

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

UNIVERSIDAD: Nacional de La Plata

NUCLEO DISCIPLINARIO: Productos Naturales Bioactivos y sus aplicaciones.

**TITULO DEL TRABAJO: “SULFATO DE CALCIO Y MINERALES EN  
REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA. ESTUDIO COMPARATIVO DE SU USO SOLO  
O ENRIQUECIDO CON MINERALES”**

AUTOR(es): López, Mariano Ariel (Becario en Perfeccionamiento); Luchetti, César Gabriel (Docente investigador correspondiente al programa de incentivos, Secretaria de Ciencia y Tecnología de la Nación); Báez, Adolfo Nicolás (Ayudante Diplomado de 1ra, Cátedra de Prótesis “A”, Facultad de Odontología; Alicia Elena Kitrilakis (orientadora)

CORREOS ELECTRONICOS DE LOS AUTORES: [marianolopez\\_bb@hotmail.com](mailto:marianolopez_bb@hotmail.com); [cgluchetti@gmail.com](mailto:cgluchetti@gmail.com); [baezadolfo@hotmail.com](mailto:baezadolfo@hotmail.com); [aekitrilakis@hotmail.com](mailto:aekitrilakis@hotmail.com)

PALABRAS CLAVES: Injertos de hueso – Regeneración ósea - Sustitutos sintéticos; Enxerto ósseo - Regeneração óssea - Substitutos sintéticos

# **XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

## Introducción

Regenerar el hueso perdido ha sido desde tiempo atrás objeto de muchos estudios. En el campo de la odontología, a partir del desarrollo de la implantología es que comenzaron a realizarse cada vez más estudios con respecto a este tema, debido a la falta, en muchas ocasiones, de hueso disponible para colocar implantes.

Por esto, en los últimos tiempos, las investigaciones han estado centradas en crear nuevo hueso donde sea necesario, y así poder aumentar el número de personas que puedan recibir implantes.<sup>1-2</sup>

Con este fin se han utilizado diversos materiales y técnicas. Dentro de ellos están las membranas, que actúan como una barrera para mantener el volumen de los defectos del hueso, aislándolo a su vez del tejido conjuntivo.<sup>3</sup>

No obstante, cuando el defecto óseo a tratar es muy grande, o bien no es favorable, es necesario realizar injertos de hueso para ganar el volumen perdido. El uso de hueso del mismo paciente ha sido probado, y es elegido como primera opción para estos procedimientos, aunque conlleva una cirugía adicional para tomar el hueso a injertar, usualmente de la zona del mentón, trigono retromolar, tuberosidad del maxilar o, menos frecuentemente, de calota craneana o cresta ilíaca, dependiendo de la cantidad necesaria.<sup>4</sup> Muchas veces para los pacientes esta cirugía adicional es muy traumática. Para evitar este problema, se han propuesto aloinjertos (hueso humano procesado en diferentes formas), xenoinjertos (por ej. hueso bovino), o material aloplásticos a base fosfato de calcio y sulfato de calcio.<sup>5-11</sup>

En trabajos previos de nuestro grupo se evaluó un sustituto óseo sintético a base de Sulfato de Calcio, con resultados preliminares alentadores, aunque con una velocidad de reabsorción relativamente lenta.<sup>4</sup> Esto último podría solucionarse generando partículas de menor tamaño y mayor porosidad.

Por otra parte, el hueso presenta una gran cantidad de minerales, que podrían combinarse dentro de un sustituto sintético para mejorar la mineralización del hueso neoformado, aunque esto no ha sido evaluado aún.

## Objetivos

- a) Identificar factores que favorezcan la neoformación ósea.
- b) Estudiar, analizar y evaluar el comportamiento del Sulfato de Calcio en partículas como biomaterial osteoconductor
- c) Estudiar, analizar y evaluar el comportamiento del sulfato de calcio en partículas enriquecido con minerales como biomaterial osteoconductor
- d) Diseñar una estrategia terapéutica frente a los defectos estructurales del hueso.

