



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**“COMPORTAMIENTO DEL BETA FOSFATO TRICÁLCICO EN
ELEVACIÓN DE SENO MAXILAR: SERIE DE CASOS”**


Tesis para optar el Título de:
SEGUNDA ESPECIALIDAD EN IMPLANTOLOGÍA ORAL

Presentado por:
Allinson Olaechea Torres (0000-0002-5907-9660)

Asesor:
Gerardo Mendoza Azpur (0000-0002-6548-1285)

Lima – Perú

2019

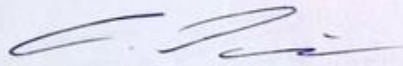
	Reglamento de Grados y Títulos	Código: SG-RE-001-V2	Emisión: junio 2015	Vigencia 25/06/15
---	--------------------------------	-------------------------	---------------------------	----------------------

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Lima, a los **14** días del mes de **octubre** de **2019**, siendo las 17:10 horas, con la asistencia del Jurado de Tesis, Presidido por el **MG. CLAUDIO PEÑA SOTO**, los miembros del jurado **MG. ANTONIO DIAZ SUYO** y **MG. PEDRO LUIS TINEDO LÓPEZ** y el Asesor de la Tesis **MG. GERARDO MENDOZA AZPUR**, Y la **C.D. ALLINSON OLAECHEA TORRES**, autor de la tesis Titulada: "**COMPORTAMIENTO DEL BETA FOSFATO TRICÁLCICO EN ELEVACIÓN DE SENOS MAXILARES: SERIE DE CASOS**" con el fin de optar el Título de Segunda Especialidad en **IMPLANTOLOGÍA ORAL**.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación y deliberación por parte del Jurado correspondiente, habiendo sido Aprobado con el calificativo de Muy bueno (10).

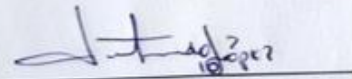
Se extiende la presente acta en cinco originales y siendo las 17:50 horas, se da por concluido el Acto Académico de Sustentación.



Presidente
Mg. CLAUDIO PEÑA SOTO
DNI: 40734662



Miembro
Mg. ANTONIO DIAZ SUYO
DNI: 43315515



Miembro
Mg. PEDRO LUIS TINEDO LÓPEZ
DNI: 45159119



Asesor
Mg. GERARDO MENDOZA AZPUR
DNI: 10303123

DEDICATORIA

Quiero expresar mi gratitud a Dios, quien con su bendición llena siempre mi vida y a toda mi familia por su apoyo incondicional.

A todas las personas que me han apoyado y han hecho que este trabajo se realice con éxito en especial a aquellas personas que me abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial al Dr Gerardo Mendoza que desde el inicio de mi carrera profesional ha demostrado una trayectoria llena de esfuerzo y dedicación, Gracias por estar presente en mi formación.

Al equipo de la Universidad de Granada que me abrieron las puertas generosamente y poder desarrollar esta tesis, en especial al Dr Pablo Galindo y al Dr Francisco Ovalle gracias por tanto.

CONTENIDO

RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. OBJETIVOS.....	11
II.1 OBJETIVO GENERAL.....	
II.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	
III. METODOLOGÍA.....	12
III.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	
III.2 PROTOCOLO QUIRÚRGICO.....	
III.3 ANALISIS HISTOLÓGICO, INMUNOHISTOQUÍMICO.....	
III.4 ANALISIS ESTADÍSTICO.....	
IV. RESULTADOS.....	17
V. DISCUSIÓN.....	19
VI. CONCLUSIONES.....	24
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
VIII ANEXOS.....	32

RESUMEN

Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar los componentes morfométricos y las propiedades histológicas del hueso prístino y del hueso injertado utilizando un fosfato tricálcico β -bifásico en elevación de seno maxilar realizado en humanos. También se evaluaron las células madre mesenquimales en el hueso prístino y en el injerto.

Materiales y Métodos: Para esta serie de casos prospectivo, el aumento de seno se realizó utilizando un fosfato bifásico β -tricálcico. Después de 6 meses de cicatrización, se recogió una muestra de hueso alveolar con una trefina. Se realizaron técnicas histológicas, histomorfométricas e inmunohistoquímicas. También se realizó análisis radiológico mediante tomografía computarizada de haz cónico.

Resultados: Un total de 10 pacientes fueron incluidos en este estudio. Radiográficamente, los pacientes mostraron un aumento promedio de hueso crestal de 8.03 ± 1.72 mm. Morfológicamente, el área injertada estaba compuesta por $34.93 \pm 14.68\%$ de tejido mineralizado nuevo, $9.82 \pm 11.42\%$ de partículas de biomaterial remanentes y $55.23 \pm 11.03\%$ de tejido no mineralizado. Histológicamente, no encontramos diferencias en el número de osteocitos por mm^2 (134.67 ± 111.07 vs. 235.30 ± 99.77 , $p = 0.674$), osteoblastos (30.86 ± 31.04 vs. 9.83 ± 15.33 , $p = 0.893$) y vasos sanguíneos (30.07 ± 28.21 vs. 25.62 ± 19.72 , $p = 0.894$) en el área injertada que en el hueso prístino. Se encontraron diferencias en el número de osteoclastos (15.57 ± 27.50 vs. 5.37 ± 16.12 , $p = 0.027$).

El número de células mesenquimáticas positivas a Musashi-1 (239.61 ± 177.4 vs. 42.11 ± 52.82 , $p = 0.027$) fue significativamente mayor en el área injertada que en el hueso prístino.

Conclusion: Osteon™ II es un biomaterial adecuado para ser utilizado para promover la formación de hueso nuevo, no solo desde el punto de vista histomorfométrico, sino también con respecto a la calidad celular y vascular del hueso final formado.

Palabras Claves: Biomaterial, betafosfato tricálcico, implantología, hidroxiapatita, elevación de seno maxilar.

ABSTRACT

Objectives: The aim of this study was to evaluate and compare the morphometric components and the histological properties of pristine bone and bone grafted with a β -biphasic tri-calcium phosphate in humans using the maxillary sinus model. Reparative mesenchymal stem cells in the pristine bone and graft were also evaluated.

Material/methods: For this prospective case-series, sinus augmentation was performed using a biphasic β -tricalcium phosphate. After 6 months of healing, a core of remnant native alveolar bone and grafted bone was collected with a trephine. Histological, histomorphometrical, and immunohistochemical techniques were performed. Radiological analysis through cone beam computerized tomography was also conducted.

