



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Mario
García González

Tesis doctoral

Evaluación de diferentes
tecnologías para la
regeneración tisular en
modelos animales

Lugo, 2022



TESIS DE DOCTORADO

**EVALUACIÓN DE DIFERENTES TECNOLOGÍAS
PARA LA REGENERACIÓN TISULAR EN
MODELOS ANIMALES**

Mario García González

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN BÁSICA Y APLICADA EN
CIENCIAS VETERINARIAS



LUGO
2022



DECLARACIÓN DO AUTOR DA TESE

D./Dna. **Mario García González**

Título da tese: **Evaluación de diferentes tecnologías para la regeneración tisular en modelos animales**

Presento a miña tese, seguindo o procedemento axeitado ao Regulamento, e declaro que:

- 1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
- 2) De ser o caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
- 3) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.
- 4) A tese é a versión definitiva presentada para a súa defensa e coincide a versión impresa coa presentada en formato electrónico

E comprométo-me a presentar o Compromiso Documental de Supervisión no caso de que o orixinal non estea na Escola.

Firma electrónica





AUTORIZACIÓN DO TITOR/ DIRECTORES DA TESE

Evaluación de diferentes tecnologías para la regeneración tisular en modelos animales

D. **Fernando María Muñoz Guzón (Director)**

Dna. **Mónica López Peña (Directora)**

D. **Antonio González Cantalapiedra (Tutor)**

INFORMAN:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D. **Mario García González**, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

De acordo co indicado no Regulamento de Estudos de Doutoramento, declara tamén que a presente tese de doutoramento é idónea para ser defendida en base á modalidade de COMPENDIO DE PUBLICACIÓNS, nos que a participación do/a doutorando/a foi decisiva para a súa elaboración e as publicacións se axustan ao Plan de Investigación.



En Lugo, ... de de 2022

Firma electrónica

***Todo parece imposible
hasta que se hace***

Nelson Mandela

AGRADECIMIENTOS

Familia, amigos, mentores, y personas especiales en mi vida.

Este nuevo logro es en gran parte gracias a vosotros. Recuerdo el principio, cuando parecía una tarea titánica e interminable. Un camino lleno de baches. Por ello me gustaría dedicaros mi tesis, personas de bien, seres cargados de amor y cariño.

A Fernando, Mónica y Antonio, mis queridos director, directora y tutor. Enormemente agradecido por la oportunidad que me disteis y por confiar en mí.

Fer, gracias por todo tu cariño, sobre todo en este último año tan complicado, tus buenos consejos siempre en el mejor momento, por toda tu paciencia, por ayudarme a encontrar el camino cada vez que me perdía, pero sobre todo por la confianza que depositaste y depositas cada día en mí.

A Nikola y a todo el Grupo de Investigación de Cirugía Cráneo-Maxilofacial de la Universidad de Berna. Por sus conocimientos y por la cálida acogida en aquella estancia que realicé, que tantos buenos momentos y recuerdos me ha dejado.

A Julia y Pío, del Grupo de Nuevos Materiales FA3 de la Universidad de Vigo. Gracias por todo vuestro apoyo y recursos.

A Silvia y Vicky, mis compañeras de batallas desde el inicio de esta etapa. Está claro que sin vosotras este camino hubiera sido mucho más difícil. Por más congresos, cursos, cenas, cafés para apaciguar esa ira escribiendo artículos o comunicaciones en el último momento, por alegrarme los días.

A Ana, Estrella, Iván y María, por todo vuestro cariño y ayuda, espero que sigamos mucho tiempo juntos, consiguiendo nuevas metas y logros.

A los de Lugo, Aldara, Almu, Ana, Arantza, Ceci, Fran, Natalia, Saskia y Sara, por hacerme el día a día más llevadero, por esos momentos de desconexión dentro y fuera de la Universidad.

A los de toda la vida, Desy, Alfredo, Ángela, Lourdes, María y Raquel, por estar ahí para lo que he necesitado, de la mejor manera en todo momento.

A todo el Departamento de Ciencias Clínicas y al hospital Rof Codina, por haberme facilitado recursos y material siempre que lo he necesitado.

A Felipe y Teresa, de la clínica Veterinaria El Parque, y a las clínicas que participaron en el proyecto Biofast-Vet (CV Miralbueno, Hospital Veterinario Vetpets, Hospital Veterinario Lepanto, CV Fauna, CV Sauces, CV El Parque).

Y por supuesto gracias a mi familia, sin los cuales no tengo la menor duda de que no lo hubiera logrado. Por todo el esfuerzo que hacemos día tras día y por conseguir todo lo que nos proponemos.

A los que ya no están, y a los que habéis aparecido recientemente.

¡GRACIAS!

Por fin puedo gritar alto y claro: ¡LO HEMOS CONSEGUIDO!

La presente tesis de doctorado fue realizada bajo los siguientes proyectos de investigación:

- MODELO INTRAORAL DE DISTRACCIÓN OSTEOGÉNICA PERIÓSTICA. UN ESTUDIO EN PERROS. Este proyecto fue autofinanciado por el grupo de Cirugía experimental (GI-1708; Grupo de Referencia Competitiva GRC 2017/37), del departamento de Anatomía, Producción Animal y Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad de Santiago de Compostela; y por el Departamento de Cirugía Cráneo-Maxilofacial de la Universidad de Berna.
- APLICACIÓN DE BIOAPATITAS DERIVADAS DE DIENTE DE TIBURÓN EN ORTOPEDIA VETERINARIA. Este proyecto fue parcialmente financiado por el programa INTERREG V España-Portugal_POCTEP (0245 IBEROS1E y 0302 CVMARI1P), INTERREG-ATLANTIC AREA (EAPA_151/2016 BLUEHUMAN) y por la Xunta de Galicia (GAIN/IGNICIA BIOFAST-IN855A2016/06, GRC-ED431C 2017_51, ED431D 2017/13, y GRC ED431C 2017/37).

Durante el periodo de tesis de doctorado, el doctorando fue beneficiario de los siguientes contratos de investigación y ayudas de movilidad:

- Contrato de investigación con la Universidad de Vigo en relación con el proyecto de investigación “IBEROS. Instituto de Bioingeniería en Red para el Envejecimiento Saludable; (IBER131H6461011)”.
- Contrato de investigación con cargo al capítulo VI de la Universidad de Santiago de Compostela (Ref: 2016-PI019) en relación con el proyecto de investigación “IBEROS. Instituto de Bioingeniería en Red para el Envejecimiento Saludable”.
- Contrato de investigación con cargo al capítulo VI de la Universidad de Santiago de Compostela (Ref: 2017-PG079) en relación con el proyecto de investigación “Consolidación y estructuración 2017 GRC GI-1708 (Cirugía experimental)”.
- Contrato de investigación con cargo al capítulo VI de la Universidad de Santiago de Compostela (Ref: 2018-CP137) en relación con el proyecto de investigación “*Simplified Contract for Purchase of Services, Rabbit Studies*”.
- Contrato de investigación con IboneLab S.L., empresa base tecnológica y Spinoff de la Universidad de Santiago de Compostela.
- Contrato de investigación con cargo al capítulo VI de la Universidad de Santiago de Compostela (Ref: 2021-PG021) en relación con el proyecto de investigación “Consolidación 2021 GRC GI-1708 – Ciruxía, radioloxía e ecografía experimental veterinaria – Ciruxía Experimental”
- Ayuda para la movilidad internacional de la Agrupación Estratégica BioReDes, convocatoria de octubre de 2019.

Durante la etapa de desarrollo de la presente tesis de doctorado, el aspirante a doctor ha desarrollado las siguientes publicaciones y contribuciones a congresos:

A. ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN INDEXADOS EN JCR:

1. **García-González, M.**, Muñoz Guzón, FM., González-Cantalapiedra, A., González-Fernández, PM., Otero Pérez, R., y Serra Rodríguez, JA. (2020). Application of Shark Teeth-Derived Bioapatites as a Bone Substitute in Veterinary Orthopedics. Preliminary Clinical Trial in Dogs and Cats. *Frontiers in veterinary science*, 7, 831. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.574017>.
2. **García-González, M.**, Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., y Saulacic, N. (2020). Does the Animal Model Influence in Vertical Alveolar Distraction? A Systematic Review of the Literature. *Animals*, 10(12), 2347. <https://doi.org/10.3390/ani10122347>.
3. **García-González, M.**, Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., De Frutos, F., Pereira-Espinel, T., González, P., y Serra, J. (2021). Case Report: First Evidence of a Benign Bone Cyst in an Adult Teckel Dog Treated with Shark Teeth-Derived Bioapatites. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 626992. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.626992>.
4. Fernández-Martin, S., González-Cantalapiedra, A., Permuy, M., **García-González, M.**, López-Pena, M. y Muñoz, F. (2021). Histomorphometric Quantitative Evaluation of Long-Term Risedronate Use in a Knee Osteoarthritis Rabbit Model. *Frontiers in Veterinary Science*. 8: 669815. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.669815>.
5. **García-González, M.**, Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., y Saulacic, N. (2021). Systematic Review and Quality Evaluation Using ARRIVE 2.0 Guidelines on Animal Models Used for Periosteal Distraction Osteogenesis. *Animals*, 11(5), 1233. <https://doi.org/10.3390/ani11051233>.
6. Fernández-Martín, S., González-Cantalapiedra, A., Muñoz, F., **García-González, M.**, Permuy, M., y López-Peña, M. (2021). Glucosamine and Chondroitin Sulfate: Is There Any Scientific Evidence for Their Effectiveness as Disease-Modifying Drugs in Knee Osteoarthritis Preclinical Studies? A Systematic Review from 2000 to 2021. *Animals*. 11 (6):1608. <https://doi.org/10.3390/ani11061608>.
7. Saulacic, N., **García-González, M.**, Muñoz, F., García-García, A., Sadath-Marashi, Z., Rohrer, U., Ferrari SL. (2022). Regeneration of Craniofacial Bone Induced by Periosteal Pumping. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 28(2), 61–72. <https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2022.0001>

B. ARTÍCULOS DE DIVULGACIÓN:

1. **García-González, M.**, Chapel, JM y Castillo, C. (2019) ¿Qué necesita comer un cobaya? *ATEUVES*, 82: 12-14.
2. **García-González, M.**, Castillo, C. y Chapel, JM. (2020). Situación actual de la cobaya como mascota en España. *Consulta de Difusión Veterinaria*, 269: 27-29

C. PUBLICACIONES DOCENTES:

1. Castillo, C., **García-González, M.**, García-Pardo, B., Benedito, JL y Hernández, J. (2019). El Laboratorio de Habilidades Clínicas (LHABIC) en Propedéutica Clínica. Un proyecto que pasó a ser realidad. *VetDoc, Revista de Docencia Veterinaria*, 3: 71-72.
2. Castillo, C., **García-González, M.**, García-Pardo B., Benedito JL y Hernández J. (2019). Un mismo hecho, dos visiones diferentes: la comunicación clínico-cliente. *VetDoc, Revista de Docencia Veterinaria*, 3: 89-90.