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

Materiales y métodos

Se utilizaron 30 ratas macho, de cepa Fisher 344 (F344/N), originarias del Instituto Nacional de Salud de los EE.UU., y producidas en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, endocriadas, libres de patógenos específicos (SPF), de 16 semanas de edad y de 500 gramos de peso.

Los animales fueron divididos en tres grupos de 10 cada uno.

Todas fueron operadas bajo anestesia general con ketamina/xilacina 60 mg/kg + 10 mg/kg por vía IM. Se utilizó un motor de cirugía eléctrico con irrigación de solución fisiológica incorporada (Steri-Oss), pieza de mano recta, fresa redonda de 3 mm de diámetro e instrumental quirúrgico para el acceso al hueso.

Se depiló la piel en la zona del fémur, luego se realizó una incisión en piel con bisturí y se continuó en el plano muscular con tijeras por divulsión, hasta identificar el hueso. (Figura 1, 2 y 3)

Una vez limpio y retirado el periostio, se realizó una perforación de 9 mm de largo, por 3 mm de ancho y 3 mm de profundidad. Al grupo 1 se le injertó Sulfato de Calcio, al grupo 2 Sulfato de Calcio enriquecido con minerales y el grupo 3 no recibió tratamiento quedando como grupo control. (Figura 4, 5 y 6)

Una vez finalizado, se realizó una sutura por planos, primero el muscular y luego la piel. (Figura 7 y 8)



Figura 1: Área de trabajo depilada



Figura 2: Incisión en piel con bisturí



Figura 3: Divulsión del tejido muscular y fémur expuesto

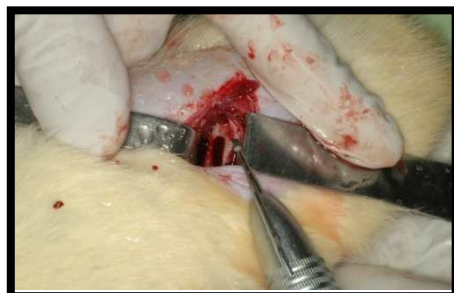


Figura 4: Defecto óseo creado con motor de cirugía

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**



Figura 5: Colocación del injerto.



Figura 6: Injerto llenando la cavidad.



Figura 7: Sutura del plano muscular



Figura 8: Sutura de la piel

El Sulfato de Calcio en partículas se realizó mediante el fraguado del mismo en polvo al combinarlo con solución fisiológica estéril, y se generó posteriormente las partículas por fragmentación. El enriquecimiento con minerales se efectuó combinando un 50% de polvo de Sulfato de Calcio y un 50% de minerales en polvo y luego produciendo el fraguado como en el caso anterior. El polvo de minerales esta compuesto por un 50% de calcio; 35% de fósforo; 10% de carbonato; 1,5 % de magnesio; 1,5% de flúor; 1% de potasio; y 1% de sodio. (Figura 9, 10, 11 y 12)

Durante el postoperatorio, los animales permanecieron alojados bajo observación en el pabellón de animales de experimentación de la Cátedra de Animales de Laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP.

A los 30 días los animales fueron sacrificados por inhalación de monóxido de carbono, y los fémures resecados mediante cortes con tijera sobre los ligamentos de las articulaciones. Luego las muestras fueron fijadas en formol al 10% a 4°C, descalcificadas en EDTA, incluidas en parafina, cortadas con micrótomos, montadas en portaobjetos y teñidas con hematoxilina - eosina, para su posterior observación a través de un microscopio óptico. (Figura 13)

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

Los preparados fueron capturados mediante una cámara de video (Sony DXC-151A) montada sobre un microscopio óptico (Olympus SZ 40) y posteriormente digitalizados mediante una placa digitalizadora (Flashpoint 128, Integral Technologies, USA).



Figura 9: Sulfato de calcio de grado médico.



Figura 10: Bloque del material luego del fraguado, e inicio de la fragmentación.



Figura 11: Material particulado



Figura 12: Envasado previo a esterilización en autoclave



Figura 13: Fémur reseca

Por último se recolectaron las muestras y fueron evaluadas con un analizador digital de imágenes (ImagePro Plus v4.1. - Media Cybernetics, USA) para calcular el grado de regeneración obtenido. Los distintos elementos de la imagen histológica fueron segmentados en base al color de la tinción, y posteriormente calculada su superficie.