Results: A total of 10 patients were enrolled in this study. Radiologically, patients showed an average increase of crestal bone of 8.03 ± 1.72 mm. Morphologically, the grafted area was composed by 34.93 ± 14.68 % of new mineralized tissue, 9.82 ± 11.42 % of remnant biomaterial particles and 55.23 ± 11.03 % non-mineralized tissue. Histologically, we found no differences in the number of osteocytes per mm^2 (134.67 ± 111.07 vs. 235.30 ± 99.77 , $p=0.674$), osteoblasts (30.86 ± 31.04 vs. 9.83 ± 15.33 , $p=0.893$) and blood vessels (30.07 ± 28.21 vs. 25.62 ± 19.72 , $p=0.894$) in the grafted area than in the pristine bone. Differences were found on the number of osteoclasts (15.57 ± 27.50 vs. 5.37 ± 16.12 , $p=0.027$). The number of Musashi-1 positive mesenchymal cells (239.61 ± 177.4 vs. 42.11 ± 52.82 , $p=0.027$) was significantly higher in the grafted area than in the pristine bone.

Conclusion: Osteon™ II is a suitable biomaterial to be used to promote the formation of new bone, not only from the histomorphometric point of view, but also regarding the cellular and vascular quality of the final bone formed.

KEYWORDS: biomaterial, biphasic β -tricalcium phosphate, hydroxyapatite, implant dentistry, maxillary sinus augmentation, sinus lift

INTRODUCCIÓN

La regeneración ósea es un procedimiento diario realizado en odontología. Se han propuesto muchas diferentes familias de biomateriales para lograr los mejores resultados. Estos biomateriales afirman tener una serie de propiedades biológicas para inducir una reparación efectiva de los defectos óseos tratados. El objetivo final es obtener una reparación integral de los tejidos. Entre todos estos biomateriales, el hueso autógeno ha sido preconizado como el estándar de oro porque este biomaterial exhibe todas las propiedades biológicas consideradas como ideales. Sin embargo, la propiedad biológica única compartida por todos los biomateriales es la osteoconducción (Albrektsson y Johansson 2001). De hecho, la osteoconducción es absolutamente necesaria para la aposición ósea, y su papel es clave en la formación ósea en adultos. Los biomateriales aloplásticos se están diseñando en consecuencia y jugarán un papel importante en un futuro cercano. Esta familia de biomateriales se convertirá en un sustituto ideal al no provenir de seres vivos.

Hay muchos tipos de biomateriales aloplásticos. Tradicionalmente, han mostrado condiciones más pobres que otros biomateriales, en términos de reabsorción más rápida y menor inducción de respuestas biológicas, como la ausencia de osteogénesis y osteoinductividad limitada. Entre estos biomateriales sintéticos, los fosfatos de calcio bifásicos se han investigado ampliamente, con resultados prometedores (Ebrahimi et al. 2017). Estos biomateriales consisten en una combinación de hidroxiapatita sintética y fosfato beta-tricálcico (β -TCP) en diferentes proporciones.

La racionalidad de esta combinación se basa en la rápida disolución del β -TCP, para permitir su sustitución por hueso recién formado, combinado con la lenta reabsorción de la hidroxiapatita, para mantener el volumen del área injertada.

Osteon™ II (Dentium, Seúl, Corea del Sur) es un biomaterial aloplástico compuesto por un andamio de hidroxiapatita recubierto con β -TCP. Las concentraciones de estos dos componentes están disponibles en el mercado, mostrando algunas diferencias biológicas. Osteon™ II contiene una concentración de 70% de HA y 30% de β -TCP. Tiene una estructura porosa, que puede acelerar el crecimiento y la maduración del hueso nuevo (Cha et al. 2011). Entre sus propiedades, el tamaño de partícula varía entre 0.5mm y 1.0 mm, con un tamaño de poro entre 300 μ m y 500 μ m; su porosidad se estima en alrededor del 70% con un tamaño de macroporos de 250 μ m. Su cristalinidad es aproximadamente del 97% y un tamaño de cristal de aproximadamente 0.043 μ m (Kim et al. 2013). En algunos estudios previos, Osteon ha demostrado ser un material adecuado para el aumento del seno, basado no solo en el análisis histológico (Kim et al. 2008), sino también clínicamente (Bae et al. 2010). Sin embargo, los datos potencialmente interesantes, como el análisis de la expresión de marcadores particulares, no están disponibles.

La respuesta biológica a los biomateriales se rige por varios marcadores clave, Musashi-1 (gen MSI1) es una proteína de unión a ARN que se ha descrito como un marcador de células estromales mesenquimales. Desinhibe la señalización de Notch favoreciendo la proliferación y diferenciación celular (Messerli et al. 2013). Estudios previos han detectado un aumento en la expresión inmunohistoquímica de Musashi-1 en la reparación mesenquimatosa en la curación ósea (O'Valle et al. 2015) y en la elevación del piso del seno maxilar (Galindo-Moreno et al. 2018; O'Valle et al. 2018).

Por lo tanto, los objetivos de este estudio fueron analizar el comportamiento clínico y radiográfico de este β -TCP bifásico en humanos, utilizando el modelo de seno maxilar (Avila-Ortiz y Galindo-Moreno 2014), para evaluar los componentes histológicos y morfométricos, y analizar la expresión de marcadores de células madre mesenquimales. Los datos histológicos se compararon con los datos obtenidos del hueso cretal prístino dentro de la misma biopsia.

OBJETIVOS

Objetivo General: Evaluar histológicamente e inmunohistoquímicamente el comportamiento del Fosfato tricálcico beta y del hidroxiapatita bifásica en elevaciones de seno maxilar.

Objetivos Específicos:

- Evaluar clínicamente el comportamiento del fosfato tricálcico beta e hidroxiapatita bifásica en humanos.
- Comparar histológicamente la data obtenida del hueso prístino y del injerto óseo en la misma biopsia.
- Comparar morfométricamente las propiedades del biomaterial entre el hueso prístino y el hueso injertado.
- Comparar la expresión de marcadores celulares para las células estromales mesenquimales en el injerto y en el hueso prístino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de Estudio

Este estudio clínico fue aprobado por el Comité Ético para la Investigación en Humanos de la Universidad Científica del Sur (Lima, Perú) (Código: 00015).

