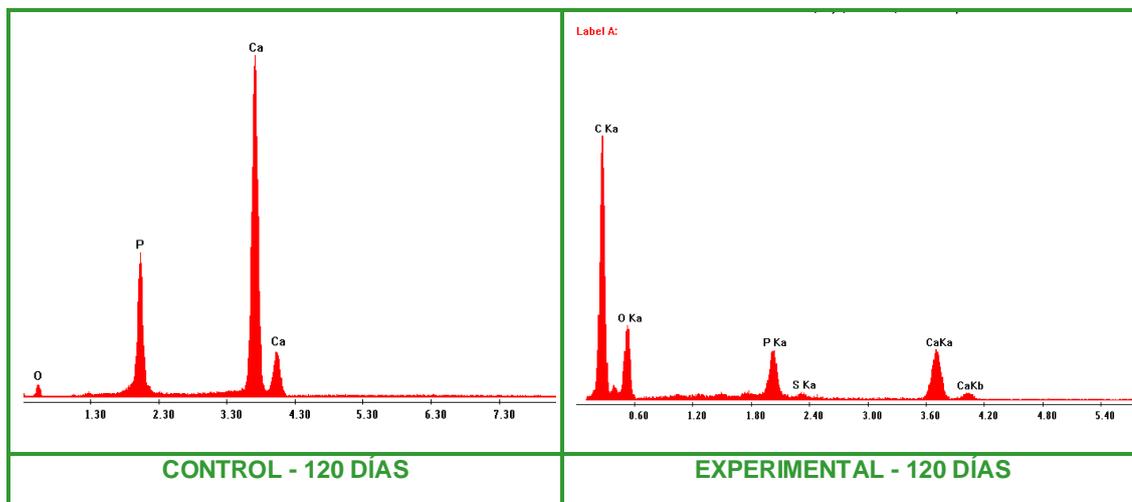


Figura VI.19. En los controles el pico de Calcio es el de mayor tamaño seguido por el Fósforo, en los experimentales los niveles de ambos elementos son mayores que a los 14, 28 y 60 días del mismo grupo, disminuyendo en este tiempo, el nivel de azufre (S).

Estas observaciones nos aportan datos para complementar los resultados encontrados anteriormente tanto en microscopía óptica como en la electrónica. Sin desestimar las limitaciones de la técnica que no nos permite cuantificar los minerales encontrados, sólo interpretar su presencia en mayor o menor cantidad de acuerdo a la altura expresada por el pico arrojado en el espectro de la sonda EDAX.

VII. DISCUSIÓN

VII. DISCUSIÓN

Diferentes estudios a lo largo de la historia describen los efectos nocivos producidos por el exceso en el consumo de sacarosa u otros carbohidratos, en el organismo¹⁵⁸, en distintos tejidos^{8,10} y específicamente en la salud bucal^{105,159}. Efectos que podrían deberse a mecanismos nutricionales o metabólicos.

El presente trabajo muestra, por primera vez, los hallazgos ocurridos en el alveolo post extracción con una dieta que contiene un 43% de sacarosa, evidenciando los efectos negativos producidos sobre la calidad del hueso neoformado; usando técnicas histomorfométricas con microscopía óptica y también mediante análisis descriptivos y cualitativos con microscopía electrónica de barrido. En concordancia con lo manifestado por la bibliografía consultada en relación a esta dieta y el tejido óseo, que se detalla a continuación.

Tjäderhane *et al.* (1994 y 2000)^{116,10} explican que todos los tejidos mineralizados se ven afectados por el consumo de sacarosa; el esmalte en la progresión acelerada de caries, la dentina mostrando menor formación y menor contenido mineral, debido a la afección del metabolismo de los odontoblastos, que altera al complejo dentino-pulpar. Valikangas *et al.* (2001)¹⁵⁷ corrobora lo anterior mediante un estudio *in vitro* que muestra como los altos niveles de glucosa producen una menor regulación del colágeno tipo I en odontoblastos jóvenes, diferenciados y maduros de humanos. Existe una relación directa entre odontoblastos y osteoblastos, debido a que ambas son células diferenciadas, de origen mesenquimal y en fase terminal responsables de la secreción de colágeno tipo I (Linde and Goldberg, 1993)⁴.

Backman (1999)⁴² en su comparación de acidosis metabólica y dieta con alto contenido en sacarosa, en proceso de formación dentinaria en ratas, ratificó la disminución en los contenidos de calcio y minerales totales de la dentina. Esto mismo observaron Huuonen *et al.* (1997)¹²⁴ y Kortelainen and Larmas (1990)¹²⁶ en su trabajo sobre caries y aposición de dentina primaria en terceros molares en formación, con la misma alimentación.

Pekkala y col. (2002)¹²⁷ confirmaron la reducción en la dentinogénesis, pero independientemente de las concentraciones de insulina y de la pérdida mineral en orina que produce la ingestión exagerada de azúcar. Esto se relaciona con el mecanismo propuesto para explicar como se producen los efectos deletéreos de esta dieta sobre el tejido óseo, tema controversial y con pocas certezas hasta el momento. Se ha visto en trabajos de Grimditch *et al.* (1988)¹²⁸, Hara *et al.* (1992)¹²⁹ y Lockwood (1992)¹³⁰ que una dieta rica en sacarosa y en lípidos, según Van Schothorst (2009)¹³¹, produce hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y aumento en los niveles de glucosa en el plasma. Sumado a esto, Holl y Allen (1987)¹¹⁰ publicaron que el consumo de sacarosa incrementa la excreción urinaria de calcio, sodio y zinc; con inhibición renal de la reabsorción de calcio. Además Schothorst *et al.* (2009)¹⁶⁶ expresaron que una dieta con bajo contenido de sacarosa disminuye el índice

glucémico y retarda la resistencia a la insulina, ratificando lo expuesto por los autores nombrados anteriormente.

La hiperinsulinemia es un marcador de la resistencia a la insulina, mecanismo que esta relacionado directamente con la patogénesis de la diabetes tipo II, la cual esta asociada a osteopenia, perdida de la masa y densidad ósea en humanos adultos¹⁶⁷. Según Li K (1990)² los altos niveles de glucosa en sangre encontrados con dietas de alto contenido en sacarosa son similares a los encontrados en la diabetes. Ogata *et al.* (2000)¹⁶⁰, Thomas *et al.* (1996, 1997)^{161,162} y Rosen *et al.* (1998)¹⁶³ explican que tanto insulina como Factor de Crecimiento Insulínico –I (IGF-I) inducen a una respuesta metabólica y de crecimiento que juegan un papel importante en la regulación anabólica del metabolismo óseo.

Está demostrado que la sacarosa provoca alteraciones en el metabolismo mineral, básicamente, en el del calcio, por esto, su influencia en dentina y hueso, que poseen similar composición y mecanismo de formación (Linde, 1989)¹³². Li K *et al.* (1990)², Saffar *et al.* (1981)¹⁰⁶, Salem *et al.* (1992)¹³³, Tessier and Saffar (1992)¹³⁴ y Wohl *et al.* (1998)¹³⁵ expusieron las alteraciones producidas en la morfología del hueso cortical, efectos osteoporóticos, cambios en las propiedades mecánicas, osteopenia y disturbios en la composición mineral del hueso, respectivamente; por menor contenido de calcio y disminución en la absorción de este elemento, reduciendo las propiedades naturales del tejido óseo.

Heaney *et al.* (1989)¹³⁶ publicó en su estudio, sobre efectos de la comida y la absorción de calcio, que en el modelo de experimentación en animales, la absorción del mismo fue mayor que en el modelo de humanos, y esto lo atribuyó a que el balanceado recibido por sus animales no contenía sacarosa, componente común en la dieta de humanos.

Tjäderhane y Larmas (1998)⁹ vieron una significativa disminución de resistencia a la fractura en tibias de ratas, y lo atribuyeron a concentraciones, significativamente menores, de calcio y fósforo; medidos en el mismo estudio y notaron que los efectos fueron mayores en hembras que en machos. Huuonen y Larmas (1997)¹²⁵ observaron una reducción significativa de los niveles minerales totales de la dentina durante su formación, pero específicamente de las cantidades de calcio y fósforo, en un estudio microanalítico de ratas alimentadas con altos contenidos de sacarosa.

Acordando con los autores anteriormente nombrados, nosotros observamos en Microscopía Electrónica con EDS, la disminución en los contenidos de calcio y fósforo de los casos experimentales, mostrando la deficiencia de estos minerales en todos los tiempos medidos, sin llegar a alcanzar los niveles de los casos controles, ni a los 120 días de nuestro estudio. Pero no encontramos diferencias entre los sexos, en la microscopía óptica ni electrónica, al igual que Nusair y Goussous (2006)¹³⁷, que cuantificaron la cicatrización alveolar en ratas en ambos sexos.

