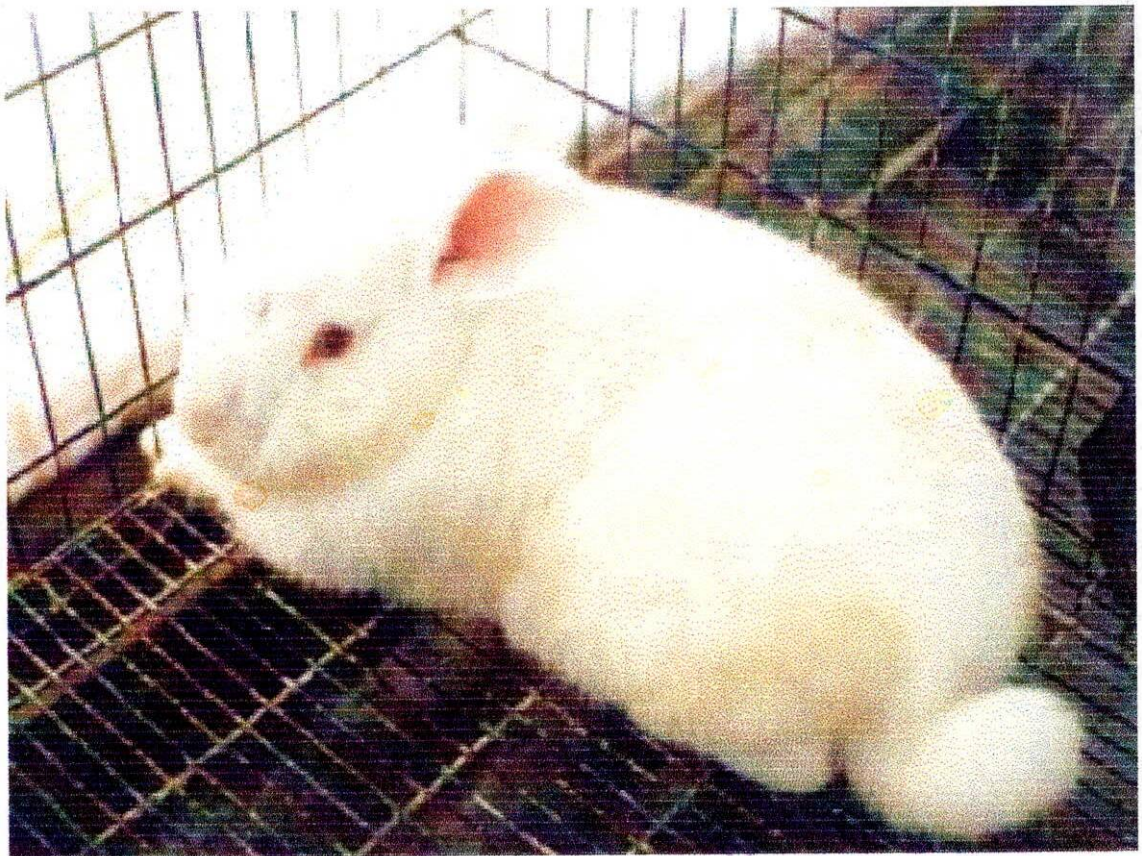


**ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LA CÁSCARA DE HUEVO COMO
MATERIAL ALOPLÁSTICO PARA LA REGENERACIÓN ÓSEA**



**ANALISIS HISTOLOGICO DE LA CÁSCARA DE HUEVO COMO MATERIAL ALOPLÁSTICO
PARA LA REGENERACIÓN ÓSEA**

**LINA MARCELA MONCADA H.
MARIA FDA RESTREPO L.
SANDRA MILENA TRIVIÑO O.**

**COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y SALUD PÚBLICA
SANTIAGO DE CALI
2002-II**

4643

TOCa
0049

**ANALISIS HISTOLOGICO DE LA CÁSCARA DE HUEVO COMO MATERIAL ALOPLÁSTICO
PARA LA REGENERACIÓN ÓSEA**

**LINA MARCELA MONCADA H.
MARIA FDA RESTREPO L.
SANDRA MILENA TRIVIÑO O.**

**Trabajo investigativo para la cátedra de
Proyecto de Investigación**

**Asesores Científicos
DR DIEGO FDO. SANCHEZ H.
Cirujano Maxilofacial**

**DR. CARLOS E. TASAMÁ
Odontopatólogo**

**COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y SALUD PÚBLICA
SANTIAGO DE CALI
2002-II**

DEDICATORIA

A Dios por guiar el camino labrado a lo largo de los años en nuestra formación profesional y sobre todo como personas integra.

A nuestros Padres por su esfuerzo y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Cordialmente a las directivas de la **Universidad Nacional, sede Palmira, Zoologico de Cali**, por habernos permitido el ingreso y uso de sus instalaciones para el desarrollo del presente trabajo.

A todas y a cada una de las personas que de una u otra forma han hecho parte activa de nuestro proceso de formación profesional.

Dr. Carlos E. Tasamá, Odontopatólogo, Asesor Científico.

Dr. Diego Fdo. Sánchez, Cirujano Maxilofacial, Asesor Científico.

Dra. Blanca Acosta, Directora del departamento de salud pública e investigación del Colegio Universitario Colombiano, sede Santiago de Cali, Asesor Metodológico.

Dra. Katia Altman, cirujano maxilofacial, Asesor Metodológico.

Dra. Paula Bermúdez, Odontóloga, Asesor Metodológico.

Dr. Juan Carlos Bravo, Patólogo Clínica Valle del Lili

Dr. Roberto Gracia, Director de Fisiología Animal.

Dra. Victoria Quintero, Directora de Nutrición Animal

Dr. Pascal Leterme, Jefe de laboratorio de Nutrición Animal

Fernando Estrada, Técnico de laboratorio de Nutrición Animal

Dr. Delio Orjuela, Veterinario Zoologico de Cali

Dr. Jorge Gardezabal, Director Unidad de Bienestar Animal

Dra. Alejandra Arango, Veterinaria

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	24
1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN	25
1.1 DEFINICION DEL PROBLEMA	25
1.2 JUSTIFICACION	25
1.3. OBJETIVOS	26
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	26
1.3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	27
2. MARCO TEORICO	28
2.1. HUESO	29
2.1.1 COMPOSICIÓN CELULAR	30
2.1.2 OSIFICACIÓN.	31
2.1.3 CLASES DE TEJIDO ÓSEO.	31
2.1.4 TIPOS DE HUESO.	32
2.1.5 MINERALIZACIÓN.	33

	Pág.
2.2 IMPLANTE	35
2.2.1 CARACTERISTICAS.	36
2.2.2 FORMAS DE APLICACIÓN	36
2.2.3 OBJETIVO DEL IMPLANTE	37
2.2.4 MECANISMOS DE ACCION	37
2.2.5 TIPOS DE IMPLANTES.	38
2.3 CASCARAS DE HUEVO	43
2.3.1 DEPÓSITO DE CALCIO	45
2.4 EL CONEJO	47
2.4.1 CLASIFICACIÓN ZOOLOGICA	48
2.4.2 APARATOS Y SISTEMAS DEL ORGANISMO DEL CONEJO	49
2.5 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN	50
3. DISEÑO METODOLOGICO	51
3.1 HIPÓTESIS	61

	Pág.
3.2 TIPO DE ESTUDIO	61
3.3 UNIVERSO	61
3.4 POBLACIÓN	61
3.5 MUESTRA	61
3.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN	62
3.6.1 CRITERIOS DE INCLUSION	62
3.6.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	62
3.6.3 CRITERIOS DE DESCONTINUACIÓN O RETIRO	62
3.7 VARIABLES	62
3.7.1. CARACTERISTICAS	65
3.8 FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN CODIFICADA	71
3.8.1. INSTRUCTIVO HISTOLÓGICO	71
3.8.2. INSTRUCTIVOS TABLA DE RECOLECIÓN DE INFORMACIÓN	73
3.8.2.1. Pre – quirúrgico hoja 1	73

	Pág.
3.8.2.2. Post – quirúrgico hoja 2	75
3.8.2.3. INSTRUCTIVO No. 3	77
3.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS	78
3.9.1 LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN ANIMALES	78
3.10. RECURSOS	87
3.10.1. RECURSOS HUMANOS	87
3.10.2. RECURSOS FISICOS	88
3.10.2.1. Recursos Físicos Octavo Semestre	88
3.10.2.2. Recursos Físicos Noveno Semestre	89
3.10.2.3. Recursos Físicos Décimo Semestre	90
3.10.3. RECURSOS FINANCIEROS	91
3.11. CRONOGRAMA	92
3.11.1. CRONOGRAMA OCTAVO SEMESTRE	92
3.11.2. CRONOGRAMA NOVENO SEMESTRE	95

	Pág.
3.11.3. CRONOGRAMA DECIMO	96
4. RESULTADOS	97
4.1. ANÁLISIS RADIOGRÁFICO:	98
4.2. EVALUACION HEMATOLOGICA.	100
4.3. ANALISIS HISTOLÓGICO:	102
4.4. ANÁLISIS ESTADISTICO:	108
5. CONCLUSIONES	113
6. DISCUSIÓN	114
7. RECOMENDACIONES	118
BIBLIOGRAFIA	119
ANEXOS	134

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Componentes nutricionales de la Cáscara de Huevo	44
Tabla 2. Comparación entre los componentes de la Cáscara de Huevo y Hueso	46
Tabla 3. Clasificación zoológica del conejo	48
Tabla 4. Aparatos y sistemas del organismo del conejo	49
Tabla 5. Contenido de cenizas de la Cáscara de Huevo	53
Tabla 6. Análisis físico químico de la Cáscara de Huevo	56
Tabla 7. Descripción de variables	64
Tabla 8. Estratificación de formación de cartílago embrionario	65
Tabla 9. Estratificación de formación de cartílago maduro	65
Tabla 10. Estratificación de formación osteoide	65
Tabla 11. Cicatrización	65
Tabla 12. Formación ósea	66
Tabla 13. Celularidad medular	66
Tabla 14. Vascularidad	66
Tabla 15. Descripción de variables	67
Tabla 16. Estratificación de formación de cartílago embrionario * Sexo	69
Tabla 17. Estratificación de formación de cartílago maduro * Sexo	70
Tabla 18. Estratificación de formación osteoide * Sexo	70
Tabla 19. Formación ósea – Implante	71
Tabla 20. Implante – Sexo	109

LISTA DE GRAFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Estratificación de formación de cartílago embrionario	68
Gráfico 2. . Estratificación de formación de cartílago maduro	68
Gráfico 3. . Estratificación de formación osteoide	69
Gráfico 4. Estratificación de formación de cartílago embrionario * Sexo	110
Gráfico 5. Estratificación de formación de cartílago maduro * sexo	111
Gráfico 6. Estratificación de formación osteoide * Sexo	111

LISTA DE FOTOS

	Pág.
Foto 1. Radiografía inicial, conejo con implante	98
Foto 2. Radiografía, semana 6, conejo con implante	99
Foto 3. Radiografía, semana 12 conejo con implante	100
Foto 4. Corte histológico de hueso de conejo 1	103
Foto 5. Corte histológico de hueso de conejo 2	104
Foto 6. Corte histológico de hueso de conejo 6	105
Foto 7. Corte histológico de hueso de conejo 3	106
Foto 8. Corte histológico de hueso de conejo 5	107
Foto 9. Corte histológico de hueso de conejo 8	107
Foto 10. Corte histológico de hueso de conejo control	108

GLOSARIO

ALOIMPLANTE: transferencia de un tejido entre dos individuos de la misma especie pero genéticamente diferentes.

ALOPLÁSTICO: implante hecho de plástico, metal u otro material extraño al cuerpo humano.

ANALGESIA: falta o supresión de toda sensación dolorosa, sin pérdida de los restantes modos de sensibilidad.

ATRÓFICO: falta de desarrollo de cualquier parte del cuerpo. Disminución en el tamaño o número, o en ambas cosas a la vez, de uno o varios tejidos de los que forman un órgano con la consiguiente minoración del volumen, peso y actividad funcional, a causa de escasez o retardo en el proceso nutritivo.

AUTOIMPLANTE: trasplante quirúrgico de cualquier tejido desde una parte del cuerpo hasta otro lugar del mismo individuo.

CALCIFICACIÓN: dar a un tejido orgánico, propiedades calcáreas mediante la adición de sales de calcio.

CARBOXILACIÓN: proceso químico en el cual un grupo carboxilo (COOH) sustituye a un átomo de hidrógeno.

COLOIDE: dicese del cuerpo que al disgregarse en un líquido aparece como disuelto por la extremada pequeñez de las partículas en las que se divide; pero que se diferencia del

verdaderamente disuelto en que no se difunde con su disolvente si tiene que atravesar ciertas láminas porosas.

CRISOL: recipiente hecho de material refractario, que se emplea para fundir algún material a temperatura muy elevada.

CRISTALOIDE: sustancia que, en disolución, atraviesa las láminas porosas que no dan paso a los coloides.

DESMINERALIZACIÓN: disminución o pérdida de una cantidad anormal de principios minerales como fósforo, potasa, cal, etc.

ENDOSTIO: tejido que cubre inmediatamente la cavidad medular de hueso.

HIDROXIAPATITA: compuesto inorgánico formado por calcio, fosfato e hidrogeno. Se encuentra en los huesos y en los dientes en forma de enrejado cristalizado que proporciona rigidez a estas estructuras.

HOMEOSTASIS: conjunto de fenómenos de autorregulación conducentes al mantenimiento de una relativa constancia en las composiciones y las propiedades del medio interno de un organismo.

INCISIÓN: hendidura que se hace en algunos cuerpos con instrumento cortante.

INTERSTICIAL: dícese de lo que ocupan los intersticios que existen dentro de un cuerpo o entre dos o más.

INTERSTICIO: hendidura o espacio, por lo común pequeño, que media entre dos cuerpos o entre dos partes de un mismo cuerpo.

LIOFILIZACIÓN: separar el agua de una sustancia, o de una disolución, mediante congelación y posterior sublimación a presión reducida del hielo formado, para dar lugar a un material esponjoso que se disuelve posteriormente con facilidad. Se utiliza en la deshidratación de los alimentos, materiales biológicos y otros productos sensibles al calor.

MIMETISMO: propiedad que poseen algunos animales y plantas de asemejarse principalmente en el color, a los seres u objetos inanimados entre los cuales viven.

MINERALIZACIÓN: acción o defecto de mineralizar o mineralizarse.

MUFLA: hornillo semicilíndrico, o en forma de copa, que se coloca dentro de un horno para reconcentrar el calor y conseguir la fusión de diversos cuerpos.

OCULTACIÓN: acción y efecto de ocultar u ocultarse.

OSTEOBLASTO: célula productora de tejido óseo contenida en las lagunas microscópicas óseas llamadas también osteoplastos.

OSTEOCALCINA: proteína que se encuentra en la matriz extracelular de hueso y dentina. Esta implicada en regular la mineralización en huesos y dientes.

OSTEOCITO: célula ósea, osteoblasto maduro que está incluido en la matriz ósea. Ocupa una pequeña cavidad y emite proyecciones protoplasmáticas que se anastomosan con las de otros osteoblastos para formar un sistema de canales diminutos dentro de la matriz ósea.

OSTEOCLASTO: elemento celular gigante multinucleado de la medula ósea, que tiene por función la resorción o destrucción del hueso.

OSTEOGÉNESIS: origen y desarrollo del tejido óseo.

PERIOSTIO: membrana fibrosa adherida a los huesos, que sirve para su nutrición y renovación.

PORO: espacio que hay entre las moléculas de los cuerpos.

POROSIDAD: calidad de poroso.

REABSORBIBLES: desaparecer. Acción y defecto de reabsorber.

RECEPTIVIDAD: capacidad de un sujeto para recibir estímulos exteriores. Capacidad de recibir.

SATURAR: combinar dos o más cuerpos en las proporciones anatómicas en que pueden unirse.

SEDACIÓN: acción y efecto de sedar.

SEDAR: apaciguar, sosegar, calmar.

SULFATACIÓN: acción y efecto de sulfatar.

SULFATAR: impregnar o bañar con un sulfato alguna cosa.

TAMIZAR: separación mecánica, mediante tamices, de sustancias pulverizadas de diferentes tamaños.

TEJIDO DE GRANULACIÓN: proyecciones carnosas, rosadas, blandas, que se forman durante el proceso de cicatrización de una herida que no cicatriza por primera intención, constituido por numerosos capilares rodeados de colágeno fibroso.

TOTIPOTENCIAL: capaz de todo; aplicase a las células que pueden dar origen a células de todo orden.

XENOIMPLANTE: tejido procedente de otra especie, utilizado como implante temporal en algunos casos.

RESUMEN

Se realizó un estudio descriptivo en conejos de experimentación, valorando las características hematológicas, radiológicas y específicamente histológicas tras la aplicación de la Cáscara de Huevo (CDH), debidamente procesada como material para la regeneración ósea.

Objetivo: confirmar las cualidades básicas de CDH como material aloplástico para el relleno de defectos óseos

Métodos: se tomaron cáscaras de huevo de gallina, las cuales fueron debidamente procesadas (deshidratación, trituración, esterilización), para ser implantadas a los sujetos de estudio, que fueron 10 conejos de raza Blanco Neocelandés de 4 meses de edad. Se dividieron en tres grupos de 3 conejos cada uno. El grupo A: Recibieron el implante, Grupo B: Se les realizó un defecto óseo quirúrgico y no se les aplicó implante y Grupo C: que fue el grupo control.

Resultados: A nivel histológico se encontró en el grupo A y B una formación de cartílago inmaduro, maduro y osteoide, viéndose en el grupo B una formación ordenada en comparación con el grupo A. Se observó también que hubo una mayor maduración ósea en hembras que en machos de ambos grupos (A y B).

Conclusiones: Se determinó que la CDH, presenta propiedades biológicas que permiten tenerla en cuenta como material terapéutico para el relleno de defectos óseos existentes en la cavidad bucal. La CDH puede catalogarse como un material reabsorbible que posee la capacidad osteotrófica y oseoconductiva.

Palabras clave: Cáscara de Huevo, aloplástico, oseoconductivo, osteotrófica.

INTRODUCCION

El objetivo ideal en el tratamiento de la regeneración ósea, es el de recuperar el tejido que se ha perdido o se ha destruido como secuela de una patología o de un trauma.

Los implantes de reposición ósea se han utilizado para facilitar, promover e inducir la regeneración ósea, definida como la reproducción y reconstitución de una zona perdida o lesionada.

Históricamente, se han utilizado implantes óseos autógenos y alogénicos con cierto éxito.

También se han utilizado varios sustitutos óseos para estimular la formación de hueso, los cuales pueden ser derivados sintéticos (Aloplásticos) son biocompatibles y no orgánicos, o procesados de estructuras esqueléticas de otras especies (Xenoimplantes), Su objetivo es el de crear nuevas y mejores alternativas que faciliten y mejoren su aplicación para cada necesidad.

1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 DEFINICION DEL PROBLEMA

¿Es efectiva la cáscara de huevo como regenerador óseo en conejos?

La corrección de defectos óseos es un problema que se ha venido estudiando desde hace mucho tiempo por cirujanos en distintas técnicas quirúrgicas utilizando una gran gama de materiales como sustitutos óseos, para que sus resultados confirmen sus propiedades biológicas, lo que asegura así su capacidad como material terapéutico para un relleno óseo.

La efectividad de la cáscara de huevo constituye una alternativa importante en el relleno de los defectos óseos, ya que dentro de sus componentes, en su mayoría sales minerales depositadas en una matriz orgánica en la cual se destaca la osteína¹; proteína que cumple una función similar a la de las proteínas óseas que unen las sustancias minerales de los huesos, además es un material fácil de obtener, económico, que permite una aplicación a todo público.

Para prueba de esto se realizó un estudio descriptivo. Teniendo la aprobación de un Comité de Ética Animal de Cali, donde se aplicó la cáscara de huevo procesada (triturada, con un tamaño de partícula ideal de 100 a 300 micras² y esterilizada en autoclave), sobre cresta iliaca de conejo como nicho óseo receptor.

1.2 JUSTIFICACION

La utilización de distintas clases de sustancias para aumentar el tamaño de hueso alveolar en pacientes desdentados ha sido uno de los retos de la profesión odontológica y en consecuencia

son numerosos los ensayos que se han hecho con diferentes materiales a través de los años para crear un material que reemplace los normalmente utilizados como lo son los implantes autógenos y alogénicos.

Es de mucho interés para el campo odontológico, buscar por medio de un experimento científico hecho en animales, en este caso el conejo, la forma de regenerar el tejido óseo perdido mediante un material aloplástico, elaborado a partir de la "cáscara de huevo", del cual se espera tenga: biocompatibilidad con el tejido óseo, no sea toxico, no cancerígeno, resista la destrucción creada por los tejidos adyacentes, se esterilice fácilmente, sin dificultad para su manipulación, que permita la reparación tisular y con capacidad para incorporarse como parte misma del organismo receptor o de reabsorberse después de haber estimulado la neoformación de hueso; además, que logre reducir traumatismos en los pacientes que son sometidos a varias cirugías como en el caso de los implantes autógenos, y en el caso de implantes alogénicos, disminuir el riesgo de una posible transmisión de enfermedades.