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki y los resultados se presentaron de acuerdo con las pautas de PROCESO (Reporte referido de series de casos en cirugía). Se obtuvo un consentimiento informado por escrito de cada paciente antes de iniciar cualquier procedimiento de estudio.

Los pacientes fueron seleccionados de entre los remitidos al Departamento de Implantes de UCSUR (Universidad Científica del Sur, Lima, Perú) para ser sometidos a una elevación del piso del seno maxilar. Todos los pacientes estaban parcial o totalmente desdentados y necesitaban un procedimiento de elevación del suelo sinusal para una futura prótesis con soporte de implantes. El espacio edéntulo distal al canino debía tener una altura de hueso residual inferior a 4 mm. Para ser incluidos, los pacientes debían tener entre 18 y 80 años, no fumadores y estar mental y físicamente sanos. En aquellos pacientes en los que se requirió un aumento de seno bilateral, solo uno se incluyó en el estudio actual.

Los criterios de exclusión fueron: sujetos con problemas médicos (diabetes no controlada, enfermedades del corazón, osteoporosis, etc.), fumadores, pacientes consumidores de alcohol, embarazo, pacientes con sinusitis crónica o aguda, cualquier tipo de patología sinusal detectable en CBCT, enfermedad periodontal no controlada. y el hábito inadecuado de higiene dental, o la presencia de cualquier enfermedad previamente conocida para alterar el metabolismo óseo.

Protocolo Quirúrgico

Se realizó la técnica de ventana lateral para realizar el aumento del seno maxilar que fue realizada por 2 periodoncistas experimentados (AO y GMA). Antes de la cirugía, la infiltración local de anestesia se realizó con clorhidrato de mepivacaína (Scandonest 3%, Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francia).

Se realizó una incisión supracrestal, con incisiones de liberación en el aspecto mesial y distal del área propuesta para acceder al seno y se elevó un colgajo mucoperiostico. Luego se utilizó una fresa redonda de 8 mm de diámetro para realizar el acceso lateral a la cavidad sinusal con una osteotomía de forma ovalada, siguiendo las recomendaciones propuestas por la técnica DASK (Dentium Advanced Sinus Kit, Dentium, Corea del Sur) (Monje et al. 2016).

La membrana sinusal se elevó cuidadosamente para evitar su perforación; después de la elevación de la membrana de Schneridian, se utilizó el biomaterial Osteon II ([HA 70% + BTCP 30%], Dentium) para llenar el espacio creado. Se colocó una membrana absorbible de colágeno (Dentium) en el aspecto bucal del hueso maxilar y se estabilizó con vycryl 4/0 recubierto absorbible (Ethicon, Norderstedt, Alemania).

Se dieron instrucciones médicas postoperatorias a todos los pacientes y se prescribió medicación, tratamiento con antibióticos (amoxicilina 875 mg + ácido clavulánico 125 mg, 1 tableta cada 8 horas durante 7 días). Los pacientes también recibieron medicamentos antiinflamatorios (ibuprofeno 600 mg, comprimidos según sea necesario). Las suturas fueron removidas 14 días después de la cirugía.

Los controles postquirúrgicos se realizaron durante seis meses, en intervalos de 6 a 8 semanas. Después de seis meses de cicatrización, se realizó la cirugía de colocación de implantes.

Se elevó un colgajo de espesor total y en la ubicación del implante según el plan de tratamiento protésico, se utilizó una trefina de 2 mm de diámetro interno / 3 mm externo y se procedió a extraer el núcleo óseo. Esta biopsia ósea se utilizó para el examen histológico del hueso recién formado.

Datos Clínicos Registrados

El sexo, la edad y el tipo de edentulismo se registraron para cada paciente. La presencia de la enfermedad periodontal se determinó mediante la evaluación de la pérdida de inserción clínica (CAL) utilizando una sonda Michigan-O (Hu-Friedy, Chicago, IL, EE. UU.). Los pacientes parcialmente edéntulos que presentaron al menos 3 sitios en dientes no adyacentes con pérdida de inserción clínica (CAL) ≥ 3 mm (excluyendo los terceros molares) se clasificaron como parte del grupo de periodontitis (Tonetti y Claffey 2005).

El edentulismo se consideró en dos categorías, de acuerdo con los pacientes que presentaban al menos un diente posterior, excluyendo los terceros molares fueron considerados como parcialmente edéntulos, o si no tienen dientes en absoluto fueron considerados como edéntulos completos.

Todos estos datos fueron recolectados en forma estandarizada, durante la cita de selección.

Análisis Histopatológico

Para la morfología convencional, los núcleos óseos se fijaron inmediatamente en formalina tamponada al 10% durante 48 horas a temperatura ambiente. Luego se descalcificaron durante 24 horas a 37°C (Decalcifier I®, Surgipath Europe Ltd., Peterborough, Reino Unido), se deshidrataron y se embebieron en parafina en un procesador automático de tejidos (Thermo Scientific Excelsior AS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EE. UU) y seccionado. Luego se desparafinaron en xilol (3 pases de 5 minutos) y se rehidrataron en etanol mediante una degradación decreciente (absoluta, 96% y 70%, 2 pases de 3 min, respectivamente).

Las secciones de tejido se tiñeron con hematoxilina - eosina, y tricrómico de Masson. El estudio morfológico se realizó en secciones de 4 micrómetros con microscopía óptica BX42 (Olympus Optical Company, Ltd., Tokio, Japón), utilizando el objetivo 40x en un microscopio con una escala adjunta (BH2, Olympus Optical Company), El número de osteoblastos, osteoclastos, osteocitos y vasos sanguíneos; se cuantificó por mm². La cuantificación histomorfométrica se realizó semiautomáticamente utilizando la tinción tricrómica de Masson. Se capturaron 10 imágenes aleatorias de cada muestra con un objetivo 10x en un microscopio con una cámara digital conectada (DP70, Olympus Optical Company). Luego se analizaron las imágenes con el software ImageJ (NIH, <http://imagej.nih.gov/ij/>) para cuantificar el porcentaje de tejido mineralizado nuevo, partículas de biomaterial remanente y tejido no mineralizado.