D. CONTRIBUCIONES A CONGRESOS:

1. **García González, M.** (2018). Un nuevo modelo de distractor óseo alveolar para pérdidas de hueso oral en personas de edad avanzada. Estudio experimental en el perro Beagle. **V Jornada Científica de IBEROS**. 20/11/2018. Vigo (España). Oral.
2. **García González, M.**, López Beceiro, AM., Muñoz Guzón, FM., Fernández Martín, S., Valiño Cultelli, V, González Cantalapiedra A. (2019). Modelo sintético de baja fidelidad para la práctica de una traqueostomía en perros. **XXIV Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria**. 7-9/2/2019. Córdoba (España). Oral.
3. Fernández Martín, S., López Peña, M., Muñoz Guzón, FM., Valiño Cultelli, V., Permuy Mendaña, M., **García González, M.**, González Cantalapiedra, A. (2019). Evaluación histológica del uso de Condrotectores. ¿Realmente funcionan? **XXIV Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria**. 7-9/2/2019. Córdoba (España). Oral.
4. Valiño Cultelli, V., **García González, M.**, Fernández Martín, S., Varela López, O., González Cantalapiedra, A. (2019). Novedad en TTA. Estudio preliminar con un implante de ácido poliláctico. **XXIV Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria**. 7-9/2/2019. Córdoba (España). Oral.
5. **García González, M.**, Fernández Martín, S., Muñoz Guzón, FM., Valiño Cultelli, V., González Cantalapiedra, A. (2019). Manejo anestésico y analgésico en un caso de confluencia de ovarios poliquísticos y endometritis en una cobaya (*Cavia porcellus*).

XV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Anestesia y Analgesia Veterinaria. 23-24/4/2019. Toledo (España). Póster.

6. Fernández Martín, S., Varela López, Ó., Valiño Cultelli, V., López García, M., **García González, M.**, González Cantalapiedra, A. (2019). Bloqueo epidural lumbosacro continuo para manejo de una rehabilitación dolorosa en una contractura del cuádriceps en un perro adulto. **XV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Anestesia y Analgesia Veterinaria.** 23-24/4/2019. Toledo (España). Póster.
7. Valiño Cultelli, V., Fernández Martín, S., López García, M., **García González, M.**, González Cantalapiedra, A. (2019). Conducto arterioso persistente y bradicardia asociada al reflejo de Branham. ¿Es necesaria la utilización de atropina? Estudio retrospectivo en pacientes caninos. **XV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Anestesia y Analgesia Veterinaria.** 23-24/4/2019. Toledo (España). Póster.
8. **García González, M.**, Muñoz Guzón, FM., Valiño Cultelli, V., Fernández Martín, S., González Cantalapiedra, A., Saulacic, N. (2019). Un nuevo diseño de distractor óseo para pérdidas de hueso oral. Estudio experimental preclínico en el perro Beagle. **VII Encontro de Mocidade Investigadora en Ciencias da Saúde.** 27-29/4/2019. Santiago de Compostela (España). Oral.
9. Valiño Cultelli, V., Fernández Martín, S., **García González, M.**, Varela López, O., González Cantalapiedra, A., (2019). Un implante de ácido poliláctico; experiencia en medicina veterinaria. **VII Encontro de Mocidade Investigadora en Ciencias da Saúde.** 27-29/4/2019. Santiago de Compostela (España). Oral.
10. Fernández Martín, S., López Peña, M., Muñoz Guzón, FM., Valiño Cultelli, V., **García González, M.**, González Cantalapiedra, A. (2019). Estudio histopatológico del uso de condroprotectores en un modelo animal de artrosis. ¿Realmente funcionan? **VII Encontro de Mocidade Investigadora en Ciencias da Saúde.** 27-29/4/2019. Santiago de Compostela (España). Oral.
11. **García González, M.**, Muñoz Guzón, FM., González Cantalapiedra, A., Saulacic, N. (2019). Nuevo distractor óseo alveolar para regeneración ósea en pérdidas de hueso oral. Estudio experimental preclínico en el perro Beagle. **I Congreso da Mocidade investigadora en Producción Sostible e Calidade e Seguridade Alimentaria.** 28-29/11/2019. Lugo (España). Oral.
12. Fernández Martín, S., López Peña, M., Muñoz Guzón, FM., Valiño Cultelli, V., **García González, M.**, Permuy Mendaña, M., González Cantalapiedra, A. (2019). ¿Son los condroprotectores eficaces en el tratamiento de a artrosis? **I Congreso da Mocidade investigadora en Producción Sostible e Calidade e Seguridade Alimentaria.** 28-29/11/2019. Lugo (España). Oral.

13. Valiño Cultelli, V., Fernández Martín, S., **García González, M.**, Varela López, O., González Cantalapiedra, A., (2019). Nuestra experiencia clínica con un implante de ácido poliláctico en perros. **I Congreso da Mocidade investigadora en Producción Sostible e Calidade e Seguridade Alimentaria**. 28-29/11/2019. Lugo (España). Oral.
14. **García González, M.** (2019). Novo modelo de distracción perióstica para perdas de óso oral. Estudo experimental preclínico no can Beagle. **IV Xornada DivulgaTerra de Divulgación Científica**. 7, 14, 21/11/2019. Lugo (España). Póster.
15. Fernández Martín, S., Valiño Cultelli, V., Varela López, O., **García González, M.**, González Cantalapiedra, A. (2019). Cambios ventilatorios y hemodinámicos en perras sometidas a ovariectomía por laparoscopia vs. Ovariectomía convencional. **Congreso Nacional de AVEPA (Asociación de Veterinarios de Pequeños Animales)**. 7-9/11-2019. Sevilla (España). Póster.
16. Valiño Cultelli, V., Fernández Martín, S., **García González, M.**, González Cantalapiedra, A. (2019). Avance de la tuberosidad tibial con un implante de ácido poliláctico, células madre del tejido adiposo y plasma rico en plaquetas para estimular la regeneración ósea temprana en un perro. **Congreso de AVEPA (Asociación de Veterinarios de Pequeños Animales)**. 7-9/11-2019. Sevilla (España). Póster.
17. Fernández Martín, S., Valiño Cultelli, V., **García González, M.**, Varela López, O., González Cantalapiedra, A. (2020). Ovariectomía laparoscópica vs. Convencional. ¿Se producen cambios metabólicos reseñables? **XXV Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria**. 30/1-1/2/2020. Lugo (España). Oral
18. **García González, M.**, de Frutos Pachón, F., Pereira-Espinel Plata, TE., Muñoz Guzón, FM., López Peña, M., González Fernández, PM., Serra Rodríguez, JA., González Cantalapiedra, A. (2020). Relleno óseo de origen marino para reforzar la regeneración ósea en un quiste óseo benigno. **XXV Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria**. 30/1-1/2/2020. Lugo (España). Oral
19. Valiño Cultelli, V., Fernández Martín, S., Varela López, O., **García González, M.**, González Cantalapiedra, A. (2020). Un tratamiento prometedor para la regeneración ósea: células madre del tejido adiposo y plasma rico en plaquetas. **XXV Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria**. 30/1-1/2/2020. Lugo (España). Oral
20. Rodríguez Cascón, MA., Fernández Martín, S., **García González, M.**, Marín Ramos, B., Seoane Mojón, A., Vila Pastor, M., Barreiro Vázquez, JD., González Cantalapiedra, A. (2020). Caso clínico: omentalización de un absceso hepático. **XXV Congreso Internacional de la Sociedad Española de Cirugía Veterinaria**. 30/1-1/2/2020. Lugo (España). Oral.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VII
RESUMEN	IX
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
1. EL TEJIDO ÓSEO	5
2. COMPOSICIÓN MICROSCÓPICA DE LOS HUESOS	5
2.1. Composición celular del hueso	5
2.2. Matriz ósea	7
2.2.1. Matriz ósea orgánica	7
2.2.2. Matriz ósea inorgánica	8
3. COMPOSICIÓN MACROSCÓPICA DEL TEJIDO ÓSEO	11
3.1. Hueso cortical o compacto	11
3.2. Hueso trabecular o esponjoso	12
3.3. Periostio	12
4. FORMACIÓN DEL HUESO	13
4.1. Modelado óseo	13
4.1.1. Osificación endocondral	13
4.1.2. Osificación endomembranosa	14
4.2. Remodelado óseo	14
4.2.1. Fases del remodelado óseo	14
4.2.1.1. Fase de activación	14
4.2.1.2. Fase de resorción	15

