

SERIE DE CASOS

Ciencias Clínicas

Marcadores angiogénicos y osteogénicos en regeneración ósea: serie de casos clínicos

Eduardo Couve Montané †¹ | Javiera Arévalo Berrocal ² | Patricio Astudillo Pérez ² | María Paz Espinosa

Carmona ² | Jessika Dethlefs Canto ³

¹† In memoriam. Departamento de Biología y Ciencias Ambientales, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

²Facultad de Odontología, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

³Departamento de Cirugía y Traumatología Bucal y Maxilofacial, Facultad de Odontología, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

Correspondencia

Dra. Jessika Dethlefs Canto.
Email: jessika.dethlefs@uv.cl

Introducción: La pérdida dentaria provoca una serie de cambios morfológicos asociados a la reabsorción del hueso alveolar, lo que genera una limitación en los tratamientos de rehabilitación con implantes dentales. La angiogénesis desempeña un papel esencial en la osteogénesis, ya que facilita el suministro de nutrientes y oxígeno necesarios para la formación de nuevo tejido óseo. En este contexto se han desarrollado diversas técnicas y biomateriales para promover la regeneración ósea. **Materiales y métodos:** Tres pacientes ASA I-II que requerían rehabilitación con implantes dentarios se sometieron a aumento del seno maxilar utilizando un aloinjerto particulado liofilizado combinado con fibrina rica en plaquetas (PRF). Tras 6-8 meses, se obtuvieron biopsias óseas durante la colocación de los implantes. Se realizaron análisis histológicos y de inmunofluorescencia para evaluar los marcadores angiogénicos (CD31, vWF) y osteogénicos (OCN). **Resultados:** Todos los casos mostraron infiltración vascular de las áreas injertadas y formación activa de osteoide. El hueso regenerado exhibió una arquitectura trabecular temprana y una expresión positiva de OCN. **Conclusión:** Estos hallazgos caracterizan la arquitectura histológica y la dinámica celular de la regeneración ósea alveolar humana tras una elevación del seno con aloinjerto y PRF, lo que expresa una unión angiogénica-osteogénica activa.

PALABRAS CLAVE

regeneración ósea alveolar, angiogénesis, osteogénesis, aloinjerto óseo, inmunofluorescencia, serie de casos

1 | INTRODUCCIÓN

El hueso alveolar es la estructura que da soporte e inserción a los dientes. Forma parte de un sofisticado sistema de anclaje dentario constituido por el periodonto de inserción, junto con el cemento y el ligamento periodontal, conformando la articulación alvéolo-dentaria. Desde un punto de vista evolutivo, se considera la estructura más compleja en la filogenia de la dentición [1].

La pérdida de hueso alveolar representa una complicación frecuente y desfavorable para los tratamientos de rehabilitación dental, lo que ha motivado el desarrollo de diversas técnicas y biomateriales de regeneración ósea [2]. Estos materiales se clasifican según su origen en autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y materiales aloplásticos, y actúan por mecanismos de osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción [3]. Para optimizar la eficacia de los procedimientos regenerativos, se reconocen principios clave como el mantenimiento del espacio, la exclusión de tejido conectivo, la estabilización del coágulo y el cierre primario del sitio quirúrgico [4].

La angiogénesis es un proceso fundamental tanto en el desarrollo como en la regeneración ósea, ya que garantiza el suministro adecuado de oxígeno, células y nutrientes al tejido óseo en formación [5, 6]. Esta se define como la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de redes preexistentes, regulada por la activación de células endoteliales y progenitoras vasculares [7]. La interacción funcional entre angiogénesis y osteogénesis está modulada por factores autocrinos y paracrinos derivados de células osteoblásticas y endoteliales [8,9].

En este contexto, presentamos una serie de casos con el objetivo de caracterizar la arquitectura histológica y los procesos celulares implicados en la regeneración ósea, así como la expresión de marcadores angiogénicos y osteogénicos en hueso alveolar humano nativo y regenerado. Se incluyeron tres pacientes tratados con una técnica combinada de aloinjerto particulado liofilizado y fibrina rica en plaquetas (PRF). El propósito del estudio fue: Evaluar cualitativamente mediante inmunohistoquímica los compartimentos óseos nativos y regenerados, con el fin de proporcionar evidencia *in vivo* en humanos de la actividad angiogénica y osteogénica durante la regeneración ósea guiada, contribuyendo así a la comprensión de los mecanismos biológicos subyacentes a la rehabilitación con implantes en el maxilar posterior atrófico.

2 | MATERIALES Y MÉTODO

2.1 | Diseño del estudio y aprobación ética

Esta serie de casos es presentada de acuerdo con las directrices CARE (*Case report guidelines*) [10]. El objetivo fue caracterizar la actividad angiogénica y osteogénica en el hueso alveolar humano regenerado tras procedimientos de elevación del seno maxilar.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Bioética para la Investigación en Seres Humanos de la Universidad de Valparaíso (PREG-19-18). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito para el tratamiento quirúrgico, la obtención de biopsias y la publicación de datos anonimizados.

2.2 | Serie de Casos

Se incluyeron tres pacientes adultos tratados en el Programa de Posgrado en Implantología Oral de la Universidad de Valparaíso entre 2018 y 2019. Todos los pacientes presentaban edentulismo parcial en el maxilar superior con ausencia de dientes posteriores y deficiencia ósea vertical grave, con una altura ósea alveolar residual inferior a 4 mm, según confirmó la tomografía computarizada de haz cónico (CBCT). Esta marcada reducción de la dimensión ósea vertical contraindicaba la colocación simultánea de implantes e indicaba un aumento del seno maxilar por ventana lateral para lograr un volumen óseo suficiente para la posterior rehabilitación con implantes.

Los pacientes presentaban entre 40 y 60 años, clasificados como ASA I-II, sin antecedentes de tabaquismo, sin afecciones sistémicas que afectaran el metabolismo óseo, ausencia de patología sinusal activa o procedimientos previos de injerto sinusal. Al examen clínico intraoral los participantes presentaban edentulismo parcial superior con pérdida dentaria en la zona posterior mayor a 12 meses, mucosa oral sin alteraciones y estado de salud periodontal sin signos inflamatorios.