Al obtener resultados exitosos se busca facilitar a la comunidad un material aloplástico, de muy bajo costo como la cáscara de huevo que sirva de alternativa de tratamiento.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la viabilidad de la cáscara de huevo como material aloplástico, en injertos óseos, en conejos para la regeneración ósea, desde el punto de vista histológico.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1.3.2.1 Observar de manera clínica e histológica la reacción causada por el implante de cáscara de huevo en los tejidos del conejo.

1.3.2.2 Observar a través de evidencia histológica la reabsorción o reemplazo del implante.

1.3.2.3 Determinar la etapa de formación ósea obtenida después de 12 semanas de realizado el implante

1.3.2.4 Evaluar los requisitos básicos esenciales de la cáscara de huevo, como material que va a ser implantado.

2. MARCO TEORICO

Son incontables los pacientes en quienes es penosa y hasta imposible realizar una rehabilitación protésica a causa de la acentuada pérdida de hueso en sus maxilares; siendo las siguientes las causas más frecuentes:

- Enfermedad Periodontal ³: Ya que ésta pasa desapercibida en su fase inicial, logrando la preocupación del paciente sólo cuando empieza a sentir movilidad y pérdida de sus piezas dentales⁴. Por este motivo, uno de los fines de la cirugía periodontal ha sido la corrección de los daños ocasionados por dicha enfermedad⁵
- Lesiones Traumáticas accidentales
- Trauma quirúrgico producido por la extracción de los dientes⁶, causando con esto reabsorción del hueso compacto, y del esponjosos que forman la cavidad ósea que vuelve y sostiene los dientes⁷, ocurriendo así un cambio en el contorno natural del reborde y adoptando una serie de formas totalmente irregulares. La altura se pierde casi por completo, el hueso se vuelve agudo, atrófico, dificultando al paciente el manejo de cualquier prótesis removible causándole molestias al comer, hablar o simplemente mantenerlo dentro de la boca⁸.

Es por esto que cada día crece la necesidad de indagar por más y mejores medios de tratamiento; y en este trabajo se ofrece la cáscara de huevo como tal alternativa.

A continuación se revisan conceptos básicos necesarios para una mejor comprensión de este tema.

2.1. HUESO

El hueso representa la mayor parte del esqueleto de los vertebrados superiores⁹. El tejido óseo se puede definir como una estructura histológica altamente especializada que se origina a partir de células mesenquimales disponibles en el tejido intersticial.

Según Murray¹⁰, hay aproximadamente un kilogramo de calcio en el cuerpo humano. De esta cantidad, el hueso es el reservorio del 99%, y del 90% del fósforo orgánico total; ambos se unen entre sí y forman los cristales de hidroxiapatita que proporcionan el componente inorgánico del esqueleto¹¹.

El líquido extracelular (LEC) contiene 900 mg de calcio intracelular (LIC) 11.000 mg. En la parte del hueso calcificada parcialmente (compartimiento cambiante), existen 400 mg de calcio; cada día se trasladan unos 20.000 mg de calcio del LEC para depositarse en el compartimiento cambiante, pero de éste salen 20.000 mg de calcio que vuelven al LEC (reabsorción).

En la parte del hueso totalmente calcificada (compartimiento estable) o no cambiante existe 1×10^6 mg de calcio; cada día se trasladan 500 mg de calcio de LEC que se depositan como hueso nuevo (crecimiento) en el compartimiento no cambiante y de éste salen 500 mg de calcio (reabsorción) al LEC¹².

El hueso aporta la característica especializada de Dureza, además de ser resistente a la Tracción (Tensión), pero sensible a la presión; está constituido por materiales orgánicos como colágeno tipo I (90% de la matriz orgánica), fosfo-proteínas, proteoglicano, sialoproteína, osteonectina, osteocalcina y factores de crecimiento como TGF- β (transformación de crecimiento beta), proteínas morfogénicas ósea.

Estos componentes orgánicos se encargan de conservar los procesos de remodelación óseos normales.

El hueso también está compuesto de una fase inorgánica como es la hidroxiapatita, calcio, fosfato, y agua (que constituye 8 a 9 % del hueso), citratos, carbonatos y magnesio.

Estos componentes inorgánicos tienen a su cargo la fuerza de compresión¹³.

2.1.1 COMPOSICIÓN CELULAR

Desde el punto de vista biológico celular el hueso presenta diversas células dentro de las cuales se destacan cuatro tipos de células óseas^{14,15}.

- Células osteoprogenitoras o células madres: Estas sufren división y transformación a células formadoras de hueso u Osteoblastos.
- Osteoblastos: Son las células formadoras de hueso, es decir, sintetizan y secretan la matriz ósea; estas células quedan atrapadas en la matriz secretada y se vuelven células inactivas llamadas osteocitos. Esta es la verdadera célula ósea y desempeña un papel importante en la homeostasis del calcio.
- Osteoclastos: son las células que degradan el hueso y a menudo están localizadas en huecos de la superficie ósea, denominados lagunas de Howship^{16,17,18}.
- Osteocitos: Es la verdadera célula ósea, se origina en osteoblastos que durante la formación del hueso son atrapados en la matriz ósea¹⁹.

2.1.2 OSIFICACIÓN.

Según su origen embrionario, hay dos tipos de osificación:

- **Intramembranosa:** Se origina en forma directa en las membranas en las que se localiza; en donde las células mesenquimales se diferencian en preosteoblastos y luego en osteoblastos, los cuales sintetizan una matriz ósea que contiene fibras colágenas no orientadas periféricamente, sino en fascículos irregulares; se presentan osteocitos de gran tamaño, numerosos, siendo una calcificación retardada y desordenada donde los huesos formados se conocen como *Woven-Bone*, esta es típica de los huesos planos.
- **Endocondral:** Donde las células mesenquimales se diferencian en precondroblastos y luego en condroblastos, los cuales producen matriz cartilaginosa que progresivamente envuelve a la célula productora, llamada en este momento condrocito, que permanece en una laguna pero que a diferencia de los osteocitos, puede continuar proliferando por algún tiempo gracias a la consistencia de gel que posee el cartílago. Es típico de huesos largos²⁰.

El hueso producido por estos dos medios tiene la misma histología; los términos solo indican la manera de desarrollarse.

2.1.3 CLASES DE TEJIDO ÓSEO.

Son dos las clases principales de tejido óseo:

- **Primario:** En donde todo el hueso se deposita de manera directa en las superficies externas e internas de la corteza.

- Secundario: Llamado tejido óseo haversiano, que sustituye al hueso vascular primario original²¹.

2.1.4 TIPOS DE HUESO.

Se conocen varios tipos de hueso:

- Esponjoso fino: Crece con más velocidad. De manera característica, se encuentra en todos los huesos del esqueleto fetal y también en ciertas partes del post-natal. Además interviene en la formación del callo en una fractura que cicatriza.
- Esponjoso grueso: Posee espacios grandes y regulares con médula roja o amarilla. Es el llamado hueso "poroso", que forman las trabéculas o láminas óseas delgadas.
- No lamelar: Constituye el tejido óseo esponjoso fino.
- Vascular primario: Es la clase mas frecuente de tejido óseo de origen periostico en el esqueleto infantil, incluyendo todos los huesos faciales y del cráneo.
- No vascular: Se reconoce como la única clase de hueso en algunas especies, se caracteriza por un crecimiento muy lento.
- Esponjoso grueso compacto: Es el más frecuente de todos los tipos óseos. Constituye una porción importante del hueso cortical compacto en el niño que crece, así como en el adulto. Se forma solo mediante el endosito.
- Fascicular: Se denomina así porque contiene grupos masivos de fibras de colágeno paralelas

que fijan la membrana periodontal a la pared alveolar ósea. Se forma solo en el lado de depósito (tensión).

- Plexiforme: Es un tipo en el cual se notan depósitos corticales masivos durante periodos breves. Frecuente en animales de tamaño intermedio y grande; en el ser humano, a veces se localiza en sitios que se forman con rapidez, como la tuberosidad del maxilar^{22,23}.

2.1.5 MINERALIZACIÓN.

El hueso tiene la capacidad de regenerarse a si mismo completamente²⁴. Esta reparación comienza con una respuesta inflamatoria que induce la proliferación de tejido de granulación en el lugar de la lesión. Este tejido aporta capilares fibroblastos quienes empiezan a formar la matriz orgánica de hueso²⁵.

Cuando se han constituido todos estos elementos de la sustancia intercelular ósea sucede una precipitación de sales de calcio conocida como calcificación de la matriz ósea en donde se presentan fenómenos físico-químicos que llevan a la concentración y precipitación de estas sales de calcio^{26,27}.

En el proceso de mineralización o durante él se puede observar tejido mesenquimal, seguido por una formación de cartílago inmaduro, luego por cartílago hipertrófico y después cartílago mineralizado. Y solo en la etapa final entre cartílago hipertrófico y mineralizado, se produce la expresión de las moléculas propias de la mineralización como la osteocalcina, fosfatasa alcalina y Osteonectina, que son proteínas interactivas y el depósito de calcio al final²⁸.

Entre otros factores influyentes están los hormonales, como por ejemplo: la hormona paratiroidea, la calcitonina secretada por la glándula tiroides donde su función es disminuir la concentración

sanguínea de calcio²⁹. La calcitonina es un polipéptido de 32 aminoácidos, que para mantener la homeostasis del calcio actúa de la siguiente forma:

- Disminuye la actividad osteoclástica.
- Aumenta la actividad osteoblástica.
- Previene la formación de nuevos Osteoclastos a partir de sus células progenitoras.

En estudios ultra estructurales de tejido óseo se ha demostrado una fase mineral sólida electro-densa caracterizada por depósitos de fosfato de calcio en mitocondria, vesículas de matriz extracelular y fibras colágenas. La clasificación de este tejido incluye características críticas así:

- El calcio mitocondrial y extracelular están relacionados en el cartílago calcificado por una conexión temporal y casual entre los gránulos mitocondriales y la iniciación de la calcificación extracelular. El número de gránulos va decreciendo progresivamente a medida que va aumentando la calcificación.
- Las vesículas de la matriz normalmente corresponde a los sitios en los cuales la fase mineral sólida extracelular empieza a depositarse.
- La calcificación de las vesículas de la matriz es obligatoria para la calcificación subsiguiente de las matrices extracelulares de este tejido.

En el sitio donde va a suceder la calcificación de la matriz orgánica de hueso, los iones de calcio, fosfato, magnesio, etc. Se organizan para conformar estructuras cristaloides que constituyen los llamados cristales de hidroxiapatita³⁰. En el sitio donde va a suceder el proceso de cristalización se

presenta un estado de saturación de sales de calcio fenómeno que recibe el nombre de Nucleación³¹.

2.2 IMPLANTE

El termino implante, se aplica a trasplantes de tejidos no vitales; a diferencia del termino Injertos que es usado en el trasplante de tejido viviente³².

Las practicas de este tipo aunque se consideran modernas, existen datos en la cultura precolombina, 500 – 600 a.c, un implante de concha de molusco realizado en mandíbula, tallado en forma de diente, sustituyendo un incisivo presumiblemente de una persona viva.

El desarrollo de métodos y técnicas de reposición dentaria es lo que da lugar a la implantación en hueso de elementos que puedan soportar las prótesis dentales, y esto a su vez crea la necesidad de aumentar o mejorar ese hueso donde se realiza el implante³³.

Ante un traumatismo o proceso patológico, la solución clásica ha sido la de la osteoplastia, sin embargo este procedimiento, además de ser traumático, no siempre da buenos resultados y exige un remanente maxilar aceptable; es por esto que hoy en día se han desarrollado nuevas técnicas incuestionablemente de mejor pronostico como la utilización de implantes oseos³⁴.

Hasta la fecha, la evidencia histológica en humanos indica que el implante óseo es el único tratamiento que conduce la regeneración del hueso.

2.2.1 CARACTERÍSTICAS.

Las características ideales de un implante óseo son las siguientes:

- No es toxico
- No es antigénico
- Es resistente a la infección
- Debe reabsorberse por completo y ser reemplazado por hueso
- El injerto debe ayudar en forma Activa o Pasiva al proceso osteogénico
- Es fuerte y resistente
- Es fácilmente adaptable
- Es de disponibilidad sencilla e inmediata
- Requiere un procedimiento quirúrgico mínimo^{35,36}.
- Los costos son bajos comparados con su beneficio

2.2.2 FORMAS DE APLICACIÓN

Los implantes óseos pueden aplicarse estructurados en forma y dimensión o fragmentados. Los primeros cumplen muy bien la función de soporte por su carácter corticoesponjoso; los segundos

son solo esponjosos, de mala mecánica, pero excelente biología.

Según el doctor Duir³⁷, El resultado de un implante depende de:

- Adecuada preparación del lecho receptor.
- Adecuada forma, dimensión y fijación del implante.
- Vástagos de extensión y carga diferida, controlada y progresiva.
- Protección del lecho receptor durante los primeros meses con tornillos, placas, etc.

2.2.3 OBJETIVO DEL IMPLANTE

El objetivo principal de un implante óseo es desencadenar osteogénesis, formación de hueso mineralizado por parte de los osteoblastos, regenerar un defecto óseo y crear además un taponamiento mecánico³⁸.

2.2.4 MECANISMOS DE ACCION

Los implantes óseos se activan a través de tres mecanismos:

Osteogénesis (teoría de supervivencia): El injerto posee osteocitos vivos, que son la fuente de osteoide que es producido activamente durante las cuatro semanas posteriores al injerto³⁹.

Osteoconducción: En donde el implante sirve para proporcionar un apoyo mecánico y un almacén en el cual los osteoblastos del huésped pueden formar hueso nuevo y a través de la remodelación reemplazar por último el implante.

Osteoinducción: Efecto físico-químico de un sustrato sobre otro, cuando estos se ponen en contacto para liberar y activar proteínas de matriz que inducen hueso a partir del implante durante la reabsorción osteoclástica.

En el caso de la inducción ósea el hecho mas importante es la proliferación de células mesenquimales con capacidad para diferenciarse en células especializadas óseas^{40,41,42}.

2.2.5 TIPOS DE IMPLANTES.

Los tipos de implantes útiles como relleno en la reparación de defectos óseos y estimulación de la regeneración son:

- a. Autoimplante: Se obtienen del propio cuerpo del paciente, se consideran ideales entre los materiales de implante porque son superiores en mantener la viabilidad celular; además evitan potenciales problemas de diferentes enfermedades^{43,44}.

Los implantes de hueso autógeno han demostrado bastantes posibilidades biológicas para conseguir la regeneración periodontal, tal como demuestran los análisis histológicos de biopsias que evidencian la formación de nuevo hueso alveolar⁴⁵.

Los implantes de hueso autógeno tienen además el inconveniente de una mayor morbilidad, como consecuencia de la necesidad de una segunda herida quirúrgica para obtener el material del implante⁴⁶.

El primer Autoimplante fue descrito por Merrem en 1809⁴⁷.

Estos autoimplantes se pueden obtener de:

- Cortical (Coagulo óseo).
- Combinación de hueso cortical – hueso cancelar (tuberosidad)
- Hueso cancelar con medula ósea⁴⁸.

b. Aloimplante: Proviene de hueso tomado de un ser humano para transplantarlo a otro.

El primer aloimplante óseo exitoso en humanos fue reportado en 1878 por Meaceawen.

El material para estos implantes, obtenidos de personas fallecidas, o 12 horas antes de su muerte, se desgrasa, se corta en piezas y se lava en alcohol absoluto, se seca de manera profunda; puede o no desmineralizarse y después se raspa, se cuele y se congela seco, o sea se liofiliza y se tratan para prevenir la transmisión de enfermedades⁴⁹.

La respuesta inmune del organismo receptor al aloimplante de matriz ósea podría jugar un papel importante suprimiendo la capacidad osteoinductora del mismo, inhibiendo la neoformación ósea y la consolidación de las fracturas^{50,51}.

Sin embargo, la creación de un defecto óseo previo al implante, crea una reacción tal que logra diferenciar osteoblastos de las células mesenquimatosas preexistentes⁵².

Su potencial antígeno es suprimido con radiación, congelación, tratamiento químico y para su conservación se utilizan agentes crioprotectores.

Los aloimplantes pueden ser según su procedencia:

- Hueso congelado-desechado.
- Hueso cancelar con medula ósea vital
- Hueso cancelar con medula ósea esterilizada^{53, 54}.

Se clasifican según su forma física en:

- Huesos triturados (fragmentos de hueso esponjoso que van de 5 a 10 mm de diámetro) se usa con relleno de defectos contenidos. Puede revascularizarse y remodelarse y su resistencia aumenta con el tiempo.
- El implante estructural esta indicado para el tratamiento de un defecto no contenido cuando es necesario restaurar la anatomía y la longitud del miembro. Son aceptables cuando hay reserva ósea adecuada^{55,56}. Con este tipo de implante se produce un fenómeno inductivo y hay neoformación ósea que conduce a la recuperación del defecto ose⁵⁷.

La combinación de implantes oseointegrados y aloimplantes es útil para aumentar la altura ose⁵⁸.

c. Xenoinplante: es un implante entre diferentes especies, actualmente hay tres fuentes disponibles de Xenoinplantes utilizados como sustitutos óseos en la practica clínica:

- Hueso bovino^{59, 60}.
- Coral natural.

- Escleras (corneas)

Su gran ventaja es que se dispone de ellos con facilidad y están casi totalmente libres de riesgo de transmisión de enfermedades⁶¹.

Tiene propiedades osteoconductoras y puede inicialmente acelerar la formación de nuevo hueso durante la regeneración ósea guiada^{62, 63, 64,65}.

Su gran desventaja es su alto potencial de antigenicidad debido a su matriz ósea y proteínas séricas, presentando una respuesta inflamatoria severa y aumentando el rechazo del trasplante por parte del organismo⁶⁶.

- d. Aloplástico: En el presente siglo muchos investigadores se han dado a la tarea de obtener materiales biocompatibles, sintéticos con la intención de promover la osteogénesis para la reparación de defectos óseos^{67, 68}.

Los biomateriales o materiales Aloplásticos se pueden definir como "aquellos materiales inertes utilizados para interactuar con los sistemas biológicos, con la finalidad de evaluar, tratar, aumentar o sustituir algún tejido, órgano o función del organismo".

Se diferencia entre biomateriales e implantes, ya que estos últimos, son constituidos por células vivas que son transferidas de una zona donante a otra receptora con la finalidad de reconstruirla⁶⁹.

El primer reporte de aplicación de un sustituto de hueso fue publicado por Albeen en 1920⁷⁰.

Este tipo de implante se clasifica:

- Según la reacción provocada

- Atendiendo a su forma física: Densos o Porosos
- En cuanto a su degradación: Reabsorbible y No reabsorbible^{71,72}

Dentro de los diferentes tipos de implantes aloplásticos se han utilizado:

- *Yeso París (Sulfato de calcio)*: Caracterizado por ser un material poroso, favoreciendo la osteoconducción; duro, por lo cual no es necesario utilizar barreras reabsorbibles para estabilizarlo, además económico y fácil de adquirir^{73,74,75,76}
- *Polímeros Naturales*⁷⁷: Es una resina compuesta reabsorbible, microporosa de polimetilmetacrilato. Diversos estudios han demostrado ser un buen relleno de defectos óseo⁷⁸.
- *Cristales de Hidroxiapatita (Fosfato de Calcio)*: Presenta características de ser un buen conductor de hueso, sirviendo como andamio para el depósito de hueso y formación vascular^{80,81}. Tiene además la ventaja de presentar mayor dureza y ser más fácil de reabsorber^{82,83}.
- *Coralina*: Existen diversos tipos; el Natural y el derivado de Hidroxiapatita. Según estudios realizados, muestra una positiva respuesta como inductor óseo^{84,85}.
- *Matriz derivada de esmalte*: Compuestos de amelogenina y proteínas relacionadas que se derivan de gérmenes dentarios porcinos^{86,87}.

Cuando el implante es alogénico, puede producirse una pequeña reacción inflamatoria al comienzo, posiblemente debido al trauma quirúrgico, pero en general, el organismo recibe y tolera muy bien este tipo de implante⁸⁸.

Estos materiales aloplásticos usan ambos mecanismos de acción osteoconducción y osteoinducción^{89,90}.

e. Morfoporteína Ósea (BMP): Es un conjunto de proteínas no colágenas aisladas de la matriz ósea, las cuales presentan actividad inductora ósea; se han demostrado que son pertenecientes a la familia de los Factores de Crecimiento (TGF-B).

Los BMP, inducen a la expresión de los genes que controlan y coordinan la secuencia del proceso de desarrollo óseo, produciendo una transformación fenotípica en las células mesenquimales, con una cascada de fenómenos irreversibles que conducen a la transformación del tejido conectivo, en tejido óseo^{91,92,93}.

2.3 CASCARAS DE HUEVO

En el huevo de gallina, la cáscara representa el 11.5% de su composición total⁹⁴.

La cáscara es más que una cubierta protectora de un embrión. También es básicamente calcio⁹⁵.