La cicatrización alveolar provee un modelo sustentable para el estudio de la formación ósea en ratas, y puede considerarse un indicador sensible de la formación ósea en condiciones normales, como se muestra en trabajos de Guglielmotti y Cabrini (1985)⁹⁷, Hsieh (1994)¹⁴⁰ y Devlin (2000)¹⁴¹; o bien del

daño óseo bajo diferentes condiciones experimentales como lo expresado en estudios de Guglielmotti *et al.* (1986,1987)^{138,139} sobre radiaciones y formación ósea, Ubios *et al* (1991)⁴³ y la influencia de la calcitonina en la reparación alveolar y Gorustovich (2004, 2008)^{142,143} sobre histomorfometría ósea alveolar con dieta deficiente en boro.

Algunos análisis histológicos sugieren que la cicatrización alveolar en ratas termina al final de la tercera semana (Santos, 1990)¹⁴⁵, análisis cuantitativos señalan un incremento significativo de nuevo hueso a la sexta semana (Lamano Carvalho, 1997)¹⁴⁶, o a la octava (Elsubeihi, 2004)¹⁴⁷. Calixto *et al.* (2007)¹⁴⁸ señala que a los 21 días el alveolo esta ocupado casi todo con una delgada red de trabeculado óseo, al igual que a los 63 días post extracción, pero con hueso maduro. Sin embargo, Guglielmotti y Cabrini (1985)¹⁴⁹ reportaron los hallazgos histológicos de máxima formación de hueso reticular y máximo volumen alveolar a los 14 días post extracción, formación de hueso joven a los 30 días y un relleno alveolar de hueso laminar maduro a los 60 días; cuantificando la respuesta alveolar con un analizador de imágenes. Ninguno de estos trabajos muestra un seguimiento de más de 90 días en relación a la formación y maduración del tejido óseo.

No hay tampoco estudios publicados que muestren lo que ocurre en los maxilares y particularmente en la cicatrización del alveolo dentario con una dieta rica en sacarosa. En nuestro trabajo observamos que el alveolo post extracción se presenta, a los 14 días, con un trabeculado óseo que lo ocupa casi por completo, en controles y experimentales, siendo en estos últimos, notablemente menos denso. En los tiempos medidos posteriores (28, 60 y 120 días), el tejido fue madurando hasta mostrar un hueso laminar y bien conformado a los 120 días; no así, en los experimentales que siguió observándose con una densidad menor hasta los 60 días y a los 120 días el tejido mostró una esclerosis.

El tamaño de las lagunas osteocíticas puede incrementarse por diversos factores, Ferreyra y col. (2000)²⁹ mostraron el agrandamiento perilacunar del osteocito asociado a la aplicación de fuerzas ortodóncicas. Bozal *et al* (2001 y 2002)^{28,30} publicaron la respuesta del osteocito a la influencia de estímulos mecánicos y factores inflamatorios, que determinan un agrandamiento de su laguna, por resorción osteocítica; pero sin cambios en el volumen celular. Fue Baud (1962)¹⁵⁰ el primero que describió, por microscopía electrónica, rugosidades en las paredes de las lagunas osteocíticas, sugiriendo que el osteocito podría remover la matriz perilacunar. Luego Belanger (1969)¹⁵¹, tras una revisión de la literatura, publicó que el osteocito podía reabsorber su laguna y se refirió a este proceso como osteolisis osteocítica. En nuestro estudio, en el grupo experimental, las lagunas mostraron formas y figuras irregulares además de alteraciones en su tamaño.

Krishnan y Davidovitch (2006)¹⁵² acordando con los anteriores autores, describieron en su estudio, sobre la capacidad del osteocito de cambiar su microentorno en respuesta a la carga mecánica. De esta manera el cambio en el tamaño de las lagunas osteocíticas está en relación con la rigidez de la matriz ósea, en condiciones normales dentro de un rango fisiológico de tamaño

y densidad para el control mecánico de las fuerzas ejercidas sobre el tejido óseo (Yeni *et al.* 2001)¹⁶⁵.

Se ha descrito en estados patológicos, como la inducción de diabetes en ratas por Villarinos y col. (2006)¹⁵³, que muestran como respuesta del osteocito una alteración en la forma pero no del tamaño, acompañado de una significativa reducción en la densidad lacunar. También Tazawa (2004)¹⁵⁴ utiliza el término osteolisis osteocítica, en la descripción de su trabajo, sobre aumento de tamaño de lagunas en ratas que fueron tratadas con hormona paratiroidea en forma continua.

Recientemente Quing y Bonewald (2009)¹⁵⁵ publicaron que el osteocito tiene acceso a un área sumamente grande de su laguna y el retiro de sólo unos Ångström (Å) de mineral por osteocito, tendría efectos significativos sobre la circulación y los niveles iónicos sistémicos. Tetia y Zalloneb (2008)¹⁵⁶ en su revisión de la literatura sobre osteolisis osteocítica, infieren que podría relacionarse con la homeostasis mineral del hueso.

En concordancia con lo expuesto, nuestro estudio mostró diferencias significativas en la histomorfometría de lagunas osteocíticas, evidenciando un mayor tamaño de área media las del grupo experimental con respecto a los controles, a los 28 y 60 días. Esto podría relacionarse con la regulación de la remodelación ósea, con cambios en el microentorno osteocítico en respuesta a una dieta que altera el metabolismo mineral y la forma de adaptación osteocítica para mantener el control de la homeostasis del tejido óseo.

Por el contrario Sissons *et al.* (1990)¹⁶⁴ expone un modelo experimental en ratas con dieta deficiente en calcio y sus resultados en microscopía óptica y electrónica de barrido muestran una resorción ósea como resultado de una dieta baja en calcio que no va acompañada de resorción osteocítica.

Finalmente este estudio aporta datos descriptivos, cuantitativos y cualitativos importantes, sobre lo que ocurre a nivel óseo en el maxilar inferior y específicamente en el alveolo post extracción de ratas. Serán necesarios estudios posteriores para analizar y entender cuales son los mecanismos moleculares y celulares que ocurren en esta localización anatómica.

VIII. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES:

El presente trabajo realizado en ratas Wistar, es el primero en describir la afectación de la cicatrización en el alveolo posterior a la extracción de primeros molares del maxilar inferior, por una dieta rica en sacarosa y los hallazgos encontrados sugieren:

- Que induce modificaciones negativas que se ven reflejadas en la microestructura del tejido óseo alveolar, observadas con microscopía óptica.
- Una alteración de la mineralización y un déficit en la calidad del tejido óseo neoformado en esta localización anatómica.
- Una disminución de las cantidades de calcio y fósforo del hueso formado en el alveolo, en los estudios realizados con sonda EDAX
- Histomorfométricamente las lagunas osteocíticas son de mayor tamaño que los controles a los 28 y 60 días, por probable mecanismo de resorción osteocítica.
- Una reducción del tamaño lacunar a los 120 días post extracción sin evidenciarse diferencias con los controles en el mismo tiempo.
- No se observaron discrepancias entre los porcentajes de las superficies óseas en reposo, neoformación y resorción en ninguno de los tiempos estudiados.
- Si bien las descripciones y observaciones con Microscopía Electrónica de Barrido y EDAX son estrictamente cualitativas, coinciden con lo inferido anteriormente y abren nuevos horizontes para la realización de estudios posteriores que se apliquen a otras muestras biológicas.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Ericsson Y, Angmar-Mansson B, Flores M. Urinary mineral ion loss after sugar ingestion. *Bone Miner* 1990;9:233-237.
2. Li K-C, Zernicke RF, Barnard RJ, Li AF-Y. Effects of a high fat-sucrose diet on cortical bone morphology and biomechanics. *Calcif Tissue Int* 1990;47:308-313.
3. Tjäderhane L, Bäckman T, Larmas M. Effects of sucrose and xylitol on dentin formation and caries in rat molars. *Eur J Oral Sci* 1995;103:166-171.
4. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4:679-728.
5. Tjäderhane L. The effects of high sucrose diet on dentin minerals measured by electron probe microanalyzer (EPMA) in growing rat molars. Quintessence Publishing. Tokyo, 1996:293-296.
6. Hietala E, Larmas M. Evidence that High-sucrose diet reduces dentin formation and disturbs mineralization in rat molars. *J Dent Res* 1995;74(12):1899-1903.
7. Salem GJ, Zernicke RF, Barnard RJ. Diet related changes in mechanical properties of rat vertebrae. *Am J Physiol* 1992;262:R318-R321.
8. Zernicke RF, Salem GJ, Barnard RJ, Schramm E. Long-term, high-fat-sucrose diet alters rat femoral neck and vertebral morphology, bone mineral content, and mechanical properties. *Bone* 1995;16:25-31.
9. Tjäderhane L, Larmas M. A high sucrose diet decreases the mechanical strength of bone in growing rats. *J Nutr* 1998;128:1807-1810.
10. Tjäderhane L, Hietala EL, Huuonen S, Larmas M. The effect of high sucrose diet on mineralized tissues. In: Pandalai SG (ed). *Recent research development in nutrition*. Research Signpost 2000;3:1-26.
11. Aldecoa Anitua E, Ortiz Andía I. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea: plasma rico en factores de crecimiento (P.R.G.F). Ed. Vitoria. Madrid, 2000.
12. Bostrom MP, Yang X, Koutra I. Biologics in bone healing. *Curr Op Orthop* 2000;11:403-412.
13. Hollinger JO, Buck DC, Bruder SP. Biology of bone healing: Its impact on clinical therapy. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (ed). *Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Quintessence Publishing Co, Inc. Illinois, 1999:17-44.
14. Aarden EM, Burger EH, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem* 1994;55:287-99.
15. Burger EH, Klein-Nulend J. Mechanotransduction in bone - role of the lacunocanalicular network. *FASEB* 1999;13:S101-S12.
16. Ross PF, Christiano AM. Nothing but skin and bone. *J Clin Invest* 2006;116:1140-1149.