2.3 | Protocolo Quirúrgico

Los procedimientos quirúrgicos fueron realizados en el Pabellón de Cirugía Menor de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso por un especialista en implantología bucal y maxilofacial perteneciente al Programa de Especialidad de Implantología Bucal y Maxilofacial de la Universidad de Valparaíso. Los participantes fueron pre medicados con descongestionante nasal (Fisiolimp, cloruro de sodio 0,9%, Laboratorio Pasteur, Chile) administrando 1 puff por narina cada 6 horas a contar de tres días antes del procedimiento. Además, fueron pre medicados con Amoxicilina 1g (Ambiotic 1 g, Laboratorio Chile) y Naproxeno sódico 550 mg (Laboratorio Chile), ambos 1 hora antes de la cirugía.

Al momento de ingreso del paciente al pabellón, se obtuvieron 60 cc de sangre venosa, la cual se sometió a centrifugación de 3000 rpm durante 10 minutos, según el protocolo clásico descrito por Choukroun el 2006 [11]. Se obtuvieron como resultado 3 capas: la más profunda corresponde a elementos figurados, principalmente eritrocitos; la capa intermedia compuesta por la mayor concentración de plaquetas y leucocitos (coágulo de fibrina); y la capa superficial que corresponde a plasma pobre en plaquetas. Se utilizaron las primeras dos capas, material que se extrajo con una jeringa y posteriormente se mezcló con 0,5 cc de aloinjerto particulado mixto Puros® Cortico-cancellous (Zimmer Biomet, Carlsbad, CA, USA); se dejó reposar durante 5-10 minutos para la polimerización, dando como resultado una masa que luego fue compactada en el piso del seno maxilar.

Para el procedimiento quirúrgico se realizó técnica infiltrativa vestibular y palatina en la zona a intervenir con Articaína 4% 1:100.000 (Septanest 4% 1:100.000, Septodont, Francia). Un colgajo triangular de espesor total fue realizado para el acceso a la pared lateral del seno maxilar a intervenir. La osteotomía fue realizada utilizando *piezosurgery* (VarioSurg, NSK, Nakanishi Inc, Japón) con irrigación con solución salina. Una vez levantada la ventana de acceso de la pared lateral del seno maxilar la membrana de Schneider fue cuidadosamente elevada y la masa obtenida por la mezcla de PRF con Puros® Cortico-cancellous (Zimmer Biomet, Carlsbad, CA, USA) fue compactada en el piso del seno maxilar por debajo de la membrana de Schneider (Figura 1).

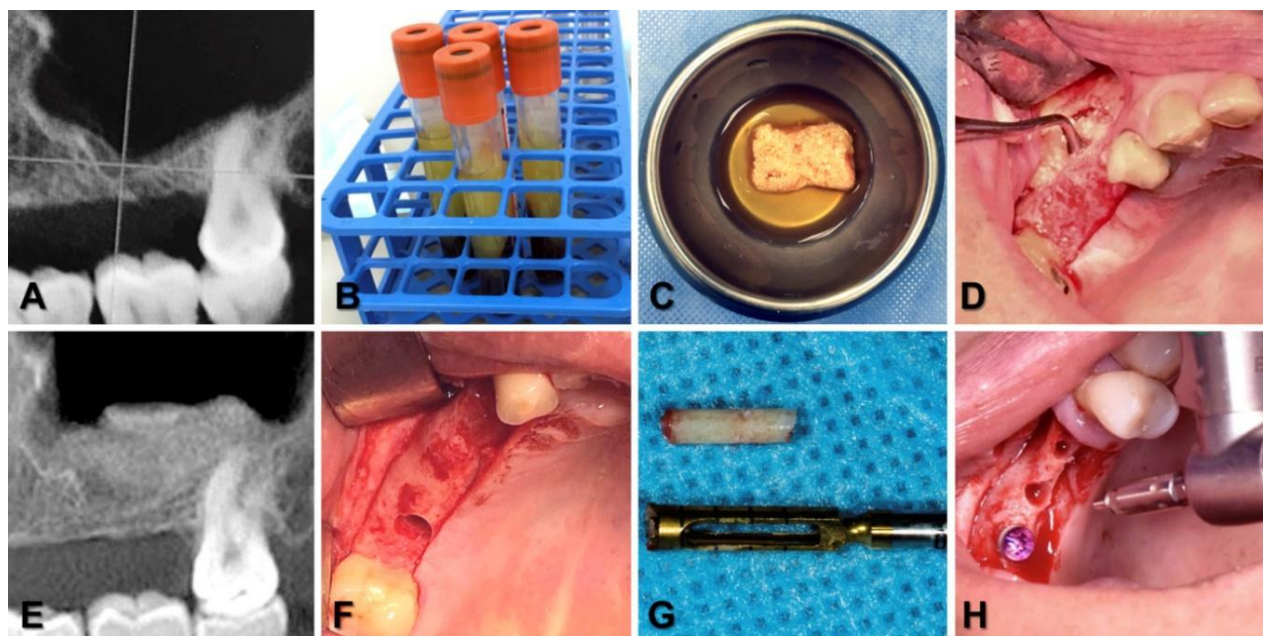


FIGURA 1 Protocolo quirúrgico. A) Radiografía del seno maxilar en condición inicial. B) PRF. C) Aloinjerto + PRF. D) Procedimiento de elevación de seno maxilar. E) Radiografía del seno maxilar transcurridos 6 a 8 meses de la colocación del injerto. F) Sitio de la biopsia. G) Trefina de 2 mm de diámetro con muestra de hueso obtenida. H) Implante instalado.

A continuación, la ventana de acceso al seno maxilar fue protegida con una matriz de PRF y el colgajo mucoperióstico fue reposicionado y suturado con Vycril 4.0 (Ethicon, J&J Surgical Technologies, EUA). A los 3 participantes se les indicó Amoxicilina 1gr (Ambiotic 1gr, Laboratorio Chile, Teva) 1 comprimido cada 12 horas por 7 días, Naproxeno Sódico 550mg 1 comprimido cada 12 horas por 5 días y Paracetamol 500 mg (Laboratorio Chile), 1 comprimido a cada 8 horas en caso de dolor. Todos los participantes fueron controlados a los 7 días postquirúrgico y ninguno presentó algún tipo de complicación.