Tiene una masa aproximadamente de 5 gramos, contienen un 97.98% de carbonatos de calcio y de magnesio; estas sales están depositadas sobre una matriz orgánica formada principalmente por una proteína que por su función similar a las que unen las sustancias minerales de los huesos, se denomina OSTEINA^{96,97}.

Las paredes interiores de la cáscara de huevo están tapizadas de dos membranas compuestas por fibras de complejos proteínas – polisacáridos⁹⁸.

En la tabla 1. Se describen los componentes nutricionales del huevo, incluyendo los de la cáscara⁹⁹.

Tabla 1. Componentes Nutricionales del Huevo

Componentes	Cáscara	Clara	Yema	Porción Comestible
Agua	1.0	88.4	47.5	74.5
Proteína	4.0	10.5	17.4	12.5
Lípidos	=	0.1	33	11.8
Carbohidratos	=	0.5	0.2	0.4
Elementos Inorgánicos	95	0.5	1.1	1.1
Otros	=	=	0.8	=

La materia colorante encontrada en la cáscara parece ser un pigmento biliar. La membrana (doble), que separa la cáscara de la clara, esta formada por una sustancia albuminoidea, análoga a la queratina según Libermann.

Esta aboqueratina se ha encontrado en cien partes: Glicina 3.9%, alanina 3 – 5 %, Leucina 7.4%, Prolina 4%, Ácido glutámico 8.1%, Ácido aspártico 2.1%¹⁰⁰.

Al desmineralizar la cáscara, se encuentra una trama orgánica constituida por colágeno X, lo que permite a la cáscara de huevo servir de depósito de una fase mineral inorgánica, esto gracias a sus componentes que son:

- Proteínas con secuencias de aminoácidos ricas en ácido aspártico y glutamen, que son los aminoácidos que tienen carga negativa, por ejemplo, Osteonectina.

- Puede tener fosforilaciones en residuos de serina o treonina, por ejemplo la Enamelina.
- Puede tener glicosilaciones particulares, como ser ricas en ácido siálico, por ejemplo sialoproteína dentaria
- Puede tener carboxilaciones en residuos de ácido glutámico, puede sufrir una carboxilación por acción enzimática y eso hace que sea ácida.
- Puede haber sulfataciones como proteoglicanos, por ejemplo, ellos pueden participar en la biomineralización; porque la sulfatación y la carboxilación que ellos poseen les permite tener una carga negativa¹⁰¹.

2.3.1 DEPÓSITO DE CALCIO

Cuando hay precipitación de fosfato de calcio, se produce el depósito de calcio y de fosfato en la matriz extracelular como es comandada por la matriz orgánica, para que adopte la forma.

Los espacios se tienen que ir rellenando hasta adoptar la forma de cristal.

Se acostumbra que primero hay depósito en el centro (donde está la línea divisora de las dos mitades), de modo que ahí se produce el depósito en forma de fosfato de calcio amorfo y luego va cambiando la estructura a medida que la cantidad de fosfato y de calcio para ir formando calcio octacálcico y por último se produce el cristal de hidroxiapatita, por la suma de dos mitades que son fosfatos octacálcicos.

Al pasar un grado de saturación de calcio y de fosfato, se fusionan a dos fosfatos octacálcicos para formar el cristal de hidroxiapatita, pero antes fueron cristal amorfo¹⁰².

Como muestra el Doctor Alex Alarcón en su estudio, la cáscara de huevo, por sus propiedades, induce a la osteogénesis sin producir rechazo; por tal razón, ha sido utilizada mezclándose con Hidróxido de calcio "Óxido Básico" (que presenta un ph alcalino que evita la degeneración de la cáscara de huevo en el organismo), en pacientes que sufren pérdidas considerables de tejido óseo logrando regenerar y cicatrizar el tejido en no más de dos semanas¹⁰³.

La cáscara de huevo es considerada como un material **Biocerámico**, como afirma el Dr. José Luis Arias; estos están compuestos en su mayor parte de un material inorgánico –Carbonato de calcio-, pero a su vez contiene un 5% de material orgánico –Proteínas y azúcar-; esta pequeña porción orgánica es la que dirige cómo el resto de los componentes se organiza¹⁰⁴.

El color de la cáscara depende de la raza de la gallina, el valor nutritivo del huevo es independiente de su color¹¹³

En la tabla 2. Se compara la cáscara de huevo y hueso; se muestra la similitud entre sus componentes

Tabla 2. Comparación entre los componentes de la cáscara de huevo y hueso

	Componentes	Cáscara de huevo	Hueso
1	Carbonato de Calcio	94%♦	10%■
2	Carbonato de Magnesio	1%♦	-----
3	Fosfato de calcio	1%♦	85%■

Continuación Tabla 2.

4	Proteínas	4%♣	5%■
5	Colágeno	1%♣	95-97%●
6	Componente Mineral	97-98%♥	75%□
7	Porción orgánica	-----	35%□
8	Porción inorgánico	95%♣	65%□
9	Matriz	Acidofila♣	Acidofila∞

◆105, ♠106, ♥107, ♣108, ■109 se observa en forma de cristales de hidroxiapatita.

●110, ■ 111, ∞112.

2.4 EL CONEJO

El conejo es un mamífero lagomorfo perteneciente a la familia de los Lepóridos – oryctolaeus - cuniculos, doméstico.

Es uno de los animales más antiguos, cuyo conocimiento por el hombre corresponde a la era pre-histórica.

El origen de esta especie se desconoce, pero para algunos procede de Asia Central, desde donde emigró hacia Europa, lugar en el que habitó por mucho tiempo.

El conejo es un animal herbívoro, vivaz, activo, fértil, tímido, no agresivo, extraordinariamente sensible a los estímulos externos, de hábitos crepusculares.

Su alimentación es muy variada, se basa en los tallos vegetales y granos, los cuales digieren con mucha velocidad.

Su defensa como especie es la de ocultación y mimetismo en la huida y su elevada capacidad reproductiva.

Este animal presenta algunas particularidades anatómicas típicas como el gran desarrollo de sus pabellones auriculares y fisiológicos, como la capacidad de las hembras para la ovulación provocada¹¹⁴.

2.4.1 CLASIFICACIÓN ZOOLOGICA

La clasificación zoológica del conejo se muestra en la tabla 3:

Tabla 3. Clasificación zoológica del conejo.

Reino	Animal
Subreino	Metazoos
Tipo	Cordados
Subtipo	Craneados
Subclase	Vivíparos
Orden	Lagomorfos
Familia	Leporidae
Subfamilia	Leporiae
Género	Orxetalogos
Especie	Cunículos

2.4.2 APARATOS Y SISTEMAS DEL ORGANISMO DEL CONEJO

En la Tabla 4. Se muestran los Aparatos y Sistemas del organismo del conejo.

Tabla 4. Aparatos y sistemas del organismo del Conejo

Aparato/ Sistemas	Órgano	Misión
Digestivo	Boca, faringe, esófago, estomago intestino delgado, intestino grueso ciego, colon, ano; glándulas salivares, hígado, páncreas	Digestión y asimilación de los alimentos.
Respiratorio	Ollares, fosas nasales, faringe, laringe, traquea, bronquios, bronquiolos y pulmones	Respiración y recambio gaseoso
Circulatorio	Corazón, venas, arterias	Distribución por el cuerpo del oxígeno y los alimentos.
Urinario	Riñones, pelvis renal, uréteres, vejiga de la orina y uretra.	Secreción urinaria
Aparato genital del macho	Testículos, epidídimo, conducto deferente, vesículas seminales, glándulas bulbouretrales, glándulas prostáticas y uretra.	Secreción urinaria.
Aparato genital de la hembra	Ovarios, oviducto, úteros, orificios uterinos, vagina, vulva.	Producción de óvulos, gestación.
Nervioso	Cerebro, cerebelo, bulbo raquídeo, medula espinal, nervios espinales, etc.	Funciones de relación neurovegetativo.
Óseo	Huesos cortos, planos y largos	Soporte corporal
Muscular	Músculos, tendones y aponeurosis	Dar movimiento a los miembros

La raza de conejo más usado para investigaciones es el conejo de raza Blanco Neocelandés; porque tiene un crecimiento continuo y rápido en sus tejidos dentales y óseos, en comparación con otros vertebrados como la liebre o el ratón que son también utilizados en el área experimental^{116,117}.

Su estructura interna como lo son las células, tejidos y órganos son muy similares a las del ser humano. En cuanto al tejido óseo, de mayor interés para la investigación se puede decir que su

crecimiento y cicatrización es más rápida que la del ser humano; su estructura ósea contiene una matriz que se transforma rápidamente en sustancia áspera y dura que contiene fósforo y carbohidratos de calcio¹¹⁸.

2.5 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se llevó a cabo en la ciudad de Santiago de Cali, ubicada en el departamento del Valle del Cauca, país Colombia.

3. DISEÑO METODOLOGICO

La secuencia de la investigación se realizó en dos fases: Laboratorio y Campo.

La fase de LABORATORIO, consistió en la adecuación y acondicionamiento de la cáscara de huevo, que fue realizada en el laboratorio de Nutrición Animal, de la facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, ubicada en Chapinero Cra. 32, vía candelaria. Con la asesoría del Doctor Pascal Meterme y Fernando Estrada, Ingenieros Agrónomos.

La segunda fase, es la de campo, que consta de una parte quirúrgica, seguimiento físico, fisiológico, radiológico.

Los análisis finales se hicieron con la colaboración del doctor Carlos Tasamá, Odontopatólogo, y el doctor Diego Sánchez, cirujano maxilofacial, ambos asesores científicos.

En la fase de laboratorio se llevo a cabo:

- Recolección de la muestra:

Los huevos de pueden adquirir en supermercados, fincas o avícolas, entre las que se encuentran: la avícola el León, Alejandría y Nápoles.

Una vez obtenidos los huevos de la avícola Nápoles, se lavaron, se separo la cáscara de su contenido interno, y se lavo de nuevo conservando sus membranas internas por facilidad en el procedimiento, además al sufrir los demás procesos (deshidratación, trituración, tamizaje y esterilización¹¹⁹), esta se pierde en su mayoría.

Por ser muestra seca se conserva en bolsas plásticas de selle hermético, almacenado en un lugar fresco.

- Deshidratación de la muestra:

Este procedimiento se realizo con el principio de eliminar el contenido de agua de la muestra con el fin de facilitar su conservación y expresar su composición en base seca (% de materia seca).

Se tuvo en cuenta el peso inicial de las cáscaras el cual fue de 750 gr., posteriormente se realizo la deshidratación por medio de un horno con circulación interna de aire caliente marca DIES (Diseños Electrónicos Especiales); a 60 grados centígrados por 24 horas y finalmente se determina su peso después de la deshidratación para calcular su peso en materia seca el cual fue se 730 gms¹²⁰.

- Trituración de la muestra:

Esta es una etapa muy importante para la preparación de la muestra. Una trituración demasiado gruesa va a impedir que se de una reabsorción y una demasiado fina no va a dejar espacios apropiados entre si para los elementos intercelulares que se encuentran en contacto directo con las partículas del material a implantar; siendo un tamaño ideal se 100 a 300 micras¹²¹.

El molino de marca Fritsch-Pulverisette 14 (ver anexo B) a utilizar es a base de cuchillas con tamiz, primero se usa el tamiz de mayor diámetro (1mm) y luego el de menor diámetro (0.5 mm), por un minuto cada uno aproximadamente a una velocidad se 16.000 revoluciones por minuto.

Es necesario de que la muestra se pase por un nuevo proceso de tamizaje para obtener el tamaño ideal de partícula.

- Determinación del contenido de cenizas:

Las cenizas representan la porción mineral, es decir inorgánica. Es la parte que queda después de la eliminación del agua y de los componentes orgánicos por combustión, aunque parte de las cenizas sean de origen orgánico.

Se colocan los crisoles con la materia seca en una mufla a 550-600 grados centígrados durante un mínimo de 6 horas. Se apago la mufla, se abrió la puerta y se espero 10 minutos. Se colocaron los crisoles con una pinza en un secador. Se dejo el grifo abierto 2 minutos. Se dejo enfriar durante al menos una hora. Se abrió con precaución el grifo hasta el equilibrio de aire, se peso los crisoles y se anoto el peso. Se calculo el contenido en cenizas total para lo cual se utilizo la siguiente formula:

$$\% \text{ de cenizas} = \frac{Pf - Pi}{Pm} \times 100$$

Donde:

Pf = Peso final (peso del crisol + las cenizas)

Pi = Peso inicial (Peso de un crisol)

Pm = Peso de la muestra¹²².

Obteniéndose los valores que se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Contenido de cenizas de la cáscara de huevo

Humedad	2.8	Grasa	0.05
Cenizas	59.32	Carbohidratos	35.63
Fibra cruda	0.59	Proteína	4.41

- Esterilización de la muestra:

Se realizó la muestra en el autoclave de 15 libras de presión por 15 minutos, en un balón marca Pyrex de 500 ml., sellado y con una toalla absorbente sobre él¹²³.

- Análisis físico-químico, que se realizó en el laboratorio de Análisis Industrial de la Universidad del Valle; donde se determinó su contenido de: Grasa, proteína, calcio, magnesio, fósforo, utilizando métodos como el de Kjeldah; que consistió en mineralizar el nitrógeno calentando fuertemente la muestra con ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador. Se pesa exactamente una cantidad de la muestra, entre 0.5 y 1 gr, y se pasa a un balón, se agrega una cantidad de selenio y se deja 2 a 3 horas hasta destruir totalmente la materia orgánica.

En esta operación el nitrógeno se mineraliza transformándose en sulfato ácido de amonio, se deja enfriar el producto y se diluye con agua destilada (200 – 250 cm³), se agrega 80 cm³ de lejía de NaOH para regular la ebullición.

El refrigerante se sumerge en un erlenmeyer que contiene una cantidad conocida de ácido sulfúrico y 0.5 de nitrógeno. Se calienta el balón, se recoge 120 cm³ de destilado, se valora el contenido de nitrógeno se expresa como proteínas totales calculándolo con la siguiente fórmula:

$$N\% = \frac{[(A \times N1) - (B \times N2)] \times 0.014 \times 100}{P}$$

Además se utilizó el análisis de Determinación de Grasa Bruta (extracto etéreo), para lo cual la muestra debe estar libre de humedad, para separar la grasa de otras sustancias se coloca 2gr en un embudo con papel filtro y se extrae con 5 porciones de 20 cm³ de agua.

Se lleva a una estufa junto con el embudo y se seca. Luego se coloca en un aparato de extracción tipo SOXHLET.

La muestra preparada se extrae con éter de petróleo, el tiempo necesario para la remoción completa de la grasa. Los extractos etéreos reunidos se trasladan a un recipiente previamente pesado. Se evapora el éter, el residuo se seca por 30 minutos a 100 °C, se deja enfriar en un desecador y se repite el calentamiento hasta obtener un peso constante. El aumento de peso corresponde a la grasa bruta o extracto de éter. Se usa como fórmula¹²⁴:

$$\% \text{grasa bruta} = \frac{\text{Peso residuo} \times 100}{\text{Peso muestra}}$$

Se utilizó también el método para la determinación de proteínas así: Se pesaron 0.7 a 2.2 gr de la muestra en un matraz de Kejdahl con 0.7 gr de óxido de mercurio (Hgo), 10 gr de sulfato de potasio (K₂SO₄), pulverizado y 25 cm³ de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. Se calienta suavemente el matraz hasta que desaparezca la espuma, se hierve la solución hasta que quede limpio manteniendo la ebullición por 30 minutos.

Se deja enfriar la solución por debajo de 25 °C, se añade 200cm³ de solución de trisulfato de sodio, y se mezcla para precipitar el mercurio. Se agrega al matraz una solución concentrada de hidróxido de sodio para alcalinizarlo.

Se conecta el matraz al aparato de destilación con la punta del condensador sumergida en 25cm³ de solución 0.1N de ácido sulfúrico. Se agita el matraz para mezclar su contenido y se calienta hasta que todo el amoníaco haya destilado.

Se valora el exceso de ácido con una solución valorada 0.1N de hidróxido de sodio utilizando

indicador. Paralelamente se lleva a cabo la determinación de un blanco. Luego se interpreta el contenido de proteínas expresado en porcentaje con la siguiente fórmula¹²⁵

$$\text{Proteínas \%} = \frac{100 (V_1N_1 - V_2N_2) \times 0.014 \times 5.7}{M}$$

Todos estos métodos utilizados dan como resultado los valores mostrados en la tabla 6.

Tabla 6. Análisis físico – químico de la cáscara de huevo

Grasa	0.12
Proteína	4.33
Calcio	8.11
Magnesio	1.11
Fósforo	1.83

La fase de CAMPO, donde se utilizaron 10 conejos entre los 4 y 6 meses de edad, que oscilaban entre los 4 y 5 kilogramos de peso, de raza blanco neocelandés.

Se inició con la adaptación de los conejos en el lugar de su mantenimiento permanente durante 20 días. En este período se marcaron los conejos de manera individual, de forma clara, y segura; a través de tatuajes en la oreja derecha (ver anexo c), y con tarjetas adosadas a las jaulas coincidiendo con el tatuaje realizado¹²⁶.

En este lapso de adaptación se observó el comportamiento del animal, para obtener un registro de actividades diarias, que sirva como medio de información y punto de referencia al momento de obtener los resultados.

Después de esta ambientación se procedió a la fase quirúrgica, donde a 3 conejos se les creó un nicho óseo y se relleno con el material aloplástico, 3 conocidos como réplicas, a los cuales fue creado el nicho óseo sin aplicar el material, y los 4 restantes no se les realizó ningún procedimiento y servirán como control durante el período de investigación.

Los conejos utilizados para el procedimiento quirúrgico permanecieron en ayunas 24 horas.

Se procedió a retirar el pelo de la zona y área adyacente a la incisión con máquina de afeitar, se desinfectó con yodopovidona al 1%.

Se anestesiaron con ketamina (30mg/kg) y xilazina (3ml/kg) intramuscular, lo cual proporciono un tiempo anestésico de 30 – 40 minutos.

El área de la cirugía fue infiltrada con media cárpule de prilocaina al 2% con vasoconstrictor para proceder a levantar un colgajo cutáneo–periostico, descubriendo el hueso de la cadera.

El abordaje quirúrgico se realizo a través de una incisión de tres a cuatro centímetros de longitud. Se desplazo el periostio y se realizo un defecto circular de aproximadamente tres a cuatro milímetros de diámetro, hasta llegar a la cavidad medular con una pieza de baja velocidad y con la ayuda de una fresa de carburo No. 702 de tallo largo, acompañada de refrigeración externa con solución salina, evitando necrosis del tejido óseo^{127,128}.

En medio de estas dos zonas se implantó la cáscara de huevo procesada, previamente estéril, mezclada con la misma sangre del animal; se cubrió con el periostio desplazado previamente. Se suturó interna y externamente con catgut, usando puntos simples discontinuos internamente y continuos externamente.

Una vez terminada la cirugía, se les aplico intramuscularmente Dipirona – Novalgina^R 0.1 ml y

Ampicilina – Binotal^R 0.15 ml.

Posteriormente, se les tomo una radiografía a un kilovoltaje elevado para reducir el tiempo de exposición y obtener un mejor grado de contraste, resaltando los detalles óseos¹²⁹.

A los conejos conocidos como replicas se le realizaron los mismos procedimientos exceptuando la fijación del implante.

Después de la cirugía los conejos se trasladaron a la clínica veterinaria del zoológico de Cali, lugar de mantenimiento permanente.

Cuidados posquirúrgicos

A todos los animales intervenidos quirúrgicamente se les administro durante siete días, Ampicilina – Binotal^R por vía oral. Se les realizo diariamente desinfecciones con yodopovidona en el lugar de la herida, al igual que una aplicación de crema granúgena por 15 días. Se les adiciono un collarín durante el tiempo de recuperación aproximado de dos semanas.

El lugar de permanencia constaba con suministro eléctrico, agua potable, sin obstáculo para la limpieza y desinfección, adecuado drenaje, con buena iluminación y ventilación.

En este lugar, los conejos estuvieron ubicados en jaulas de estructura fuerte, sencillas de reparar, carentes de superficies irregulares y abrasivas, con un área de alojamiento apropiadas al tamaño y peso del animal (50 X 50 cms), provista de bebederos y comederos; estos tenían agua corriente y limpia, se sometieron a una estricta limpieza eliminando orina, heces, restos de cama, alimentos, utilizando detergente comercial y cepillo fuerte¹³⁰.

La clase de cama fue seca, limpia, sin ruidos excesivos y a una temperatura adecuada para cada condición a observar. Alternativamente se recurrió al empleo de una solución desinfectante, como

el hipoclorito de sodio.

En cuanto a la alimentación y bebida de los conejos, siempre se alimentaron con un preparado comercial de alta calidad, en forma de Pellets y administrados ad libitum. Obviamente la cantidad de alimento a proporcionar varía en función del tamaño del animal, teniendo como base que el conejo debe consumir 5 gr de alimento por cada 10 gr de su peso.

En el caso de los animales destinados a la experimentación y con objeto de evitar la obesidad, fue suficiente proporcionarles 120 gr del comprimido al día. En ningún caso se restringió el agua, siempre limpia y fresca. Se estimó una ingesta diaria de 10 ml / 100 gr de peso para su suministro¹³¹. No se les suministró en ningún momento suplementos vitamínicos o alimenticios.