17. Gomez de Ferraris M, Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. 2° Ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid 2002:339-384.
18. Knothe Tate ML, Adamson JR, Tami AE, Bauer TW. The osteocyte. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:1-8.
19. Yellowley CE, Li Z, Zhou Z, Jacobs CR, Donahue HJ. Functional gap junctions between osteocytic and osteoblastic cells. *J Bone Miner Res* 2000;15:209-217.
20. Bellido T, Plotkin L. Prevención de la apoptosis de osteocitos y osteoblastos con bifosfonatos: vía de sobrevivencia mediada por hemicanales de cx43 y la activación de quinasas reguladas por señales extracelulares, independientemente de la transcripción génica. *Actualizaciones en Osteología* 2006;2(3):131-136.
21. Knothe Tate ML. Whither flows the fluid in bone? An osteocyte's perspective. *J Biomech* 2003;36:1409-1424.
22. Hirose S, Li M, Kojima T, Freitas PH, Ubaidus S, Oda K, Saito C, Amizuka N. A histological assessment on the distribution of the osteocytic lacunar canalicular system using silver staining. *J of Bone and Min Metab* 2007;25(6).
23. Iqbal J, Zaidi M. Molecular regulation of mechanotransduction. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328:751-755.
24. Ehrlich PJ, Lanyon LE. Mechanical strain and bone cell function: a review. *Osteoporos Int* 2002;13:688-700.
25. Turner CH, Robling AG. Mechanical loading and bone formation. *Bone Osteovision* 2004;1(9):15-23.
26. Duncan RL, Turner CH. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. *Calcif Tissue Int* 1995;57:344-358.
27. Bonucci E. The osteocyte: the underestimated conductor of the bone Orchestra. Review. *Rend Fis Acc Lincei* 2009;20:237-254.
28. Bozal CB, Fiol JA, Ubios AM. Early osteocyte response to bone resorption stimuli. *Acta Odont Latinoamer* 2001;14(1-2):24-29.
29. Ferreya RS, Ubios M, Gendelman H, Cabrini R. Enlargement of periosteocytic lacunae associated to mechanical forces. *Acta Odont Latinoamer* 2000;13:31-38.
30. Bozal CB, Fiol JA, Ubios AM. Osteocytic lacunae enlarge immediately in response to a stimulus. *J Dent Res* 2002;81:B-9.
31. Bozal CB. Biología del osteocito. *Actualiz Osteología*. 2006;2(1):19-21.
32. Minkin C, Marinho VC. Role of the osteoclast at the bone implant interface. *Adv Dent Res* 1999;13:49-56.
33. Termine JD. Bone matrix proteins and mineralization process. *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorders of Mineral Metabolism*. 2° ed. Favus MJ. Ed. Raven Press. Nueva York, 1993:21-24.
34. Boskey A, Paschalis E. Matrix proteins and biomineralización. En: Davies JE (ed). *Bone engineering*. Toronto, 2000:45-62.

35. Karsenty G. The genetic transformation of bone biology. *Genes and Development* 1999;13:3037-3051.
36. Ayukawa Y, Takeshita F, Inoue T, Yoshinari M, Shimono M, Suetsugu T, Tanaka T. An immunoelectron microscopic localization of noncollagenous bone proteins (osteocalcin and osteopontin) at the bone-titanium interface of rat tibiae. *J Biomed Mat Res* 1998;41:111-119.
37. Gotcher JE, Gerard DA. Fracture repair in the facial skeleton. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 1998;10(4):519-530.
38. Recker RR: Embryology, anatomy, and microstructure of bone, in Coe FL, Favus MJ (eds): *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. Raven. New York, 1992:219–240.
39. Pékkala E. Sucrose load, calcium-deficiency and dental caries on molars of growing rats. *Acta Univ Oul* 2003;D729.
40. Eriksen E, Axelrod D, Melsen F (eds). *Bone Histomorphometry*. Raven Press. New York, 1994.
41. Roberts W, Garetto LP, Bresniak N. Fisiología y metabolismo óseo. En: Misch C (ed). *Implantología contemporánea*. Mosby. Madrid, 1995:324-350.
42. Bäckman T. Acid-base balance, dentinogenesis and dental caries: experimental studies in rats. *Acta Univ Oul Med*. 1990 D545.
43. Ubios AM, Jares Furno G, Guglielmotti MB. Effect of calcitonin on alveolar wound healing. *J Oral Pathol Med* 1991;20(7):322-324.
44. Gomez Alonso C, Rodriguez García M, Cannata J. *Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral*. Jarpyo Editores S.A. Madrid, 2004.
45. Lane JM, Muschler GF, Kurz LT et al. Spinal fusion. In: Rothman RH, Simeone FA (eds): *The Spine*. WB Saunders. Philadelphia, 1992:1739–1755.
46. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988;242: 1528–1534.
47. Urist MR: Bone transplants and implants. In: Urist MR (ed). *Fundamentals and Clinical Bone Physiology*. JB Lippincott. Philadelphia, 1980:331–368.
48. Urist MR, Mikulski A, Lietze A: Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:1828–1832.
49. Yates KE, Troulis MJ, Kaban LB, Glowacki J. IGF-1, TGF- β , and BMP-4 are expressed during distraction osteogenesis of the pig mandible. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002;31:173-178.
50. Wozney JM. Biology and clinical applications of rhBMP-2. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. (eds) *Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Quintessence. Illinois, 1999:103-123.
51. Barnes G, Kostenuik P, Gerstenfeld L, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Min Res* 1999;14(11):1805-1815.

52. Lorz Ulloa P, Trujillo Robles E. Bone morphogenetic proteins in osteointegration: a systematic review Universidad de Costa Rica. Publicación Científica Facultad de Odontología (UCR) N°7 San José, 2005.
53. Ôzkaynak E, Rueguer DC, Drier EA et al. OP-1 cDNA encode and osteogenetic protein in the TGF- β family. EMBO J 1990;9:20-25.
54. Celeste AJ, Song JJ, Cox K, Rosen V, Wozney JM. Bone morphogenetic protein-9, a new member of the TGF- β superfamily. J Bone Miner Res 1994;9:S137.
55. Prolo DJ: Biology of bone fusion. Clin Neurosurg 1990;36:135–146.
56. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocr Rev 2000;21:115-137.
57. Camozzi V, Tossi A, Simoni E, Pagani F, Francucci CM, Moro L. Role of biochemical markers of bone remodelling in clinical practices. J Endocrinol Invest 2007;30:13-17.
58. Robling AG, Castillo AB, Turner CH. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. Annu Rev Biomed Eng. 2006;8:455-498.
59. McCormick RK. Osteoporosis: intergrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. Altern Med Rev 2007;12: 113-145.
60. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. Arthritis Res Ther 2007;9:S1.
61. Iain H, Kalfas MD. Principles of bone healing. Neurosurg Focus 2001;10(4):1-4.
62. Mundy GR. Bone-Resorbing Cells. In: Favus MJ (ed). Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 3st. ed. Lippincott- Raven publishers. New York, 1996.
63. Davies J, Warwick J, Tatty N, Philip R, Helfrich M, Horton M. The osteoclast functional antigen, implicated in the regulation of bone resorption, is biochemically related to vitronectin receptor. J Cell Biol 1989;109:1817-1826.
64. Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. In: Favus MJ, Ed. Primer on Metabolic Bone diseases and disorders of mineral metabolism. Raven Press. New York, 1993:255-279.
65. Oliveri B, Wittich A, Nadal M, Zeni SN. Telopéptido carboxilo terminal del colágeno tipo I (=CTX) sérico y compromiso óseo en la insuficiencia renal crónica. Medicina (Buenos Aires) 2005; 65: 321-8.
66. Van Bezooijen RL, Roelen BA, Visser A, Van Der Wee- Pals L, de Wilt E, Karperien M et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. J Exp Med 2004;199:805-814.
67. Dijke P, Krause C, De Gorter D, Clemens WG, Löwik M, Van Bezooijen R. Osteocyte-Derived Sclerostin Inhibits Bone Formation: Its Role in Bone

Morphogenetic Protein and Wnt Signaling. *J of Bone and Joint Surg* 2008;90:31-35.

68. Eriksen EF, Kassem M. Triangle. The changing architecture of the skeleton, U. Bretz, V. Derungs, M. Hill (Eds), Buchdruckerei Gasser & Cie AG, Basel, 1992:31-45.

69. Dempser D, W Zhou H. New concept in bone remodeling. In: Seibel M, Robins S, Bilezikian J. (Eds), *Dynamics of bone and cartilage metabolism*. Academic Press. California 2006:375-386.