Tras un período de 6-8 meses los pacientes fueron controlados clínica e imagenológicamente con CBCT para la planificación de instalación de los implantes dentarios (Figura 1). Esta etapa quirúrgica fue realizada por el mismo especialista y auxiliar que en el procedimiento anterior. En esta ocasión se realizó técnica infiltrativa vestibular y palatina en la zona a intervenir con Articaína 4% 1:100.000 (Septanest 4% 1:100.000, Septodont, Francia). Un colgajo mucoperióstico de espesor total fue levantado en la zona de instalación del implante. En cada participante se obtuvo un núcleo óseo de 10mm de altura, en la zona a instalar el implante, utilizando una trefina de 3mm de diámetro externo y 2 mm de diámetro interno (Hu Friedy, Chicago, Illinois, Estados Unidos). Luego de su obtención, la muestra es separada de la trefina con una pinza, y fue depositada en un frasco rotulado con 20 ml de paraformaldehído. Posteriormente se siguió con la secuencia de fresado e instalación del implante, cierre de colgajo mucoperióstico con Vycril 4.0 (Ethicon, J&J Surgical Technologies, EUA). Para el postoperatorio se indicó Naproxeno Sódico 550mg 1 comprimido cada 12 horas por 5 días y Paracetamol 500 mg (Laboratorio Chile), 1 comprimido a cada 8 horas en caso de dolor. Todos los participantes fueron controlados a los 7 días post quirúrgico y ninguno presentó algún tipo de complicación.

2.4 | Preparación de las muestras

Las muestras fueron desmineralizadas en solución de EDTA al 4.13%, la cual fue cambiada una vez por semana hasta los 21 días. Una vez desmineralizadas las muestras fueron lavadas con solución *buffer* fosfato-salina (PBS) y sometidas a criopreservación en solución de PBS con sacarosa al 15% por 2 horas para luego repetir esta etapa en igual solución al 30% por 24 horas. Las muestras embebidas en solución criopreservante fueron situadas en un medio de montaje para seccionamiento por congelación (Tissue-tek OCT Compound, Sakura Finetek, Torrance, CA, USA) y congeladas a -25°C. Se realizaron cortes de 25 micrones mediante una cuchilla Leica desechable 819, en un criostato (Leica CM-1900) operado a -25°C. Las secciones obtenidas fueron montadas en portaobjetos numerados, previamente cargados con poli-lisina. Los cortes se almacenaron bajo refrigeración a 4°C. Secciones representativas fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina para caracterización y análisis de las muestras obtenidas.

2.5 | Marcadores Angiogénicos y Osteogénicos

Los marcadores inmunohistoquímicos utilizados en el estudio corresponden a los anticuerpos CD31 y vWF para describir angiogénesis, y la inmuno-reactividad de la proteína Osteocalcina (OCN) para describir osteogénesis (Cuadro 1).

CUADRO 1 Marcadores inmunohistoquímicos: Anticuerpos primarios y secundarios utilizados en el estudio.

Anticuerpo Primario	GEN	Host	Fabricante	Marcación
OCN	BGLAP	Ms/m	Millipore	Osteocalcina
CD3	TCR	Rb/m	DAKO	Linfocitos
CD31	PECAM 1	Ms/m	DAKO	Células endoteliales, leucocitos
vWF	VWF	Rb/m	DAKO	Células endoteliales

Anticuerpo Secundario	Especificación
<i>Anti-rabbit</i>	Alexa Fluor 555 (Invitrogen)
<i>Anti-mouse</i>	Alexa Fluor 555 (Invitrogen)
<i>Anti-mouse</i>	Alexa Fluor 488 (Invitrogen)
DAPI	Tinción de núcleos (0.25 µg/ml)

2.6 | Inmunohistoquímica e Inmunomarcaje

Para realizar los inmunomarcajes, las secciones montadas fueron rehidratadas en PBS e incubadas por una hora en una solución de bloqueo (compuesta por 1% de albúmina de suero bovino (BSA), 1% suero de caballo y 0.3% Triton X-100 + solución PBS).

Luego se agregaron los anticuerpos primarios, diluidos en solución de bloqueo y se dejaron actuar durante 12 h a una temperatura de 4°C. Los cortes fueron sometidos a cinco lavados de PBS de 10 min cada uno. Los anticuerpos secundarios también fueron diluidos en una solución de bloqueo (1:500) y luego de ser agregados se dejaron actuar durante 1 h a temperatura ambiente; por último, son lavados con PBS. Finalmente, los núcleos son marcados con DAPI (0.25 µg/ml) por 10 min. Las muestras fueron lavadas con PBS y cubiertas con medio de montaje (Dako Industries, Carpintería, CA, USA) para ser almacenadas en cajas plásticas a 4°C para su posterior análisis con microscopía.

Los cortes procesados fueron observados con microscopio confocal (Nikon C1 Plus y Zeiss Axion imager Z1), el cual opera con tres láser de distintas longitudes de onda de emisión (405, 488 y 555 nm). Los fluorocromos asociados a los anticuerpos secundarios fueron Alexa Fluor 488 goat anti-mouse en verde, Alexa Fluor 555 goat anti-rabbit en rojo y DAPI en 405 nm en azul. Los registros digitales fueron procesados mediante los programas EZ-C1 3,90 (Nikon Corporation) e Image J (NH, Bethesda, MD, USA) para proyecciones de máxima intensidad. Para ajustes de brillo y contraste se utilizó el programa Adobe Photoshop CS4 (Adobe Systems, Mountain View, CA, USA).

3 | RESULTADOS

Los datos de los participantes y las muestras recolectadas se presentan en el Cuadro 2. Se obtuvieron cortes longitudinales de cada muestra de hueso alveolar, donde se distinguen tres zonas: caudal, craneal e interfase entre ambas (Figura 2). La zona caudal corresponde a hueso nativo o propio del paciente; la zona craneal contiene el tejido injertado, donde se evidencian partículas de hueso liofilizado y formación de matriz mineralizada; la interfase entre ambos sitios se señala esquemáticamente.

CUADRO 2 Características de los pacientes sometidos a muestra biopsiada: sexo, edad (años), tiempo transcurrido desde la elevación de seno hasta la toma de la biopsia (semanas).