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

Estos estudios se llevaron a cabo en el Servicio de Microscopía de la Cátedra de Patología General de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, República Argentina.

Resultados

El material logrado de Sulfato de Calcio solo y enriquecido con minerales presentó una consistencia blanda, fácil de manipular, buena porosidad con gran capacidad de embeberse en sangre y mostró buena tolerancia.

La producción de ambos materiales es relativamente sencilla y económica.

Se observó que en el caso del enriquecido con minerales, la estructura resultó en una aparente mayor porosidad, con respecto al Sulfato de Calcio solo. Asimismo, la incorporación de dichos minerales aceleró la reacción de fraguado del material, probablemente por el contenido de sales de los minerales, que como ya sabemos las sales acelera el tiempo de fraguado de los sulfatos.

Macroscópicamente en el grupo 2, se pudo determinar la formación completa del defecto óseo, notándose la presencia de partículas del injerto en el mismo (Figura 14 y 15). En el grupo 1, se observó una formación incompleta, en grados variables, y escasos restos del injerto, aparentemente por una reabsorción muy veloz. En el grupo 3, no se produjo regeneración, quedando una amplia cavidad residual.



Figura 14: Injerto en el grupo 2 llenando la totalidad del defecto



Figura 15: Misma muestra a mayor aumento

De acuerdo a las diferentes formaciones de hueso la arquitectura se consideró:

- a) Buena (Regeneración completa con patrón trabecular bien definido), en el grupo 2 correspondiente al Sulfato de Calcio enriquecido con minerales.
- b) Aceptable (Regeneración completa con patrón trabecular más irregular), en el grupo 1 correspondiente al Sulfato de Calcio solo.
- c) Mala (Regeneración incompleta) en el grupo 3 correspondiente al grupo Control. (Figura 16)

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

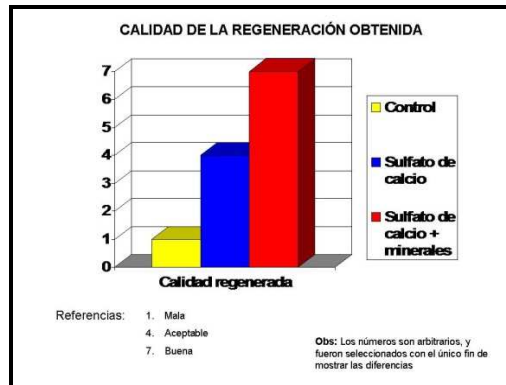


Figura 16: Gráfico que representa la calidad regenerada en todos los grupos

Microscópicamente, en ambos grupos experimentales, no se observaron reacciones inflamatorias importantes, ni signos de encapsulamiento fibroso del material, lo cual lo sitúa como biocompatible.

Asimismo, en el grupo 2, histológicamente se observa la regeneración completa de los defectos, con formación de trabéculas de grosores variables e interconectividad entre las mismas. La superficie regenerada, en mm<sup>2</sup> para el grupo 1 fue de 9,878 (0,833), para el grupo 2 de 11,317 (0,937) y para el grupo 3 de 4,370 (0,549). (Figura 17,18 y 19).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $P = <0,001$ ) –ANOVA (análisis de varianza).

En las comparaciones apareadas se observaron diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos ( $P = <0,005$ ) Holm-Sidak.

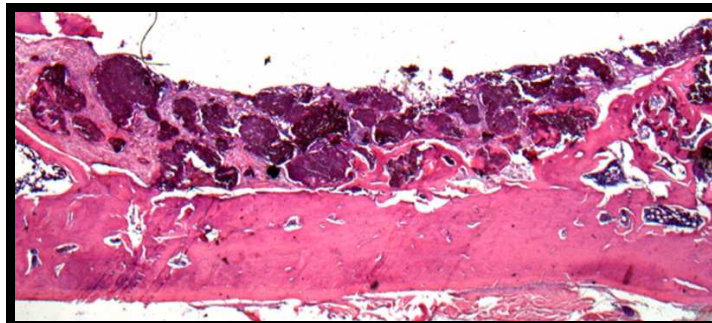


Figura 17: Microfotografía que representa al grupo 2, donde se observa la regeneración completa del defecto.