70. Jee WSS, Frost H M. The changing architecture of the skeleton, U. Bretz, V. Derungs, M. Hill (Eds), Buchdruckerei Gasser & Cie AG, Basel. 1992; 31-77.

71. Green M, Kleeman. Role of bone regulation of systemic acid-base balance. *Kidney Int* 1991; 39(1):9-26.

72. Junqueira LC, Carneiro J. *Histología Básica*. Ed. Salvat. Barcelona, 1987: 145-154.

73. Montecinos B, Zeni S. Biochemical markers of bone remodelling. Clinical utility. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2009;43(2):177-193.

74. Allison R. Bone remodelling. *Physiology by Alliraph* 2007. Disponible en: <http://alliraph.wordpress.com//bone-remodelling/>.

75. Marx R. Platelet-Rich Plasma (PRP): What is PRP and What is Not PRP? *Implant Dent* 2001;10(4):225-228.

76. Hansen-Algenstaedt N, Joscheck C, Wolfram L, Schaefer C, Muller I, Bottcher A, Deuretzbacher G, Wiesner L, Leuning M, Algenstaedt P, Ruther W. Sequential changes in vessel formation and micro-vascular during bone repair. *Acta Orthop* 2006;77(3):429-439.

77. Marx R, Garg A. Bone structure, metabolism, and physiology: Its impact on dental implantology. *Implant Dent* 1998;7(4):267-276.

78. Parfitt AM. The mechanism of coupling: A role for the vasculature. *Bone* 2000;6(4):319-323.

79. Felzani R. Cicatrización de los tejidos con interés en cirugía bucal: revisión de la literatura. *Acta Odontol Venez* 2005;43(3):310-318.

80. Lopez J. *Cirugía Oral*. Interamericana, McGraw-Hill. Madrid, 1992 .

81. Nishimura I, Damiani PJ, Atwood DA. Resorption of Residual Ridges (RRR) in rats. *J Dent Res* 1987;66(12):1753-1757.

82. Huebsch RF, Hansen LS. A histopathologic study of extraction wounds in dogs. *Oral Surg Oral Med Pathol* 1969;282:187-196.

83. Otha Y. Comparative changes in microvasculature and bone during healing of implant and extraction sites. *J Oral Implantol* 1993;193:184-198.

84. Bodner L, Dayan D, Rothchild D, Hammel I. Extraction wound healing in desalivated rats. *J Oral Pathol Med* 1991;20:176-178.

85. Boyne PJ. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966;21:805-813.

86. Amler M, Melvin H. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1969;273:309-318.
87. Claflin, R.S. Healing of Disturbed and Undisturbed Extraction Wounds, *J Amer Dent Ass* 1936;23:945-59.
88. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation by osteoinduction in rats. *Scand J Dent Res* 1990;98(5):434-441.
89. Lin WL, McCulloch CA, Cho MI. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *Anat Rec* 1994;240(4):492–506.
90. Devlin H, Hoyland J, Newall JF, Ayad S. Trabecular Bone Formation in the Healing of the Rodent Molar Tooth Extraction Socket. *J of Bone and Mineral Res* 1997;12:2061-2067.
91. Lamano Carvalho T, Bombonato K, Brentegani L. Histometric Analysis of Rat Alveolar Wound Healing. *Braz Dent J* 1997;8(1):9-12.
92. Lindhe J. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Karring T, Lang N. (eds) 5° Ed. Blackwell Publishing Company. Oxford, 2006.
93. Ashurst DE. Collagens synthesized by healing fractures. *Clin Orthop Rel Res* 1990;255:273-283.
94. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wound. *J Am Dental Assoc* 1960:34-37.
95. Irinakis T. Rationale for Socket Preservation after Extraction of a Single-Rooted Tooth when Planning for Future Implant Placement. *J Can Dent Assoc* 2006; 72(10):917–922.
96. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003:320-323.
97. Guglielmotti MB, Cabrini R. Alveolar wound healing and ridge remodeling after tooth extraction in the rat: a histologic, radiographic, and histometric study. *J Oral and Maxillofac Surg* 1985;43(5):359-364.
98. Pietrokovski J, Massler M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *J Prosthet Dent* 1967;17(1):21–27.
99. Lam RV. Contour changes of the alveolar processes following extractions. *J Prosthet Dent* 1960;10:25–32.
100. Atwood DA. A cephalometric study of the clinical rest position of the mandible. Part II. The variability in the rate of bone loss following the removal of occlusal contacts. *J Prosthet Dent* 1957;7:544–552.
101. Tallgren A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: a mixed-longitudinal study covering 25 years. *J Prosthet Dent* 1972;27(2):120–132.

- 102.** Humphries S, Devlin H, Worthington H. A radiographic investigation into bone resorption of mandibular alveolar bone in elderly edentulous adults. *J Dent* 1989;17(2):94–96.
- 103.** Ulm C, Solar P, Blahout R, Matejka M, Gruber H. Reduction of the compact and cancellous bone substances of the edentulous mandible caused by resorption. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;74(2):131–136.
- 104.** Tallgren A. Changes in adult face height due to aging, wear and loss of teeth and prosthetic treatment. *Acta Odontol Scand* 1957;15(24):S73–S122.
- 105.** Koning KG. Diet and oral health. *International Dental Journal* 2000;50:162–174.
- 106.** Saffar, J. L., Sagroun, B., de Tessier, C. & Makris, G. Osteoporotic effect of a high-carbohydrate diet (Keyes 2000) in golden hamsters. *Arch Oral Biol* 1981;26: 393–397.
- 107.** Saffar JL, Makris GP. Further data on the osteoporotic effect of the Keyes 2000 diet in the hamster. *Arch Oral Biol* 1982;27:181-182.
- 108.** Tamura T, Fujii A, Kobayashi S & Kuboyama N. Relationship between prolonged excess intake of sucrose and Ca balance. *J Dent Res* 1983;62: 653-655.
- 109.** Gutman RA, Basilico MZ, Bernal CA, Chicco A, Lombardo YB. Long-term hypertriglyceridemia and glucose intolerance in rats fed chronically an isocaloric sucrose-rich diet. *Metabolism* 1987;36:1013-1020.
- 110.** Holl M, Allen L. Sucrose ingestion, insuline response and mineral metabolism in humans. *J Nutr* 1987;117:1229-1233.
- 111.** Pekkala E, Hietala E, Puukka M, Larmas M. Effects of a high sucrose diet and intragastric sucrose feeding en the dentinogenesis, dental caries, and mineral excretion of the young rats. *Acta Odont Scand* 2000;58(4):155-159.
- 112.** Defronzo RA, Cooke CR, Andres R, Falcona GR, Davis P. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium and phosphate in man. *Clin Invest* 1975;55: 845-855.
- 113.** Lemann, J. Evidence that Glucose Ingestion Inhibits Net Renal Tubular Reabsorption of Calcium and Magnesium. *J Clin Nutr* 1976;70:236-245.
- 114.** Griffith JQ, Farris EJ. The rat in laboratory investigation. J.B. Lippincott Company, Estados Unidos 1942;2(22):67-101.
- 115.** Stephan RM. Effects of different types of human foods on dental health in experimental animals. *J Dent Res* 1966;45:1551-1561.
- 116.** Tjäderhane L, Hietala E, Larmas M. Reduction in dentine apposition in rat molars by a high sucrose diet. *Arch Oral Biol* 1994;39(6):491-495.
- 117.** Meunier P, Bernard J. Morphometric analysis of periosteocytic osteolysis. In bone histomorphometry. *Fist International Workshop* 1973:278-287.
- 118.** Baró M, Ferreyra R, Rocamundi M, Nemer K, Crosa M. Histomorphometric study of interradicular bone in patients with periodontal disease. *Acta Odon Latinoamer* 2003;16(1-2):3-7.