4.2.1.3.Fase de reversión	16
4.2.1.4.Fase de formación	16
4.2.1.5.Fase de mineralización	16
4.2.1.6.Fase de reposo o quiescente	16
4.2.2. Factores reguladores del remodelado óseo	17
4.3. Envejecimiento óseo	23
5. ROPIEDADES MECÁNICAS DEL HUESO	23
6. INGENIERÍA TISULAR ORTOPÉDICA Y REGENERACIÓN ÓSEA	24
6.1. Requisitos de los materiales para regeneración ósea	26
6.2. Técnicas de regeneración ósea	30
6.3. Reparación de fracturas o defectos en la práctica clínica	
7. DISTRACCIÓN OSTEOGÉNICA	30
7.1. Concepto y bases clínicas	30
7.2. Biología de la distracción osteogénica	32
7.3. Ventajas e inconvenientes	33
7.4. Distracción osteogénica alveolar	35
7.4.1. Anatomía dentaria del perro	35
7.4.2. El hueso alveolar	37
7.4.2.1. Componentes del hueso alveolar	38
7.4.2.2. Anatomía macroscópica alveolar	38
7.4.2.3. Histología del hueso alveolar	39
7.4.2.4. Funciones del hueso alveolar	40
7.4.2.5. Modelado y remodelado alveolar	41
7.4.3. Distracción osteogénica alveolar vertical y horizontal	41
7.5. Distracción perióstica	41
8. RELLENOS ÓSEOS	43
8.1. Contextualización	43
8.2. <i>Biofast-Vet</i> : un relleno óseo de origen marino	45
OBJETIVOS	47
MATERIAL Y MÉTODOS	51
A. ¿Influye el modelo animal en los estudios de distracción osteogénica alveolar vertical? Revisión sistemática de la literatura	53
B. Revisión sistemática y evaluación de la calidad utilizando las guías ARRIVE 2.0 en modelos animales utilizados para estudios de osteogénesis por distracción perióstica	54

C. Regeneración del hueso craneofacial inducida por el bombeo del periostio	56
D. Aplicación de bioapatitas derivadas de dientes de tiburón como sustituto óseo en ortopedia veterinaria. Ensayo clínico preliminar en perros y gatos	61
RESULTADOS	65
✓ <i>Artículo 1. Does the Animal Model Influence in Vertical Alveolar Distraction? A Systematic Review of the Literature</i>	69
✓ <i>Artículo 2. Systematic Review and Quality Evaluation Using ARRIVE 2.0 Guidelines on Animal Models Used for Periosteal Distraction Osteogenesis</i>	85
✓ <i>Artículo 3. Regeneration of Craniofacial Bone Induced by Periosteal Pumping</i>	105
✓ <i>Artículo 4. Application of Shark Teeth–Derived Bioapatites as a Bone Substitute in Veterinary Orthopedics. Preliminary Clinical Trial in Dogs and Cats</i>	119
✓ <i>Artículo 5. Case Report: First Evidence of a Benign Bone Cyst in an Adult Teckel Dog Treated with Shark Teeth-Derived Bioapatites</i>	135
DISCUSIÓN GENERAL	143
CONCLUSIONES	159
BIBLIOGRAFÍA	163
ANEXOS	191
I. Material Suplementario artículo 1	195
II. Material suplementario artículo 2	199
III. Material suplementario artículo 3	202
IV. Material suplementario artículo 4	203
V. Material suplementario artículo 5	205

ABREVIATURAS

ALP: Fosfatasa alcalina

ARRIVE: *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*

BM: Médula ósea

BMA: Área de médula ósea

BMSC: Células madre mesenquimales de la médula ósea

BMP: Proteínas morfogénicas óseas

BSP: Sialoproteína ósea

BSU: Unidades estructurales elementales

BV: *Biofast-Vet*

BV/TV: Fracción volumétrica ósea

C: Canino

Cbfa-1: factor de unión central $\alpha 1$

Ca: Calcio

CaP: Fosfato cálcico

Cl: Cloro

Col: Colágeno

CTA: Área de tejido conectivo

BMD: Densidad mineral ósea.

DO: Distracción osteogénica

DP: Distracción perióstica

EPCs: Células progenitoras endoteliales

ECFC: Células formadoras de colonias endoteliales

EGF: Factor de crecimiento epidérmico

F: Flúor

FCVE: Factor de crecimiento vascular endotelial

FGF: factor de crecimiento fibroblástico

GH: Hormona del crecimiento

GPa: Promedio de calificaciones

H&E: Hematoxilina y eosina

HA: Hidroxiapatita

HAOD: Distracción osteogénica alveolar horizontal

I: Incisivo

FGF: Factor de crecimiento de fibroblastos

GBR: Regeneración ósea guiada

GM-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos

IGF I y II: factor de crecimiento insulínico I y II

IL: Interleuquina / Interleucina

K: Potasio

Kg: Kilogramo

M-CSF: Factor estimulante de colonias de macrófagos

M: Molar

MPa: Megapascal

MSC: Célula madre mesenquimatosa

Mm: Milímetro

mTOR: Diana de rapamicina en células de mamífero

Na: Sodio

NBA: Área de hueso nuevo

NBV: Volumen de hueso nuevo

NC: *negative control group*



NF- κ B: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

OCN: Osteocalcina

OPG: Osteoprotegerina

OPN: Osteopontina

P: Fósforo

PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas

PDO: *Periosteal distraction group (positive control group)*

PM: Premolar

PP: *Pumping group*

PPDO: *Pumping-distraction group*

PRP: Plasma rico en plaquetas

PTH: Parathormona

RANKL: Ligando de receptor activador para el factor nuclear κ

ROI: Región de interés

RunX2: Factor de transcripción X2

SNA: Sistema nervioso autónomo

Tb.Th: Grosor trabecular

TC: Tomografía computarizada

TCFD: Tejido conjuntivo fibroso denso

TCFL: Tejido conjuntivo fibroso laxo

TCP: Fosfato tricálcico

TGF: Factor de crecimiento transformante

TID: Tabique interdental

TIR: Tabique interradicular

TNF: Factor de necrosis tumoral

VAOD: Distracción osteogénica alveolar vertical

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

VOI: Volumen de interés

WOS: *Web of Science*

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Representación esquemática de las células óseas	6
Figura 2.	Histología del extremo proximal de un húmero descalcificado de un lactante	9
Figura 3.	Microarquitectura ósea de un bloque de hueso compacto	11
Figura 4.	Modelado óseo (osificación endocondral y endomembranosa)	13
Figura 5.	Ciclo del remodelado óseo	15
Figura 6.	Proceso de distracción osteogénica en un hueso largo	31
Figura 7.	Anatomía dentaria de un perro con erupción permanente	36
Figura 8.	Partes de una pieza dental	37
Figura 9.	Hueso alveolar	39
Figura 10	Mecanismo de distracción perióstica	42
Figura 11.	Dispositivo de distracción perióstico hecho a medida	57
Figura 12	Vista intraoperatoria del área quirúrgica tras la elevación del colgajo	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Tipos de colágeno y distribución en el organismo	8
Tabla 2.	Factores y proteínas que regulan el metabolismo celular óseo	10
Tabla 3	Clasificación de los factores locales de remodelado óseo de acuerdo con su acción en el metabolismo óseo	22
Tabla 4.	Propiedades mecánicas del hueso	23
Tabla 5.	Tipos de células utilizadas en ingeniería del tejido óseo	27
Tabla 6.	Comparación de los tipos de tecnologías de crecimiento disponibles en bioingeniería ósea	28
Tabla 7.	Principales complicaciones derivadas de la práctica de distracción ósea, prevención y tratamiento	34
Tabla 8.	Sistema de puntuación de recuperación funcional para la evaluación de pacientes	63

RESUMEN

Un biomaterial es todo aquel material destinado a estar en contacto con un sistema biológico y cuyo objetivo es tratar, aumentar o sustituir un tejido, órgano o función de un organismo. En regeneración ósea, el autoinjerto sigue siendo el *gold standard* para promover la curación de los defectos óseos. Pese a ello, presenta algunas desventajas como la morbilidad del sitio donante, aumento de la tasa de infección, disponibilidad limitada, dolor o complicaciones postoperatorias, osteonecrosis y reabsorción ósea. Es por ello que los biomateriales sintéticos son utilizados cada vez con más frecuencia en cirugía ortopédica, dental y maxilofacial.

El objetivo general del presente estudio es evaluar la efectividad de dos tecnologías de regeneración ósea en defectos óseos mandibulares y apendiculares en modelos animales. Para ello, se ha llevado a cabo una revisión exhaustiva y sistemática de la literatura con el fin de conocer los modelos animales más utilizados en estudios de regeneración ósea mediante el empleo de osteogénesis por distracción alveolar vertical y perióstica. Posteriormente se exponen los resultados de un estudio preclínico en el que se ha evaluado la eficacia de un distractor osteogénico perióstico, poniendo a prueba un nuevo protocolo de activación basado en el bombeo del periostio. Se emplearon como modelo biológico 8 perros de raza Beagle. Finalmente se realizó un ensayo clínico preliminar en el que se ha evaluado la aplicación de bioapatitas marinas derivadas de dientes de tiburón como sustituto óseo en defectos óseos apendiculares en perros y gatos.

En los estudios analizados, se ha encontrado que el modelo animal más recomendable para ensayos de osteogénesis por distracción alveolar vertical y con menores complicaciones es el perro *mongrel*. A su vez, en estudios de osteogénesis por distracción perióstica, se ha encontrado que el modelo ideal, tanto para estudios en mandíbula como en el hueso calvario, es el conejo. Dada la escasez de estudios, el perro como modelo animal en osteogénesis por distracción perióstica merece ser evaluado más detalladamente. En ambas técnicas, debido a las tasas de complicaciones y dificultades de manejo e higiene, no se recomienda emplear cerdos como modelos animales.