Análisis Inmunohistoquímico

Las secciones rehidratadas de 4 micrómetros también se trataron de manera térmica en un módulo de tratamiento previo (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EE. UU.) que contenía un tampón de EDTA 1 mM (pH 8) a 95°C durante 20 minutos. Luego se aplicó un anticuerpo policlonal primario contra Musashi-1 (MSI1) y se incubó a una dilución de 1: 100 durante 1 hora a temperatura ambiente. Se usó una IgG no inmunoespecífica como control negativo. Todos los anticuerpos se obtuvieron de Master Diagnóstica (Granada, España). La inmunotinción se desarrolló en un inmunotintor automático (Autostainer480S, Thermo Fisher Scientific Inc.) utilizando un micropolímero conjugado con peroxidasa y diaminobenzidina (Master Diagnóstica).

Luego se evaluó cuantitativamente la inmunopositividad del tejido óseo y no mineralizado (osteocitos, osteoblastos, osteoclastos, células mesenquimales y fibroblastos) por mm².

Análisis Estadístico

Para los análisis se utilizó IBM SPSS-Windows 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Los resultados se registraron de forma independiente para el área del hueso regenerado y para el hueso cresta nativo preexistente. Los datos se presentan como media \pm desviación estándar para variables continuas y como porcentaje (frecuencia) para datos categóricos. Las variables de resultado primarias fueron las relacionadas con el análisis histomorfométrico. Las variables de resultado secundarias incluyeron la celularidad de las áreas injertadas y no injertadas, la expresión de musashi-1 y los datos radiográficos y clínicos. Se usó la prueba de Wilcoxon no paramétrica para comparar variables morfológicas e histomorfométricas relacionadas. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando los valores de p estaban por debajo de 0,05.

RESULTADOS

Diez pacientes sanos (5 hombres, 5 mujeres) con una edad media de 63.5 (mín. 49 a máx. 74). El 50% de los pacientes eran parcialmente edéntulos y el 50% eran totalmente edéntulos. Todas las cirugías se realizaron y evolucionaron sin incidentes.

La cresta alveolar remanente (RAC) inicial medida por CBCT mostró una altura ósea residual media global de 3.02 ± 0.85 mm. La altura media final del hueso vertical (BVH) después de 6 meses de cicatrización fue de $11,05 \pm 1,35$ mm. De este modo, se logró una media de elevación sinusal de 8.03 ± 1.72 mm.

El estudio morfológico del hueso nativo mostró un hueso cortical y trabecular normal (área = $46.01 \pm 7.35\%$) con baja actividad de remodelado.

El estroma medular (área = $53,99 \pm 7,35\%$) estaba compuesto principalmente por adipocitos con pocos fibroblastos, componentes hematopoyéticos y linfoides escasos (Figura 1). Áreas injertadas presentan nuevo tejido mineralizado. (area= $34.93 \pm 14.68\%$).

Las diferencias con los resultados obtenidos en el hueso prístino no fueron estadísticamente significativas. La presencia de partículas de biomaterial remanentes (área = $9.82 \pm 11.42\%$) se observó como imagen latente debido al proceso de descalcificación tisular. El tejido no mineralizado (área = $55.23 \pm 11.03\%$) estaba constituido principalmente por un número importante de células de tipo fibroblástico, contenidas en un tejido no mineralizado altamente denso y altamente vascularizado. Se encontraron adipocitos maduros en el estroma medular en algunas áreas (Tabla 1).

Histológicamente, en comparación con el hueso prístino, aunque no es estadísticamente significativo, el número de osteocitos por mm^2 fue mayor en el hueso prístino (235.30 ± 99.77 versus 134.67 ± 111.07 , prístino vs. injertado, respectivamente; $p = 0.674$, prueba de Wilcoxon). Sin embargo, el número de osteoblastos (9.83 ± 15.33 vs. 30.86 ± 31.04 , prístino vs. injertado, respectivamente; $p = 0.893$, prueba de Wilcoxon) por mm^2 fue mayor en el hueso injertado que en la cresta alveolar prístina remanente. El número de vasos por mm^2 también fue mayor en las áreas injertadas (25.62 ± 19.72 frente a 30.07 ± 28.21 , prístino vs. injertada, respectivamente; $p =$ prueba de Wilcoxon de 0.894). Curiosamente, el número de osteoclastos por mm^2 (5.37 ± 16.12 vs. 15.57 ± 27.50 , prístino vs. injertado, respectivamente; $p = 0.027$, prueba de Wilcoxon) fue significativamente mayor en el hueso injertado que en la cresta alveolar prístina remanente, que refleja el proceso de remodelación en respuesta al injerto (Tabla 2).

Las células mesenquimales del compartimento no mineralizado del hueso nativo mostraron una expresión nuclear débil de MSI1. En contraste, se detectó una alta intensidad nuclear en células de tipo fibroblástico en biopsias de sitios injertados (Figura 2).

De hecho, el número de células fibroblásticas positivas para MSI1 fue significativamente mayor en el área injertada que en el hueso prístino (239.61 ± 177.4 vs. 42.11 ± 52.82 células / mm^2 , injertado versus prístino) respectivamente; $p = 0,027$, prueba de Wilcoxon). Además, la detección de MSI1 en osteocitos, osteoblastos y osteoclastos también fue mayor en las biopsias obtenidas de áreas injertadas (Tabla 3).

DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue analizar el comportamiento del fosfato bifásico tri-calcio en humanos, utilizando el seno maxilar como modelo clínico para estudiar la regeneración de tejidos. Hemos presentado los resultados de los análisis morfométricos, como también lo habían hecho estudios anteriores (Kim et al. 2008; Bae et al. 2010; Cha et al. 2011). Además, también se presentan por primera vez los datos histológicos, con respecto a la vascularidad y la celularidad, y la detección inmunohistológica de la expresión de importantes marcadores osteogénicos. Estos datos no se han descrito previamente en relación con este biomaterial ni en comparación con el hueso prístino ubicado en la misma área del maxilar.

En este estudio, después de 6 meses de consolidación del injerto, observamos $34.93 \pm 14.68\%$ de tejido mineralizado, $55.23 \pm 11.03\%$ de tejido no mineralizado y $9.82 \pm 11.42\%$ de biomaterial remanente en el área injertada. Por lo que sabemos, esta es la primera descripción histomorfométrica de este biomaterial aloplásico en humanos. Aunque existen algunos otros estudios con Osteon™ II en el aumento de senos en humanos (Kim et al. 2008; Bae et al. 2010; Cha et al. 2011), esos autores no analizaron los resultados desde el punto de vista histopatológico.