- 119.** Ferreyra de Prato R. Reabsorción ósea en maxilares. Estudio Histomorfométrico en ratas. Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba, 1993.
- 120.** Danilatos GD. Foundation of environmental scanning electron microscopy. *Adv Electron Phys* 1988;71:109–250.
- 121.** Goldstein JI, Newbury DE, Echlin P, Joy DC, Roming AD, Lyman CE et al. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis. Plenum Press. (2 ed.) New York, 1992.
- 122.** Hayat MA. Principles and techniques of scanning electron microscopy. Biological applications. Van Nostrand Reinhold Co. New York, 1978.
- 123.** Basurto R, Arrieta L, Castrejón H. Study on the osseous consolidation in rat by environmental scanning electron microscopy. *Vet Méx* 2008;39:247-253.
- 124.** Huuonen S, Tjäderhane L, Larmas M. Greater concentration of dietary sucrose decreases dentin formation and increases the area of dentinal caries in growing rats. *J Nutr* 1997;127: 2226–2230.
- 125.** Huuonen S, Larmas M. An electron probe X-Ray microanalytical study of dentine minerals in sucrose-fed or glucocorticoid medicated rats. *Calcif Tissue Internat* 1999;65(3):223-225.
- 126.** Kortelainen S, Larmas M. Effects of low and high fluoride levels on rat dental caries and simultaneous dentine apposition. *Arch Oral Biol* 1990;35(3):229-234.
- 127.** Pekkala E, Valikangas L, Puukka M, Tjäderhane L, Larmas M. The effects of the high sucrose diet on dentine formation and dental caries in hyperinsulinemic rats. *J Dent Res* 2002;81(8):536-540.
- 128.** Grimditch, G. K., Barnard, R. J., Hendricks, L. & Weitzman, D. Peripheral insulin sensitivity as modified by diet and exercise training. *Am J Clin Nutr* 1988;48: 38–43. 171.
- 129.** Hara, S.Y., Ruhe, R. C., Curry, D. L. & McDonald, R. B. Dietary sucrose enhances insulin secretion of aging Fischer 344 rats. *J Nutr* 1992;122: 2196-2203.
- 130.** Lockwood, B. & Eckhert, C. D. Sucrose-induced lipid, glucose, and insulin elevations, microvascular injury, and selenium. *Am J Physiol* 1992;262:R144–R149.
- 131.** Van Schothorst E, Bunschoten A, Schrauwen P, Mensink R, Keijer J. Effects of the high fat, low- versus high-glycemic index diet: retardation of insulin resistance involves adipose tissue modulation. *Faseb J* 2009;23:1093-1101.
- 132.** Linde A. Dentin matrix proteins: composition and possible function in calcification. *Anat Rec* 1989;224:154-166.
- 133.** Salem GJ, Zernicke RF, Barnard RJ. Diet-related changes in mechanical properties of rat vertebrae. *Am J Physiol* 1992;262:R318–R321.
- 134.** De Tessier C, Saffar JL. Spontaneous recovery from growth disturbances and osteopenia induced by a high carbohydrate diet in hamsters. *J Biol Buccale* 1992;20:117–120.

- 135.** Wohl R, Loehrke L, Watkins BA, Zernicke F. Effects of high fat diet on mature bone mineral content, structure, and mechanical properties. *Calcif Tissue Int* 1998;63:74-79.
- 136.** Heaney R, Smith K, Recker R, Hinders S. Meal effects on calcium absorption. *Am J Clin Nutr* 1989;49:372-376.
- 137.** Nsair Y, Goussous Z. Quantifying the healing of dry socket using a clinical volumetric method. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(6):E89-E95.
- 138.** Guglielmotti MB, Ubios AM, Cabrini RL. Alveolar wound healing after X-irradiation: a histologic, radiographic and histometric study. *J Oral Maxillofac Surg* 1986;44:972-976.
- 139.** Guglielmotti MB, Ubios AM, Cabrini RL. Morphometric study of the effect of a low dose of uranium in bone healing. *Acta Stereol* 1987;6:357-366.
- 140.** Hsieh YD, Devlin H, Roberts C. Early alveolar ridge osteogenesis following tooth extraction in the rat. *Arch Oral Biol* 1994;39:425-428.
- 141.** Devlin H. Early bone healing events following rat molar tooth extraction. *Cells Tissues Organs* 2000. 167:33-37.
- 142.** Gorustovich A, Veinsten F, Costa OR, Guglielmotti MB. Histomorphometric evaluation of the effect of bovine collagen granules on bone healing. An experimental study in rats. *Acta Odontol Latinoam* 2004;17:9-13.
- 143.** Gorustovich A, Steimetz T, Nielsen F, Guglielmotti MB. Histomorphometric Study of Alveolar Bone Healing in Rats Fed a Boron-Deficient Diet. *Anatomical Record* 2008;291:441-447.
- 144.** Weibel E, Kistler G, Scherle W. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biology* 1966;30:1-16.
- 145.** Santos Jr PV, Melhado RM. Effects of ultrasonic stimulation on tooth extraction wound healing: histological study in rats. *Rev Odontol UNESP* 1990;9:291-299.
- 146.** Lamano Carvahlo T, Bombonato K, Brentegani L. An histometric analysis of rat alveolar wound healing. *Braz Dent J* 1997;8(1):9-12.
- 147.** Elsubeihi ES, Heersche JNM. Quantitative assessment of postextraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats. *Arch Oral Biol* 2004;49:401-412.
- 148.** Calixto R, Teofilo J, Brentegani L, Lamano Carvalho T. Alveolar Wound Healing after Implantation with a Pool of Commercially Available Bovine Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) - A Histometric Study in Rats. *Braz Dent J* 2007;18(1):29-33.
- 149.** Guglielmotti MB, Ubios AM, Cabrini RL: Alveolar wound healing alteration under uranyl nitrate intoxication. *J Oral Pathol* 1985;14: 565-572.
- 150.** Baud CA. Morphology and inframicroscopic structure of osteocytes. *Acta Anat* 1962;51:209-225.
- 151.** Belanger LF. Osteocytic osteolysis. *Calcif Tissue Res* 1969;4(1): 1-12.

- 152.** Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;129:460e.1-469e.32.
- 153.** Villarino ME, Sánchez LM, Bozal CB, Ubios AM. Influence of short-term diabetes on osteocytic lacunae of alveolar bone. A histomorphometric study. *Acta Odontol Latinoam*. 2006; 19(1):23-8.
- 154.** Tazawa K, Hoshi K, Kawamoto S, Tanaka M, Ejiri S, Ozawa H. Osteocytic osteolysis observed in rats to which parathyroid hormone was continuously administered. *J Bone Miner Metabol* 2004;22:524-529.
- 155.** Quing H, Bonewald L. Osteocyte remodeling of the perilacunar and pericanalicular matrix *Int J Oral Science* 2009;1(2):59-65.
- 156.** Teti A, Zalloneb A. Do osteocytes contribute to bone mineral homeostasis? Osteocytic osteolysis revisited. *Bone* 2009;44(1):11-16.
- 157.** Valikangas L, Pekkala E, Larmas M, Risteli J, Salo T, Tjäderhane L. The Effects of High levels of Glucose and Insulin on Type I Collagen Synthesis in Mature Human Odontoblasts and Pulp Tissue in vitro. *Adv Dent Res* 2001;15:72-75.
- 158.** Espinoza J, De Marcucci OL, Escalona I, Rivero D. Efectos de dietas ricas en sacarosa, suplementadas o no con grasa poliinsaturada, sobre la expresión genética de la subunidad E1a del complejo piruvato deshidrogenasa en hígado de rata. *RFM* 2002;25(1):8-12.
- 159.** Schifferle R, DDS. Nutrition and periodontal disease. *Dent Clin N Am* 2005;49:595-610.
- 160.** Ogata N, Chikazu D, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, Azuma Y, Ohta T, Kadowaki T, Nakamura K, Kawaguchi H. Insulin receptor substrate-1 in osteoblast is indispensable for maintaining bone turnover. *J. Clin. Invest.* 2000;105:935–943.
- 161.** Thomas D, Hards D, Rogers S, Ng K, Best J. Insulin receptor expression in bone. *J Bone Miner Res* 1996;11:1312–1320.
- 162.** Thomas D, Hards D, Rogers S, Ng K, Best J. Insulin and bone, clinical and scientific view. *Endocrinol Metab North Am* 1997;4:5–17.
- 163.** Rosen C, Donahue L. Insulin-like growth factors and bone, the osteoporosis connection revisited. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998;219:1–7.
- 164.** Sissons H, Kelman G, Ling L, Marotti G, Canè V, Muglia M. A light and scanning electron microscopis study of osteocyte activity in calcium deficient rats. *Calcif Tissue Int* 1990;46:33-37.
- 165.** Yeni Y, Vashishth D, Fyhrie D. Estimation of bone matrix apparent stiffness variation caused by osteocyte lacunar size and density. *J Biomech Eng* 2001;123:1-10.
- 166.** Van Schothorst E, Bunschoten A, Schrauwen P, Mensink R, Keijer J. Effects of a high-fat, low- versus high-glycemic index diet: retardation of insulin resistance involves adipose tissue modulation. *FASEB J* 2009;23:1092–1101.

167. Verhaeghe J, Bouillon R. Effects of diabetes and insulin on bone physiology. In: Bilezikian J, Raisz L, Rodan G. (Eds), Principles of bone biology. Academic Press. California 2002:741-756.