El hueso mandibular tiene potencial de regeneración endógena inducida por distracción perióstica. Tanto el bombeo-distracción (PPDO) como la distracción ósea sin bombeo (PDO) indujeron significativamente más hueso nuevo que los grupos de sólo bombeo (PP) y control negativo (NC). El análisis histológico indicó una mayor formación de hueso en el grupo PPDO que en PDO, pero la significación entre estos dos sólo se alcanzó para el área de tejido conectivo (CTA). El impacto de alternar el protocolo se comprobó además por la mayor área de hueso nuevo (NBA) para el grupo PP que para el grupo NC.

Por último, se ha demostrado que el uso de bioapatitas globulares de origen marino redujo los tiempos de consolidación en 18 casos de artrodesis y fracturas en perros. Fruto de este trabajo se presentó la primera evidencia de un quiste óseo benigno en una perra *teckel* adulta, en cuyo tratamiento se utilizaron de forma eficaz bioapatitas marinas.

INTRODUCCIÓN

JUSTIFICACIÓN

Como biomaterial entendemos todo aquel material destinado a estar en contacto con un sistema biológico con el objetivo de tratar, aumentar o sustituir un tejido, órgano o función de un organismo. Los biomateriales son muy utilizados en cirugía ortopédica, dental y maxilofacial. Entre sus principales aplicaciones destacan la reconstrucción de cavidades óseas, malformaciones o atrofas óseas, además de promover la regeneración ósea en lesiones o daños tisulares traumáticos (López-Álvarez *et ál.*, 2017). En cirugía dental y maxilofacial, los biomateriales se utilizan para regeneración periodontal y elevación del seno maxilar, reparación de defectos después de la extracción de piezas dentales y/o en casos de colocación de implantes (Mastrogiacomo *et ál.*, 2005; Jensen *et ál.*, 2010; Campos *et ál.*, 2018).

El método más utilizado sigue siendo el autoinjerto de hueso esponjoso fresco para promover la curación de defectos óseos (Pinto *et ál.*, 2016). Los injertos alogénicos (cadavéricos) y los injertos óseos bovinos desproteinizados (xenoinjertos) también se utilizan por su mayor osteoconducción (Chazono *et ál.*, 2004). Sin embargo, se han observado complicaciones importantes como la baja tasa de fusión ósea, así como el riesgo de transmisión de enfermedades (Artzi *et ál.*, 2004). En el caso del autoinjerto, pueden aparecer ciertas complicaciones como la morbilidad del sitio donante, el aumento de la tasa de infección, una disponibilidad limitada y complicaciones quirúrgicas debidas al dolor, trauma, osteonecrosis y reabsorción ósea (Zhao *et ál.*, 2016).

En los últimos años, dentro del campo de la cirugía cráneo maxilofacial ha surgido una nueva técnica de regeneración ósea, denominada osteogénesis por distracción perióstica (DP) de la que se han realizado varios estudios preclínicos (Nakahara *et al.*, 2016; Saulacic *et al.*, 2016). Sin embargo, aún no se ha llegado a un consenso sobre el protocolo ideal para realizar la intervención, ya que existe una gran diversidad de variables, como los modelos animales utilizados, dispositivos, localizaciones anatómicas ideales o variaciones en la técnica quirúrgica (período de latencia, frecuencia en la activación del dispositivo y período de consolidación) (García *et ál.*, 2018; García-González *et ál.*, 2021).

Estas evidencias justifican los continuos esfuerzos de la comunidad científica para desarrollar biomateriales capaces de abolir los problemas presentes. El presente trabajo plantea

el estudio de la efectividad de dos dispositivos utilizados para la regeneración ósea: un distractor alveolar perióstico y un xenoinjerto óseo de origen marino.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. EL TEJIDO ÓSEO

El tejido óseo es un tipo de tejido conectivo especializado, rígido e inflexible, que constituye, junto con el cartílago, el sistema esquelético. Se caracteriza por tener una matriz extracelular mineralizada, estar altamente vascularizado y presentar gran actividad metabólica. Las tres principales funciones que desarrolla son (Iturriaga *et ál.*, 2015; Azar *et ál.*, 2020):

- ✓ Función protectora. Es el tejido que protege los órganos vitales y la médula ósea.
- ✓ Función mecánica. Actúa como soporte y lugar de inserción de los músculos.
- ✓ Función metabólica. Participa en la homeostasis al ejercer de reservorio de iones importantes, como el fósforo y el calcio.

2. COMPOSICIÓN MICROSCÓPICA DEL TEJIDO ÓSEO

El tejido óseo está compuesto microscópicamente por dos elementos fundamentales (Shrivats *et ál.*, 2013):

- ✓ Componente celular.
- ✓ Matriz ósea.
 - ✓ Fracción orgánica. Supone el 30% del peso seco del hueso.
 - ✓ Fracción inorgánica o mineral.

2.1 Composición celular del hueso

A diferencia de otros tejidos, el tejido óseo es capaz de regenerarse y restablecer la continuidad de una zona dañada sin dejar evidencia de una cicatriz fibrosa. Además, está siendo continuamente reestructurado por las células que lo conforman para satisfacer correctamente las funciones específicas de soporte si fuera necesario. Las células que lo componen (**Figura 1**) son los osteocitos, osteoblastos, osteoclastos y células de revestimiento (Szpalski *et ál.*, 2012; Shrivats *et ál.*, 2013).

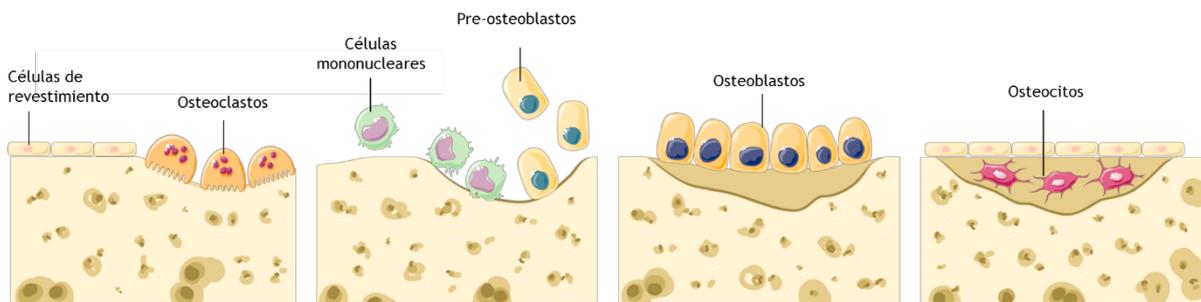


Figura 1. Representación esquemática de las células óseas (Adaptado de Servier Medical Art, con permiso de reproducción mediante licencia Creative Commons Attribution 3.0).

- **Osteoblastos.** Son las células responsables de las síntesis de componentes de la matriz ósea y de los distintos factores autocrinos y paracrinos. Se encuentran en las superficies óseas (periostio y endostio) y también en las áreas de crecimiento, remodelación o desarrollo óseo. Derivan de células progenitoras de origen mesenquimal (MSC), que además también pueden dar lugar a mioblastos, fibroblastos, condrocitos y adipocitos. Morfológicamente destacan por ser células grandes, redondeadas o poligonales, tienen citoplasma basófilo y son células ricas en una lisozima específica de la fosfatasa alcalina. Cuando cesa la neoformación ósea, los osteoblastos quedan englobados en la matriz osteoide, convirtiéndose en osteocitos con forma estrellada. También pueden permanecer en las superficies óseas al finalizar la síntesis de matriz, adquiriendo una forma aplanada, pasando a ser osteoblastos inactivos o células de revestimiento, las cuales, a través de factores locales, parecen desarrollar un papel vital en el control del remodelado óseo. No todos los osteoblastos llegan a diferenciarse en osteocitos, solo el 10-20% (Wojciech y Ross, 2020).
- **Osteocitos.** Se trata de las células principales del hueso una vez formado. Se albergan en las lagunas localizadas en la matriz ósea calcificada. Se caracterizan por ser fusiformes y estar en contacto entre sí y con células superficiales (células de revestimiento y osteoblastos) gracias a prolongaciones delgadas y tubulares de su citoplasma que recorren la matriz ósea en diferentes direcciones. Gracias a estas uniones se produce el paso directo de iones inorgánicos y moléculas hidrosolubles pequeñas (azúcares, nucleótidos, aminoácidos y vitaminas) de una célula a otra, haciendo posible la comunicación eléctrica y química. Presentan un papel muy importante en la preservación de la matriz ósea y en la regulación del modelado óseo en respuesta a las señales mecánicas (Shrivats *et ál.*, 2013).
- **Osteoclastos.** Se trata de células que se encargan de la reabsorción ósea. Son células redondeadas, móviles y multinucleadas (hasta 20 núcleos) y con citoplasma acidófilo. No poseen capacidad de división debido a su gran especialización. Los osteoclastos derivan de células pluripotentes de la médula ósea, precursoras hematopoyéticas que también dan lugar a macrófagos y monocitos. Las principales características que diferencian a los

osteoclastos de los macrófagos son la síntesis de fosfatasa ácida, la capacidad de reabsorción ósea y la expresión de marcadores superficiales celulares (por ejemplo: receptor de la calcitonina) (Shrivats *et ál.*, 2013).

- **Células del ribete, de revestimiento o del periostio.** Su función es revestir las superficies óseas en la fase de reposo y comunicar la superficie con los osteocitos y el microambiente. Morfológicamente son células aplanadas (Shrivats *et ál.*, 2013; Wojciech y Ross, 2020). Las células de revestimiento óseo se sitúan en las superficies externas de los huesos, siendo parte del periostio, por lo que también se les denomina células del periostio. A su vez, las células de revestimiento situadas en las superficies internas normalmente se denominan células del endostio (Ross y Pawlina, 2007).