Los conejos permanecieron separados respectivamente ya que en ocasiones los machos resultan sumamente agresivos hacia sus conespecíficos, hasta el punto de castrarse unos a otros. En cuanto a las hembras puede producirse pseudogestación por agrupamiento homosexual.

Al animal se le realizó un control físico y funcional, para lo cual se utilizó una tabla de recolección de información para cada conejo, que consta de los siguiente datos: Código del conejo, edad, peso, temperatura, comportamiento, etc. (Para más información ver ítem 3.8.2), y de un control radiológico cada seis semanas para observar la evolución del implante (Ver anexos d, e, f).

Para llevar a cabo este control se manipuló al conejo de la siguiente manera:

- Trayecto corto: Se sujeta por la piel del cuello a la vez que se apoyan los cuartos traseros con la otra mano.
- Trayecto largo: Deben colocarse sobre el antebrazo con la cabeza del animal dirigida hacia el codo, ya que si se maneja de forma inadecuada, estos animales forcejean pudiendo producirse una fractura o dañar a quien los manipula¹³².

Pasadas 12 semanas de observación el implante se realizó el sacrificio del animal (eutanasia), siguiendo una técnica indolora, rápida, que permita un tránsito tranquilo desde la plena conciencia hacia la muerte, la cual consistió en la contusión o dislocación cervical; Éste consistió en un golpe en la nuca (ver anexo g); este método debe ir seguido de la inmediata exanguinación o extracción del corazón o destrucción del cerebro para asegurar la muerte¹³³.

Posterior a la práctica se realizaron revisiones histológicas para observar la neoformación ósea obtenida y morfométricas del tejido óseo, al igual que en órganos blancos (Hígado, bazo, pulmón, riñón, páncreas); para determinar si existen cambios anatomopatológicos y correlacionar con los resultados.

La tinción usada para dicho análisis fue Hematoxilina y Eosina, para lo cual se procesó:

Una vez descalcificado el hueso y realizado los cortes, se sumerge cada corte en agua de Hematoxilina durante uno o dos minutos, lo que proporcionó el color más intenso de la tinción, posteriormente se lavó con agua, se sumergió de 6 a 7 veces en alcohol de manera rápida, con lo que se logró diferenciación.

Se lavó nuevamente con agua, el tono azul se logró con amoníaco sumergiéndolo durante 20 a 30 segundos.

Se lavó nuevamente con agua. El contraste se logró con eosina y sumergiéndolo por 10 a 30 segundos, posteriormente se deshidrató con los baños de alcohol y por último por un baño de xileno¹³⁴.

3.1 HIPÓTESIS

La cáscara de huevo es un material aloplástico efectivo en la regeneración ósea como material oseoconductor.

3.2 TIPO DE ESTUDIO

Este proyecto es de tipo experimental, preclínico, realizado en conejos como sujetos de estudio.

3.3 UNIVERSO

El conejo escogido para la investigación es el de raza Blanco Neocelandés¹³⁵, este es un animal que pesa de 4 a 5ª Kg, por tal razón es una de las mejores razas productoras de carne joven en América.

3.4 POBLACIÓN

El conejo de raza Blanco Neocelandés fue seleccionado con una edad promedio de 4 a 6 meses de edad, ya que en este tiempo presenta su pico más alto de crecimiento y desarrollo.

3.5 MUESTRA

El tamaño de la muestra fue de 10 conejos en total, siguiendo las recomendaciones dadas por el Comité de Ética Animal (Ver anexo h); no se contó con una teoría de muestreo, por tanto será un análisis descriptivo.

Se seleccionaron de manera aleatoria, donde a 3 se les aplicó el material aloplástico (cáscara de huevo procesada), otros 3 conocidos como réplicas, se les creó un nicho óseo y no se les implantó el material para comparar las diferentes respuestas producidas, a los 4 restantes no se les realizó ningún procedimiento para ser usados como control en la investigación.

3.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN

3.6.1 CRITERIOS DE INCLUSION

Para este estudio se seleccionaron conejos que cumplieron con las siguientes características:

- Raza: Blanco Neocelandés
- Edad: 4 – 6 meses
- Sexo: Indiferente
- Peso: 3 a 4 Kg.
- Procedencia: Granja Universidad Nacional, sede Palmira
- Sujeto sano

3.6.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Sujetos enfermos o que presenten patologías sistémicas y/o locales.
- Sujetos que presenten lesiones o heridas físicas

3.6.3 CRITERIOS DE DESCONTINUACIÓN O RETIRO

- Enfermedad durante la investigación, como hongos, parásitos.
- La hembra quede preñada
- Muerte súbita del animal.

3.7 VARIABLES

Para el análisis histológico se tomaron en cuenta las siguientes variables:

- Sexo: Macho, los genitales externos presentan: saco escrotal, pene; éste sobrepasa el ano y las zonas laterales son carentes de pelo.

Hembra, los genitales externos presentan: orificio urogenital y ano, las bolsas perianales se sitúan lateralmente a la abertura urogenital.

- **Implante:** Se determinó al azar dentro del grupo de estudio, y se describe en cual de ellos esta presente.

- **Estratificación por formación:** Se dividió en 3 zonas fácilmente observables y medibles:

Cartílago Embrionario: Presenta una proliferación celular, donde se encuentra condroblastos y osteocitos, además fibras dispuestas de manera desordenada; no mostrando una alternancia histológica clara si no un aspecto fibrilar; esto debido a que sólo brillan las fibras colágenas que quedan dispuestas perpendicularmente.

Cartílago Maduro: Es la zona media, que se encuentra entre el cartílago inmaduro y el osteoide.

Osteoide: Es la zona periférica de la regeneración, que se caracteriza por encontrar una mezcla de cartílago y de hueso.

- **Formación Ósea:** Fue determinada por observación; clasificándola en:

Ordenada; Por presentar una disposición estratificada en la maduración.

Desordenada: Presenta una disposición no estratificada en la maduración.

- **Celularidad Medular:** Fue determinada por observación; clasificada en tres categorías:

Aumentada, Normal o Disminuida; dependiendo de la cantidad observada en la médula ósea, comparada con el conejo control.

- **Vascularidad:** Se determinaron dos parámetros:

Periférica: Observando si esta proviene desde la periferia hacia la zona medular

Interior: Observando si esta proviene de la zona medular hacia la periferia.

- Cicatrización: Determinada por observación clínica de la apariencia dérmica, consecutiva al daño y reparación colágena de esta:

Primera Intención: Es la que se realiza por capas de la más interna a la externa, dando una apariencia superficial lisa, se desarrolla en un mes.

Segunda Intención: Es la que se realiza por capas desordenadas, a través del tejido de granulación dando una apariencia superficial rugosa, blanda y rosada; se desarrolla en más de un mes.

Estas variables se especifican en la tabla 7.

Tabla 7. Descripción de Variables

Variable	Código	Escala de la variable		Categoría	Medición
		Cuantitativa	Cualitativa		
Sexo	1		X	Hembra Macho	Observación de órganos sexuales externos
Implante	2		X	Si No	Se describe si el animal recibió o no el material de implante.
Estratificación de Formación	3	X		Embrionario Maduro Osteoide	Se mide en milímetros según las imágenes histológicas obtenidas.
Formación ósea	4		X	Ordenada Desordenada	Se determina por observación microscópica
Celularidad Medular	5		X	Aumentada Normal Disminuida	Se determina por observación microscópica
Vascularidad	6		X	Interior Periférica	Se determina por observación microscópica
Cicatrización	7		X	Primaria Secundaria	Se determina por observación clínica.

3.7.1. CARACTERISTICAS

Tabla 8. Estratificación de formación de cartílago: Embrionario

	Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Válidos 0mm	2	33.3	33.3
5mm	2	33.3	66.7
6mm	1	16.7	83.3
8mm	1	16.7	100.0
Total	6	100.0	

Tabla 9. Estratificación de Formación de Cartílago: Maduro

	Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Válidos 11mm	1	16.7	16.7
15mm	2	33.3	50.0
19mm	1	16.7	66.7
28mm	1	16.7	83.3
35mm	1	16.7	100.0
Total	6	100.0	

Tabla 10. Estratificación de formación: Osteoide

	Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Válidos 8mm	1	16.7	16.7
16mm	2	33.3	50.0
22mm	1	16.7	66.7
42mm	1	16.7	83.3
45mm	1	16.7	100.0
Total	6	100.0	

Tabla 11. Cicatrización

	Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Válidos Primera	4	66.7	66.7
Segunda	2	33.3	100.0
Total	6	100.0	

Tabla 12. Formación ósea

	Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Válidos Ordenada	3	50.0	50.0
Desordenada	3	50.0	100.0
Total	6	100.0	

Tabla 13. Celularidad Medular

	Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Válidos aumentada	3	50.0	50.0
Normal	3	50.0	100.0
Total	6	100.0	

Tabla 14. Vascularidad

	Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
Válidos Interior	3	50.0	50.0
Periférica	3	50.0	100.0
Total	6	100.0	

Tabla 15. Descripción de variables

		Estadístico
Estratificación de formación De cartílago: Embrionario	Media	4.00
	Intervalo de confianza	.55
	Para la media al 95%	Límite inferior Límite superior
		7.45
	Mediana	5.00
	Varianza	10.800
	Desviación Típ.	3.29
	Mínimo	0
Máximo	8	
Rango	8	
Estratificación de formación De cartílago: Maduro	Media	20.50
	Intervalo de confianza	10.89
	Para la media al 95%	Límite inferior Límite superior
		30.11
	Mediana	17.00
	Varianza	83.900
	Desviación Típ.	9.16
	Mínimo	11
Máximo	35	
Rango	24	
Estratificación de formación Osteoide	Media	24.83
	Intervalo de confianza	8.93
	Para la media al 95%	Límite inferior Límite superior
		40.74
	Mediana	19.00
	Varianza	229.767
	Desviación Típ.	15.16
	Mínimo	8
Máximo	45	
Rango	37	

Grafico 1. Estratificación de formación de cartilago embrionario

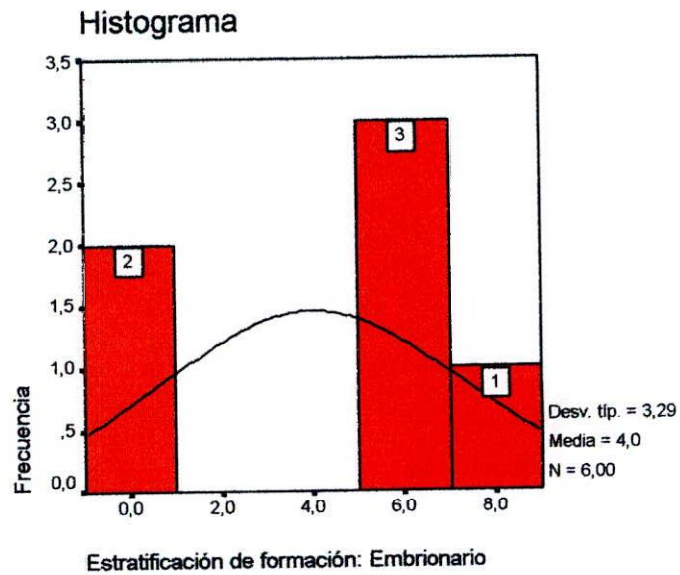


Grafico 2. Estratificación de formación de cartilago maduro

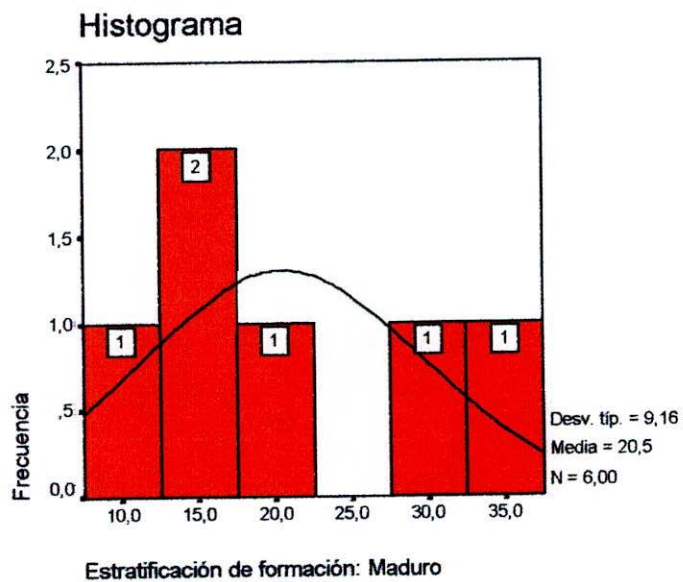


Grafico 3. Estratificación de formación Osteoide

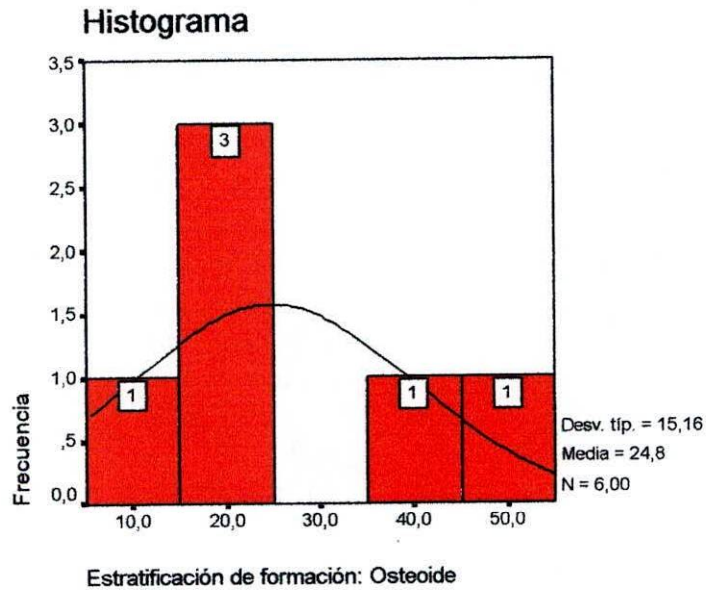


Tabla 16. Estratificación de formación de cartílago Embrionario * Sexo

		Sexo		Total
		Hembra	Macho	
Estratificación de Formación: Embrionario	0mm Recuento	2		2
	% del total	33.3%		33.3%
	5mm Recuento		2	2
	% del total		33.3%	33.3%
	6mm Recuento		1	1
	% del total		16.7%	16.7%
	8mm Recuento		1	1
	% del total		16.7%	16.7%
Total	Recuento	2	4	6
	% del total	33.3%	66.7%	100.0%

Tabla 17. Estratificación de Formación de Cartilago Maduro * Sexo

		Sexo		Total
		Hembra	Macho	
Estratificación de Formación: Maduro	11mm Recuento		1	1
	% del total		16.7%	16.7%
	15mm Recuento		2	2
	% del total		33.3%	33.3%
	19mm Recuento		1	1
% del total		16.7%	16.7%	
	28mm Recuento	1		1
% del total	16.7%			16.7%
	35mm Recuento	1		1
% del total	16.7%			16.7%
Total	Recuento	2	4	6
	% del total	33.3%	66.7%	100.0%

Tabla 18. Estratificación de formación Osteoide * sexo

		Sexo		Total
		Hembra	Macho	
Estratificación de Formación: Osteoide	8mm Recuento		1	1
	% del total		16.7%	16.7%
	16mm Recuento	1	1	2
	% del total	16.7%	16.7%	33.3%
	22mm Recuento	1		1
% del total	16.7%		16.7%	
	42mm Recuento		1	1
% del total			16.7%	16.7%
	45mm Recuento		1	1
% del total			16.7%	16.7%
Total	Recuento	2	4	6
	% del total	33.3%	66.7%	100.0%

Tabla 19. Formación ósea * Implante

		Implante		Total
		No	Si	
Formación ósea	Ordenada	Recuento % del total	3 50.0%	3 50.0%
	Desordenada	Recuento % del total	3 50.0%	3 50.0%
Total		Recuento % del total	3 50.0%	6 100.0%

3.8 FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN CODIFICADA

3.8.1. INSTRUCTIVO HISTOLÓGICO

1. Sexo: Macho, los genitales externos presentan: saco escrotal, pene; éste sobrepasa el ano y las zonas laterales son carentes de pelo.

Hembra, los genitales externos presentan: orificio urogenital y ano, las bolsas perianales se sitúan lateralmente a la abertura urogenital.

2. Implante: Se determinó al azar dentro del grupo de estudio, y se describe en cual de ellos esta presente.

3. Estratificación por formación: Se dividió en 3 zonas fácilmente observables y medibles:

Cartílago Embrionario: Presenta una proliferación celular, donde se encuentra condroblastos y osteocitos, además fibras dispuestas de manera desordenada; no mostrando una alternancia histológica clara si no un aspecto fibrilar; esto debido a que sólo brillan las fibras colágenas que quedan dispuestas perpendicularmente.

Cartílago Maduro: Es la zona media, que se encuentra entre el cartílago inmaduro y el osteoide.

Osteoide: Es la zona periférica de la regeneración, que se caracteriza por encontrar una mezcla de cartílago y de hueso.

4. Formación Ósea: Fue determinada por observación; clasificándola en:

Ordenada; Por presentar una disposición estratificada en la maduración.

Desordenada: Presenta una disposición no estratificada en la maduración.

5. Celularidad Medular: Fue determinada por observación; clasificada en tres categorías:

Aumentada, Normal o Disminuida; dependiendo de la cantidad observada en la médula ósea, comparada con el conejo control.

6. Vascularidad: Se determinaron dos parámetros:

Periférica: Observando si esta proviene desde la periferia hacia la zona medular

Interior: Observando si esta proviene de la zona medular hacia la periferia.

7. Cicatrización: Determinada por observación clínica de la apariencia dérmica, consecutiva al daño y reparación colágena de esta:

Primera Intención: Es la que se realiza por capas de la más interna a la externa, dando una apariencia superficial lisa, se desarrolla en un mes.

Segunda Intención: Es la que se realiza por capas desordenadas, a través del tejido de granulación dando una apariencia superficial rugosa, blanda y rosada; se desarrolla en más de un mes.

Ver anexo I

3.8.2. INSTRUCTIVOS TABLA DE RECOLECCION DE INFORMACIÓN

3.8.2.1. Pre – quirúrgico hoja 1

0. Distintivo de cada conejo que llevará en la oreja derecha de cada animal

1. M: Macho, los genitales externos presentan: saco escrotal, pene; éste sobrepasa el ano y las zonas laterales son carentes de pelo.

H: Hembra, los genitales externos presentan: orificio urogenital y ano, las bolsas perianales se sitúan lateralmente a la abertura urogenital.

2. Edad: Se estimará la edad del conejo en semanas de vida cumplidas.

3. Determinará los días en los cuales se hará el control de cada conejo.

4. Se determinará la fecha exacta en que se realizará cada control.

5. Peso: Se determinará colocándolo sobre una pesa donde su valor estará dado en gramos.

6. Temperatura: Se tomará rectal, con ayuda de un termómetro bucal de uso humano, que se introducirá por un minuto; dando el valor en grados centígrados.

7. Excreciones:

Líquido: Se medirá la orina del día recolectada, utilizando una probeta, dando los valores en mililitros (ml).

Sólido: Se recolectaron las excretas sólidas y se pesarán en una granera dando su valor en gramos (gr.).

3.8.2.2. Post – quirúrgico hoja 2

NOTA: Todos los ítems del INSTRUCTIVO POST-QUIRURGICO HOJA 2 Y 3 se remiten al instructivo PRE-QUIRURGICO HOJA 1.

Se utilizará en conejos intervenidos quirúrgicamente por un mes

11. Remitirse al ítem 0

12. Remitirse a ítem 1

13. Remitirse a ítem 3

14. Remitirse a ítem 4

15. Remitirse a ítem 5

16. Temperatura ambiental, determinada por máxima y mínima, dada por unidades de grados centígrados.

17. Remitirse a ítem 7

18. Remitirse a ítem 8

19. Remitirse a ítem 9

20. Remitirse a ítem 10, teniendo en cuenta los puntos a, b, c y d.

21. Valoración de la herida

- a. Eritema: Enrojecimiento del tejido alrededor de la herida, que se tomará en cuenta comparándolo con el resto de la piel

Si: Si está presente

No: Esta ausente

- b. Aumento de Volumen: Se observa si hay aumento en el sitio de la incisión y sus alrededores:

Si: Si está presente

No: Esta ausente

- c. Calor local: Se compara el calor local de la piel de la herida con el lado opuesto de la herida.

Si: Si está presente

No: Esta ausente

- d. Exudado: Depósito blanco-amarillento denso y de tamaño variable en la herida.

Si: Si está presente

No: Esta ausente

22. Movilidad: Se valora el movimiento del conejo después de la cirugía clasificándola en:

I: Sin movilidad; a la observación el conejo no presenta movilidad

II: Movilidad con esfuerzo; el conejo se desplaza con esfuerzo, a rastras

III: Movilidad normal; el conejo se desplaza sin ningún esfuerzo.