Nevins y colaboradores informaron un porcentaje promedio de hueso vital de $46.6 \pm 5.5\%$ al que el presente estudio prefiere referirse como tejido mineralizado (Galindo-Moreno et al. 2018)) y un promedio de hueso remanente injertado de $10.4 \pm 2.0\%$ y no se describió el porcentaje de tejido no mineralizado de hueso autólogo en su estudio. Adicionalmente este estudio fue llevado a cabo en perros con un tiempo de cicatrización de solo 3 meses y los defectos fueron creados en crestas óseas. Aunque nuestros hallazgos están de acuerdo con el efecto esperado de este biomaterial en la elevación de seno, no están en total concordancia con otros estudios en los cuales usan la misma familia de biomateriales, Los aumentos del seno maxilar con un sustituto óseo bifásico (Maxresorb®, Botiss Biomaterials, Berlín, Alemania) mostraron un promedio de $36.16 \pm 9.37\%$ de matriz ósea nueva, $30.26 \pm 11.7\%$ de biomaterial residual y $34.29 \pm 18.32\%$ de tejido mineralizado (Jelusic et al., 2017). Ohayon descubrió, después de injertar 10 senos con un fosfato de calcio bifásico (Bone Ceramic, Straumann, Basilea, Suiza), que la composición media de las muestras recolectadas de las áreas injertadas era $26.1 \pm 6.3\%$ de hueso recién formado, $29.3 \pm 9.1\%$ de partículas de biomaterial restantes y $44.7 \pm 7.7\%$ de tejido no mineralizado (Ohayon, 2014). El mismo autor describió, en un estudio posterior, una evaluación histomorfométrica de siete senos injertados con el mismo biomaterial que muestra valores medios similares: $27.4 \pm 4.6\%$ de tejido mineralizado nuevo, $26.9 \pm 5.4\%$ de las partículas remanentes de biomaterial y $45.7 \pm 6.0\%$ de tejido no mineralizado (Ohayon, Taschieri, Corbella y Fabbro, 2016). Las diferencias observadas entre diferentes biomateriales, incluso dentro de la misma familia, pueden explicarse por diferentes razones: (a). Fabricado con diferentes procedimientos (Cao et al., 2008; Gao, Zhuang, Li, Shuai y Peng, 2014; Monje et al., 2017; Nevins et al., 2013); (b). Las características clínicas de los hábitos del paciente y las variables demográficas, enfermedades como la periodontitis, pueden influir en el resultado histológico final de nuestros estudios.

Galindo - Moreno y colaboradores demostraron que la edad, el sexo, el consumo de alcohol y tabaco o la ausencia de dientes debido a antecedentes previos de periodontitis pueden estar asociados a la cantidad final de tejido mineralizado en el área injertada (Galindo - Moreno et al., 2012) (c) La técnica quirúrgica utilizada para acceder a la elevación del seno maxilar. así como a las características anatómicas específicas del seno (Avila et al., 2010; Monje et al., 2014; Velasco - Torres et al., 2016, 2017). Aunque nuestros resultados histomorfométricos difieren ligeramente de los obtenidos con otros materiales aloplásticos bifásicos, pueden considerarse normales en el contexto biológico de la elevación del piso del seno maxilar. En el presente estudio, obtuvimos $34.93 \pm 14.68\%$ de tejido mineralizado y $55.23 \pm 11.03\%$ de tejido no mineralizado. Entre otros factores, la formación ósea depende de la función y de la genética, teniendo en cuenta que es el paciente es quien forma el hueso y no el biomaterial. En consecuencia, es importante comprender que el mismo biomaterial promoverá la formación de diferentes proporciones de tejidos en el mismo paciente, de acuerdo con la ubicación donde se coloca. Mediante el análisis histomorfométrico, el hueso prístino maxilar, obtenido por trefina, ha demostrado, en otros estudios, valores medios de hueso nativo de aproximadamente $51.2 \pm 8.1\%$, mientras que el tejido mineralizado se encontró en una proporción menor pero similar ($45.7 \pm 7.9\%$) (Galindo- Moreno, Moreno - Riestra et al., 2010). Lindhe y colaboradores demostraron una proporción similar de hueso laminar en el área del maxilar posterior, $47.4 \pm 1.8\%$ (Lindhe et al., 2013). Sin embargo, el uso de biomateriales disminuye este potencial de tejido mineralizado, debido a la persistencia del biomaterial remanente. Para comprender esta idea, es importante conocer la dinámica de la formación ósea después del injerto (Busenlechner et al., 2009). Otros investigadores que utilizan diferentes biomateriales en la misma ubicación que el estudio actual han informado una proporción similar de tejido mineralizado nuevo.

Por ejemplo, el hueso bovino anorgánico (Bio - Oss®) ha revelado un porcentaje similar de tejido mineralizado en varios estudios $34.88 \pm 15.2\%$ (Galindo - Moreno, Padial - Molina et al., 2010), o $34.50 \pm 3.18\%$ (Galindo - Moreno et al., 2018). Estos resultados no dependen de la proporción de los componentes compuestos y la proporción de biomateriales. La proporción media de hueso vital fue $36 \pm 9.44\%$ para una proporción de 20% de hueso autólogo y 80% de xenoinjerto, mientras que la proporción media de hueso vital para una proporción de 50% de hueso autólogo y 50% de xenoinjerto fue $37.38 \pm 17.46\%$ (Galindo - Moreno et al., 2011).

Estos datos son similares a los reportados por Hallman y colaboradores, utilizando el mismo biomaterial, con un porcentaje bastante similar de tejido mineralizado nuevo, $(39.9 \pm 8\%)$ (relación 20% autóloga: 80% de xenoinjerto) (Hallman et al. 2002) . Otros biomateriales, como los aloinjertos, muestran el mismo comportamiento. Un estudio reciente ha demostrado un valor promedio de $39.54 \pm 0.05\%$ de tejido mineralizado para aloinjerto humano deshidratado con solvente (Puros®) y $31.96 \pm 0.08\%$ de tejido mineralizado para aloinjerto humano liofilizado (Minero-Oss®) (Monje et al. 2017). Estos datos nos permiten afirmar que Osteon™ II puede considerarse como un biomaterial adecuado para contribuir a la formación ósea en humanos.

La formación ósea se correlaciona con el número y la distribución de los vasos en el tejido no mineralizado (Galindo-Moreno et al. 2010b).