A excepción de los osteoclastos, el resto de las células se originan de las MSC, las cuales se diferencian en células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos y, por último, células de revestimiento (Ross y Pawlina, 2007).

2.2 Matriz ósea

A nivel microscópico o histológico, el hueso es una estructura compleja (**Figuras 2 y 3**). Sus células se albergan en una matriz ósea. Esta matriz a su vez se compone de una fracción orgánica y una fracción inorgánica. Dependiendo del hueso, las proporciones de las fracciones pueden variar. El conjunto de ambas fracciones dota al hueso de sus propiedades mecánicas de elasticidad y dureza en una estructura relativamente ligera (Ross y Pawlina, 2007).

2.2.1. Matriz orgánica

Esta fracción constituye el alrededor de un 30% del peso seco del hueso. A su vez está compuesta de un 90-95% de fibras de colágeno y un 5-10% de otras proteínas no colagénicas. El colágeno es la proteína mayoritaria en el organismo. Las fibras de colágeno están compuestas de subunidades denominadas tropocolágeno (1,5 nm de diámetro y 300 nm de longitud). Estas a su vez están formadas por tres hélices levógiras de polipéptidos. El tropocolágeno se ensambla de acuerdo con un patrón estructurado en el interior de la matriz orgánica y regula los sitios de nucleación de la fase mineral del hueso (Ross y Pawlina, 2007).

Se conocen 26 tipos de colágeno, que se han agrupado en siete familias dependiendo de su estructura, tipo de enlace y localización en el organismo (**Tabla 1**) (Avila-Rodríguez *et ál.*, 2018).

Las proteínas no colagénicas representan un papel muy importante en la remodelación ósea y osteogénesis. Entre ellas se incluyen: citoquinas, osteonectina, osteopontina, factores de

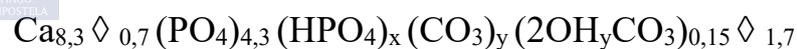
crecimiento, osteocalcina, sialoproteína, ácido hialurónico, trombospondina, proteoglicanos, fosfolípidos y fosfoproteínas (Olszta *et ál.*, 2007). Sus principales funciones se definen en la **Tabla 2**.

Tabla 1. Tipos de colágeno y distribución en el organismo (Avila-Rodríguez *et ál.*, 2018)

Familia	Tipo	Distribución en el organismo
Formador de fibrillas	I	Tendón, ligamentos, hueso y cornea
	II	Cartílago, humor vítreo
	III	Tejidos fetales, piel, sangre, vasos sanguíneos, pulmones, útero, intestino, tendones, cicatrices recientes
	V	Mayoría de los tejidos, componente secundario asociado a colágeno de tipo I
	XI	Cartílago
Membrana basal	IV	Todas las membranas basales
Microfibrilar	VI	Mayoría de tejidos, incluyendo cartílago
Anclaje	VII	Debajo de las membranas basales en la dermis y en la vejiga
Colágenos asociados a fibrillas con hélices triples interrumpidas (FACIT)	IX	Sobre la superficie de las fibrillas de colágeno de tipo II en el cartílago
	XII	Sobre la superficie de las fibrillas de colágeno tipo I
	XIV	Igual que el tipo XII
	XIX	En la membrana basal
	XX	Piel de embrión, tendón, epitelio corneal y superficie del cartílago
Transmembrana	XXI	Superficie interna de los vasos sanguíneos
	XIII	Colágeno minoritario en la piel, intestino
	XVII	Hemidesmosomas de la piel
Multiplexinas	XV	Capilares, testículos, riñón, corazón
	XVI	Dermis, riñón
	XVIII	Hígado, riñón, musculo esquelético

2.2.2. Matriz inorgánica

También denominada fracción mineral u osteoide, está formada principalmente por cristales de hidroxiapatita (HA) pobre en calcio carbonatado que se integran en la matriz de fibras de colágeno del hueso. Estos cristales tienen forma de placa y su tamaño varía entre 30-50 nm de longitud por 15-30 nm de ancho y su espesor es de 3-5 nm (Olszta *et ál.*, 2007; Currey, 2008). La composición química aproximada de la apatita es la siguiente (Elliott, 1994):



$X + Y = 1,7$ y \diamond representa una vacante, que variará dependiendo del tipo de apatita. Al tener una composición no estequiométrica, se pueden incorporar en las vacantes iones de K^+ , Na^+ , F ,

Mg^{2+} o Cl^- . La composición de la apatita puede variar de un tejido calcificado a otro y según la edad. El pequeño tamaño de los cristales y/o la no estequiometría aporta la solubilidad necesaria para su reabsorción por parte de los osteoclastos, en comparación con las hidroxiapatitas estequiométricas cuya reabsorción en condiciones fisiológicas es muy lenta (Elliott, 1994).

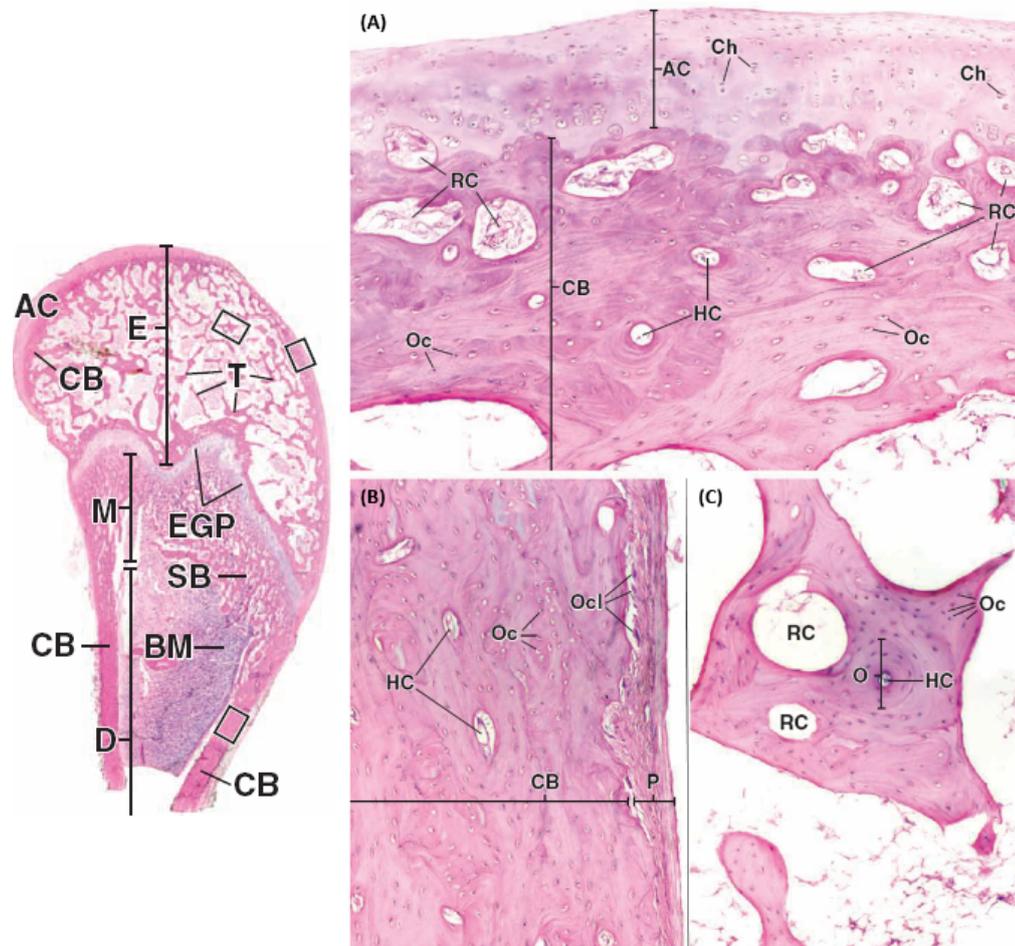


Figura 2. Histología del extremo proximal de un húmero descalcificado de un lactante. El interior de la cabeza del hueso, la epífisis (E), se compone de tejido óseo esponjoso (trabecular), compuesto por una red anastomosada de cordones (T) en forma de espículas óseas. Externamente consta de una capa densa de tejido óseo denominado hueso compacto (CB). Su espesor varía en diferentes partes del hueso. La porción más amplia del hueso adyacente al disco epifisario (EGP), conocida como metáfisis (M) contiene hueso esponjoso (SB). El cuerpo de este hueso, la diáfisis (D), también se compone de hueso compacto (CB) y la cavidad está llena de médula ósea (BM), que en esta etapa de la vida se compone de tejido hematopoyético activo. El tejido cartilaginoso también es un componente del hueso y se encuentra como cartilago articular (AC) y como un disco epifisario (EGP) de los huesos en crecimiento. Tinción H&E.

Los rectángulos denotan las áreas magnificadas: (A) Superficie articular de un hueso largo, 178X. (B) Hueso compacto de un hueso largo, 135X. (C) Hueso esponjoso de un hueso largo, 135X. Tinción H&E.

AC, cartilago articular. BM, médula ósea. CB, hueso compacto. Ch, condrocitos. D, diáfisis. E, epífisis. EGP, disco epifisario. HC, conducto de Havers. M, metáfisis. O, osteonas. Ocl, osteoclastos. P, periostio. RC, conducto de resorción. SB, hueso esponjoso. T, cordones. Con licencia Copyright Clearance Center para su reproducción exclusiva en este documento (Ross y Pawlina, 2020).

Las propiedades biomecánicas son responsabilidad de la matriz ósea. Las fibras colágenas le aportan resistencia y flexibilidad a la tensión, mientras que las sales minerales aportan dureza,

resistencia a la compresión y rigidez. Por ello, si el hueso se descalcifica conserva su forma original, siendo tan flexible que se podría doblar como una porción de caucho. Si eliminamos el componente orgánico, el esqueleto mineralizado conservará su forma original y cierta resistencia mecánica a la compresión, pero se volverá más frágil, pudiéndose fracturar con cierta facilidad (Boskey, 1997; Boskey y Robey, 2013; Mescher, 2021).