Participante	Sexo	Edad	Tiempo de regeneración
1	Hombre	52	25 semanas
2	Mujer	53	35 semanas
3	Hombre	54	30 semanas

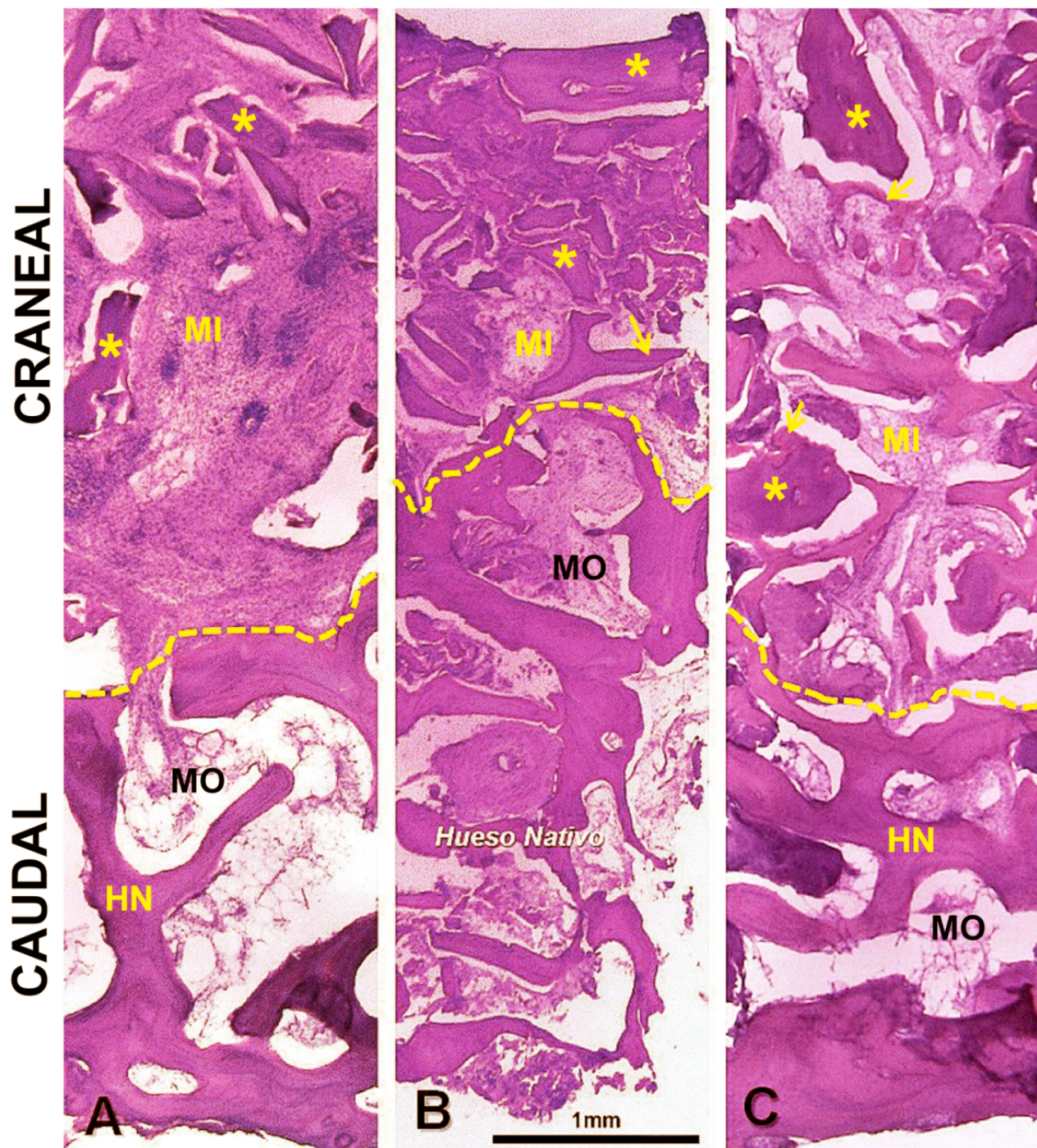


FIGURA 2 Imágenes representativas de baja magnificación de cortes longitudinales de las muestras obtenidas (A-C). En la base de los cortes se observa la zona caudal de la muestra que compromete hueso nativo (HN) y espacios de médula ósea (MO). Las líneas amarillas segmentadas indican la transición entre hueso alveolar nativo y el sitio injertado que corresponde a la región craneal. Partículas de hueso liofilizado (asterisco) se evidencian interpuestas en la matriz del injerto (MI). Destaca la continuidad del trabeculado óseo nativo, el que contrasta con la dispersión y temprana integración de las partículas de hueso liofilizado y un hueso reticular incipiente (flechas). Tinción con Hematoxilina-Eosina (HE). Escala de barra= 1 mm.

3.1 | Angiogénesis

Al analizar los cortes se evidenció la formación de nuevos vasos sanguíneos en cada una de las muestras, que se encuentran en relación tanto a la matriz del injerto como a las partículas de hueso liofilizado (Figura 3).