X. ANEXOS

X. 1. GLOSARIO DE ABREVIATURAS

- ALP:** Alkaline Phosphatase. Fosfatasa Alcalina.
- BMP:** Bone Morphogenetic Proteins. Proteína Ósea Morfogenética.
- BSP:** Bone Sialoprotein. Sialoproteína Ósea.
- BSU:** Bone Structural Unit. Unidad estructural Ósea.
- DMP-1:** Dentin Matrix Protein-1. Proteína Matriz Dentinaria.
- EGF:** Epidermal Growth Factor. Factor de Crecimiento Epidérmico.
- FGF-23:** Fibroblast Growth Factor. Factor de Crecimiento Fibroblástico.
- f-SCM:** Macrophage Colony-Stimulating Factor. Factor Estimulante de Colonia de Macrófagos
- GFs:** Growth Factors. Factores de Crecimiento.
- FNN:** Fibronectin. Fibronectina.
- IGF:** Insulin Like Growth Factor. Factor de Crecimiento Similar a a la Insulina.
- LCS:** Sistema Lacuno-Canalicular
- MMP:** Metalloproteinases. Metaloproteinasas.
- MSCs:** Mesenchymal Stem Cells. Células Mesenquimáticas Indiferenciadas.
- OCIF:** Osteoclastogenesis Inhibitory Factor. Factor Inhibidor de Osteoclastogénesis.
- OCN:** Osteocalcin. Osteocalcina.
- ONN:** Osteonectin. Osteonectina.
- OP-1:** Osteogenic Protein. Proteína Osteogénica.
- OPG:** Osteoprogesterin. Osteopregesterina.
- OPN:** Osteopontin. Osteopontina.
- PDGF:** Platelet Derived Growth Factor. Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas .
- PGE2:** Prostaglandin E2. Prostaglandina E2.
- PTH:** Hormona Paratiroidea.
- TGF- β :** Transforming Growth Factor. Factor de Crecimiento Transformante β .
- TIMPs:** Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinases. Inhibidores Tisulares de Metaloproteinasas de Matriz.
- TRAP:** Tartrate Resistant Acid Phosphatase. Fosfatasa ácida tartrato resistente.
- URO:** Unidad de Remodelado Óseo.
- VEGF:** Vascular Endothelial Growth Factor. Factor de Crecimiento Vascular Endotelial.
- VNN:** Vitronectin. Vitronectina.

X. 2. DETALLE DE MEDICIONES DE TODOS LOS CASOS

Resúmenes de casos		Área Osteocitos						
Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo
14 días Control	301	1	6	49,81	11,95	4,88	63,24	29,39
		2	22	59,36	14,19	3,03	91,58	31,88
		3	21	62,59	14,48	3,16	89,97	34,85
		4	14	80,00	21,29	5,69	134,43	48,00
		5	12	77,63	13,98	4,04	95,47	39,79
		6	17	73,60	21,58	5,23	115,34	33,67
		7	9	52,60	14,69	4,90	67,82	31,31
	Total		101	66,29	19,00	1,89	134,43	29,39
	302	0	6	74,89	19,22	7,85	103,11	56,21
		1	2	64,35	10,28	7,27	71,62	57,08
		2	4	61,81	15,15	7,57	83,59	49,09
		3	5	44,26	1,48	0,66	46,64	42,97
		4	9	57,64	9,16	3,05	72,19	48,83
		5	6	58,99	19,75	8,06	87,22	25,20
		6	8	46,69	20,60	7,28	89,75	21,09
		7	7	40,02	14,29	5,40	58,43	24,24
		8	6	34,38	10,08	4,11	49,22	22,36
	9	8	32,10	14,25	5,04	57,43	16,90	
	Total		61	49,77	19,18	2,46	103,11	16,90
	303	1	14	31,07	9,59	2,56	44,76	16,60
		2	11	41,89	17,50	5,28	78,31	21,05
		3	14	60,28	20,14	5,38	90,10	31,62
		4	12	67,54	21,37	6,17	111,54	44,11
		5	12	48,65	14,63	4,22	78,83	21,97
	Total		63	49,74	21,19	2,67	111,54	16,60
	304	2	8	52,63	10,95	3,87	65,90	38,78
		3	8	48,10	16,40	5,80	74,03	25,99
		4	12	55,87	17,89	5,17	79,79	25,72
		5	7	60,15	19,35	7,31	84,77	33,58
		6	10	61,47	21,37	6,76	111,37	38,52
		7	7	47,17	17,37	6,56	80,97	25,37
		8	10	33,72	7,74	2,45	44,11	21,09
		Total		62	51,28	18,15	2,30	111,37
	305	1	10	38,66	12,04	3,81	56,25	23,63
		2	10	43,85	7,99	2,53	54,94	27,65
		3	8	41,01	8,41	2,97	56,43	31,79
		4	8	46,20	14,37	5,08	71,67	33,67
		5	6	56,28	19,39	7,92	77,91	30,75
		6	9	43,64	11,01	3,67	67,69	34,59
		7	8	50,31	18,89	6,68	75,03	20,22
		8	8	52,45	12,86	4,55	72,98	36,77
	Total		67	45,90	13,64	1,67	77,91	20,22
Total	0	6	74,89	19,22	7,85	103,11	56,21	
		1	32	39,03	14,13	2,50	71,62	16,60
		2	55	52,24	15,37	2,07	91,58	21,05
		3	56	55,22	17,04	2,28	90,10	25,99
		4	55	63,44	21,07	2,84	134,43	25,72
		5	43	61,12	19,45	2,97	95,47	21,97
		6	44	59,82	22,87	3,45	115,34	21,09
		7	31	47,94	16,27	2,92	80,97	20,22
		8	24	40,13	13,23	2,70	72,98	21,09
		9	8	32,10	14,25	5,04	57,43	16,90
Total		354	54,01	19,97	1,06	134,43	16,60	

Cicatrización alveolar en ratas con dieta rica en Sacarosa

Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo
28 días Control	306	1	12	44,42	16,01	4,62	71,58	19,48
		2	8	39,38	11,92	4,21	58,78	23,45
		3	12	46,72	14,77	4,26	64,90	22,67
		4	13	50,85	20,02	5,55	92,32	19,00
		5	14	56,66	10,67	2,85	72,15	42,32
		6	6	47,81	12,33	5,03	62,63	31,01
		7	5	55,82	13,34	5,97	70,44	36,34
		8	5	45,52	10,22	4,57	56,34	34,85
		Total	75	48,75	14,98	1,73	92,32	19,00
		307	1	11	48,57	18,29	5,52	75,69
2	4	47,93	18,36	9,18	65,51	24,81		
3	5	57,40	22,03	9,85	76,73	21,66		
4	5	179,05	54,06	24,18	224,33	91,36		
5	6	60,62	20,85	8,51	97,13	39,17		
7	7	49,89	13,06	4,94	70,36	36,69		
8	5	60,54	28,55	12,77	93,02	26,25		
9	5	56,42	19,18	8,58	85,47	32,71		
10	9	60,01	21,03	7,01	101,41	30,05		
Total	57	65,72	42,53	5,63	224,33	18,87		
309	0	8	44,68	9,61	3,40	65,95	35,46	
1	12	55,09	8,94	2,58	68,61	40,88		
2	9	53,93	12,28	4,09	71,23	38,87		
3	13	31,23	9,72	2,70	49,39	17,56		
4	8	32,27	7,90	2,79	45,46	23,89		
5	8	25,57	6,89	2,43	36,77	17,86		
6	11	26,36	6,51	1,96	38,08	18,08		
7	12	25,79	8,85	2,55	39,52	13,28		
Total	81	36,69	14,71	1,63	71,23	13,28		
309b	1	8	72,96	17,93	6,34	97,91	45,42	
2	10	62,99	21,72	6,87	113,59	36,42		
3	10	62,54	13,07	4,13	79,27	38,48		
4	7	58,80	25,42	9,61	99,23	23,85		
5	7	54,67	18,30	6,92	76,12	23,02		
6	12	57,10	22,33	6,45	92,19	32,01		
7	13	56,28	17,24	4,78	86,04	30,44		
Total	67	60,45	19,44	2,37	113,59	23,02		
310	0	7	46,14	5,60	2,12	55,68	41,27	
1	11	35,32	11,59	3,49	51,62	16,07		
2	13	33,57	12,01	3,33	53,06	16,99		
3	6	32,82	7,23	2,95	44,02	25,46		
4	10	27,11	9,27	2,93	43,72	13,54		
5	10	26,13	7,24	2,29	39,00	16,03		
40	10	38,13	13,33	4,21	56,38	19,52		
50	6	66,67	21,04	8,59	94,20	42,36		
Total	73	36,42	15,31	1,79	94,20	13,54		
Total	0	15	45,36	7,76	2,00	65,95	35,46	
1	54	50,01	18,39	2,50	97,91	16,07		
2	44	46,78	18,67	2,81	113,59	16,99		
3	46	45,13	17,96	2,65	79,27	17,56		
4	43	58,08	51,26	7,82	224,33	13,54		
5	45	44,57	19,70	2,94	97,13	16,03		
6	29	43,52	20,90	3,88	92,19	18,08		
7	37	45,12	19,00	3,12	86,04	13,28		
8	10	53,03	21,71	6,87	93,02	26,25		
9	5	56,42	19,18	8,58	85,47	32,71		
10	9	60,01	21,03	7,01	101,41	30,05		
40	10	38,13	13,33	4,21	56,38	19,52		
50	6	66,67	21,04	8,59	94,20	42,36		
Total	353	48,39	25,31	1,35	224,33	13,28		