23. Cicatrización: Cicatrización: Determinada por observación clínica de la apariencia dérmica, consecutiva al daño y reparación colágena de esta:

- a. Primera Intención: Es la que se realiza por capas de la más interna a la externa, dando una apariencia superficial lisa, se desarrolla en un mes.

b. Segunda Intención: Es la que se realiza por capas desordenadas, a través del tejido de granulación dando una apariencia superficial rugosa, blanda y rosada; se desarrolla en más de un mes.

Ver Anexo K

3.8.2.3. INSTRUCTIVO No. 3

Se usará en conejos NO intervenidos quirúrgicamente y en conejos intervenidos quirúrgicamente después de un mes.

24. Remitirse al ítem 0.

25. Remitirse al ítem 1.

26. Remitirse al ítem 3.

27. Remitirse al ítem 4.

28. Remitirse al ítem 5.

29. Remitirse al ítem 6.

30. Remitirse al ítem 7.

31. Remitirse al ítem 8.

32. Remitirse al ítem 9.

33. Remitirse al ítem 10.

Ver Anexo L

3.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS

3.9.1 LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN ANIMALES

El avance de los conocimientos biológicos y el desarrollo de los mejores medios para la protección de la salud y el bienestar, tanto del hombre como de los animales, requieren del empleo de la experimentación sobre animales vivos en una amplia variedad de especies.

El hombre tiene necesidad de utilizar el animal en la búsqueda del conocimiento humano igual que para alimentarse, vestirse y trabajar. De ahí el deber de respetar al animal, ente auxiliar y ser viviente, común a él^{135,136,137}.

En Colombia existe la Ley 84 de 1988; la cual trata acerca de la protección de los Animales contra el sufrimiento y el dolor causado directa e indirectamente por el hombre.

En el capítulo sexto de la Ley 84 de 1989, se trata del uso de animales vivos en experimentos e investigaciones y consta de los siguientes artículos:

Artículo 23: Los experimentos que se llevan a cabo con animales vivos se realizan únicamente con la autorización previa del Ministerio de Salud Pública y sólo cuando tales actos sean imprescindibles para el estudio y avance de la ciencia, siempre y cuando este demostrado:

- Que los resultados experimentales no puedan obtenerse por otros procedimientos o alternativas.
- Que las experiencias son necesarias para el control, prevención, diagnóstico o el tratamiento de enfermedades que afectan al hombre o al animal.
- Que los experimentos no puedan ser sustituidos por cultivo de tejidos, métodos computarizados, dibujos, fotografías, películas, videos y otros procedimientos análogos.

Artículo 24: El animal en cualquier experimento deberá ser dispuesto bajo los efectos de anestesia lo suficientemente fuerte para evitar que sufra dolor. Si sus heridas son de consideración o implican mutilación grave, serán sacrificados inmediatamente al término del experimento.

Artículo 25: Se prohíbe realizar experimentos con animales vivos como medio de ilustración de conferencia en facultades de medicina, veterinaria, zootecnia, hospitales o laboratorios o en cualquier otro sitio dedicado al aprendizaje y con el propósito de obtener destreza manual.

Los experimentos de investigación se llevarán a cabo únicamente en los laboratorios utilizados por las autoridades del Ministerio de Salud Pública y el decreto 1608 de 1978 en lo pertinente.

También se prohíbe el uso de animales vivos en los siguientes casos expresamente:

- Cuando los resultados del experimento son conocidos con anterioridad.
- Cuando el experimento no tiene fin científico y especialmente cuando este orientado a una actividad comercial.
- Realizar experimentos con animales vivos de grado superior en la escala zoológica al

indispensable, según la naturaleza de la experiencia.

Artículo 26. Para todo experimento con animales vivos deberá conformarse un Comité de Ética. El Ministerio de Salud, no autoriza la realización de experimentos con animales vivos sino cuando este conformado el mismo.

La composición de los Comités variará y deberá ser determinada según las necesidades de cada establecimiento, pero de toda manera, deberá incluir;

- Científicos e investigadores experimentados en el cuidado y uso de los animales de experimentación
- Veterinario, de preferencia con experiencia en el cuidado y uso de los animales de laboratorio
- Un miembro que no use animales
- Por lo menos un miembro de la comunidad que representa sus intereses y preocupaciones^{136,137}.

Los miembros del Comité de Ética serán designados por sus respectivas entidades a solicitud del experimentador y este será responsable de coordinar y supervisar:

- Las actividades y procedimientos encaminados al cuidado de los animales.
- Las condiciones físicas para el cuidado y bienestar de los animales
- El entrenamiento y la capacitación del personal encargado del cuidado de los animales.

- Los procedimientos para la prevención del dolor innecesario, incluyendo el de uso de anestesia y analgésicos.
- El cumplimiento de los prescrito en los Artículos 24 y 25 de esta ley.

El director de un experimento en el que se vaya a utilizar animales vivos, queda obligado a comunicar al Comité de Ética la naturaleza de los procedimientos que vayan a emplearse con los animales, el número y tipo de los mismos, las alternativas al uso d animales, las fuentes y naturaleza de los fondos de investigación.

En el sitio den el cual un Comité de Ética tenga razones para creer que se está violando esta ley o que se violará, o que haya violado, ordenará lo siguiente, según sea pertinente:

- Suspensión del experimento
- Sacrificio del animal cuando se haya causado enfermedad o lesión incurable.

Parágrafo: Son deberes de los Comités de Ética:

- Reunirse frecuentemente.
- Hacer inspecciones a las áreas de estudio de animales en cada laboratorio y a los centros experimentales, de los cuales rendirán un informe a las autoridades competentes y a la entidad administradora de los recursos naturales.
- Revisar durante las inspecciones a los centros experimentales o de estudio las condiciones de manejo y control del dolor.

La violación de lo dispuesto en cualquiera de los artículos del Capítulo 5to de esta ley acarreará al experimentados una pena de multa de \$50.000.00 a \$500.000.00.

Además de las disposiciones determinadas de la ley nombrada anteriormente, debe tenerse en cuenta lo siguiente: Resolución No. 008430, del 4 de octubre de 1993.

Artículo 87: En toda investigación en la que los animales sean sujeto de estudio deberán tenerse en cuenta, además de las disposiciones determinadas en la ley 84 de 1.989. Las siguientes:

- Siempre que sean apropiados, deben usarse métodos tales como modelos matemáticos, simulación en computador y sistemas biológicos in Vitro.
- La experimentación en animales solamente se debe realizar después de estudiar su importancia para la salud humana y animal y para el avance del conocimiento biológico.
- Los animales seleccionados para experimentación deben ser de una especie y calidad apropiada, utilizar el mínimo número requerido para obtener resultados científicamente validos.
- Solamente se emplearan animales adquiridos legalmente y se mantendrán en condiciones adecuadas y que cumplan con las reglamentaciones sanitarias vigentes.
- Los investigadores y demás personal nunca deben de dejar de tratar a los animales como seres sensibles y deben considerar como un imperativo ético el cuidado y uso apropiado y evitar o minimizar el discomfort, la angustia y el dolor.
- Los investigadores deben presumir, que procedimientos que causarían dolor en seres

humanos tan bien causen dolor en otras especies vertebradas, aun cuando todavía falta mucho por saber sobre la percepción del dolor en los animales.

- Todo procedimiento que pueda causar en los animales más que un dolor o una angustia momentánea o mínima, debe ser realizado con sedación, analgesia o anestesia apropiada y conforme con la práctica veterinaria aceptada. No se deben realizar procedimientos quirúrgicos o dolorosos en animales no anestesiados, paralizados por agentes químicos.

La eutanasia de los animales se efectúa con anestésicos apropiados, aprobados por la asociación veterinaria.

- Cuando se requiera apartarse de lo establecido en el inciso anterior, la decisión no debe ser tomada solamente por el investigador directamente involucrado, sino que debe ser tomada por el comité de Ética, establecido por la ley 84 de 1.989. Estas excepciones no deben hacerse solamente con fines de demostración o enseñanza.
- Al final del experimento o cuando sea apropiado durante el mismo, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia, disconfort o invalidez que no pueda ser mitigada, deben ser sacrificados sin dolor.
- Los animales mantenidos con propósitos biomédicos deben tenerse en las mejores condiciones de vida, de ser posible bajo la supervisión de veterinarios con experiencia en animales de laboratorio. En todo caso debe disponer de cuidado veterinario cuando sea requerido.
- El director del instituto, departamento o unidad donde se usen animales es el responsable de asegurar que los investigadores y demás personal tengan calificación apropiada o experiencia

para realizar procedimientos en animales. Debe proporcionar oportunidades adecuadas de entrenamiento en servicio que incluya la preocupación por un trato humano apropiado para con los animales que están bajo su cuidado.

Artículo 88. El uso de animales en la investigación, enseñanza y ensayos es aceptado solamente cuando promete contribuir a la comprensión y avance del conocimiento de los principios fundamentales biológicos al desarrollo de mejores medios para la protección de la salud y el bienestar tanto del hombre como del animal.

Artículo 89. Los animales deben ser utilizados, en caso que el investigador haya descartado otras alternativas, para tal fin se sigue el principio de Rusel Burch "3R", reemplazo, reducción y refinamiento.

Artículo 90. Los bioterios deberán estar de acuerdo con la especie, conformación corporal. Hábitos, preferencias posturales y características locomotoras de los animales, para proporcionar comodidad, excepto cuando las variables experimentales justifiquen otras situaciones.

Artículo 91. Los bioterios de producción o mantenimiento crónico serán supervisados por el personal profesional calificado y competente en la materia y deberán permitir el crecimiento, maduración, reproducción y comportamiento normal de los animales de conformidad con las normas que la propia institución emita.

Artículo 92. El director de la institución donde se realiza la investigación de animales, deberá establecer y vigilar el cumplimiento de las medidas de seguridad para el cuidado y manejo de los animales, así como las medidas de profilaxis y vacunación necesaria para la protección del personal ocupacional mente expuesto.

Artículo 93. El director de la institución donde se realice la investigación en animales, deberá vigilar, ordenar o ejecutar, se tengan en cuenta las siguientes medidas de seguridad, según el caso:

- Aislamiento.
- La cuarentena.
- La observación.
- La vacunación de personas.
- La vacunación de animales, en cuanto este referida a la salud humana.
- La destrucción o control de insectos y otra fauna transitoria y nociva, en cuanto este referida a la salud humana.
- La suspensión de trabajos o servicios.
- El aseguramiento y destrucción de objetos o productos o substancias.
- Desalojo de casa, edificios, establecimientos y en general en cualquier predio.
- La prohibición del uso de ciertas especies.
- Las demás de índole sanitaria que determine el Ministerio o entidad competente de su nivel, que puedan evitar que se causen o continúen causando riesgos o daños a la salud.

Artículo 94. La presente resolución rige a partir de la fecha de su publicación¹³⁸.

3.9.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Para la realización de este proyecto se estableció un Comité de Ética Animal conformado por (Ver anexo A)

- Científico experimentado en investigación. DR. DIEGO SANCHEZ. Cirujano Maxilofacial, docente del C.O.C.
- Investigador experimentado en el cuidado y uso de los animales de experimentación. DR. ROBERTO GRACIA. Veterinario docente de Fisiología Animal, Universidad Nacional, sede Palmira.
- Veterinarios con experiencia, DR. JORGE GARDEAZABAL. Director unidad de bienestar animal, Zoológico de Cali, y el DR. DELIO ORJUELA. Veterinario, Zoológico de Cali.
- Miembro ajeno a la institución, DRA. VICTORIA QUINTERO. Directora de producción Animal, Universidad Nacional, sede Palmira.

3.10. RECURSOS

3.10.1. RECURSOS HUMANOS

RECURSOS	TIEMPO
Lina M. Moncada H. Estudiante décimo semestre, Colegio Universitario Colombiano Investigador	160 horas por semestre
Maria Fda Restrepo I. Estudiante décimo semestre, Colegio Universitario Colombiano Investigador	160 horas por semestre
Sandra M. Triviño O. Estudiante décimo semestre, Colegio Universitario Colombiano Investigador	160 horas por semestre
Dr. Diego Fdo Sánchez H. Cirujano Maxilofacial Asesor Científico	10 horas por semestre
Dr. Carlos E. Tasamá. Odontopatólogo Asesor Científico	10 horas por semestre
Dra. Blanca Acosta. Directora del Departamento de Investigación y Salud Pública del Colegio Universitario Colombiano. Asesora Metodológica 8vo Semestre	10 horas por semestre
Dra. Paula Bermúdez. Odontóloga Asesora Metodológica 9no Semestre	10 horas por semestre
Dra. Katia Altman. Cirujano Maxilofacial Asesora Metodológica 10 Semestre	10 horas por semestre
Hector Mueses Asesor Estadístico	10 Horas

3.10.2. RECURSOS FISICOS

3.10.2.1. Recursos Físicos Octavo Semestre

RECURSOS	TIEMPO	COSTOS	TOTAL POR SEMESTRE
Transporte	3 veces a la semana dos a Palmira y 2 en Cali	\$13.200 a la semana por persona	39.600
Computador	10 horas a la semana	\$3.500 por hora	700.000
Hoja impresa	100 hojas por mes	\$800 por impresión	400.000
Fotocopias	1000 por mes	\$50 por copia	250.000
Papelería	1 resma por mes	\$8.000 por resma	40.000
Lapiceros	5 por mes	\$900 cada uno	22.500
Lápices	3 por mes	\$500 cada uno	7.500
Borradores	2 por mes	\$300 cada uno	3.000
Fólder AZ	1 por 12 meses	\$13.500 cada uno	13.500
Refrigerios	4 por semana	\$2.000 cada uno	160.000
Imprevistos 5%			81.805
Total			\$1.717.905

3.10.2.2. Recursos Físicos Noveno Semestre

RECURSOS	TIEMPO	COSTOS	TOTAL POR SEMESTRE
Transporte	4 veces en el mes de diciembre a Palmira	\$5.800 x viaje x persona	69.600
	Viaje diario al zoológico	\$1.900 x viaje x persona	684.000
Computador	10 horas a la semana	\$3.500 por hora	700.000
Hoja impresa	100 hojas por mes	\$800 por impresión	400.000
Fotocopias	500 por mes	\$50 por copia	250.000
Papelería	1 resma por mes	\$8.000 por resma	40.000
Lapiceros	3 por mes	\$900 cada uno	8.100
Lápices	3 por mes	\$500 cada uno	7.500
Borradores	2 por mes	\$300 cada uno	4.500
Adecuación del lugar de los Conejos	2 días	\$400.000	400.000
Refrigerios	1 por semana	\$3.000 cada uno	216.000
Alimentación de los Conejos	3 meses	\$31.000 por mes	93.000
Costos Cirugía	4 horas	\$80.000 por hora	320.000
Improvistos 5%			159.635
Total			\$3.352.335

3.10.2.3. Recursos Físicos Décimo Semestre

RECURSOS	TIEMPO	COSTOS	TOTAL POR SEMESTRE
Transporte	3 veces x semana	\$68.400 por persona	205.200
Computador	10 horas a la semana	\$3.500 por hora	700.000
Hoja impresa	100 hojas por mes	\$800 por impresión	400.000
Fotocopias	500 por mes	\$50 por copia	250.000
Papelería	1 resma por mes	\$8.000 por resma	40.000
Lapiceros	3 por mes	\$900 cada uno	8.100
Lápices	3 por mes	\$500 cada uno	7.500
Borradores	2 por mes	\$300 cada uno	4.500
Refrigerios	1 por semana	\$3.000 cada uno	216.000
Cirugía final	4 horas	\$80.000	80.000
Estudios Histológicos	8 días	\$250.000	250.000
Fotos	-----	\$100.000	100.000
Edición	4 horas	\$300.000	300.000
Cd`s		\$60.000	60.000
Presentación Final		\$300.000	300.000
Imprevistos 5%			146.065
Total			\$3.067.365

3.10.3. RECURSOS FINANCIEROS

RECURSOS	SEMESTRE	SEMESTRE	SEMESTRE	VALOR
	8	9	10	TOTAL
FISICOS	1.717.905	3.352.335	3.067.365	8.137.605
IMPREVISTOS				406.880
5%				
GRAN TOTAL				8.544.485

Continuación cronograma octavo semestre

		AÑO 2001																							
No.	Actividad	Julio				Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre			
		Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
8	Obtención de Cáscaras de huevo								X																
9	Búsqueda laboratorio para analisis de cáscaras										X														
10	Adecuación jaulas, comederos, bebederos											X	X												
11	Compra de Conejos													X											
12	Procesamiento de cáscaras de huevo													X	X	X									
13	Solicitud sitio en el zoológico																X	X							
14	Iniciación prueba piloto																		X	X	X				
15	Pruebas sanguíneas																				X				

3.11.2. CRONOGRAMA NOVENO SEMESTRE

		AÑO 2002																							
No.	Actividad	Enero				Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio			
		Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1	Recolección bibliografía	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	Continuación controles posquirúrgicos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X														
3	Segunda toma radiográfica				X																				
4	Análisis Físico químico							X																	
5	Tercera toma radiográfica										X														
6	Pruebas sanguíneas										X														
7	Eutanasia										X														
8	Cortes histológicos											X	X												
9	Análisis de resultados													X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

3.11.3. CRONOGRAMA DECIMO

No.	Actividad	AÑO 2002															
		Julio				Agosto				Septiembre				Octubre			
		Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1	Análisis histológico con Dr. Tasamá	X															
2	Corrección de redacción		X														
3	Primera asesoría metodológica			X													
4	Preparación video de la cirugía				X												
5	Búsqueda de bibliografía			X	X												
6	Análisis histológico Dr. Collazos					X											
7	Toma de fotos de Placas histológicas						X	X									
8	Entrega de trabajo asesor científico								X								
9	Entrega de trabajo asesor metodológico									X							
10	Artículo Científico									X							
11	Preparación sustentación									X	X	X	X				
12	Sustentación y aprobación del jurado														X		

4. RESULTADOS

Los defectos óseos en odontología son problemas que se plantean frecuentemente, siendo este uno de los principales motivos en los cuales los cirujanos y los periodoncistas basan una serie de investigaciones, utilizando cada día materiales que creen un amplio margen para la sustitución o regeneración ósea.

En este estudio el material utilizado Cáscara de huevo, dio como resultado una biocompatibilidad presuntiva histológicamente siendo este uno de los objetivos iniciales.

Los resultados hematológicos, histológicos y radiográficos; confirmaron que la cáscara de huevo tiene propiedades biológicas que permite tenerlo en cuenta como material terapéutico para el relleno de defectos óseos existentes en la cavidad bucal.

La cáscara de huevo fue un material que se sometió a procedimientos químicos y físicos eliminando todos los elementos orgánicos, incluidas las proteínas, ya que según la Microbiología de Zinsser, al ser esta cáscara de huevo esterilizada con vapor húmedo se obtiene un desplegamiento de la cadena polipeptídica la cual es necesaria para el funcionamiento adecuado de la proteína, concluyendo que la esterilización provoca que se desnaturalice esta cadena presentando una proteína de forma irregular.

Una vez libre de toda sustancia orgánica, la cáscara de huevo presenta en su composición según el análisis fisicoquímico realizado en la Universidad del Valle; un alto contenido de carbonato de calcio (94%) y proteinoglucanos (4%) siendo estos dos componentes encontrados en mayor proporción dentro de la matriz ósea humana; permitiendo la estimulación para la regeneración ósea e induciendo a una reconstrucción fisiológica, oseoconductora.

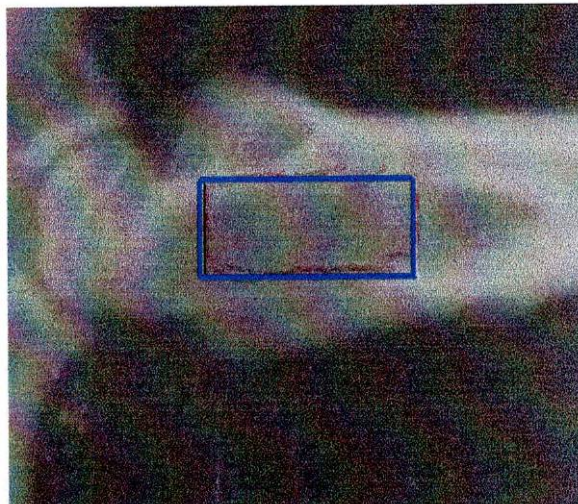
4.1. ANÁLISIS RADIOGRÁFICO:

En la metodología de este estudio se tomaron el examen radiográfico como un examen complementario para observar el grado de calcificación ósea.

Este examen se realizó una vez terminado el procedimiento quirúrgico y con intervalos de 6 y 12 semanas; después de ocurrido el proceso de cicatrización se valora de forma clínica la densidad radiográfica que se presenta en el lugar del defecto óseo.

En el control radiográfico inicial se observan unas zonas radiolúcidas lo que indica el nicho óseo preformado, con la diferencia de que en el grupo A, se observa una zona radiomixta con el material implantado. Ver foto 1.

Foto 1. Radiografía inicial, conejo con implante



A las 6 semanas durante el segundo control radiográfico tanto en el grupo A como en el grupo B, en la zona del nicho óseo se observa unas zonas radiomixtas; imagen semejante a la de una neoformación ósea, no encontrando diferencias con el material implantado, observándose en el conejo No. 6 una imagen radiolúcida que rodea la zona radiomixta del material depositado sobre el nicho óseo.