La presencia del biomaterial bifásico propuesto promovió una formación de densidad microvascular de alrededor de 30 vasos por mm^2 , que es altamente similar a los 25.6 vasos por mm^2 en el hueso nativo. Esta presencia vascular en el área injertada es similar a la reportada para el fosfato de calcio (31.8 ± 1.9 vaso / mm^2) o la hidroxiapatita (29.2 ± 3.0 vaso / mm^2) en otros estudios (Boëck-Neto et al. 2009).

La mayor actividad de remodelación en el área injertada también se explica por la resorción marcada de este biomaterial. El número de osteoclastos fue significativamente mayor ($p = 0.027$) en el área injertada (15.57 ± 27.50 células / mm^2) en comparación con el hueso nativo (5.37 ± 16.12 células / mm^2). En perspectiva, Osteon™ II desaparece más rápido que otros materiales bifásicos. Nuestro biomaterial remanente promedio es de $9.82 \pm 11.42\%$, similar a los datos presentados por Nevins y colaboradores en su estudio en perros ($10.4 \pm 2.0\%$) (Nevins et al. 2013). Sin embargo, Jelusic y colaboradores reportaron la presencia de $32.66 \pm 12.57\%$ de bifásicos Biomaterial en sus muestras después del mismo tiempo de maduración (Jelusic et al. 2017). De manera similar, se han observado $26.9 \pm 5.4\%$ y $29.3 \pm 9.1\%$ de las partículas bifásicas restantes de fosfato de calcio en estudios similares (Ohayon 2014; Ohayon et al. 2016). Más recientemente, Flichy-Fernández encontró una persistencia de $22.0 \pm 17.26\%$ de un biomaterial de fosfato de calcio bifásico similar .

En los procesos descritos, la reparación y la consolidación del área injertada, las células estromales mesenquimáticas jugarán un papel fundamental. Así, en nuestro estudio, analizamos la expresión de algunos marcadores importantes de este aspecto. Encontramos un número estadísticamente significativo de células mesenquimáticas positivas para MSII por mm^2 en el tejido no mineralizado del área injertada versus las células en el hueso del área prístina (239.61 ± 177.4 vs. 42.11 ± 52.82 células / mm^2 ; $p = 0.027$).

MSII ha sido reportado como un marcador de células del estroma mesenquimatoso con potencial de diferenciación neural (Messerli et al. 2013). O'Valle y sus colaboradores habían evidenciado el papel de MSII en las células óseas (O'Valle et al. 2015). De hecho, habíamos propuesto el uso de este marcador para estudiar la regeneración ósea (Padial-Molina et al. 2015). La presencia de aún más células positivas para MSII en hueso injertado en humanos también se ha informado previamente para otros biomateriales.

Galindo-Moreno y sus colaboradores encontraron un mayor número de células MSI-1 positivas por mm^2 en los injertos de xenoinjerto y compuestos de aloinjerto (291.70 ± 64.18 y 169.11 ± 142.62 , respectivamente) (Galindo-Moreno et al. 2018). En contraste con el estudio actual, esos injertos contenían el 50% de hueso autógeno, lo que podría explicar estas diferencias. Como consecuencia, nuestros resultados indican que el área injertada, después de 6 meses de cicatrización, aún se encuentra en remodelación. Por lo tanto, podría esperarse más tejido mineralizado en el área donde se colocan los implantes porque el tejido tiene un alto potencial para hacerlo.

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones. El tamaño de la muestra es limitado, pero está de acuerdo con muchos de los manuscritos publicados sobre el tema. Realizamos un cálculo de potencia post-hoc y obtuvimos un 92,62% de la potencia alcanzada, lo que puede justificar la superación de esta limitación. Además, se podría realizar un análisis más detallado de la importancia de diferentes proteínas o estos análisis a través de otras tecnologías. De hecho, se están realizando algunos esfuerzos para mejorar nuestra comprensión de los eventos biológicos que ocurren en los injertos colocados en nuestros pacientes.

CONCLUSIÓN

Osteon™ II es un biomaterial adecuado para ser utilizado en la formación de hueso nuevo en procedimientos de elevación del piso sinusal en humanos, no solo desde el punto de vista histomorfométrico, sino también con respecto a la calidad celular y vascular del hueso regenerado.

REFERENCIAS

1. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* [Internet]. 2001 Oct 1 [cited 2018 Apr 5];10(0):S96–101. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11716023>
2. Ebrahimi M, Botelho MG, Dorozhkin S V. Biphasic calcium phosphates bioceramics (HA/TCP): Concept, physicochemical properties and the impact of standardization of study protocols in biomaterials research [Internet]. Vol. 71, *Materials Science and Engineering C*. 2017 [cited 2018 Apr 5]. p. 1293–312. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27987685>
3. Cha J-K, Park J-C, Jung U-W, Kim C-S, Cho K-S, Choi S-H. Case series of maxillary sinus augmentation with biphasic calcium phosphate: a clinical and radiographic study. *J Periodontal Implant Sci* [Internet]. 2011 [cited 2018 Apr 3];41(2):98. Available from: <https://synapse.koreamed.org/DOIX.php?id=10.5051/jpis.2011.41.2.98>
4. Kim DM, Nevins ML, Lin Z, Fateh A, Kim S-W, Schupbach P, et al. The clinical and histologic outcome of dental implant in large ridge defect regenerated with alloplast: a randomized controlled preclinical trial. *J Oral Implantol* [Internet]. 2013 Apr 23 [cited 2018 Apr 3];39(2):148–53. Available from: <http://www.joionline.org/doi/abs/10.1563/AAID-JOI-D-12-00242>
5. Kim YK, Yun PY, Lim SC, Kim SG, Lee HJ, Ong JL. Clinical evaluations of OSTEON as a new alloplastic material in sinus bone grafting and its effect on bone healing. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater* [Internet]. 2008 Jul [cited 2018 Apr 3];86(1):270–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18161818>

6. Bae JH, Kim YK, Kim SG, Yun PY, Kim JS. Sinus bone graft using new alloplastic bone graft material (Osteon)-II: clinical evaluation. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2010 Mar [cited 2018 Apr 3];109(3):e14–20. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1079210409008415>

7. Messerli M, Wagner A, Sager R, Mueller M, Baumann M, Surbek D V., et al. Stem cells from umbilical cord Wharton’s jelly from preterm birth have neuroglial differentiation potential. *Reprod Sci* [Internet]. 2013 Dec 13 [cited 2018 Apr 3];20(12):1455–64. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1933719113488443>

8. O’Valle F, Peregrina M, Crespo-Lora V, Galindo-Moreno P, Roman M, Padial-Molina M, et al. Osteoarticular expression of Musashi-1 in an experimental model of arthritis. *Biomed Res Int*. 2015;2015:681456.