Tabla 2. Factores y proteínas que regulan el metabolismo celular óseo
(Cowin, 2001; Boskey y Robey, 2013)

Proteína / Factor	Función
Osteopontina	Unión celular Regulación de la mineralización
Sialoproteína	Unión celular Iniciación de la mineralización
Osteonectina	Unión al Ca Interacción fase mineral-colágeno Regulación de la forma de la célula Regulación de la migración celular
Tetranectina	Regulación de la deposición mineral
Trombospondina	Modulación del metabolismo celular Unión al colágeno
Osteocalcina	Regulación de la maduración mineral
Fibromodulina	Interactúa con el colágeno tipo I y II Unión a factores de crecimiento
Osteoglicanos	Unión a TGF- β
Osteocalcina	Regulación de la maduración mineral
Trombomodulina	Interactúa con el colágeno tipo I y II Unión a factores de crecimiento
Fibrilina	Anclaje de fibras de elastina
Fibronectina	Interacción matriz-célula
Tenactina	Diferenciación temprana de la mesénquima
Prostaglandina	Reabsorción
TGF α y β	Diferenciación y síntesis de proteínas
BMP 2-7	Diferenciación y maduración
Calcitonina	Formación y reabsorción
Vitamina A	Diferenciación
Vitamina D	Diferenciación, reabsorción y síntesis de proteínas
Albúmina	Transporte de proteínas Inhibición del crecimiento de la apatita

3. COMPOSICIÓN MACROSCÓPICA DEL TEJIDO ÓSEO

Como ya se ha visto, el hueso se compone de una fracción mineral, una fracción orgánica y agua, en proporciones variables de un hueso a otro. Al seccionar un hueso y examinarlo se pueden diferenciar dos tipos de tejidos distintos. Uno con textura densa, denominado hueso cortical o compacto, recubierto por el periostio. El otro tejido consiste en fibras delgadas y laminillas que se unen formando una estructura reticulada, la cual se puede denominar hueso esponjoso o trabecular (**Figura 3**) (Bilezikian *et ál.*, 2018).

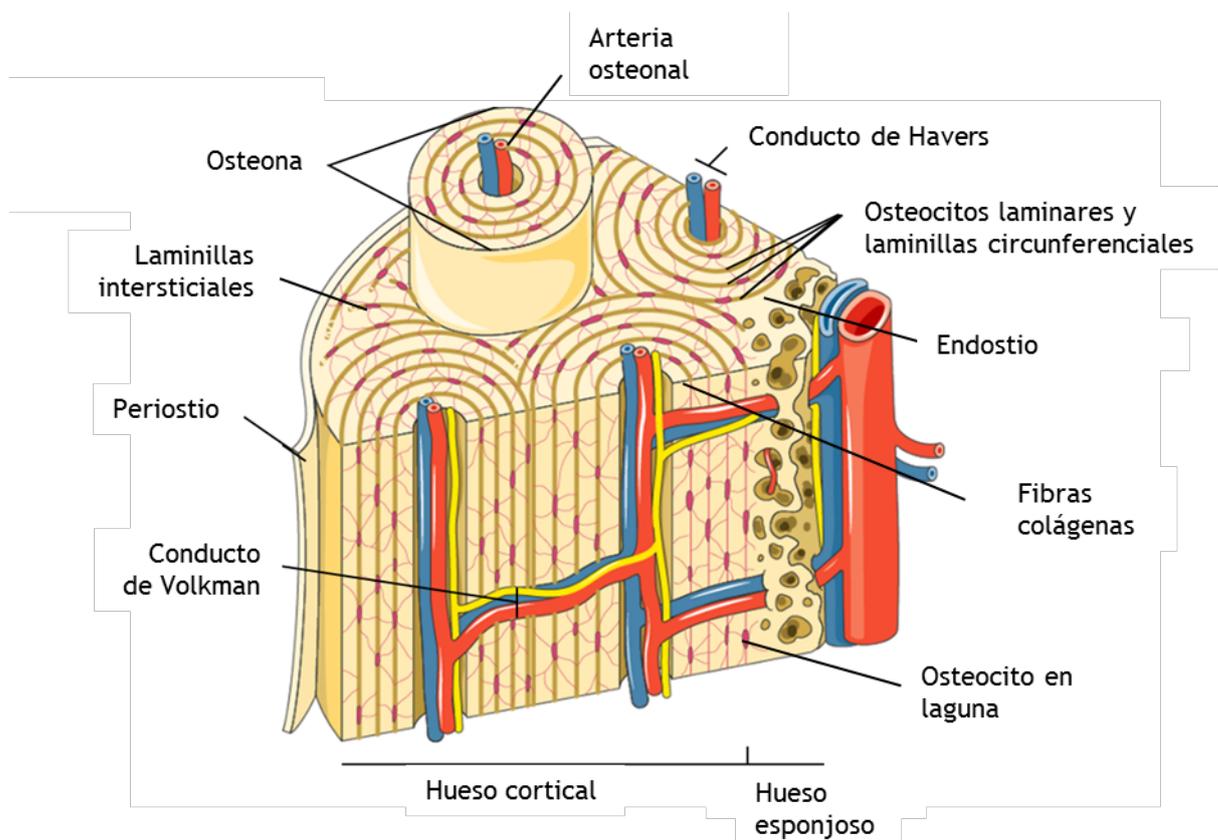


Figura 3. Microarquitectura ósea de un bloque de hueso compacto. La osteona está constituida por las laminillas concéntricas y el conducto de Havers. Entre los sistemas de Havers encontramos laminillas intersticiales, que son restos de sistemas similares más antiguos que aparecen como consecuencia del remodelado óseo. La superficie externa del hueso está cubierta por el periostio, que contiene una capa más gruesa de tejido conjuntivo. Las ramas de las arterias nutricias van acompañadas de venas pequeñas, y se encuentran en el interior de los conductos de Havers y Volkman. Estas arterias y venas también irrigan el endostio y periostio (Adaptado de Servier Medical Art, con licencia para reproducción *Creative Commons Attribution 3.0*).



3.1 Hueso cortical o compacto

El hueso cortical se va a encontrar siempre situado en el exterior de los huesos, mientras que el hueso trabecular se alberga en su interior. La cantidad de ambos va a variar dependiendo del tipo de hueso (largo, corto, plano o irregular) y de la parte del hueso. Si observamos

detalladamente el tejido cortical veremos que es poroso, al igual que el trabecular. La diferencia entre ambos radica en la cantidad de materia sólida y en el tamaño y número de poros. En el hueso cortical los poros van a ser pequeños y presentará abundante materia, mientras que en el hueso trabecular los poros serán grandes y la materia estará presente en menor proporción (Ontañón *et ál.*, 2000).

Las funciones principales del hueso cortical son de protección y mecánicas. Está calcificado en un 80-90% de su volumen y representa el 75 % de la masa esquelética total (Bilezikian *et ál.*, 2018). La sustancia mineralizada se integra en forma de laminillas (**Figura 3**). Las fibras de colágeno se ordenan de manera que en cada laminilla todas las fibras de colágeno sean paralelas, aunque su orientación cambia de una laminilla a la siguiente. En cada osteocito encontramos cavidades lenticulares denominadas lagunas, las cuales se reparten de forma más o menos regular. De cada una de ellas surgen canalículos que atraviesan las laminillas y se unen con los canalículos de las lagunas vecinas. Estos van a permitir el intercambio y la difusión de metabolitos. En la superficie externa del hueso cortical, debajo del endostio, se encuentran las laminillas circunferenciales internas y externas. Son similares a los sistemas intersticiales, pero ocupan zonas limitantes del hueso. Su origen se debe a la actividad osteogénica del periostio y endostio (Bilezikian *et al.*, 2018).

3.2 Hueso trabecular o esponjoso

El hueso trabecular está compuesto por una red delgada de trabéculas. Aporta una cuarta parte de la masa esquelética total. Sus principales funciones son de sostén y metabólica. Al igual que el cortical, también tiene laminillas con lagunas ocupadas por osteocitos. La diferencia radica en que, al ser finas las trabéculas, los vasos no penetran en ellas y no hay sistemas de Havers. Los osteocitos se nutren de los vasos próximos a través de canalículos (Olszta *et ál.*, 2007).

3.3 Periostio

El periostio es un elemento anatómico muy importante en el hueso. Está formado por una capa de tejido conjuntivo que envuelve externamente los huesos, y se une a ellos a través de las fibras de Sharpey. El periostio va a participar en el crecimiento a lo ancho del hueso y en el callo de fractura. La superficie interna del hueso cortical también se halla tapizada por una capa de tejido conjuntivo, denominada endostio, la cual es mucho menos activa que el periostio (Pharaon *et ál.*, 2018).

4. FORMACIÓN DEL HUESO

4.1 Modelado óseo

El modelado óseo es el proceso de formación ósea que se produce durante la vida embrionaria e infancia hasta la madurez esquelética del organismo, donde adquiere su forma definitiva. Se compone de dos procesos: osificación endocondral y osificación endomembranosa (**Figura 4**) (Wadsworth, 1988; Florencio-Silva *et al.*, 2015; Lindhe y Lang, 2017).