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

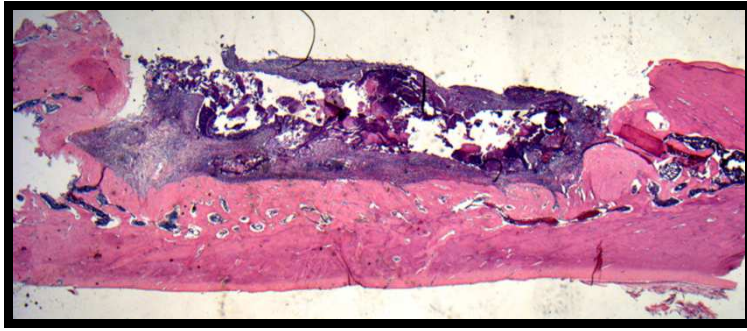


Figura 18: Microfotografía que representa al grupo 1, donde se observa la regeneración incompleta del defecto.



Figura 19: Microfotografía que representa al grupo control, donde no se produjo regeneración, quedando una amplia cavidad residual.

### Discusión

El sulfato de calcio tiene una larga, y controvertida, historia de uso en medicina y odontología. Muchas investigaciones, han demostrado que el Sulfato de Calcio es un material biocompatible y que es reabsorbido totalmente después de la implantación pero no crea un entorno rico de calcio, aunque se pudo demostrar que estos iones de calcio pueden proporcionar un cierto estímulo a los osteoblastos. Asimismo estudios histológicos e histométricos en tibias de la rata, demostraron que el uso de Sulfato de calcio como barrera en defectos quirúrgicos injertados con cristales bioactivos tenían considerablemente más formación de hueso que el grupo que utilizó el cristal bioactivo solamente, 30 días después de las cirugías, afirmando así que el Sulfato de Calcio se puede utilizar como osteoconductor en la regeneración ósea.

En el campo de la medicina, especialmente en cirugía general, el uso de este material de injerto como relleno de cavidades óseas post- quirúrgicas, Ej.: quistes, tumores, etc., han sido de primera elección debido a su gran rigidez después del fraguado y de su larga permanencia debido a su lenta reabsorción, disminuyendo así grandes pérdidas óseas y fracturas patológicas.



## **XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

En el campo de la odontología, en especial con la aparición de los implantes, el uso del Sulfato de Calcio generó inconvenientes debido a su lenta reabsorción, ya que generalmente el hueso regenerado es utilizado como sostén y mantenimiento de los implantes. Esto trae como inconveniente la postergación de las cirugías en la colocación de implantes mediatos. Es por esto que se comenzó a utilizarlo en forma de partículas de menor tamaño y mayor porosidad, para acelerar su reabsorción y reemplazo por hueso cicatrizal.

Otros estudios del sulfato de calcio fue en cirugías periodontales para el tratamiento de la clase III de furcación donde se evaluó la eficacia de éste combinado con hueso liofolizado desmineralizado.

Esta combinación con una barrera de sulfato de calcio reabsorbible tuvieron significativamente más de inserción clínica que el grupo control (sin injerto), donde hubo recesión gingival. Además el grupo experimental mostró significativamente mayor llenado y volumen del defecto.

En nuestro trabajo mediante la incorporación de minerales óseos al Sulfato de Calcio, se mejoraron las propiedades del hueso cicatrizal haciéndolo mas denso y acelerando la remineralización ósea por la sola presencia del mineral.

Todo material de sustitución ósea tiene un objetivo fundamental, que es actuar como matriz para el crecimiento del hueso, y luego de esto ser reabsorbido hasta ser reemplazado totalmente por tejido óseo vivo. Una matriz ideal debería ser lo más porosa posible, para favorecer la revascularización, pero a la vez no tanto para que no se reabsorba antes de cumplir su cometido. En este sentido, nuestras apreciaciones iniciales muestran como el sulfato de calcio solo se ha reabsorbido antes del tiempo necesario. Mientras tanto, en el combinado con minerales la reabsorción fue más lenta, siendo interesante destacar, como mencionamos al principio, que esta combinación poseía una mayor porosidad, al menos hasta el nivel de detalle evaluado al momento.