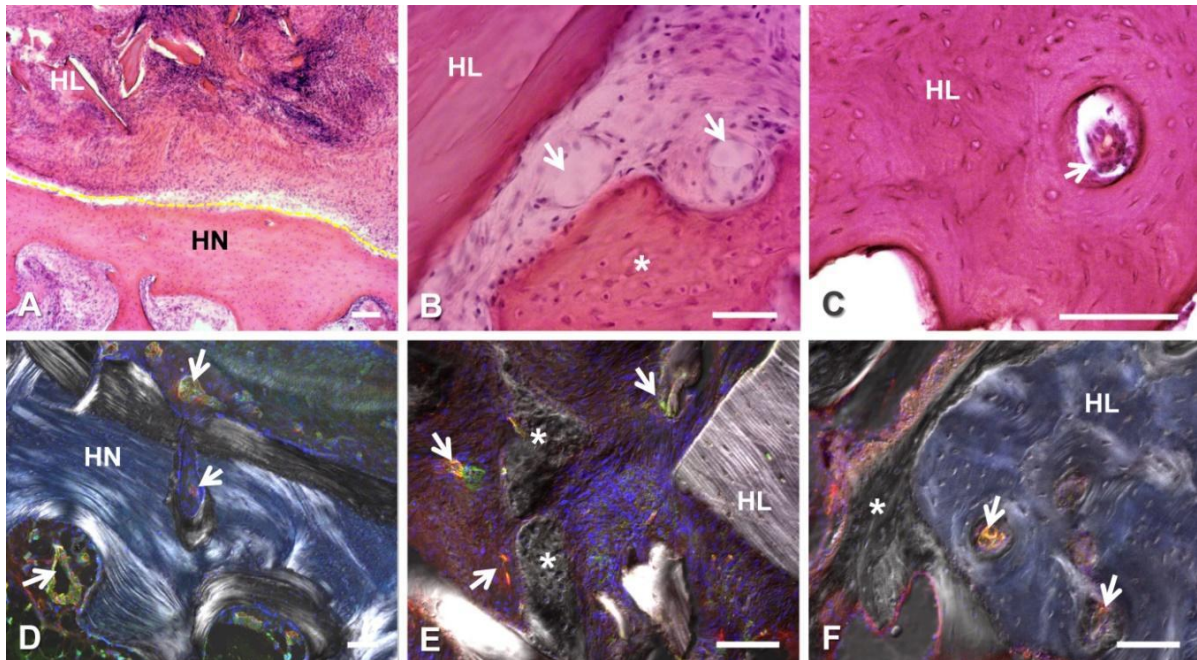


FIGURA 3 Imágenes de microscopía óptica con tinción HE (A-C) y microscopía confocal con inmunomarcaje con anti-CD31 (verde) y anti-vWF (rojo) (D-F) de componentes vasculares en hueso nativo y regenerado mediante aloinjerto. A, D) Zona de interfase, donde se observa el hueso nativo (HN) con características de hueso trabecular maduro de organización laminar y parte del sitio injertado con presencia de partículas de hueso liofilizado (HL). Al inmunomarcaje se evidencian los vasos sanguíneos (flechas) presentes en el espacio medular del hueso nativo y en la zona de interfase con el hueso regenerado. B, E) Zona caudal, donde se observan vasos sanguíneos de distintos calibres en la matriz del injerto. Se encuentran en relación a partículas de hueso liofilizado y tejido osteoide (asterisco). C, F) Se aprecian partículas de hueso liofilizado en las que los conductos de Havers han sido invadidos por vasos sanguíneos. Escala de barras= 100 μ m.

3.2 | Osteogénesis

Se evidencian zonas de regeneración ósea en distintas etapas de maduración. A diferencia de la estructura del hueso nativo, éstas presentan una disposición desorganizada e irregular. Por otra parte, en las partículas de hueso liofilizado se observa una estructura laminar y la presencia de lagunas óseas vacías.

Se puede observar una mayor expresión de osteocalcina en la estructura laminar del hueso nativo, siendo evidente en la organización ósea mostrada en la interfase entre hueso nativo y regenerado (Figura 4).

En la Figura 5 es posible distinguir dos estadios tempranos en la regeneración, pudiendo identificar principalmente: tejido osteoide, que se observa en una etapa previa a la mineralización y con una organización aún amorfa; y un hueso reticular que corresponde a tejido óseo en formación (inmaduro), con calcificación y caracterizado por tener una matriz de fibras colágenas desorganizadas y presencia de osteocitos con relación a lagunas que varían en tamaño y disposición.

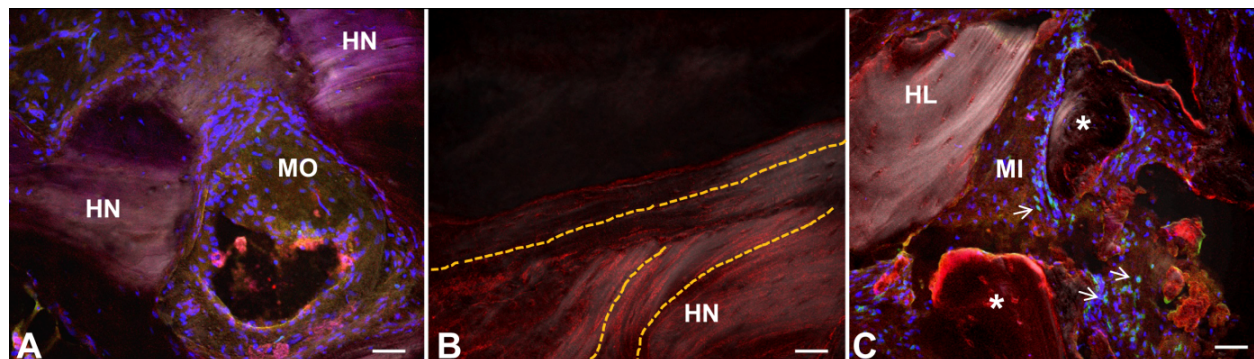


FIGURA 4 Doble marcaje inmunohistoquímico para anti-Osteocalcina (rojo) y linfocitos (CD3, verde) observado con microscopía confocal. A) Magnificación de hueso nativo (HN) con espacios medulares (MO). B) Disposición laminar en hueso maduro de la interfase (líneas amarillas segmentadas). C) Perfiles de hueso trabecular regenerado (asterisco) y partículas de hueso liofilizado (HL). Se evidencia infiltrado linfocitario (flechas) en la matriz del injerto (MI). Núcleos teñidos con DAPI (azul). Escala de barras= 100µm.

4 | DISCUSIÓN

La elevación de seno maxilar mediante injertos corresponde a una técnica desarrollada para aumentar la altura de hueso disponible para la colocación del implante en el maxilar posterior [12]. Es considerada como uno de los procedimientos más predecibles y convencionales para el tratamiento de rebordes alveolares con volumen y densidad ósea insuficientes. Su objetivo es aumentar el volumen óseo en la región para poder lograr estabilidad primaria al momento de la instalación del implante dental [13-15].

La neoformación de vasos sanguíneos a partir de una red vascular preexistente juega un rol fundamental en la formación de hueso, aportando oxígeno, nutrientes y células progenitoras. La angiogénesis también regula el comportamiento óseo a través de interacciones directas las que son capaces de inducir la diferenciación de las células osteoprogenitoras [16, 17]. Esto es posible gracias a que la red vascular actúa como un andamio para células formadoras de hueso logrando la intimidad de las células endoteliales y los osteoblastos [18]. Sin embargo, estudios recientes sugieren el uso de matrices o *scaffold* que no solo ofrezcan una red estructural para el crecimiento de células osteoprogenitoras y vasos sanguíneos, sino también un sistema de liberación de moléculas que proporcionen los factores de crecimiento necesarios [19].

Los resultados de este estudio evidencian la vascularización del tejido injertado, provenientes de la red vascular del hueso nativo, que posibilitan una conexión fisiológica entre el material de injerto y los tejidos circundantes del huésped, avalando estudios previos, como el de Saghir y cols. [20]. Esto refuerza lo propuesto por Larsen y cols., quienes afirman que la angiogénesis en el sitio receptor es crítica para la supervivencia de los injertos óseos alogénicos [21].