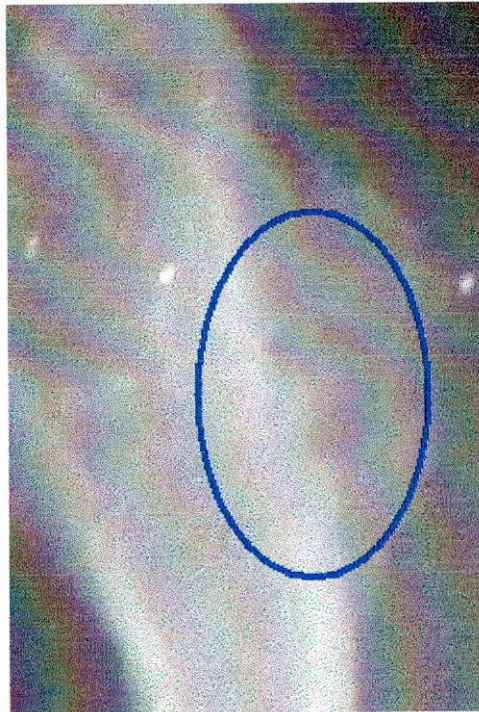
Foto 2. Radiografía en la semana 6, conejo con implante



En la semana 12 en el tercer control; los hallazgos encontrados son similares encontrándose una posible calcificación ósea. Ver foto 3.

No se establece un resultado en porcentajes ya que las zonas del nicho óseo no son apreciables a plenitud para su descripción.

Foto 3. Radiografía en la semana 12.



4.2. EVALUACION HEMATOLOGICA.

A cada conejo se les realizo un análisis hematológico pre y post quirúrgico. Los resultados obtenidos son:

GRUPO A

Conejo No. 1 y 2

Pre-operatoria: Presenta Leucopenia, la cual puede surgir como una disminución de la producción medular, o como un exceso de remoción de sangre.

Se observa marcada linfocitosis dada principalmente por una etapa inicial se infección o por un equilibrio debido a la neutrofilia presente.

Post-operatorio: Se encuentra un equilibrio a nivel de linfocitos y neutrófilos, aumento de eosinófilos y equilibrio en el basófilo. El aumento de eosinófilo se explica ya que estos juegan un papel importante en el complejo fagocítico inmune, este modula y controla la reacción inmunológica hipersensibilizada, además de que neutraliza la histamina, proteína básica para el inicio de la inflamación.

Teniendo en cuenta que este sujeto no presenta algún tipo de respuesta inmunológica alérgica, se concluye que el material aloplástico se ajusta al nicho óseo iniciando la inducción ósea requerida para el estudio.

Conejo No. 6

Se observa eosinofilia marcada, lo que relativamente confirma una adecuada inflamación, impulsando que la cicatrización se realizara por segunda intención, según los resultados este es el conejo que presenta una mejor maduración ósea en el lugar del implante.

GRUPO B

Conejo No. 3, 5.

Es de acordar que este solo presenta defecto óseo. En el hemograma presenta una leucopenia debido a la mutilación hecha en la remoción de la medula ósea, provocando aplasia medular o una granulopoyesis inefectiva como se observa en una anemia megaloplástica.

Se observa eosinofilia y basofilia, la basofilia se explica debido a que estos poseen función en estados alérgicos o de hipersensibilidad inmediata, confirmándose una inflamación crónica que se puede contrarrestar por la presencia activa de eosinófilos, ya que estos disminuyen la respuesta alérgica.

Conejo No. 8:

Presento una marcada eosinofilia causada por la inflamación debido a una cicatrización por segunda intención.

GRUPO C

Se observa datos a nivel hematológico normales que sirven de referencia para la conclusión de lo anteriormente dicho.

4.3. ANALISIS HISTOLÓGICO:

Grupo A

Conejo No. 1:

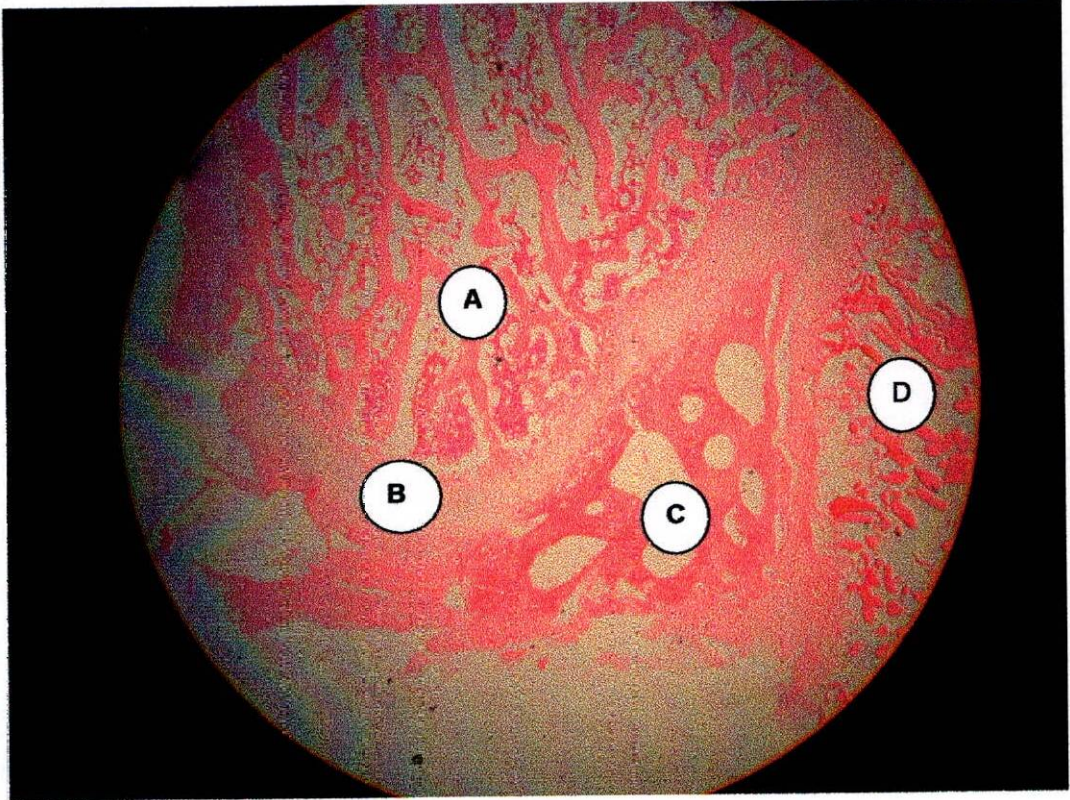
Hacia la parte interna del espécimen se encuentra la medula ósea comprometida, caracterizada por escasas trabéculas y una Celularidad moderada.

En el polo correspondiente a la implantación, la medula ósea muestra hiper celularidad haciendo nidos densos de células mostrando aporte reparativo al tejido óseo.

Permaneciendo en el mismo punto experimental se identifica una capa condrogénica con presencia de condroblastos de pre a maduración que se continúan en una capa igualmente condrogénica pero con más definición hacia la formación de grupos isogenos.

La parte externa evidencia una capa ósea madura en presencia de laminillas paralelas y hueso maduro. Ver foto 4.

Foto 4. Corte de hueso de conejo 1. H.E. 4X



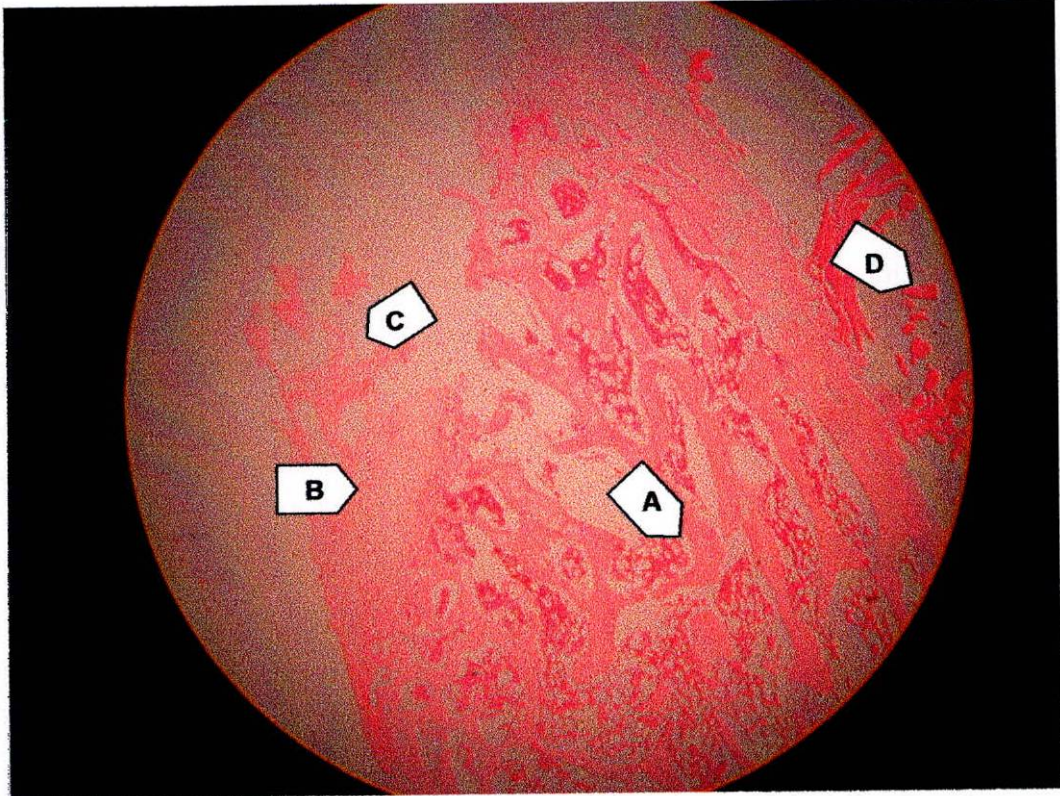
A: Medula ósea, B: Capa condrogénica, C: Osteoide, D: Fibras musculares

Conejo No. 2:

Se observa medula ósea con un aumento en su celularidad, se aprecia cartílago y desorden en la maduración ósea. Se observan condrocitos dirigidos hacia el implante y una regeneración ósea menos activa.

Ver foto 5.

Foto 5. Corte de hueso de conejo 2. H.E. 4X



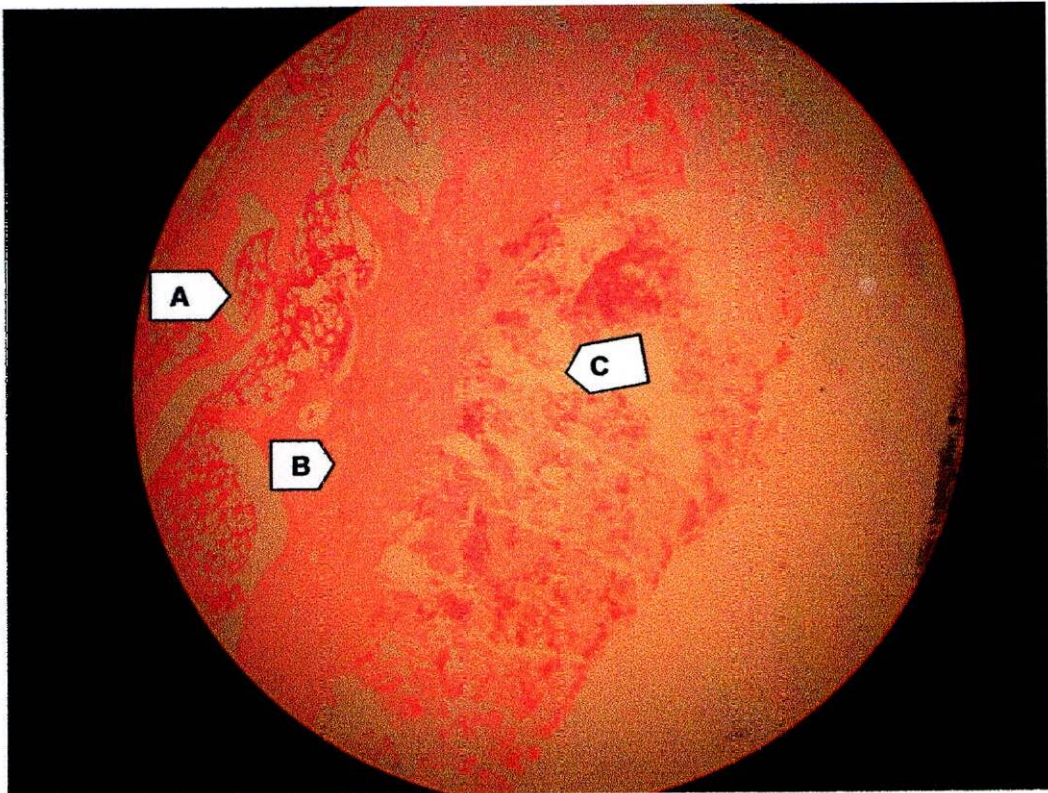
A: Medula ósea, B: Capa condrogénica, C: Osteoide, D: Fibras musculares

Conejo No. 6:

Se observa una mayor maduración ósea notándose mas osteocitos que condrocitos, no tiene una capa de cartílago inmaduro definido, ya que esta presenta el proceso de cicatrización más avanzado y desordenado.

Ver foto 6.

Foto 6. Corte de hueso de conejo 6 H.E. 4X



A: Medula ósea, B: Capa condrogénica, C: Osteoide

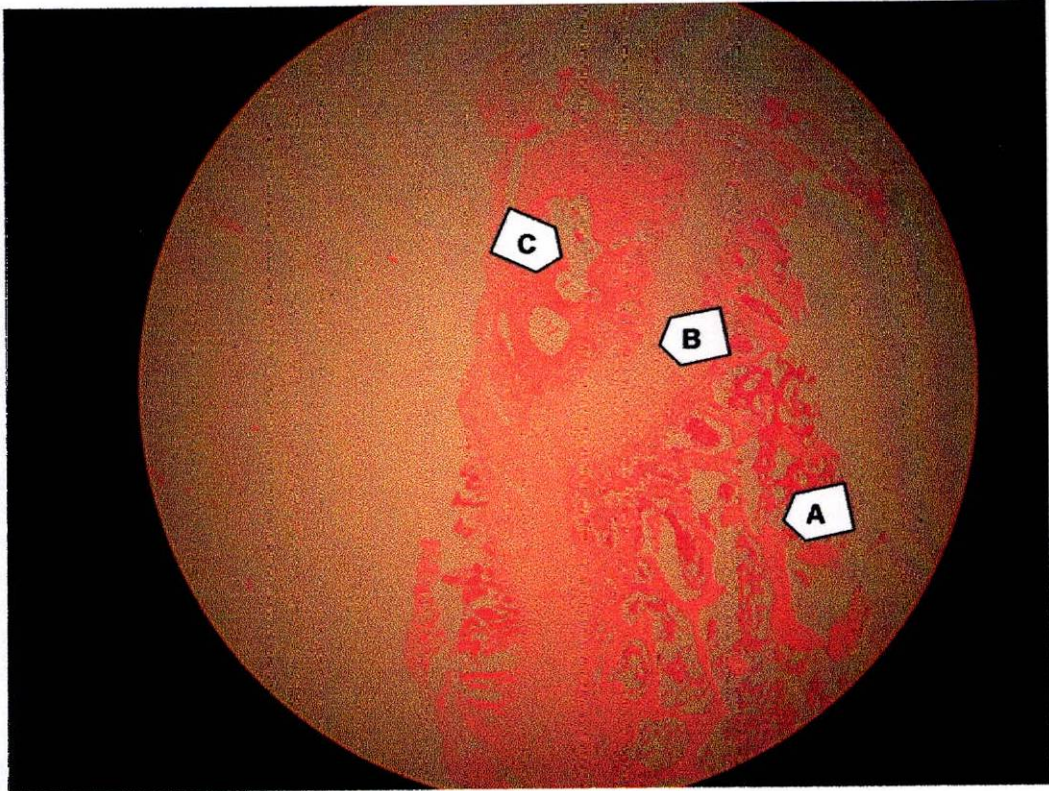
Grupo B:

Conejo No. 3:

Se observa buena cicatrización y formación ósea; la cual fue semejante a la obtenida con los sujetos que tenían implante, pero con la diferencia de que su forma de depósito de calcio se muestra ordenada, y se observa una Celularidad en la medula ósea normal.

Ver foto 7.

Foto 7. Corte de hueso de conejo 3.H.E. 4X



A: Medula ósea, B: Capa condrogénica, C: Osteoide

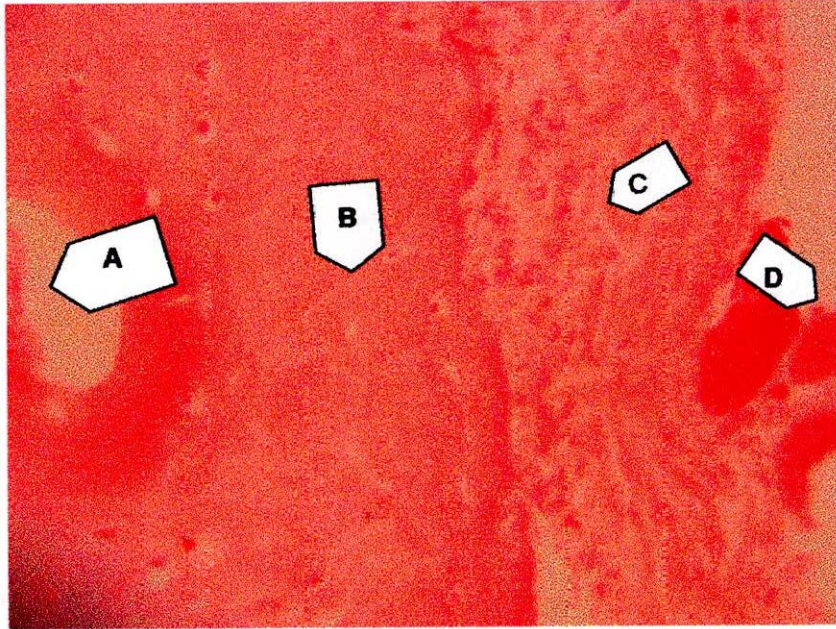
Conejo No. 5:

Se observa una buena cicatrización con condroblastos dirigidos hacia el nicho óseo; presenta una mayor cicatrización en comparación con los conejos del mismo grupo. Ver Foto 8.

Conejo No. 8:

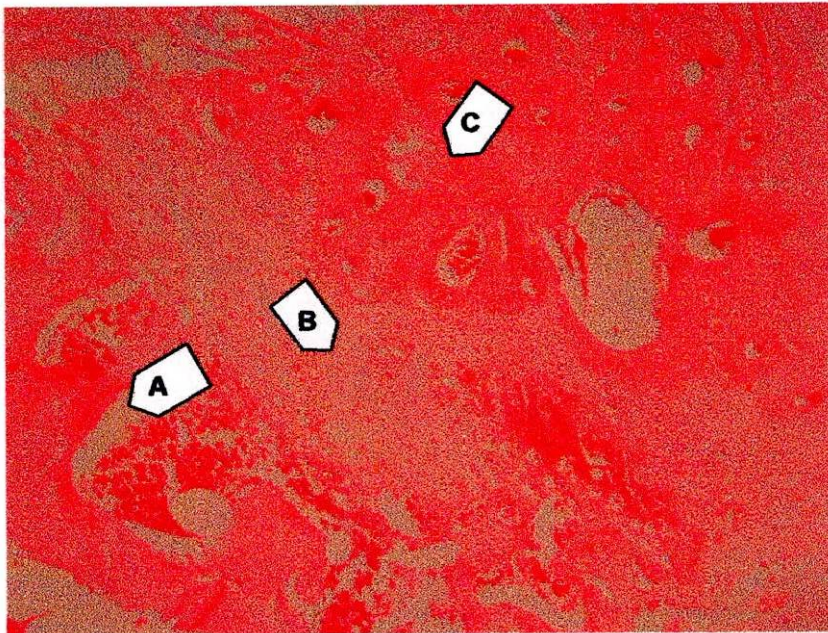
Se observa una formación cartilaginosa protuberante. Ver Foto 9.

Foto 8. Corte de Hueso de conejo 5. H.E. 40X



A: Medula ósea, B: Capa condrogénica, C: Osteoide

Foto 9. Corte Hueso conejo 8. H.E. 40X



A: Medula ósea, B: Capa condrogénica, C: Osteoide

Grupo C:

Se tomaron muestras para dar parámetros de normalidad. Ver foto 10.

Foto 10. Corte de hueso Control H.E. 10X



A: Medula ósea, B: Hueso compacto, C: Músculo

4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para la realización de este trabajo se tuvo en cuenta las siguientes variables:

-Sexo del animal: Entrándose a nivel general una población de 10 conejos (100% de la muestra), constituida por 3 hembras (30%) y 7 machos (70%).