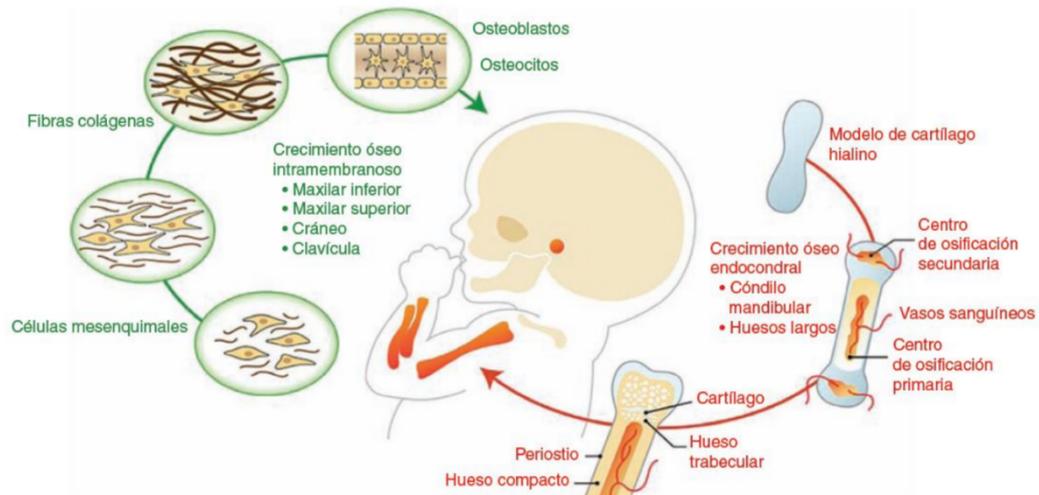


Figura 4. Modelado óseo. La flecha verde indica el proceso de formación endomembranosa. La flecha naranja indica el proceso de formación endocondral. Con licencia *Copyright Clearance Center* para su reproducción exclusiva en este documento (Lindhe y Lang, 2017).

4.1.1. Osificación endocondral

Se trata del tipo de osificación de la mayoría de los huesos del organismo. El procedimiento comienza sobre un molde mesenquimatoso, en el cual se produce una transformación a tejido cartilaginoso rodeado por pericondrio. La osificación primaria comienza en el centro de esta estructura, en la cual los condrocitos se hipertrofian, mineralizan la matriz y liberan señales para la migración de condroclastos y formación vascular (FCVE: factor de crecimiento vascular endotelial). Los vasos sanguíneos van a facilitar la llegada de células hematopoyéticas, las cuales van a interactuar con el estroma dando lugar a la futura medula ósea. Las células pericondriales se convertirán en osteoblastos y producirán una matriz rica en colágeno tipo I. Los condrocitos hipertrofiados sufren apoptosis y serán reemplazados por osteoblastos, formando la matriz ósea. Posteriormente se formarán centros de osificación secundaria en las zonas distales de la estructura cartilaginosa, donde de nuevo los condrocitos dejan de proliferar, se hipertrofian y emitirán señales para la formación de vasos sanguíneos y llegada de los osteoblastos. En medio de los centros de osificación primarios y secundarios existen unas zonas

denominadas placas fisarias o de crecimiento, las cuales van a permitir el crecimiento en longitud del hueso (Lindhe y Lang, 2017).

4.1.2. Osificación endomembranosa

Se produce en un número reducido de huesos. En este caso, existe una producción “directa” de hueso sobre una membrana primitiva o maqueta mesenquimatosas. Comienza con un incremento en la vascularización en el área central de la membrana. Seguidamente, se produce una sustancia osteoide que se calcifica siguiendo un patrón centrífugo. Ejemplos de dicha osificación son: el maxilar inferior, la bóveda craneal y la clavícula.

4.2 Remodelación ósea

La remodelación ósea afecta al hueso durante toda la vida y le permite conservar la homeostasis mineral y las propiedades mecánicas. La remodelación se produce a través de las unidades funcionales elementales del hueso, que dependiendo del tipo de hueso son (Buckwalter *et ál.*, 1996; Haberland *et ál.*, 2001; Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006):

- Unidades estructurales elementales (BSU) en el hueso esponjoso.
- Osteonas, en el hueso cortical.

En todo momento, alrededor de un 20% de hueso esponjoso y un 5% de hueso cortical se encuentran en proceso de remodelación.

4.2.1. Fases del remodelado óseo

El tiempo medio del proceso de remodelado completo es de aproximadamente 4 a 6 meses y se compone de las siguientes fases (**Figura 5**): activación, resorción, reversión, formación, mineralización y quiescencia. (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006; Robling *et ál.*, 2006; Curtis *et ál.*, 2016).

4.2.1.1 Fase de activación

La remodelación comienza en aquellas áreas en reposo, recubiertas por células del ribete (microvellosidades de revestimiento), las cuales son capaces de reaccionar ante señales activadoras de índole mecánica, hormonal, etc. La activación va a provocar una degradación de una delgada membrana de matriz no mineralizada ubicada por debajo de las células del ribete. Este proceso va a permitir que los osteoclastos entren en contacto con la matriz mineralizada (Chambers y Fuller, 1985; Parfitt, 2015).

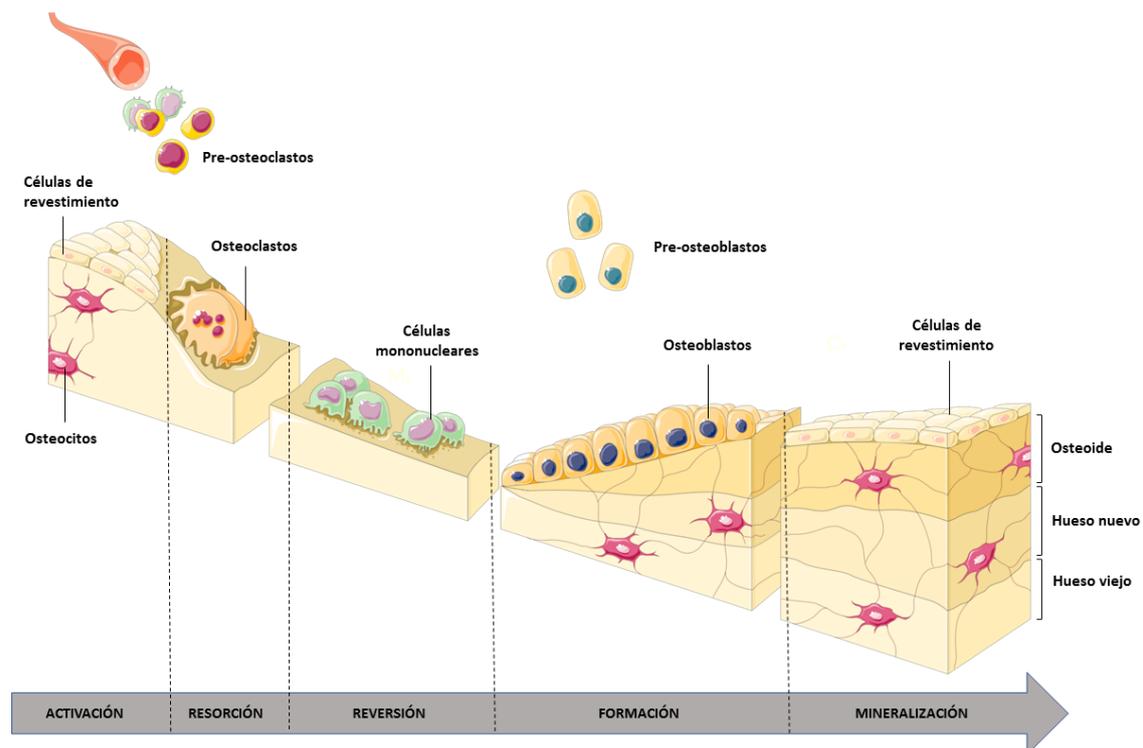


Figura 5. Ciclo del remodelado óseo (Adaptado de Servier Medical Art, con licencia de reproducción Creative Commons Attribution 3.0).

4.2.1.2 Fase de resorción

Comienza con la diferenciación de los precursores osteoclásticos que se convierten a osteoclastos maduros (Vaes, 1988). Estas células modulan su actividad en base a estímulos como la paratohormona (PTH) mediante la síntesis de un factor favorecedor de la osteoclastogénesis (RANKL), estrógenos o citocinas (Rodan y Martin, 1981; Boyce y Xing, 2008). El osteoclasto, una vez se adhiere a la matriz mineral genera un microambiente ácido que disuelve la fracción inorgánica. Esto va a permitir que el conjunto de enzimas del osteoclasto sea capaz de degradar la matriz orgánica (Chambers y Fuller, 1985), generando así un laguna de resorción denominada “laguna de Howship”. La duración de esta fase es de unos 30 días (Parfitt *et al.*, 1983).

El descubrimiento del sistema RANKL/RANK/OPG a mediados de la década de 1990 para la regulación de la resorción ósea ha supuesto importantes avances en la comprensión de cómo se regulan el modelado y la remodelación ósea. Durante muchos años antes de este descubrimiento, se sabía que las células estromales osteoblásticas regulaban la formación de osteoclastos, pero no se había anticipado que lo harían a través de la expresión de miembros de la superfamilia TNF: receptor activador del ligando NF- κ B y osteoprotegerina. (OPG), o que estas citoquinas y la señalización a través del receptor activador de NF- κ B tendrían funciones extensas más allá de la regulación del remodelado óseo. La señalización de RANKL/RANK

regula la formación, activación y supervivencia de los osteoclastos en el modelado y remodelado óseo normal y en una variedad de condiciones patológicas caracterizadas por un mayor recambio óseo. La OPG protege el hueso de una reabsorción excesiva al unirse a RANKL y evitar que se una a RANK. Por lo tanto, la concentración relativa de RANKL y OPG en el hueso es un determinante importante de la masa y la fuerza ósea (Boyce y Xing, 2008).

4.2.1.3 Fase de reversión

Implica el acoplamiento entre formación ósea y resorción. En un periodo de 1-2 semanas se produce un reclutamiento de células osteoprogenitoras (Hauschka *et ál.*, 1986). Se piensa que durante la resorción se liberan factores que estimulan la formación ósea incluidos en la matriz como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento insulínico (IGF), proteínas morfogénicas óseas (BMP), factor de crecimiento transformante β (TGF- β), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Hauschka *et ál.*, 1986).