En todas las muestras obtenidas se identificó la presencia de vasos sanguíneos de distinto calibre según el sitio analizado. Con relación al hueso nativo y en la zona más caudal del hueso nuevo, se pudieron observar vasos de mayor diámetro, que va disminuyendo hacia la zona craneal.

Este proceso, sumado a la liberación de factores de crecimiento (TGF- β , PDGF, VEGF) aportados por el PRF, permiten tanto la angiogénesis como la osteogénesis [22], y ocurre con relación a las partículas de hueso liofilizado o adyacente a estas mismas. También se aprecian vasos sanguíneos que han invadido espacios haversianos de partículas de hueso liofilizado con características de hueso compacto. Todo esto reafirma la naturaleza osteoconductora del hueso liofilizado [2].

Estudios más recientes ratifican la importancia del VEGF como regulador del proceso fisiológico angiogénesis-osteogénesis, y sugieren el uso de matrices capaces de liberar este factor de crecimiento de manera homogénea para mejorar la ingeniería de tejidos [23]. Se siguen investigando mecanismos moleculares que potencian la acción del VEGF; el avance en estos estudios es de gran relevancia para mejorar las opciones terapéuticas en la regeneración ósea.

Las partículas de hueso liofilizado de los injertos analizados muestran diferentes tamaños y tipos de partículas (tanto de hueso trabecular como hueso cortical), características que influyen directamente en propiedades como resistencia mecánica y tiempo de degradación, haciendo menos predecible el comportamiento del material. Si bien estos parámetros no han sido evaluados en este estudio, son importantes para la regeneración ósea, y han sido evaluados por distintos autores [24,25].

El tiempo requerido para la regeneración ósea alveolar posterior a una exodoncia ha sido ampliamente estudiado en la literatura científica, ya que influye directamente en la planificación de tratamientos restauradores e implantológicos. La fase de remodelación ósea se desarrolla entre los 3 a 6 meses posteriores a la intervención quirúrgica [26]. En las muestras estudiadas con tiempos de regeneración que oscilan entre 6 y 8 meses, se observa una regeneración ósea incipiente (Figura 5).

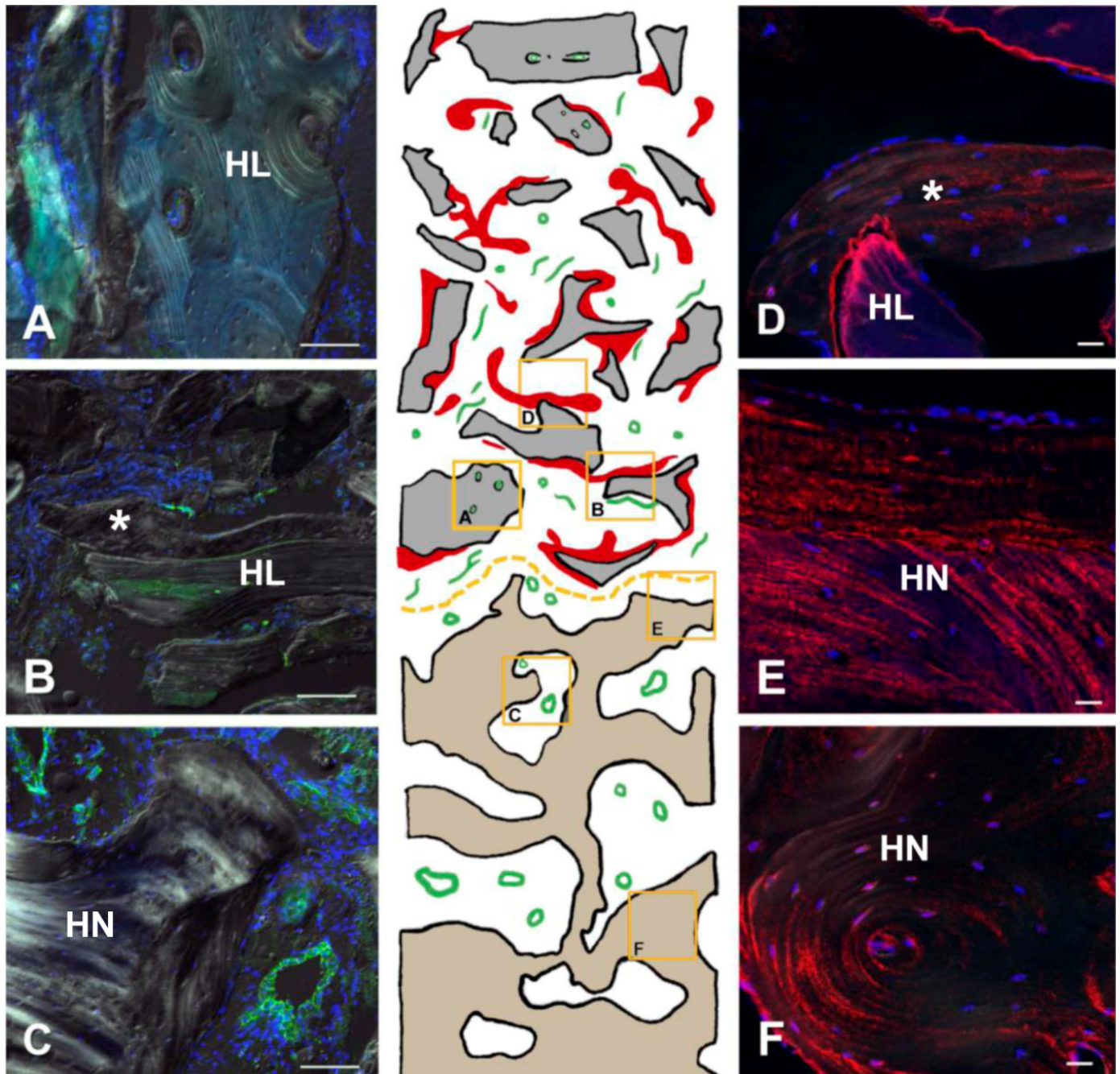


FIGURA 5 Esquema representativo de corte longitudinal de una muestra observada al microscopio con baja magnificación, con imágenes representativas de inmunomarcaje obtenidas mediante microscopía confocal de componentes angiogénicos marcados con anti-CD31 (verde) (A-C) y osteogénicos marcados con anti-OCN (D-F). En color verde se han representado los vasos sanguíneos, en color rojo el hueso regenerado y en color gris el tejido óseo alveolar. Escala de barras= 100µm.