Por último, cabe agregar que la materia prima de la cual se hace el sulfato de calcio es relativamente barata y abundante. En este caso disponemos de un nuevo biomaterial, mucho más económico que los disponibles actualmente, aunque aun restaría hacer pruebas clínicas.

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

Conclusiones

Dentro de los límites de este estudio se puede concluir lo siguiente:

- a) Ambos injertos fueron biocompatibles y no hubo rechazos en ninguno de los casos.
- b) La manipulación fue sencilla y gracias a su capacidad de embeberse en sangre mantuvo la arquitectura una vez injertada cuando fue tratado con ambos sustitutos.
- c) El material permitió la regeneración completa de un defecto crítico cuando fue tratado con Sulfato de Calcio enriquecido con minerales (grupo 2).
- d) Mayores estudios, así como pruebas clínicas de este material podrían darnos mayor información en cuanto a la capacidad de su uso como sustituto a los injertos óseos autólogos.

Referencias Bibliográficas

- 1) Intini G, Andreana S, Intini FE, Buhite RJ, Bobek LA. "Calcium sulfate and platelet-rich plasma make a novel osteoinductive biomaterial for bone regeneration". J Transl Med. 2007 Mar 7; 5:13.
- 2) Hak DJ. "The use of osteoconductive bone graft substitutes in orthopaedic trauma". J Am Acad Orthop Surg. 2007 Sep; 15(9):525-36.
- 3) De Macedo NL, De Macedo LG, Monteiro Ado S. "Calcium sulfate and PTFE nonporous barrier for regeneration of experimental bone defects." Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2008 Jun 1; 13(6):E375-9.
- 4) Luchetti, C. "Injertos Autólogos, Alógenos, Xenógenos y Sintéticos en el Tratamiento de Grandes Defectos Estructurales del Hueso". Revista Argentina de Osteología, 2005, 4 (1): 9 – 23
- 5) Podaropoulos L, Veis AA, Papadimitriou S, Alexandridis C, Kalyvas D. "Bone regeneration using beta-tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix." J Oral Implantol. 2009; 35(1):28-36.
- 6) Thomas MV, Puleo DA. "Calcium sulfate: Properties and clinical applications. " J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009 Feb; 88(2):597-610.
- 7) Lazáry A, Balla B, Kósa J, Bácsi K, Nagy Z, Takács I, Varga PP, Speer G, Lakatos P. "Review of the application of synthetic bone grafts. The role of the gypsum in bone substitution: molecular biological approach, based on own research results". Orv Hetil. 2007 Dec 23; 148(51):2427-33.
- 8) Guarnieri R; Aldini NN; Pecora G; Fini M; Giardino R. "Medial-grade calcium sulfate hemihydrate (surgi plaster) in healing of a human extraction socket-histologic

**XVII JORNADAS DE JOVENES INVESTIGADORES  
ASOCIACION DE UNIVERSIDADES GRUPO MONTEVIDEO (AUGM)**

*observation at 3 months:a case report*". Int J Oral Maxillofac Implants 2005 Jul-Aug;20(4):636-41

- 9) Furlaneto FA, Nagata MJ, Fucini SE, Deliberador TM, Okamoto T, Messoria MR. *"Bone healing in critical-size defects treated with bioactive glass/calcium sulfate: a histologic and histometric study in rat calvaria."* Clin Oral Implants Res. 2007 Jun; 18(3):311-8. Epub 2007 Feb 13.
- 10) Intini G, Andreana S, Intini FE, Buhite RJ, Bobek LA. *"Calcium sulfate and platelet-rich plasma make a novel osteoinductive biomaterial for bone regeneration."* J Transl Med. 2007 Mar 7; 5:13.
- 11) Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Kassolis JD, Prasad HS, Rohrer MD. *"Calcium sulfate-carboxymethylcellulose bone graft binder: Histologic and morphometric evaluation in a critical size defect."* J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2007 Nov; 83(2):451-8.