Cicatrización alveolar en ratas con dieta rica en Sacarosa

Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo		
60 días Control	311	0	10	29,20	5,48	1,73	34,89	16,86		
		1	10	31,87	12,32	3,90	54,46	14,72		
		2	8	51,18	12,40	4,38	65,99	32,23		
		3	10	40,08	13,26	4,19	64,20	19,52		
		4	18	46,28	12,47	2,94	67,08	13,19		
		5	21	52,48	13,96	3,05	77,26	31,05		
		6	5	45,65	11,41	5,10	55,25	26,90		
		7	10	29,23	6,85	2,17	38,48	14,63		
		Total	92	42,14	14,64	1,53	77,26	13,19		
			313	1	7	38,66	5,63	2,13	46,86	31,27
2	4			32,38	5,44	2,72	38,87	27,82		
3	16			31,58	9,70	2,42	48,87	19,26		
4	18			34,56	13,32	3,14	61,80	17,86		
5	8			39,90	7,72	2,73	51,45	31,53		
6	14			30,12	8,59	2,30	47,21	19,09		
7	7			28,67	6,58	2,49	35,59	18,04		
100	8			41,74	16,10	5,69	66,51	21,49		
101	14			61,97	19,12	5,11	101,19	35,03		
Total	96			38,23	15,75	1,61	101,19	17,86		
	313i	5	8	46,82	15,69	5,55	71,45	25,68		
		6	10	51,16	11,02	3,49	69,88	35,46		
		8	9	47,64	25,65	8,55	103,42	25,29		
		9	11	41,34	13,05	3,94	71,54	20,70		
		50	11	48,22	17,28	5,21	87,78	27,03		
		101	10	36,45	9,82	3,11	46,16	15,33		
		Total	59	45,16	16,13	2,10	103,42	15,33		
			314	1	15	60,19	17,11	4,42	86,08	35,07
				2	5	49,61	17,03	7,62	69,83	32,80
				3	13	53,56	13,55	3,76	67,04	28,56
4	17			40,47	6,21	1,51	50,18	28,91		
5	7			40,02	10,20	3,85	56,12	30,09		
8	10			36,23	12,48	3,95	57,95	16,16		
12	5			54,15	16,99	7,60	82,94	40,44		
15	10			59,19	21,58	6,83	84,25	27,91		
Total	82			49,27	16,55	1,83	86,08	16,16		
Total	0			10	29,20	5,48	1,73	34,89	16,86	
		1	32	46,63	18,87	3,34	86,08	14,72		
		2	17	46,30	14,46	3,51	69,83	27,82		
		3	39	41,09	15,11	2,42	67,04	19,26		
		4	53	40,43	12,02	1,65	67,08	13,19		
		5	44	47,18	13,67	2,06	77,26	25,68		
		6	29	40,05	13,82	2,57	69,88	19,09		
		7	17	29,00	6,54	1,59	38,48	14,63		
		8	19	41,63	20,12	4,62	103,42	16,16		
		9	11	41,34	13,05	3,94	71,54	20,70		
		12	5	54,15	16,99	7,60	82,94	40,44		
		15	10	59,19	21,58	6,83	84,25	27,91		
		50	11	48,22	17,28	5,21	87,78	27,03		
		100	8	41,74	16,10	5,69	66,51	21,49		
		101	24	51,34	20,24	4,13	101,19	15,33		
		Total	329	43,32	16,20	0,89	103,42	13,19		

Cicatrización alveolar en ratas con dieta rica en Sacarosa

Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo		
120 días Control	316	2	7	54,80	11,95	4,52	75,42	35,07		
		3	9	83,71	23,83	7,94	128,79	55,90		
		4	4	68,02	19,26	9,63	86,30	47,78		
		5	10	60,65	20,05	6,34	87,87	37,86		
		6	10	70,19	21,65	6,85	91,89	31,10		
		7	9	83,60	19,30	6,43	113,29	58,00		
		13	12	39,72	15,34	4,43	77,87	18,34		
		Total	61	64,70	24,18	3,10	128,79	18,34		
		317b		1	8	37,05	13,45	4,76	59,57	16,46
				2	10	33,92	12,39	3,92	49,70	11,49
				3	8	32,57	10,76	3,80	55,42	19,74
				4	16	28,06	8,15	2,04	40,44	15,81
				5	8	48,82	12,10	4,28	65,68	32,10
Total	50	34,71	12,67	1,79	65,68	11,49				
318		1	3	46,18	14,78	8,53	63,15	36,16		
		2	10	39,33	13,69	4,33	69,53	21,84		
		3	12	29,43	8,54	2,46	49,13	18,82		
		4	10	37,22	7,06	2,23	46,86	26,90		
		5	10	38,63	9,05	2,86	52,19	24,89		
		7	11	30,06	10,08	3,04	52,89	15,07		
		9	13	39,84	16,09	4,46	65,16	13,28		
		Total	69	36,12	12,03	1,45	69,53	13,28		
		319		1	9	59,74	13,74	4,58	79,00	38,65
2	5			81,12	8,49	3,80	95,69	74,07		
3	10			44,50	11,16	3,53	67,69	33,41		
4	8			55,07	12,75	4,51	70,71	31,53		
5	10			59,40	16,71	5,28	82,24	28,21		
6	7			65,54	18,04	6,82	97,57	49,79		
7	6			49,24	12,62	5,15	63,81	31,53		
8	12			45,85	11,88	3,43	69,61	26,82		
Total	67	55,63	16,39	2,00	97,57	26,82				
320		1	19	45,52	14,16	3,25	77,83	19,74		
		2	15	34,72	8,69	2,24	55,42	19,30		
		3	17	41,80	11,33	2,75	70,49	21,36		
		4	14	44,23	9,95	2,66	68,96	31,79		
		5	10	31,26	9,61	3,04	45,33	16,95		
		6	6	47,22	15,69	6,41	65,42	29,35		
		9	10	32,68	10,74	3,40	48,91	16,95		
		Total	91	39,98	12,48	1,31	77,83	16,95		
		Total		1	39	47,12	15,49	2,48	79,00	16,46
2	47			43,46	18,35	2,68	95,69	11,49		
3	56			45,05	22,21	2,97	128,79	18,82		
4	52			41,41	15,62	2,17	86,30	15,81		
5	48			47,71	18,05	2,60	87,87	16,95		
6	23			62,78	20,73	4,32	97,57	29,35		
7	26			53,02	27,64	5,42	113,29	15,07		
8	12			45,85	11,88	3,43	69,61	26,82		
9	23			36,72	14,20	2,96	65,16	13,28		
13	12			39,72	15,34	4,43	77,87	18,34		
Total	338			45,98	19,53	1,06	128,79	11,49		

Cicatrización alveolar en ratas con dieta rica en Sacarosa

Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo	
14 días Experimental	401	1	8	62,00	6,27	2,22	71,23	53,89	
		2	7	57,78	15,79	5,97	84,16	31,97	
		3	8	70,05	39,47	13,96	148,49	22,23	
		4	11	60,23	16,73	5,04	84,68	35,59	
		5	11	74,74	21,06	6,35	104,38	34,63	
		6	10	69,83	22,72	7,19	113,03	44,42	
		7	10	65,69	10,75	3,40	89,66	47,30	
		Total		65	66,16	20,80	2,58	148,49	22,23
	402	0	5	45,05	14,45	6,46	65,07	29,00	
		1	4	40,97	15,23	7,61	63,11	30,00	
		2	5	27,89	5,40	2,41	36,77	23,50	
	3	5	38,36	7,89	3,53	50,18	28,61		
	5	9	58,97	23,13	7,71	96,69	21,71		
	6	5	59,93	15,66	7,00	68,92	32,14		
	7	10	55,51	16,52	5,22	83,28	30,61		
	8	8	49,00	12,63	4,47	71,75	33,72		
	10	3	35,65	8,61	4,97	45,51	29,65		
	11	9	48,25	12,94	4,31	80,10	34,15		
	Total		63	48,24	16,93	2,13	96,69	21,71	
403	1	15	37,26	15,46	3,99	62,37	18,69		
	2	9	31,01	7,05	2,35	43,15	22,27		
	3	12	34,43	9,03	2,61	50,66	20,96		
	4	15	43,03	17,98	4,64	96,65	27,56		
	5	7	47,88	17,85	6,74	67,52	20,00		
	6	19	33,45	8,27	1,90	52,67	19,78		
	Total		77	37,24	13,73	1,56	96,65	18,69	
404	1	5	86,52	15,40	6,89	104,86	72,76		
	2	10	59,12	10,19	3,22	73,68	40,92		
	3	5	51,67	12,64	5,65	68,83	37,65		
	4	4	59,32	12,53	6,27	72,32	45,07		
	5	10	44,90	17,20	5,44	82,67	20,83		
	6	5	45,87	24,60	11,00	77,13	22,80		
	7	9	57,17	15,16	5,05	73,68	29,13		
	8	8	42,41	14,61	5,16	69,40	20,09		
	Total		56	54,49	18,78	2,51	104,86	20,09	
405	1	15	64,66	23,88	6,16	105,75	30,00		
	2	10	71,94	24,46	7,73	117,13	43,72		
	3	12	56,82	16,41	4,74	93,50	36,99		
	4	11	61,03	19,53	5,89	93,59	30,40		
	5	5	64,05	24,05	10,76	96,52	34,28		
	6	7	55,05	7,54	2,85	62,15	41,62		
	7	12	53,84	24,19	6,98	108,79	28,34		
	8	7	69,12	16,03	6,06	85,51	38,91		
	Total		79	61,75	20,79	2,34	117,13	28,34	
Total	0	5	45,05	14,45	6,46	65,07	29,00		
	1	47	55,77	23,54	3,43	105,75	18,69		
	2	41	52,04	22,31	3,48	117,13	22,27		
	3	42	50,13	23,70	3,66	148,49	20,96		
	4	41	54,06	19,04	2,97	96,65	27,56		
	5	42	58,51	22,79	3,52	104,38	20,00		
	6	46	48,87	20,79	3,07	113,03	19,78		
	7	41	57,87	17,77	2,78	108,79	28,34		
	8	23	52,83	17,83	3,72	85,51	20,09		
	10	3	35,65	8,61	4,97	45,51	29,65		
	11	9	48,25	12,94	4,31	80,10	34,15		
	Total		340	53,34	21,09	1,14	148,49	18,69	