Los resultados de este estudio coinciden con la evidencia reciente que destaca el rol del plasma rico en fibrina (PRF) como un complemento potencialmente beneficioso en procedimientos de regeneración ósea. Si bien diversas investigaciones han demostrado que el PRF puede mejorar la liberación local de factores de crecimiento, esto no siempre se traduce en diferencias clínicas o histológicas significativas en la regeneración del reborde alveolar [27]. No obstante, su aplicación en combinación con materiales injertados, como el aloinjerto, ha mostrado resultados prometedores en la regeneración ósea de defectos complejos, especialmente cuando se utiliza como membrana de recubrimiento [28]. En este contexto, revisiones sistemáticas recientes han informado que el PRF podría favorecer la formación de hueso nuevo, aunque con resultados variables dependiendo del tipo de concentrado plaquetario y del modelo quirúrgico empleado [29]. Además, estudios preclínicos han identificado rutas moleculares específicas, como Wnt/ β -catenina y PI3K/Akt, implicadas en los efectos proangiogénicos y osteogénicos del PRF [30], lo cual podría explicar la presencia de tejido osteoide y trabeculado observado en las zonas regeneradas de nuestras muestras. Finalmente, la evidencia sugiere que la combinación de PRF con diferentes andamiajes óseos, como aloinjertos o xenoinjertos, potencia la regeneración guiada en procedimientos de elevación de seno, aunque se requieren más estudios clínicos estandarizados para confirmar estos hallazgos [31].

Esta serie de casos proporciona evidencia histológica humana *in vivo* de infiltración angiogénica y formación temprana de hueso trabecular tras el levantamiento del seno maxilar con aloinjerto combinado con fibrina rica en plaquetas (PRF). La detección de marcadores endoteliales en los compartimentos regenerados respalda el concepto de acoplamiento angiogénico-osteogénico como un mecanismo central en la regeneración ósea guiada, probablemente mediado a través de vías de señalización coordinadas que involucran el crecimiento vascular impulsado por VEGF y la activación osteoblástica subsiguiente. La penetración vascular en las estructuras haversianas de las partículas del aloinjerto indica un remodelado activo del injerto e integración en lugar de un comportamiento pasivo de andamio. La expresión de osteocalcina (OCN) confirma la diferenciación osteoblástica en curso durante la fase temprana de remodelado (6-8 meses), reflejando procesos de maduración de la matriz y mineralización. Las fortalezas de esta serie de casos incluyen la comparación entre hueso nativo y regenerado en la muestra obtenida, y confirmación inmunofluorescente de la actividad celular. No obstante, la interpretación está limitada por el pequeño tamaño de la muestra, diseño cualitativo, ausencia de cuantificación histomorfométrica y falta de un grupo control. Se requieren estudios controlados adicionales que incorporen análisis cuantitativos y moleculares para elucidar mejor los mecanismos reguladores subyacentes en la regeneración ósea inducida por el aumento de seno.

5 | CONCLUSIÓN

Esta serie de casos proporciona evidencia de que la elevación del seno maxilar utilizando aloinjerto corticocanceloso combinado con fibrina rica en plaquetas (PRF) promueve la regeneración ósea biológicamente activa caracterizada por una actividad angiogénica y osteogénica coordinada. La identificación de marcadores endoteliales y la expresión de osteocalcina dentro de los compartimentos regenerados apoya el concepto de que el crecimiento vascular y la diferenciación osteoblástica ocurren de manera acoplada y clínicamente relevante durante la remodelación temprana. Desde una perspectiva quirúrgica, la penetración vascular observada y la organización trabecular temprana sugieren una integración efectiva del injerto y la formación de hueso funcional capaz de soportar la colocación de implantes dentro de un período de cicatrización de 6-8 meses. Aunque limitada por su diseño cualitativo, estos hallazgos refuerzan la justificación biológica para incorporar PRF en procedimientos de elevación de seno y proporcionan una visión traslacional sobre los mecanismos que pueden mejorar la predictibilidad y estabilidad en la rehabilitación implantosoportada de la maxila posterior atrófica.

6 | AGRADECIMIENTOS

En memoria de nuestro profesor y amigo Dr. Eduardo Couve. Gracias por su entrega, dedicación, confianza. Por compartir con nosotros su experiencia profesional y de vida, y por el cariño entregado en lo que hacía con su vocación de enseñar e investigar. Y a todos quienes colaboraron para la realización de este proyecto, al Dr. Pablo Quiroz, quien impulsó la idea y realizó el nexo con el laboratorio, al Dr. Mauricio Castro quien nos apoyó en los pasos prácticos.