9. O’Valle F, de Buitrago JG, Hernández-Cortés P, Padial-Molina M, Crespo-Lora V, Cobo M, et al. Increased expression of Musashi-1 evidences mesenchymal repair in maxillary sinus floor elevation. *Sci Rep* [Internet]. 2018 Aug 16 [cited 2018 Sep 21];8(1):12243. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-29908-3>

10. Galindo-Moreno P, de Buitrago JG, Padial-Molina M, Fernández-Barbero JE, Ata-Ali J, O’Valle F, et al. Histopathological comparison of healing after maxillary sinus augmentation using xenograft mixed with autogenous bone versus allograft mixed with autogenous bone. *Clin Oral Implants Res*. 2018 Feb;29(2):192–201.

11. Avila-Ortiz G, Galindo-Moreno P. Study Protocols: Maxillary sinus floor elevation. In: GmbH QV, editor. *Osteology Guidelines for Oral & Maxillofacial Regeneration: Clinical Research*. 1st ed. 2014. p. 247–62.
12. Monje A, Monje-Gil F, Burgueno M, Gonzalez-Garcia R, Galindo-Moreno P, Wang H-L. Incidence of and factors associated with sinus membrane perforation during maxillary sinus augmentation using the reamer drilling approach: a double-center case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* [Internet]. 2016 [cited 2018 Apr 3];36(4):549–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27333013>
13. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research: Group C Consensus report of the 5th European workshop in periodontology. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2005 Oct [cited 2018 Apr 3];32(SUPPL. 6):210–3. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-051X.2005.00822.x>
14. Nevins M, Nevins ML, Schupbach P, Kim S-W, Lin Z, Kim DM. A prospective, randomized controlled preclinical trial to evaluate different formulations of biphasic calcium phosphate in combination with a hydroxyapatite collagen membrane to reconstruct deficient alveolar ridges. *J Oral Implantol* [Internet]. 2013 Apr 23 [cited 2018 Apr 3];39(2):133–9. Available from: <http://www.joionline.org/doi/abs/10.1563/AAID-JOI-D-12-00185>
15. Jelusic D, Zirk ML, Fienitz T, Plancak D, Puhar I, Rothamel D. Monophasic β -TCP vs. biphasic HA/ β -TCP in two-stage sinus floor augmentation procedures – a prospective randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2018 Apr 3];28(10):e175–83. Available from:

<http://doi.wiley.com/10.1111/clr.12983>

16. Ohayon L. Maxillary sinus floor augmentation using biphasic calcium phosphate: a histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants* [Internet]. 2014 Sep 19 [cited 2018 Apr 3];29(5):1143–8. Available from: http://www.quintpub.com/journals/omi/abstract.php?article_id=14731#.VCWivBavueU

17. Ohayon L, Taschieri S, Corbella S, Del Fabbro M. Maxillary sinus floor augmentation using biphasic calcium phosphate and a hydrogel polyethylene glycol covering membrane: an histological and histomorphometric evaluation. *Implant Dent* [Internet]. 2016 Oct [cited 2018 Apr 3];25(5):599–605. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27548109>

18. Monje A, O’Valle F, Monje-Gil F, Ortega-Oller I, Mesa F, Wang H-L, et al. Cellular, vascular, and histomorphometric outcomes of solvent-dehydrated vs freeze-dried allogeneic graft for maxillary sinus augmentation: a randomized case series. *Int J Oral Maxillofac Implants* [Internet]. 2017 Jan [cited 2018 Apr 3];32(1):121–7. Available from: http://quintpub.com/journals/omi/abstract.php?iss2_id=1422&article_id=16970&article=16&title=Cellular, Vascular, and Histomorphometric Outcomes of Solvent-Dehydrated vs Freeze-Dried Allogeneic Graft for Maxillary Sinus Augmentation: A Randomized Case Seri

19. Cao B, Zhou D, Xue M, Li G, Yang W, Long Q, et al. Study on surface modification of porous apatite-wollastonite bioactive glass ceramic scaffold. *Appl Surf Sci* [Internet]. 2008 Nov 15 [cited 2018 Apr 3];255(2):505–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433208015109>

20. Gao C, Zhuang J, Li P, Shuai C, Peng S. Preparation of micro/nanometer-sized

- porous surface structure of calcium phosphate scaffolds and the influence on biocompatibility. *J Mater Res* [Internet]. 2014 [cited 2018 Apr 3];29(10):1144–52. Available from: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/19D4D9616C28CA2A24198B72AACF3AC9/S0884291414001009a.pdf/div-class-title-preparation-of-micro-nanometer-sized-porous-surface-structure-of-calcium-phosphate-scaffolds-and-the-influence->
21. Galindo-Moreno P, Moreno-Riestra I, Ávila-Ortiz G, Padial-Molina M, Gallas-Torreira M, Sánchez-Fernández E, et al. Predictive factors for maxillary sinus augmentation outcomes: A case series analysis. *Implant Dent*. 2012;21(5):433–40.
 22. Avila G, Wang H-L, Galindo-Moreno P, Misch CE, Bagramian RA, Rudek I, et al. The influence of the bucco-palatal distance on sinus augmentation outcomes. *J Periodontol* [Internet]. 2010 Jul [cited 2018 Apr 3];81(7):1041–50. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1902/jop.2010.090686>
 23. Monje A, Catena A, Monje F, Gonzalez-García R, Galindo-Moreno P, Suarez F, et al. Maxillary sinus lateral wall thickness and morphologic patterns in the atrophic posterior maxilla. *J Periodontol* [Internet]. 2014 May [cited 2018 Apr 3];85(5):676–82. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1902/jop.2013.130392>
 24. Velasco-Torres M, Padial-Molina M, Alarcón JA, O’Valle F, Catena A, Galindo-Moreno P. Maxillary sinus dimensions with respect to the posterior superior alveolar artery decrease with tooth loss. *Implant Dent*. 2016;25(4):464–70.
 25. Velasco-Torres M, Padial-Molina M, Avila-Ortiz G, García-Delgado R, O’Valle F, Catena A, et al. Maxillary sinus dimensions decrease as age and tooth loss increase. *Implant Dent*. 2017;26(2):288–95.
 26. Galindo-Moreno P, Moreno-Riestra I, Ávila G, Fernández-Barbero JE, Mesa F, Aguilar M, et al. Histomorphometric comparison of maxillary pristine bone and