Cicatrización alveolar en ratas con dieta rica en Sacarosa

Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo
28 días Experimental	406	1	11	45,24	16,69	5,03	77,96	25,20
		2	14	47,95	7,55	2,02	64,51	39,22
		3	12	51,97	15,76	4,55	70,75	25,29
		4	9	48,82	14,91	4,97	80,10	37,12
		5	11	78,44	18,70	5,64	107,57	40,14
		7	11	64,43	17,93	5,41	94,29	46,29
		Total	68	55,93	18,89	2,29	107,57	25,20
	407	4	10	41,69	16,83	5,32	78,04	18,82
		5	11	67,16	33,02	9,95	136,57	27,78
		6	14	38,23	7,52	2,01	53,81	26,03
	7	10	61,19	23,44	7,41	97,74	29,70	
	8	10	36,63	6,15	1,94	45,73	26,73	
	Total	55	48,53	22,88	3,08	136,57	18,82	
408	1	10	46,52	13,64	4,31	72,58	29,74	
	2	8	54,52	13,98	4,94	83,59	36,20	
	3	14	33,58	6,39	1,71	44,98	23,85	
	4	9	47,85	17,16	5,72	74,42	22,19	
	5	4	54,93	6,33	3,17	60,79	46,34	
	6	10	33,80	10,79	3,41	60,53	22,05	
	7	7	51,06	12,97	4,90	69,88	37,56	
	8	8	51,49	10,36	3,66	67,17	35,20	
	Total	70	44,70	14,11	1,69	83,59	22,05	
409	1	13	37,94	12,70	3,52	58,87	16,86	
	2	18	42,26	14,47	3,41	79,70	18,82	
	3	9	43,26	12,95	4,32	61,05	23,23	
	5	5	76,67	18,29	8,18	91,54	53,37	
	6	6	98,56	25,80	10,53	142,85	68,39	
	7	6	50,04	17,33	7,08	81,62	33,93	
	8	14	68,35	19,95	5,33	106,30	33,58	
	Total	71	54,58	24,64	2,92	142,85	16,86	
410	1	7	58,96	19,29	7,29	94,42	39,79	
	2	6	71,44	16,34	6,67	99,71	55,73	
	3	8	59,26	21,62	7,64	93,29	33,45	
	4	15	53,81	12,38	3,20	74,16	35,51	
	5	11	68,51	32,47	9,79	120,67	16,55	
	6	6	55,95	14,85	6,06	72,10	34,02	
	7	10	51,19	19,82	6,27	96,78	27,60	
	Total	63	59,11	20,93	2,64	120,67	16,55	
Total	1	41	45,58	16,32	2,55	94,42	16,86	
	2	46	49,93	15,68	2,31	99,71	18,82	
	3	43	45,51	16,85	2,57	93,29	23,23	
	4	43	48,70	15,21	2,32	80,10	18,82	
	5	42	70,44	26,33	4,06	136,57	16,55	
	6	36	50,01	26,80	4,47	142,85	22,05	
	7	44	56,60	19,20	2,89	97,74	27,60	
	8	32	54,22	19,85	3,51	106,30	26,73	
	Total	327	52,60	21,06	1,16	142,85	16,55	

Cicatrización alveolar en ratas con dieta rica en Sacarosa

Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo
60 días Experimental	413	1	23	44,94	15,18	3,16	68,22	14,02
		2	10	61,36	22,45	7,10	114,69	42,06
		3	26	49,14	16,03	3,14	85,90	26,42
		4	13	56,77	20,08	5,57	104,64	33,63
		5	8	60,68	28,22	9,98	120,41	28,96
		6	9	47,20	22,98	7,66	89,84	24,19
		7	12	44,47	15,96	4,61	86,65	28,04
		8	5	46,82	19,48	8,71	73,50	28,04
		9	14	55,81	29,40	7,86	140,67	25,51
		10	18	42,33	16,48	3,89	74,16	22,49
			11	17	40,87	9,79	2,37	59,05
	Total		155	48,90	19,58	1,57	140,67	14,02
	414	1	10	59,39	18,85	5,96	106,61	38,69
		2	10	55,31	16,62	5,25	75,29	24,72
		3	11	50,18	14,53	4,38	78,52	24,46
		4	10	43,49	18,44	5,83	83,37	17,56
		5	8	48,24	15,69	5,55	66,65	20,83
		6	8	38,01	13,74	4,86	65,77	24,19
		7	6	44,48	13,89	5,67	59,40	28,78
	Total		63	49,06	16,92	2,13	106,61	17,56
	415	1	44	38,80	13,08	1,97	65,07	18,52
		2	10	39,35	11,56	3,65	53,76	19,96
		4	20	40,46	11,63	2,60	68,87	27,38
		5	12	54,18	11,67	3,37	75,20	39,92
		6	10	41,72	18,67	5,90	71,06	14,19
		Total		96	41,43	13,80	1,41	75,20
	Total	1	77	43,31	15,88	1,81	106,61	14,02
		2	30	52,00	19,31	3,52	114,69	19,96
		3	37	49,45	15,40	2,53	85,90	24,46
		4	43	46,10	17,36	2,65	104,64	17,56
		5	28	54,34	18,67	3,53	120,41	20,83
		6	27	42,45	18,65	3,59	89,84	14,19
		7	18	44,47	14,89	3,51	86,65	28,04
		8	5	46,82	19,48	8,71	73,50	28,04
		9	14	55,81	29,40	7,86	140,67	25,51
		10	18	42,33	16,48	3,89	74,16	22,49
		11	17	40,87	9,79	2,37	59,05	28,04
	Total		314	46,65	17,75	1,00	140,67	14,02

Cicatrización alveolar en ratas con dieta rica en Sacarosa

Subgrupo	Caso	Imagen	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Máximo	Mínimo
120 días Experimental	416	1	7	45,45	14,08	5,32	63,06	27,65
		2	8	45,31	8,94	3,16	58,96	36,03
		3	10	61,39	21,48	6,79	96,78	34,50
		4	9	62,93	15,30	5,10	80,53	33,89
		5	11	49,73	13,63	4,11	79,92	30,61
		6	12	68,81	21,79	6,29	101,45	36,69
		8	9	72,20	24,29	8,10	117,26	38,08
		9	10	54,31	16,65	5,26	79,97	33,58
		Total	76	58,24	19,63	2,25	117,26	27,65
	419	1	10	45,51	12,88	4,07	69,05	29,92
		2	17	34,60	8,38	2,03	53,24	23,41
		3	6	36,60	9,21	3,76	46,99	24,54
		4	6	33,45	7,65	3,12	45,90	24,28
		5	14	46,69	17,74	4,74	87,04	25,68
		6	7	49,37	12,02	4,54	70,40	35,68
		7	9	49,67	11,82	3,94	65,95	31,36
		8	10	40,44	15,20	4,81	65,64	23,41
		Total	79	41,95	13,59	1,53	87,04	23,41
	419b	2	11	29,75	12,91	3,89	53,06	9,48
3		9	31,94	9,11	3,04	46,03	20,35	
4		10	30,89	5,82	1,84	40,00	19,30	
5		7	44,05	19,04	7,20	73,20	22,14	
100		10	48,51	17,89	5,66	73,76	22,84	
101		8	59,89	14,22	5,03	81,19	39,09	
Total	55	39,93	17,04	2,30	81,19	9,48		
420a	1	20	48,62	14,42	3,23	78,26	19,04	
	2	15	37,16	11,23	2,90	55,68	19,74	
	3	19	27,83	8,74	2,01	48,70	18,08	
Total	54	38,12	14,62	1,99	78,26	18,08		
420b	0	9	45,11	12,12	4,04	63,85	28,61	
	1	10	44,43	15,06	4,76	65,29	23,45	
	2	7	50,14	13,61	5,14	70,14	33,58	
	3	7	45,94	20,43	7,72	83,15	21,05	
	4	5	47,86	13,42	6,00	65,82	32,01	
	5	8	63,47	9,95	3,52	76,95	46,82	
	6	9	49,06	17,53	5,84	77,17	26,16	
	7	9	67,42	12,29	4,10	86,82	51,58	
Total	64	51,85	16,21	2,03	86,82	21,05		