Referencias

- [1] Mendoza FMV, Morales VCC, Arpi CDP, Ortiz JAR. External Root Resorption (ERR) after orthodontic treatment: Review article. *World J Adv Res Rev* 2021;12(3):158–163.
- [2] Pinto DAT, Álvarez Parker MC. Reabsorción radicular externa asociada al tratamiento ortodóncico: revisión de la literatura. *Ustasalud* 2020;19:7–18.
- [3] Karina TI. Review of current medical literature on root resorption in orthodontics. *Braz J Implantol Health Sci* 2021;3(1):18–33.
- [4] Perdomo LPD, Rincón LLC, Ahumada LJE, Rodríguez LAC, Gómez AR, Reales CJF. Evaluación de Factores Biológicos y Ortodóncicos en la Reabsorción Radicular Externa Inducida por Ortodoncia. *Rev Mex Ortod* 2021;9(1):1–8.
- [5] Kurnaz S, Buyukcavus MH. Panoramic evaluation of external root resorption in mandibular molars during orthodontic treatment: a comparison between root-filled and vital teeth treated with fixed appliances or clear aligners. *BMC Oral Health* 2024;24(1):1152.
- [6] Tan JHS, Kasim NA, Wahab RMA, Ariffin SHZ, Yazid F. Orthodontic Induced Inflammatory Root Resorption: The Process Involved and its Management - A Review of Literature. *Sains Malays* 2022;51(10):3371–3381.
- [7] Doğramaci EJ, de Almeida Decurcio D, Chen CJ, Estrella C, Rossi-Fedele G. Accuracy of periapical and panoramic radiography for detection of root morphologies: a comparative study. *Braz Oral Res* 2021;35:e065.
- [8] Sambale J, Bruns PM, Jablonski-Momeni A, Heinzel-Gutenbrunner M, Korbacher-Steiner HM. Prognostic risk factors for apical root resorption in orthodontic patients – Are the Kjær's morphologic characteristics of clinical relevance? *Ann Anat - Anat Anz* 2024;255:152287.
- [9] Herrera VEB, Paredes JLC, de Jesús Vladimir Ramírez Montes JH, Castillo JQ. Reabsorción Radicular después del tratamiento de Ortodoncia. Revisión Bibliográfica. *Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatría* 2020;p. art–47.
- [10] Inchingolo F, Inchingolo AM, Palmieri G, Pede CD, Garofoli G, de Ruvo E, et al. Root Resorption during Orthodontic Treatment with Clear Aligners vs. Fixed Appliances—A Systematic Review. *Appl Sci* 2024;14(2):690.
- [11] Li Y, Deng S, Mei L, Li Z, Zhang X, Yang C, et al. Prevalence and severity of apical root resorption during orthodontic treatment with clear aligners and fixed appliances: a cone beam computed tomography study. *Prog Orthod* 2020;21(1):1.
- [12] Bayir F, Gumus EB. External apical root resorption after orthodontic treatment: Incidence, severity and risk factors. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2021;15(2):100–105.
- [13] Liu Z, Ouyang Y, Lou Y, Han Y, Lu M, Yu M, et al. Orthodontically induced root resorption in endodontically treated and vital teeth: a cone beam computer tomographic study. *Prog Orthod* 2025;26:8.
- [14] Lin J, Zheng Q, Wu Y, Zhou M, Chen J, Wang X, et al. Quantitative analysis and clinical determinants of orthodontically induced root resorption using automated tooth segmentation from CBCT imaging. *BMC Oral Health* 2025;25:694.
- [15] Kothamasu V, Reddy S, Naik S, Naik T, Kuchana A. Root resorption-an overview. *International Dental Journal of Student's Research* 2024;11(3):117–120.
- [16] Futyma-Gąbka K, Różyło-Kalinowska I, Piskórz M, Bis E, Borek W. Evaluation of root resorption in maxillary anterior teeth during orthodontic treatment with a fixed appliance based on panoramic radiographs. *Pol J Radiol* 2022;87:e545–e548.
- [17] Gandhi V, Mehta S, Gauthier M, Mu J, Kuo CL, Nanda R, et al. Comparison of external apical root resorption with clear aligners and pre-adjusted edgewise appliances in non-extraction cases: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Orthod* 2020;43(1):15–24.
- [18] Pineda CMM, del Rocío Rojas Ramírez A, de Jesús JHV, Castillo JQ. Reabsorción radicular asociada al tratamiento de ortodoncia. *Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatría* 2020;p. art–45.
- [19] Toyokawa-Sperandio KC, de Castro Ferreira Conti AC, Fernandes TMF, de Almeida-Pedrin RR, de Almeida MR, Oltramari PVP. External apical root resorption 6 months after initiation of orthodontic treatment: A randomized clinical trial comparing fixed appliances and orthodontic aligners. *Korean J Orthod* 2021;51(5):329–336.
- [20] Amorim BF, Freitas PFJ, Ferraz AX, dos Santos GAE, Garcia MR, Zeigelboim BS, et al. Risk factors associated with orthodontically induced root resorption: experimental study. *Rev Sul-Bras Odontol* 2025;22(1):28–34.

- [21] Michielsens H, Decreus J, Begnoni G, Verdonck A, Jacobs R, Willems G, et al. Performance of the Malmgren Index for Assessing Root Resorption on 2D vs. 3D Radiographs: A Pilot Study. *Healthcare* 2023;11(13):1860.
- [22] Pereira SA, Corte-Real A, Melo A, Magalhães L, Lavado N, Santos JM. Diagnostic Accuracy of Cone Beam Computed Tomography and Periapical Radiography for Detecting Apical Root Resorption in Retention Phase of Orthodontic Patients: A Cross-Sectional Study. *J Clin Med* 2024;13(5):1248.
- [23] Rodrigues LW, Jamenis SC, Agrawal JM, Lodha JK, Lokhande RY, Marawade PV. Unveiling the Hidden Truths of Root Resorption: High-Resolution CBCT as the Gold Standard for Predictive Diagnostics and Risk Management in Orthodontics - An In Vitro Study. *J Chem Health Risks* 2024;14(5):89–98.
- [24] Safi-Eddine Z, Sahim S, Radif G, Khalfi ZE, Quars FE. Diagnosis and Management of Orthodontically Induced Inflammatory Root Resorption: A Review. *Open Access Libr J* 2024;11(10):1–13.
- [25] Yazid F, Teh Y, Ashari A, Ariffin SHZ, Wahab RMA. Detection methods of orthodontically induced inflammatory root resorption (OIIRR): a review. *Australas Orthod J* 2020;36(1):101–107.
- [26] Zain MNM, Yusof ZM, Basri KN, Yazid F, Teh YX, Ashari A, et al. Multivariate versus univariate spectrum analysis of dentine sialophosphoprotein (DSPP) for root resorption prediction: a clinical trial. *BMC Oral Health* 2022;22(1):151.
- [27] Ghaleb S, Tamish N, ElKenany W, Guindi M. The effect of two different types of forces on possible root resorption in relation to dentin phosphoprotein levels: a single-blind, split-mouth, randomized controlled trial. *Prog Orthod* 2021;22(1):44.
- [28] Nasri FAM, Ariffin SHZ, Karsani SA, Wahab RMA. Label-free quantitative proteomic analysis of gingival crevicular fluid to identify potential early markers for root resorption. *BMC Oral Health* 2020;20(1):256.
- [29] Bravo M, Santana P, Rivas H, Díaz P. Estado del arte de inteligencia artificial en ortodoncia. Revisión narrativa. *Av En Odontoestomatol* 2022;38(4):156–163.
- [30] Ossowska A, Kusiak A, Świetlik D. Artificial Intelligence in Dentistry—Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health* 2022;19(6):3449.
- [31] Liu J, Zhang C, Shan Z. Application of Artificial Intelligence in Orthodontics: Current State and Future Perspectives. *Healthcare* 2023;11(20):2760.