- composite bone graft biopsies obtained after sinus augmentation. *Clin Oral Implants Res* [Internet]. 2010 Jan [cited 2018 Apr 3];21(1):122–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19845707>
27. Lindhe J, Bressan E, Cecchinato D, Corrá E, Toia M, Liljenberg B. Bone tissue in different parts of the edentulous maxilla and mandible. *Clin Oral Implants Res* [Internet]. 2013 Apr [cited 2018 Apr 3];24(4):372–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/clar.12064>
 28. Busenlechner D, Huber CD, Vasak C, Dobsak A, Gruber R, Watzek G. Sinus augmentation analysis revised: the gradient of graft consolidation. *Clin Oral Implants Res* [Internet]. 2009 Oct [cited 2018 Apr 6];20(10):1078–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19519790>
 29. Galindo-Moreno P, Padial-Molina M, Fernández-Barbero JE, Mesa F, Rodríguez-Martínez D, O’Valle F. Optimal microvessel density from composite graft of autogenous maxillary cortical bone and anorganic bovine bone in sinus augmentation: Influence of clinical variables. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(2):221–7.
 30. Galindo-Moreno P, Moreno-Riestra I, Avila G, Padial-Molina M, Paya JA, Wang HL, et al. Effect of anorganic bovine bone to autogenous cortical bone ratio upon bone remodeling patterns following maxillary sinus augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2011;22(8):857–64.
 31. Hallman M, Sennerby L, Lundgren S. A clinical and histologic evaluation of implant integration in the posterior maxilla after sinus floor augmentation with autogenous bone, bovine hydroxyapatite, or a 20:80 mixture. *Int J Oral Maxillofac Implants* [Internet]. 2002 Sep;17(5):635–43. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ddh&AN=36846147&sit>

e=eds-live

32. Boëck-Neto R, Artese L, Piattelli A, Shibli J, Perrotti V, Piccirilli M, et al. VEGF and MVD expression in sinus augmentation with autologous bone and several graft materials. *Oral Dis* [Internet]. 2009 Mar 1 [cited 2018 Apr 5];15(2):148–54. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1601-0825.2008.01502.x>
33. Flichy-Fernández AJ, Blaya-Tárraga JA, O’Valle F, Padial-Molina M, Peñarrocha-Diago M, Galindo-Moreno P. Sinus floor elevation using particulate PLGA-coated biphasic calcium phosphate bone graft substitutes: A prospective histological and radiological study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019;Accepted.
34. Padial-Molina M, O’Valle F, Lanis A, Mesa F, Dohan Ehrenfest DM, Wang H-L, et al. Clinical application of mesenchymal stem cells and novel supportive therapies for oral bone regeneration. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015 [cited 2018 Apr 5];2015:341327. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/341327/>

ANEXOS

TABLAS

Table 1: Porcentual area of the different tissue compartments analyzed in the morphological study. Data expressed as Mean \pm SD.

	Pristine bone	Grafted bone
Mineralized tissue (%)	46.01 \pm 7.35	34.93 \pm 14.68*
Non-mineralized tissue (%)	53.99 \pm 7.35	55.23 \pm 11.03**
Remnant biomaterial (%)	NA	9.82 \pm 11.42

*p=0.312, **p=0.953 (Wilcoxon test).

Table 2: Number of cells and vessels per mm². Data expressed as Mean \pm SD.

	Pristine bone	Grafted bone	P values (Wilcoxon test)
Osteocytes	235.30 \pm 99.77	134.67 \pm 111.07	0.674
Osteoblasts	9.83 \pm 15.33	30.86 \pm 31.04	0.893
Osteoclasts	5.37 \pm 16.12	15.57 \pm 27.50	0.027
Vessels	25.62 \pm 19.72	30.07 \pm 28.21	0.894

Table 3: Number of Musashi-1 positive cells per mm². Data expressed as Mean ± SD.

	Pristine bone	Grafted bone	P values (Wilcoxon test)
Mesenchymal cells	42.11 ± 52.82	239.61 ± 177.4	0.027
Osteocytes	47.47 ± 58.60	96.06 ± 33.30	0.068
Osteoblasts	14.32 ± 15.06	40.70 ± 22.77	0.066
Osteoclasts	0.0 ± 0.0	2.29 ± 4.21	0.317

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Panoramic microphotography of trephine biopsy from maxillary sinus lift with Osteon. A) Note the morphology of the pristine bone in comparison with the grafted area. B) The same microphotography with fluorescent light we can observe in yellow the bone trabecules in both areas of the biopsy. (Hematoxylin-eosin original magnification x0.2).

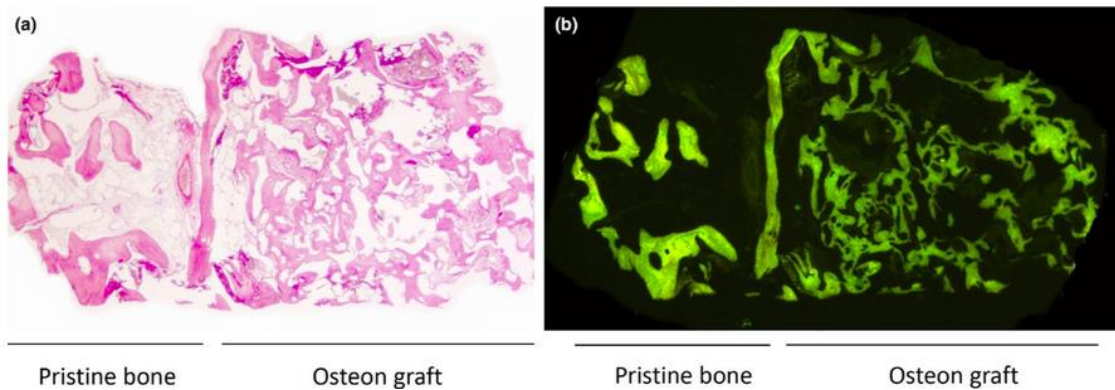


Figure 2: Detection of MSI1 in pristine bone (A) in comparison with grafted bone (B). Note the higher detection in mesenchymal cells in medullar stroma and osteoblasts in the grafted area (Micropolymer-peroxidase-based method, original magnification x20) (bar: 100 micrometers).

