

## Índice

I.	Resumen.....	1
II.	Introducción.....	3
2.1.	Definición del problema.....	3
III.	Antecedentes.....	6
3.1.	Historia de la rehabilitación bucal .....	6
3.2.	Regeneración ósea.....	7
3.3.	Regeneración ósea guiada (ROG).....	11
3.4.	Membranas reabsorbibles.....	13
3.4.1.	Membranas de colágeno .....	13
3.4.2.	Membranas biodegradables sintéticas.....	14
3.5.	Pericardio bovino.....	15
3.6.	Bio-compatibilidad.....	18
3.6.1.	Tratamientos para favorecer la biocompatibilidad de la membrana de PB.....	21
3.6.1.1.	Tratamientos de descelularización. ....	21
3.6.1.2.	Métodos físicos.....	21
3.6.1.3.	Métodos químicos.....	22
3.6.1.4.	Detergentes.....	23
3.6.1.5.	Método enzimático.....	24
3.6.2.	Tratamiento de fijación.....	25
3.6.2.1.	Glutaraldehído.....	25
3.7.	Histomorfometría.....	26
IV.	Objetivos.....	29
4.1.	Objetivo general.....	29
4.2.	Objetivos específicos.....	29
4.2.1.	Obtener membranas de pericardio bovino con tritón X-100 colagenasa tipo I y glutaraldehído (PBGA).....	29

4.2.2. Determinar la biocompatibilidad clínica de la membrana de pericardio bovino modificado, en ratas hembra de la cepa Wistar.....	29
4.2.3. Determinar los cambios histológicos en la membrana de pericardio bovino modificado y su entorno en ratas hembras de la cepa Wistar.....	29
4.2.4. Comparar mediante Histomorfometría el grado de cierre y óseo-formación de la membrana de PBGA contra la MCOG y el grupo SM a lo largo de 9 semanas con mediciones cada tercera.....	29
V. Hipótesis.....	30
VI. Material y Métodos.....	31
6.1. Tipo y diseño del estudio, universo, muestra.....	31
6.2. Elaboración de la membrana de PBGA.....	32
6.2.1. Obtención del pericardio bovino (PB).....	32
6.2.2. Tratamiento con surfactante no iónico.....	33
6.2.3. Degradación química con colagenasa tipo I ( <i>Clostridium histolyticum</i> ).....	33
6.2.4. Entrecruzamiento con glutaraldehído (GA).....	34
6.3. Biocompatibilidad de las membranas en ratas Wistar.....	34
6.3.1. Experimento 1. Estudio de biocompatibilidad <i>in vivo</i> .....	34
6.3.2. Experimento 2. Evaluación histológica de las membranas de PBGA.....	36
6.3.3. Experimento 3. Evaluación de la regeneración ósea guiada.....	37
6.3.3.1. Evolución postquirúrgica.....	39
6.3.3.2. Eutanasia.....	40
6.3.3.3. Obtención de la muestra.....	40
6.4. Análisis Histomorfométrico.....	41
6.4.1. Maceración, preparación y deshidratación de la muestra.....	41

6.4.2. Histomorfometría (Etiquetado de las muestras histológicas).....	43
6.4.3. Técnica de preparación (encapsulamiento de la muestra).....	44
6.5. Microanálisis.....	47
6.6. Espectrometría de infrarrojos.....	48
6.7. Plan de procesamiento de datos y presentación de resultados.....	48
VII. Resultados.....	49
7.1. Obtención de la membrana de pericardio bovino (PBGA).....	49
7.2. Experimento 1. Bio-compatibilidad. Inspección visual (cualitativa)....	49
7.3. Experimento 2. Bio-compatibilidad. (Histología).....	51
7.3.1. Descripción histológica.....	52
7.4. Experimento 4. Resultados de la histomorfometría.....	54
7.4.1. Resultados histomorfométricos del grupo control SM 3, 6 y 9 semanas.....	55
7.4.2. Resultados histomorfométricos del grupo MCOG 3, 6 y 9 semanas.....	57
7.4.3. Resultados histomorfométricos del grupo PBGA 3,6 y 9 semanas.....	59
7.5. Cuantificación de calcio (Ca) y fósforo (P) mediante microanálisis elemental (EDS).....	64
7.5.1. Análisis de ANOVA.....	66
7.6. Análisis por infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	67
VIII. Discusión.....	71
IX. Conclusiones.....	76
X. Recomendaciones y perspectivas.....	77
XI. Referencias bibliográficas.....	78
XII. Anexos.....	90

## Índice de cuadros y figuras

Cuadro 1. Signos clínicos post-sacrificio.....	36
Cuadro 2. Abundancia de células representada por el número de cruces.....	37
Cuadro 3. Serie de deshidratación de las muestras histológicas.....	43
Cuadro 4. Células inflamatorias y elementos de cicatrización.....	53
Cuadro 5. Observaciones adicionales a la descripción histomorfométricas de las laminillas.....	62
Cuadro 6 A. Grado de cierre de la osteotomía de la tabla ósea externa hasta la interna, grupo SM.....	62
Cuadro 6 B. Grado de cierre de la osteotomía de la tabla ósea externa hasta la interna, grupo MCOG.....	63
Cuadro 6 C. Grado de cierre de la osteotomía de la tabla ósea externa hasta la interna, grupo PBGA.....	63
Cuadro 7A. Concentración de $\text{Ca}^{2+}$ en el hueso trepanado contra el hueso nativo.....	65
Cuadro 7B. Concentración de P en el hueso trepanado contra el hueso nativo.....	66
Cuadro 7C. Relación Ca/P comparando el hueso trepanado contra el hueso nativo.....	66
Figura 1. Maduración del hueso y sus componentes.....	8
Figura 2. Posición de la osteotomía sobre el hueso parietal izquierdo de la rata Wistar.....	39
Figura 3. Proceso para la obtención de la muestra (calota) previo a la deshidratación con alcohol.....	42
Figura 4. Marcas de identificación sobre la calota de ratas Wistar.....	45
Figura 5. Muestra un corte lateral de hueso con osteotomía.....	46
Figura 6. Obtención de la membrana.....	48
Figura 7. Evolución clínica post-operatoria.....	51
Figura 8. Histología comparativa entre grupos PBGA vs Grupo SM.....	52

Figura 9. Laminillas típicas para el análisis histomorfométrico.....	54
Figura 10. Representación a detalle de un corte histológico.....	54
Figura 11. Cortes centrales de los tres especímenes del grupo SM.....	57
Figura 12. Cortes centrales de los tres especímenes del grupo MCOG.....	59
Figura 13. Cortes centrales de los tres especímenes del grupo PBGA.....	61
Figura 14. Micrografías de las zonas analizadas para la cuantificación de Ca y P.....	64
Figura 15. Espectro de EDS mostrando las intensidades relativas de Ca/P.....	65
Figura 16. Espectros de infrarrojo de muestras PBGA a distintos tiempos.....	69
Figura 17. Espectro óseo típico en FTIR, hidroxiapatita y colágeno.....	70