Por criterios de exclusión o retiro la muestra final fue de 8 conejos (100%); donde 6 eran machos, equivalentes al 75% de la muestra y 2 hembras equivalentes al 25%, los cuales fueron clasificados

de la siguiente manera: Grupo C: 2 conejos machos de control, los cuales no se les realizo ningún tipo de procedimiento quirúrgico siendo este motivo de exclusión para el análisis estadístico a nivel histológico (25%). Grupo A: 3 conejos de replicas a los cuales se les preparo nicho óseo y no se implanto el material, de los cuales 2 eran machos (25%) y 1 hembra (12.5%). Ver tabla 20.

-Implantes: De la población total que fueron 6 conejos (/100%), solo 3 conejos se sometieron al implante equivalentes al 50% total de la muestra y 3 como replicas equivalentes la 50% del total se la muestra. Ver tabla 20.

Tabla 20. Implante * Sexo

	Sexo		Total
	Hembra	Macho	
3 Implante	1 16.7%	2 33.3%	3 50%
3 Defecto	1 16.7%	2 33.3%	3 50%
6 Total	2 33.3%	4 66.7%	6 100%

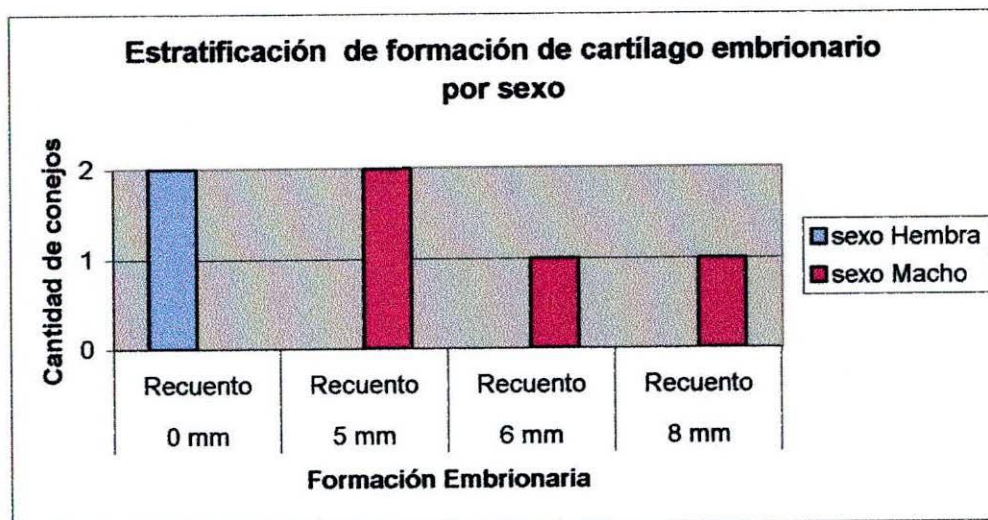
-Estratificación de formación: La cual para su análisis estadístico se clasifica en tres histológicamente: embrionario, maduro y osteoide. Cada una de estas presenta unas características determinadas. Los datos obtenidos indican los siguientes resultados estadísticos:

Cartílago embrionario:

De los 6 conejos a los que se les realizo cortes histológicos se encontró que la formación de este cartílago en los conejos con implante fue mayor que en los conejos sin implante; a excepción de la hembra donde histológicamente no se encontró esta zona por presentar en ella un grado mayor de maduración ósea.

En los machos sin implante esta zona tiene la misma cantidad de cartílago formado, notándose solo la diferencia en la hembra sin implante (No. 5) que no presenta esta zona. Ver gráfico 4.

Gráfico 4. Estratificación de formación de cartílago embrionario * Sexo



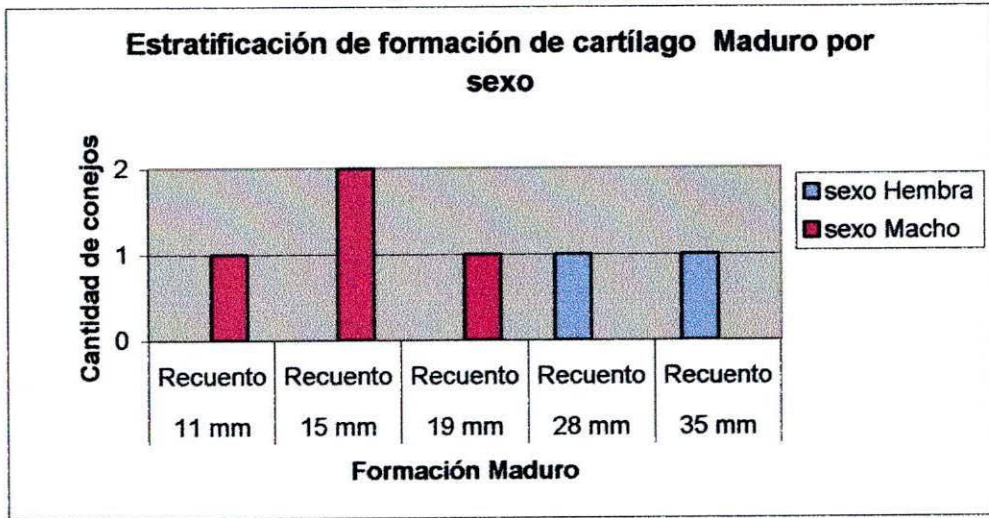
Cartílago maduro:

A nivel de los conejos con implante existe una variación significativa en la presencia de este cartílago, siendo más notorio en la hembra.

Mientras que en los conejos sin implante se presentan la misma cantidad de este cartílago, exceptuando a la hembra en cuya lamina se encontró la mayor cantidad de cartílago maduro dentro de los conejos estudiados.

Ver gráfico 5.

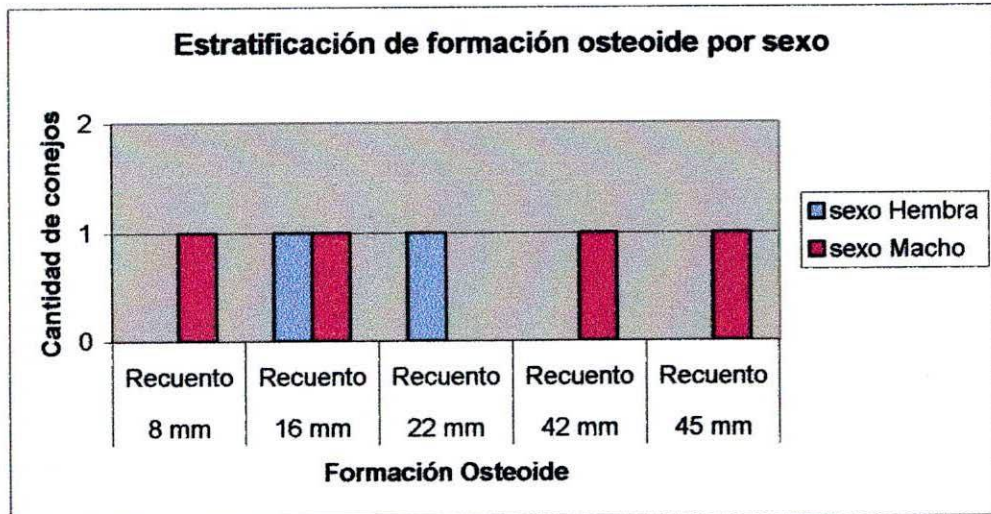
Gráfico 5. Estratificación de formación de cartílago Maduro * Sexo



Osteoide:

A nivel de este se encontró la misma significancia estadística dentro de los conejos donde se realizo el implante pero como caso especial, los machos donde no se realizo el implante son los que presentan la mayor cantidad de este tejido. Ver gráfico 6.

Gráfico 6. Estratificación de formación Osteoide *Sexo



Formación ósea:

Que se clasificó en ordenada y en desordenada, teniendo como característica principal que la formación ósea ordenada se presentó en los 3 conejos sin implante (50%) y la formación ósea desordenada se presenta por la disposición no estratificada de la maduración.

Celularidad medular:

Fue clasificada en aumentada, normal y disminuida. Encontrando que en esta última no se tuvo un valor significativo ya que se presentó normal en conejos sin implante (50%) y aumentada en los que tenían implante (50%); donde se presume que la cáscara de huevo como material aloplástico aumenta la Celularidad medular.

Vascularidad:

Se tuvo en cuenta la vascularidad interna y periférica, encontrando que la interna, proveniente de la médula hacia la periferia es mayor en los conejos sin implante confirmando así el porque la formación ósea ordenada y la Celularidad medular es normal en los conejos sin implante.

La vascularidad periférica; proveniente de la parte externa hacia la médula; se presenta en los conejos con implante, justificando también de que los resultados de la formación ósea se presente de una manera desordenada y la Celularidad medular aumentada.

Cicatrización:

La cual se clasificó como primaria y secundaria.

En la primaria se presenta 4 conejos equivalente al 75% de la muestra, mientras que por cicatrización secundaria se encontró 2 conejos equivalentes al 25% de la muestra, en donde 1 (12.5%) se le colocó implante y el otro no (12.5%).

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a este estudio se puede determinar que la capacidad de regeneración ósea por medio de la cáscara de huevo puede catalogarse como un material Reabsorbible que posee la capacidad osteotrófica y osteoconductiva.

- La reacción del organismo frente al implante no evidencio ninguna señal de rechazo, ni desarrolló una respuesta inmunológica adversa pasadas 12 semanas.
- En los análisis histológicos se concluye que hubo una completa reabsorción del material implantado, siendo este reemplazado por tejido óseo neoformado.
- Pasadas 12 semanas del implante se observa una etapa de formación ósea inmadura denominado osteoide, ya que el hueso neoformado no esta organizado en laminillas, contiene mas células por unidad de volumen las cuales tienden a estar distribuidas al azar.
- Se comprobó que la cáscara de huevo cumplió con las características básicas de un implante. Se presento una vascularización típica de implante, es decir desde la periferia hacia el interior.

6. DISCUSIÓN

El tejido óseo presenta una característica única, que es la de reparar sus problemas de continuidad con un tejido igual al original, o sea tiene la capacidad de regenerarse.

Cuando el defecto óseo ya sea por su extensión no es capaz de repararse de forma espontánea, es necesario recurrir a los implantes o la obtención de tejido óseo a partir de donantes propios o diferentes del organismo.

El hueso autogénico ha demostrado según la literatura ser el mejor recurso biológico para la reparación y reconstrucción del hueso.

En este estudio se da la opción de un material diferente a los comúnmente utilizados pero con características de composición similar a la de hueso.

Se encontró que al colocar este implante no se evidenciaron posibilidades de rechazo por parte del huésped, ya que histológicamente se observó la presencia de células indiferentes las cuales se ubican entre las trabéculas del implante, consiguiendo la diferenciación de condroblastos para osteoblastos llegando a la neoformación ósea.

El mayor grado de reparación ósea se observa en las hembras (encontró una mayor mineralización ósea, probablemente por el tamaño de la lesión) pero histológicamente se observó que en ninguna de las muestras se aprecia el material implantado con lo que se puede concluir que el material fue completamente reabsorbido.

En el diseño experimental del presente trabajo es posible visualizar histológicamente los

principales cambios de una reparación espontánea influenciada por la cáscara de huevo, no obstante el modelo del trabajo no es suficientemente sensible para verificar los cambios más finos que permitan la evaluación con mayor precisión.

A la descripción histológica se observa la formación de un cartílago intermediario de una arquitectura natural, con lo que se concluye que la cáscara de huevo presenta una superficie muy parecida a la del hueso; además presenta una afinidad por las proteínas y los factores de crecimiento de la matriz ósea.

La integración ósea y la proliferación de hueso se explica por que el patrón de mineralización de la cáscara de huevo y del hueso son similares, ya que sus propiedades físico-químicas son casi idénticas, teniéndose en cuenta factores que pueden llevar a alterar su resultado como lo es el área o nicho receptor, el tamaño de la partícula del material a ser implantado y el contenido de carbonatos.

La cáscara de huevo es también catalogada como material cerámico que permite una aposición de hueso y que se reabsorbe lentamente actuando como matriz que luego se deposita como hueso neoformado.

Histológicamente alrededor del implante se observa Osteoclastos, mientras que alrededor de las trabéculas neoformadas se observan osteocitos y en la periferia los osteoblastos.

No se observan procesos inflamatorios en ninguno de los casos, ni de reacción a cuerpo extraño; pero si se identifican grandes lagunas osteofíticas. El material celular no tiene cambios degenerativos y la medula ósea se encuentra constituida por tejido maduro neoformado el cual ha sido ocupado por un osteoide trabecular rico en osteoblastos.

La utilización de este material para el beneficio de los defectos óseos, comprueba que actúa como un conductor en la regeneración ósea, permitiendo el depósito de hueso neoformado sobre la superficie de la matriz; concluyendo que la cáscara de huevo es un material oseoconductor que también puede ejercer una acción directa sobre el mecanismo de la síntesis ósea siendo un oseoinductor.

En este estudio la manera de este material integrarse en el hueso ha sido diferente en cada una de las muestras en donde la cáscara de huevo produce la transformación de células indiferenciadas en condroblastos u osteoblastos y a la transformación de tejido conjuntivo a tejido óseo endocondral.

El mecanismo de inducción ósea es provocado por moléculas inductoras unidas al colágeno de la matriz, siendo esencial el papel de la proteína morfogenética por lo que la propiedad oseoinductiva solo la poseen implantes alógenos y autógenos, llegando a la conclusión de que si el mecanismo de inducción ósea está mediado por la proteína, se deben realizar pruebas específicas para encontrar que la cáscara de huevo tenga acción oseoinductora (próximo estudio).

Desde el punto de vista la oseointegración se verificó por la ausencia de zonas radiolúcidas en el final del control radiográfico, pero los estudios parecen indicar que la existencia de este fenómeno no se podría verificar en este estudio ya que este no tuvo una correspondencia radiográfica lógica y desde ahora se plantea la duda de su significado.

La cáscara de huevo se comportó como material oseotrófico, el cual aumenta la capacidad de formación de hueso en presencia de células osteogénicas, por otro lado es un material oseoconductor ya que permitió la invasión desordenada de células mesenquimáticas indiferenciadas y la presencia de hueso neoformado alrededor del defecto óseo; concluyendo desde el punto de vista histológico que el material y las poblaciones celulares que rodearon el

7. RECOMENDACIONES

Se sugiere para próximos estudios tener en cuenta:

- Tomar una muestra representativa para que el estudio no sea solamente descriptivo si no analítico.

- Realizar eutanasias de forma periódicas, con el fin de obtener información detallada sobre la reacción en el organismo del conejo.

- Realizar estudios bioquímicas de la Cáscara de Huevo.

- Llevar a cabo las siguientes pruebas al inicio de la investigación y antes del procedimiento quirúrgico a los conejos:
 - Hemograma

 - Niveles sericos de Calcio, fosfato y magnesio

 - Hormona parotidea

- Realizar a lo largo de la investigación análisis inmunológicos específicos, reacción antígeno-anticuerpo

BIBLIOGRAFIA

1. GANZALEZ M. Ciencias para futuros ciudadanos. El huevo. Disponible en: ciencias@nalejandria.com. Pág. 1-6. 2000.
2. BARRIOS G. Implantes Aloplásticos. Odontología, su fundamento biológico. Tomo 4. Cáp. 20 p: 891-899. ed. Latros. 1991.
3. PORTO B. E. Valoración clínica e histológica de la membrana de hueso desmineralizado liofilizado utilizada para aumentar el reborde. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 3 No. 6 1999 p: 601-607.
4. SOTOMAYOR MARIN T., ACOSTA NAVARRO M. E. Evaluación del osteocoral con material de implante en bolsas infraoseas de dientes multirradiculares. Rev. Cubana. Estomatol. P: 181-196. 1999.
5. HARREL S. K. Acceso quirúrgico mínimamente invasivo para el injerto óseo periodontal. Revista internacional de odontología restauradora y periodoncia. Vol. 2, No. 2, p: 157-165. 1998.
6. Op. Cit. 1
7. DAVIS WALTER L, B. S; Ph. D. Formación de hueso. Histología y Embriología bucal. Cáp. 6. p: 90-92. Ed Interamericana McGraw Hill, 1988.
8. MANTILLA V. F., Los injertos óseos, la hidroxiapatita. Implantología oral. Atlas Color. Edición 1.

Ed. Catalogo Científico. P: 111-119.

9. LEESON T. S; LEESON C. R. Y PAPARO A. A. Hueso y Cartílago. Texto/ atlas de histología. P: 167-189. Editorial McGraw Hill.
10. MURRAY, R. K MAYAS, P. A. Hormonas que regulan el metabolismo del calcio. BIOQUIMICA DE HARPER. Pág. 47. p: 631-640. Ed. Del manual moderno, 14ª Edición, 1997.
11. GANONG, F W. Control Hormonal del Metabolismo del Calcio y Fisiología del Hueso, Fisiología medica. Pág. 21. p: 413-426. 14 ed. Editorial Manual Moderno.
12. MANTILLA V. F., Metabolismo Óseo., Implantología Oral. Atlas Color. Edición 1. Ed. Catalogo Científico. P: 103-109. 1985.
13. ENLOW D. H., Hueso y Cartílago., Crecimiento Maxilofacial. 3ª ed. Cap. 18 p: 466-506. Editorial McGraw Hill 1990.
14. GENESER, F., Tejido Esquelético, Histología General. Pp. 206-226 Editorial Medica Panamericana.
15. TENCATE, A. R., Hueso., Histología del desarrollo, estructura y función. Editorial medica panamericana. P: 146-169. 1986.
16. BARRIOS, G. Biología ósea. Odontología, su fundamento biológico. Tomo 1 p: 47-67. Ed. latros.
17. Op. Cit. 5.

18. Op. Cit. 12.

19. Op. Cit. 13.

20. Op. Cit. 5.

21. GARTNER L. P., HIATT. J. L., Cartílago y Hueso. Atlas Color de histología. Segunda edición.
Pág. 60-63. Medica panamericana. 1995.

22. Op. Cit. 11.

23. Op. Cit. 5.

24. Op. Cit. 14.

25. Op. Cit. 7.

26. Op. Cit. 10.

27. Op. Cit. 14.

28. PAYA, C. Biomineralización. Central de puntos de bioquímica oral. Gerson Sepúlveda.
Disponible en: [www. Odontología.uchile.cl/alumnos/segundo/bio1.htm](http://www.Odontología.uchile.cl/alumnos/segundo/bio1.htm)

29. Op. Cit. 10.

30. Op. Cit. 14.

31. Op. Cit. 26.
32. KRUGER G., Transplante de tejidos. Cirugía buco-maxilofacial., Capítulo 16. 5ta edición. Pág. 268-290. 1998.
33. SANCHEZ, T. A. Especial implantoprótesis. Facultad de odontología de la U.C.M.
34. Op. Cit 2.
35. VANDERSALL D.C. ROSENBERG E ROSE FL. Consideraciones clínicas y biológicas sobre los autoinjertos y aloinjertos en el tratamiento de regeneración periodontal. Clínicas odontológicas de norte América. Avances en periodoncia II. Vol. 3. Pág. 483-507. ed. MacGraw Hill.
36. Op. Cit. 14.
37. PARRA, O. Aloinjertos-Autoinjertos. Disponible en www.usc.es/spubl/32vsvar-1.htm
38. Op. Cit. 2.
39. MENDOZA HERRERA D. C. Injertos óseos alveolares: análisis fisiológico para la aplicación a una técnica quirúrgica.
40. CUADRADO, MA. DE PEDRO. J. A. DE LUCAS. F. G. CEBRIAN, J. L, FURIO, B., Reparación Experimental de Grandes Defectos Óseos Mediante el implante de un Extracto Parcialmente Purificado de BMP., Rev.orto.traum,36 IB No. 4. p 488-494. 1992

41. Op. Cit. 33.
42. SHWARTZ, SHINES SPENCER, DALY FISCHER, GALLOWAY. Principios de cirugía. Vol. 1. Pág. 2062-2067. séptima edición. Interamericana.
43. Op. Cit. 30.
44. MISCH, M. C.; MISCH, E. C. Reparación de defectos severos, localizados a nivel alveolar para la colocación de implantes usando injertos óseos mandibulares. Implant Dentistry. Vol. 2. No. 2. 1996.
45. CAMELO, C.; NEVINS, M. L.; NEVIS, M. Tratamiento de las bifurcaciones de clase II con injertos de hueso autógeno y la membrana de PTFEe. Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia. Vol. 4. No. 3. 2000. p. 245-254.
46. RASPERINI, G.; RICCI, G.; SILVESTRE, M. Técnica quirúrgica para tratar defectos intraóseos con un derivado de la matriz del esmalte. (Emdogain). Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia. Vol. 3 No. 6. 1999.
47. Op. Cit. 30.
48. BARRIOS G., Injertos óseos. Odontología su fundamento biológico. Tomo 4. Cáp. 19. Pág. 879-887. ED. Latros 1991.
49. Op. Cit. 30.
50. CALVO, B. J. La respuesta inmunitaria en el transplante de aloinjertos óseos. Inmunología. Vol.

19. No. 4. 2000. p. 148 – 155.
51. PABLOS DE J. ALFARO C. MARTINEZ G., Valor de la desmineralización de aloinjertos en el tratamiento de grandes defectos óseos. Rev. Ortop.traum. 36 IB, No. 4. p. 495-503 1992.
52. SCIOPINI, A.; BRUSHI, G.; CALESINI, G.; BRUSCHI, E.; MARTINO, C. Regeneración del hueso en la técnica de expansión del proceso alveolar edentulo. Estudio histológico y ultra estructural de 20 casos clínicos. Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia. Vol. 3. No. 3. 1999.
53. Op. Cit. 45.
54. CASSOLIS, J. D.; BOWERS, G. M. Regeneración ósea supracrestal: Estudio piloto. Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia. Vol. 3. No. 2. 1999. p. 131-138.
55. GROSS, A. E; DUNCAN, C. P. Revision arthroplasty of the acetabulum in association with loss of bone stokc. J. bone and joint Surg Vol: 80-a Pág: 440-451. 1998.
<http://www.Traumazamora.org/articulos/revicotilo/revicotilo.htm>.
56. PICCO. M. I., LOPEZ M., Reconstrucción de hueso malar mediante injerto de calota. Rev. ADM. Caso clínico. Vol. Lvi, No. 2. marz-abr, 1999. p. 76-79.
57. CARRANZA, F. A., Cirugía ósea reconstructiva, Peri odontología clínica. P 677-686. Editorial Mc Graw Hill. Interamericana. 8va edición. 1998.
58. SIMION, M.; JOVANOVICES, S.; TRISI, P.; SACARANO, A.; PIATELIA. Aumento vertical de la cresta alveolar que rodea implantes dentales utilizando la técnica con membrana y hueso

autólogo o aloinjertos en humanos. Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia. Vol. 2. No. 1. 1998.

59. Op. Cit. 37.

60. MELLONING, J. Evaluación histológica de xenoinjerto óseo bovino en el tratamiento de los defectos óseos periodontales en seres humanos. Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia. Vol. 4. No. 1. 2000.

61. Op. Cit. 37.

62. CHRITOPH H. HAMMERLE, ATIÑA J. OLAH, JURG SCHMID. The biological effect of natural bone mineral on bone neofomation on the rabbit skull. Clinical oral implants, resesach: 8,. P. 198-207. 1997.

63. Op. Cit. 54

64. OMNISHI, H; FUJJI, N., A histochemical investigation of the bone formation process by guide bone regeneration in rat jaws. Effects of PTFE. Membrane application periods on newly formed bone. Depart tement of fixed prosthodontics, faculty of Dentistry, Niggata universite, J of Periodontology. Vol. 71. No. 3. P341-352. July 9-1999.

65. SCHMID J. HAMMERLE CHF. FLUCKIGER L. WINKLER JR. Llenado de espacios de sangre con y sin membranas en la regeneración ósea guiada. Un estudio comparativo en conejos usando membranas bioabsorbibles. Clin Oral Imp. Res. 1997:8:75-81. Munksgaard. 1997.

66. Op. Cit. 45.

67. ROMERO ROJANO, JF.; REYES VELASQUEZ, J.O. Injertos óseos: Revisión bibliográfica Medicina Oral. Vol. 3. No. 4. Oct – Dic. 2000. p. 114-118.
68. KIMURA. Y; KAWAI, T.; HASSEGAWA, J.; IKEM; ITO, M. activity of BMP- Agarose complex. Disponible en www.31wc.riken.90.jp/congress/poster/cu032/cnc.html.
69. MARTINEZ GONZALES, J.; BARONA DORADO, C.; FURIO BACETE, V. La hidroxiapatita en el relleno de los defectos óseos. Disponible en www.coem.org/revista/anterior/07-97/articulo.html.
70. PEREA CARDOZO O., GONZALEZ SANTOS R.; GUILLOT Z. DEL VALLE R., Bioimplantes coralinas en tumores óseos benignos. Rev. cubana Ortop. Traumatol. P 1-6. 1995.
71. Op. Cit. 2.
72. Instituto Superior de Ciencias Medicas de la Habana. Uso de osteocoral como material de implante de bolsas intraóseas de dientes monoradiculares. Revista Cubana de Estomatología. 1999; 37 (3). P. 203-211.
73. RALPH W. PHILLIPS, MS. Productos del yeso, principios básicos. Ciencias de los materiales dentales de Skinner. Interamericana Mc Graw Hill. Cáp. 5. p. 69-72. edición 9. 1993.
74. TAY BK, PATEL W. BRADFORD DS. Calcium phosphate base bone substitutes. Mimicry of the mineral phase of bone. Orthopedic clinics of North America. Vol. 30 N 4 Pag. 615-623. October 1999.
75. LEONARDIS, D.D- PECORA G.C. Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results journals of periodontology. Vol.71.2000.p940-46.

76. LEE, PARK. LEE, KU, HAN. Tissue engineered bone formation using chitosan/tricalcium phosphate sponges. Journal of periodontology. Vol. 71. p. 410-17. 2001.
77. VANDERSALL D. C. ROSENBERG E. ROSE FL. Injertos para la reposición ósea. Clínicas odontológicas de norte América. Avances en periodoncia II. Vol. 3 Pág. 509-521. ed. Mc Graw Hill. 1998.
78. QUINTANA RUIZ JC., Aumento del reborde alveolar atrófico con hidroxiapatita porosa. Rev. Cubana. De estomatología P 1-4. 1995.
79. BURSTEING DE FDO. COBEN S. ROGER H. The use of hidroxyapatite cement in secondary craniofacial reconstruction. Plastic and reconstructive surgery, Vol. 104 No. 5. p. 1270-75. October 1999.
80. DENNISEN H., MONTONARI C., MARTINETTI R., VAN LINGEN A., VAN DEN HOOF A. Alveolar bone response to submerged bis-phosphonate- Complexed hidroxiapatite implants. J. periodontal. Vol. 71. No. 2. p: 279-286. Feb 2000.
81. REMAGEN, W.; PREZXMECKY, L. Acrecentamiento óseo con hidroxiapatita. Hallazgos histológicos en 55 casos. Implant Dentistry. Vol. 2. No. 1. 1996. p. 13-20.
82. SHIMIZU, Y.; SUGAWARA, H.; MIZUNUMA, K.; INADA, K.; FURUSAMA, T.; YAMASHITA, S. Remodelamiento óseo con vidrio bioactivo e hidroxiapatita Reabsorbible. Implant Dentistry. Vol. 4. No. 2. 1998. p. 15-21.
83. SHORS E. C., Coralina bone graft substitutes. Orthopedic clinics of North America. Vol 30 No. 4 P 599-613. Oct 1999. Disponible en www.mdconsult.com.

- 84.** QUINTANA RUIZ JC., Experiencias clínicas con coralina humana en cirugía maxilofacial. Rev. Cubana de estomatología. 1997; 34 (2:76-79).
- 85.** MELLONING, T. J. Matriz derivada de esmalte para cirugía reconstructora periodontal. Informes técnico, clínico e histológico documentados. Revista Internacional de Odontología Restauradora y Periodoncia. Vol. 3. No. 1. 1999.
- 86.** Op. Cit. 43
- 87.** Op. Cit. 36.
- 88.** Op. Cit. 45.
- 89.** Op. Cit. 64.
- 90.** VELASQUEZ, jairo. PRODUCCION AVICOLA Y PORCICOLA. Santa Fe de Bogota: Centro de Enseñanza Escolarizada Universidad Santo Tomas. 1986.
- 91.** WOZNEY J, M, Revisión de Morfoproteína ósea, Artículos Científicos, Instituto de Genética de Cambridge, MA, 1997; Disponible en: [www. P11_96Anover.com](http://www.P11_96Anover.com).
- 92.** Op. Cit. 40.
- 93.** CHIMAL-MONROY J, BRAVO RUIZ T, KROTZSCH GOMEZ F, DIAZ DE LEON L, Implantes de fibroniqueel MR aceleran la formación de hueso nuevo en defectos óseos inducidos experimentalmente en cráneos de rata: un estudio histológico, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi" Universidad Autónoma de Yucatán, México, 1997. Disponible

en: Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM, Apartado postal 70228. C.P. 04510. México D.F.

- 94.** BENITEZ G, SARNO J, DELFINO M. Disolución de la cáscara de huevo en HCL, Comunicaciones científicas 2000. universidad nacional del noreste argentino. Disponible en :
E-Mail: mdelfino@exa.unne.edu.ar
- 95.** ESCRIBANO GARCIA, J. MARTINEZ G, L. VENGUE S,G. GONZALEZ, G,M. Informes el huevo. Colegio de farmacéuticos de Madrid-Alkhaid Solutions, S.A. 2002. Disponible en:
File://A:\El huevo.htm.
- 96.** STURKIE. P.D. Formación de la cáscara de huevo y metabolismo esquelético. Fisiología. Aviar. Cáp. 15. Pág. 268-290. 1998.
- 97.** Op. Cit. 26.
- 98.** Op. Cit. 26.
- 99.** ALARCON TEMAZAS, Alex. Aplicación de la cáscara de huevo en la regeneración ósea. Investigación realizada en la carrera de odontología en la Univalle. La Paz – Bolivia. 24 de Octubre de 2001. 1-2 p.
- 100.** <<<http://www.fenavi.com>
- 101.** GARCIA R. Chilenos estudian la cáscara de huevo. Diario El Mercurio. 8 de Octubre 2001.
Disponible en: www.cimat.cl

- 102.** Op. Cit. 90.
- 103.** Op. Cit. 95.
- 104.** Op. Cit. 1.
- 105.** Op. Cit. 28.
- 106.** Op. Cit. 9.
- 107.** Op. Cit. 15.
- 108.** Op. Cit. 12.
- 109.** Op. Cit. 16.
- 110.** Op. Cit. 1.
- 111.** SANDFORD, M. El conejo domestico, biología y producción. Zaragoza, Acribia S.A. 1998
- 112.** ROCCA E.L, CAMPOS CHAVARRI, J. L. et al..Biología del Conejo. Curso de cunicultura. Barcelona: Real Escuela Oficial y Superior de Avicultura 1ª. Edición. Cáp. 2. P 27 – 59. 1980.
- 113.** Disponible en <http://adigital.pntic.mec.es/sandgust/flora%20y%faunaconejosyliebres>.
- 114.** DASSO, MVN. FERNANDEZ, M. ARIAS M.V. Reparación ósea mediante aloimplantes sometidos a diferentes métodos de conservación en conejos. Archivos de medicina Veterinaria.

Vol. 30. No.2. Valdivia, 1998.

115. Op. Cit. 111.
116. JOKLIK, WILLWTT, AMOS, WILFERT. Esterilización y desinfección. Zinsser Microbiologías. Cáp. 10. Pág. 267-283. Edición 20. Panamericana. 1998.
117. LETERME, P, I, A. ESTRADA, F. I,A. Análisis de los alimentos y forrajes destinados a los animales. Notas de laboratorio Nutrición animal. Laboratorio de nutrición animal. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira P: 2-14. 2001.
118. Op. Cit. 2
119. Op. Cit. 116.
120. LOPEZ, R.A, GAMARA, R.F. Eficacia y seguridad de los rayos ultravioleta en la esterilización de los elementos atóscopicos. Disponible en www.orto12398eficcia.com.
121. Manual de laboratorio Química y Análisis industrial. Universidad del Valle 1989.
122. Norma Colombiana Incontec primera revisión 282. 1981.
123. CARDOSO DE MARTINEZ C.A., DE OSORIO AM. El uso de los animales de laboratorio en la investigación biológica. 7mo encuentro de investigación de la ACFO. 1998.
124. LUNDERG, A.K. LUNDERG, D. SENNERBY, L. TAYLOR, A. Aumento de hueso craneal usando membranas bioabsorbible como soporte en injertos autologos de hueso. Un

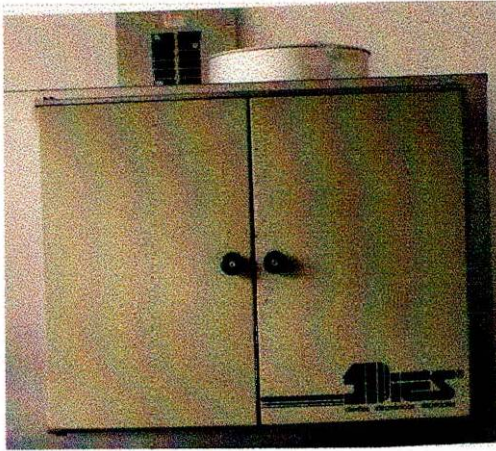
- intraindividual estudio en conejos, Clin. Oral. Implant Res. 1997: 8:90-95.
Muksmunksgaard.1997.
- 125.** ILZARBE. L, FERNANDEZ F. El efecto paraguas. Aportaciones a la discusión de irrigación interna / irrigación externa en implantología oral (4to estudio). Revista Española d Odontología en implantes. No. 1. Vol. III. Enero 2000.
- 126.** CHAFFEE, V. PARKS. V. Principios generales del manejo. Biología y clínica del conejo y roedores. Cáp. 1. Pág: 1 – 6. 1993.
- 127.** ----- . Biología y manejo. Biología y clínica de conejos y roedores. Cáp. 2. Pág: 7 – 17. 1993.
- 128.** MRAD DE OSORIO A, ROSENKRANZ. A, Ambiente. Guía para el uso de animales de laboratorio. Parte I. Cáp.3. Pág: 16 – 38. 1990.
- 129.** Op, Cit.125.
- 130.** BRYANY. R.M, BANISTER, K, YERA, B. BERNOTE. Recomendaciones para la eutanasia de los animales de experimentación. Parte I. Laboratorio animal Vol. 30. disponible en www.secal.es/esuta1.htm.
- 131.** TODD, SANFORD, DAVIDSOHN. Descalcificación y tinción del hueso. Cáp. 40. tomo II. 8va edición salvat. 1990.
- 132.** Op. Cit. 110

133. Op. Cit. 122
134. LOPEZ MONTARALLA N, HERRANZ G, Experimentación en animales. Documentación-deontología biológica. Cáp. 27. 2000.
135. BENNETT. B. T., BROWN. M. J., SCHOFIELD. J. C., Elementos esenciales para investigación animal. Una guía para la investigación animal. Centro de información del bienestar animal. Departamento de agricultura de E.U.A: Biblioteca Nacional de Agricultura. 2001. Disponible en www.nal.usda.gov7awic/pubs/noawicpubs/essenti2.htm.
136. OLFERT. D., ERNEST DVM., CROSS M., MCWILLIAM ANN. Responsabilidad para el cuidado y uso de los animales de experimentación. CCPA, manual. Vol1. 2da edición. 1998.
137. MRAD DE OSORIO A, ROSENKRANZ A., Ética y alternativas. Guía para el uso de animales laboratorio Parte I. Cáp. 4. Pág: 39 – 42.
138. - - - - - , Legislación (Colombia). Guía para el uso de animales de laboratorio Parte I. Cáp. 5. Pág: 53 – 56.
139. Op. Cit. 2
140. Op. Cit 39.

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Horno con circulación interna de aire caliente	135
Anexo B. Molino Fritsch - Pulverisette 14	135
Anexo C. Tatuaje de conejos	135
Anexo D. Toma de peso al conejo	136
Anexo E. Toma de temperatura al conejo	136
Anexo F. Toma de radiografías	136
Anexo G. Eutanasia del conejo	136
Anexo H. Acta de Comité de Ética animal	137
Anexo I. Planilla de recolección de datos histológicos	141
Anexo J. Planilla de recolección de datos prequirúrgicos 1.	142
Anexo K. Planilla de recolección de datos post-quirúrgicos 2.	143
Anexo L. Planilla de recolección de datos post-quirúrgicos 3.	144

Anexo A. Homo de circulación de aire caliente



Anexo B. Molino Fritsch - Pulverisette



Anexo C. Tatuaje de conejos



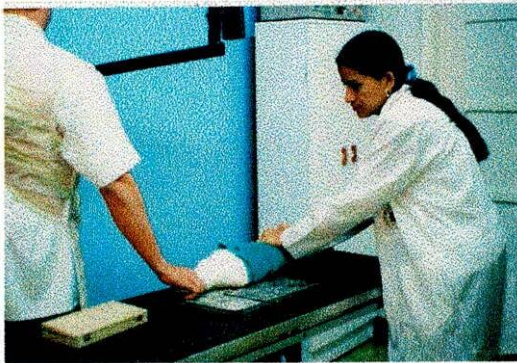
Anexo D. Toma de peso



Anexo E. Toma de temperatura



Anexo F. Control radiográfico



Anexo G. Eutanasia del conejo



IMPLANTES ALOPLASTICOS EN REGENERACION OSEA
ACTA DE PRESENTACION
COMITÉ DE ETICA

A los doce (12) días del mes de diciembre de 2001 se realizó la presentación formal del proyecto "Implantes Aloplásticos en Regeneración ósea, ante el comité de ética en el salón 502 del Colegio Odontológico, sede Cali; a las 9:30 am.

Para tal reunión fueron citados los siguientes Doctores como miembros de dicho comité:

- Dr. Diego Sanchez
- Dra. Blanca Lucía Acosta
- Dr. Roberto Gracia
- Dra. Victoria Quintero
- Dr. Delio Orjuela
- Dr. Jorge Gardeazabal

De los cuales hicieron acto de presencia:

- Dra. Victoria Quintero
- Dr. Roberto Gracia

- Dr. Delio Orjuela
- Dr. Diego Sanchez

Al inicio de ésta se realizó la presentación de los doctores asistentes y se continuo con la exposición de los objetivos generales y específicos, la justificación del uso del conejo y la cascara de huevo, al igual que la metodología, procedimientos y cuidados que se han realizado hasta el momento en los conejos.

Se explicó también los procedimientos posteriores a realizar (cirugía, cuidados, controles post-operatorios y analisis y procedimientos finales).

Despues de esta presentación; fueron realizadas las siguientes observaciones por parte del comité:

- Utilizar la misma cantidad de casos a manipular, controles y replica; con el fin de no producir más variables al momento de procesar la información en un paquete estadístico, que para este caso seria Epi-info.
- Observar minuciosamente el comportamiento del conejo post-quirurgicamente para determinar si es o no necesario el uso de collarin o cuello isabelino, mientras sucede la cicatrización del tejido.

- Determinar la posibilidad de administrar al animal una única dosis de antibiótico una vez se haya terminado la cirugía, y evitar de este modo dificultades en el manejo del animal ante un suministro diario.
- Se recomienda también una dosis única de analgésico con el fin de que la sensación de dolor que se le llegue a presentar al animal le proporcione reacciones de cuidado y protección; y si realmente durante la observación se nota un decaimiento del animal por dolor, se le proporcionará la dosis necesaria para que éste cese.

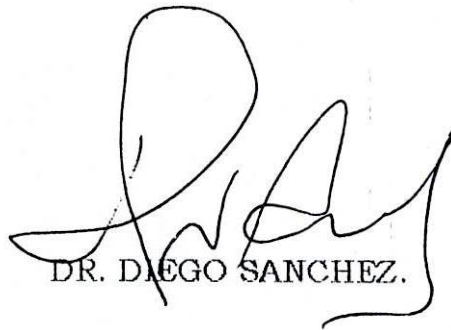
Ante las observaciones realizadas por parte del comité, el Dr. Diego Sanchez pregunta al Dr. Delio de la necesidad de suministrar antibiótico diario a los animales ya que la finalidad de este proyecto es aplicarlo en cavidad oral de seres humanos y que este es un lugar séptico, que requeriría un cubrimiento total, por ende el Dr. Delio responde que siendo esto necesario de observar, se podría administrar el medicamento de forma diaria realizando una adaptación previa suministrándoles agua a través de una jeringa.

La reunión finaliza a las 10:00 a.m.; y para constancia de lo anterior los DOCTORES asistentes leerán y firmarán la presente ACTA.

Victoria E. Quintero
DRA. VICTORIA QUINTERO


DR. ROBERTO GRACIA

Delio Orjuela
DR. DELIO ORJUELA


DR. DIEGO SANCHEZ.

Anexo I. Planilla de recolección de datos histológicos

CODIGO	VARIABLES	CATEGORIA	1	2	3	5	6	8
1	SEXO	HEMERA						
		MACHO						
2	IMPLANTE	NO						
		SI						
3	ESTRATIFICACIÓN DE FORMACIÓN	EMBRIONARIO						
		MADURO						
		OSTEOIDE						
4	FORMACIÓN ÓSEA	ORDENADA						
		DESORDENADA						
5	CELULARIDAD MEDULAR	AUMENTADA						
		NORMAL						
		DISMINUIDA						
6	VASCULARIDAD	INTERIOR						
		PERIFÉRICA						
7	CICATRIZACION	PRIMARIA						
		SECUNDARIA						

PRE - QUIRÚRGICO HOJA # 1

0. CONEJO # _____ 1. SEXO _____ 2. EDAD _____

		1	2	3	4	5	OBSERVACIONES
3. DIA							
4. FECHA							
5. PESO							
6. TEMPERATURA							
7. EXCRECIONES	SOLIDO						
	LIQUIDO						
8. RACIÓN INGERIDA grs.							
9. AGUA INGERIDA ml.							
10*. REPOSO	R						
	RL						
A. INGESTIÓN DE ALIMENTOS	SI						
	NO						
B. ASEO Y CUIDADOS PIEL	SI						
	NO						
C. MOVIMIENTOS VARIOS	SI						
	NO						