4.2.1.1 Fase de formación

Comienza con la proliferación de las células osteoprogenitoras, las cuales tapizan el fondo de las lagunas de Howship. Los osteoblastos comienzan la síntesis de la matriz ósea proteica (sustancia osteoide) (Parfitt *et ál.*, 1983; Parfitt, 2015).

4.2.1.2 Fase de mineralización

Alrededor de 10-15 días desde que comienza la fase de formación, se inicia la mineralización, mediante el depósito de cristales de HA en los espacios interfibrilares de colágeno. La fase de mineralización dura aproximadamente de 3 a 5 meses (Parfitt *et ál.*, 1983; Parfitt, 2015). Las células formadoras de hueso concluyen la formación de la matriz ósea orgánica, denominada osteoide. Una vez depositado el osteoide, se produce la mineralización, que se lleva a cabo en el cartílago y matriz extracelular del hueso, así como en el esmalte, cemento y dentina de los dientes (Wojciech y Ross, 2020).

4.2.1.3 Fase de reposo o quiescente

En este periodo los osteoblastos son sustituidos por células del ribete, las cuales van a revestir la superficie ósea hasta que se produzca una nueva activación de los osteoclastos (Chambers y Fuller, 1985; Parfitt, 2015).

4.2.2. Factores reguladores del remodelado óseo

El balance entre la reabsorción y la formación óseas está influido por una serie de factores, interrelacionados entre sí: factores genéticos, mecánicos, vasculares, nutricionales, hormonales y locales.

- **Factores genéticos.** Muy importantes en la determinación de la masa ósea, ya que entre un 60 y un 80% de esta se encuentra determinada genéticamente. La masa ósea se transmite de padres a hijos, de tal modo que la predisposición a padecer osteoporosis es mayor en hijas de madres que la padecen (Pocock *et ál.*, 1987; Grant y Ralston, 1997).
- **Factores mecánicos.** La actividad física es fundamental para el correcto funcionamiento del hueso. Los osteocitos producen mediadores como óxido nítrico, prostaglandinas e IGF-I, estimulando su actividad, así como la de los osteoblastos, dando lugar a una mayor formación ósea. Por el contrario, la ingravidez, ausencia de actividad muscular o el reposo tienen un efecto negativo en el hueso, acelerando la reabsorción (Morey y Baylink, 1978; Bennett *et ál.*, 2005).
- **Factores vasculonerviosos.** Se ha demostrado que la vascularización es imprescindible para el correcto desarrollo óseo, permitiendo el aporte de células sanguíneas, minerales, oxígeno, glucosa, iones, hormonas y factores de crecimiento. La vascularización comprende el primer paso para la osificación: los vasos invaden el cartílago y seguidamente se produce la reabsorción ósea por los osteoclastos de los vasos cercanos. A su vez, la neoformación vascular es el primer hecho en la regeneración ósea o en la reparación de fracturas, ya que la existencia de oxígeno es fundamental para que se produzca la recuperación total después de una enfermedad o *restitutio ad integrum* (Trueta, 1963). En cuanto a la inervación nerviosa, es imprescindible para el normal funcionamiento fisiológico del hueso. El hueso es inervado por el SNA (sistema nervioso autónomo) y por fibras nerviosas sensoriales. Las fibras autónomas se han encontrado en el hueso cortical, endostio, periostio y asociadas a los vasos sanguíneos de los conductos de Volkman, así como neuropéptidos y sus correspondientes receptores en el hueso. Algunos ejemplos de la esencialidad de la inervación son la menor densidad mineral ósea presente en mandíbulas denervadas o la osteopenia y fragilidad de los huesos presentes en pacientes con desórdenes neurológicos (Fernández-Tresguerres Hernández-Gil *et ál.*, 2006).
- **Factores nutricionales.** Para permitir la mineralización ósea se necesita un mínimo de calcio, estimado en unos 1.200 mg en pacientes jóvenes. Tras la menopausia se estima que se necesitan unos 1.500 mg. Se ha demostrado que hábitos tóxicos como el consumo de alcohol, tabaco, caféina y exceso de sal son factores de riesgo para la aparición de osteopenia (Fernández-Tresguerres Hernández-Gil *et ál.*, 2006).

- **Factores hormonales.** El desarrollo normal del esqueleto va a estar condicionado por el correcto funcionamiento del sistema endocrino, fundamentalmente de las hormonas calcitrópicas (calcitonina, parathormona y metabolitos de vitamina D) y de la hormona somatotropa (GH). Las hormonas trabajan como mensajeros sistémicos que actúan a distancia de su lugar de producción (denominado efecto endocrino), pero también regulan la síntesis y acción de los factores locales, los cuales intervienen en el metabolismo células (efectos paracrino y autocrino) (Valín *et ál.*, 2001). Las hormonas más importantes que participan en el metabolismo óseo son las siguientes:
 - **Hormonas tiroideas.** Por un lado, estimulan la formación de la matriz osteoide por los osteoblastos y su mineralización, ayudando en la síntesis de IGF-I. Por otro lado, estimula la reabsorción al aumentar el número y función de los osteoclastos (Jódar Gimeno *et ál.*, 1997).
 - **PTH (parathormona).** Es la hormona encargada de controlar la homeostasis del calcio a través de la acción directa sobre el hueso y el riñón, y de manera indirecta en el intestino. Favorece la reabsorción al ser la hormona hipercalcemiente por excelencia. Se ha demostrado un efecto estimulador en la formación ósea, mediante la síntesis de TGF- β e IGF-I (Jódar Gimeno *et ál.*, 1997). Este doble efecto se explicaría dado que la PTH en administración continua estimularía la reabsorción ósea mediante la síntesis de RANKL a través de las células osteoblásticas, mientras que a dosis intermitentes estimularía la formación del hueso, asociado a un aumento de los factores de crecimiento mencionados anteriormente y a una disminución de la apoptosis de las células osteoblásticas (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).
 - **Calcitonina.** Se produce en las células parafoliculares del tiroides o células C. Inhibe la reabsorción ósea, al reducir el número y actividad de los osteoclastos. Esta acción es transitoria, pues los osteoclastos parecen volverse “impermeables” a la calcitonina en poco tiempo (Chambers y Magnus, 1982; Farley *et ál.*, 2000; Inzerillo *et ál.*, 2004).
 - **Andrógenos.** Desarrollan un efecto anabolizante sobre el hueso, mediante el estímulo de los receptores de los osteoblastos. También actúan como mediadores en el pico de GH existente durante la pubertad. La deficiencia de andrógenos se asocia a una menor densidad ósea, mientras que la administración de testosterona en jóvenes antes del cierre epifisario incrementa la masa ósea. En hembras con exceso de andrógenos se han observado densidades óseas más altas (Katznelson *et ál.*, 1996; Falahati-Nini *et ál.*, 2000; Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).
 - **Estrógenos.** Son fundamentales para el cierre de los cartílagos en conjunción. Se ha demostrado que presentan un papel importante en el desarrollo esquelético tanto

masculino como femenino durante la adolescencia. Su efecto es doble en el metabolismo óseo: por un lado, disminuyen la reabsorción, y por otro favorecen la formación ósea al aumentar la función y el número de osteoblastos. Se han descrito receptores de estrógenos en osteocitos, osteoblastos y osteoclastos humanos (Almeida *et ál.*, 2013; Melville *et ál.*, 2014).

- **1,25(OH)₂, vitamina D₃ o calcitriol.** Se trata de una hormona esteroidea que favorece la absorción del calcio y fosfato a nivel intestinal y, por tanto, la mineralización. Es esencial para el crecimiento normal del esqueleto (Raisz, 1993; Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).
- **Progesterona.** Desarrolla un efecto anabolizante sobre el hueso, bien directamente mediante los osteoblastos, que poseen receptores para la hormona o bien indirectamente, mediante la competición por los receptores osteoblásticos de los glucocorticoides (Sarinho y Melo, 2017).
- **Insulina.** Estimula la síntesis de la matriz directa e indirectamente, mediante el aumento de la síntesis hepática de IGF-I (Yakar y Rosen, 2016).
- **Glucocorticoides.** tiene efectos catabólicos sobre el hueso a dosis altas, debido a que inhiben la síntesis de IGF-I por los osteoblastos, y suprimen directamente la BMP-2 y el factor de unión central $\alpha 1$ (Cbfa-1), factores críticos para la osteoblastogénesis (Yakar y Rosen, 2016). Se ha demostrado que a dosis fisiológicas tienen capacidad osteogénica favoreciendo la diferenciación osteoblástica (Canalis y Delany, 2002).
- **Hormona del crecimiento (GH).** Sobre el hueso tiene dos acciones. Actúa directamente sobre los osteoblastos estimulando su actividad, lo que da lugar a un aumento en la síntesis de osteocalcina, colágeno y fosfatasa alcalina. Por otro lado, actúa indirectamente mediante el aumento de la síntesis de IGF-I y II por los osteoblastos. Estos factores favorecen la diferenciación y proliferación de los osteoblastos, aumentando su función y número (Siddiqui y Partridge, 2016).
- **Factores locales.** Destacan los factores de crecimiento, proteínas de la matriz ósea y citoquinas (**Tabla 3**).
 - **Factores de crecimiento.** Son polipéptidos que se producen por las propias células óseas o en tejidos extraóseos. Actúan como moduladores de las funciones celulares, fundamentalmente sobre la diferenciación, crecimiento y proliferación celular.
 - ✓ **IGF-I y II (Factor de crecimiento insulínico I y II).** Se encuentran en altas concentraciones en la matriz osteoide. Favorecen la síntesis de colágeno al aumentar la función y número de osteoblastos (Cohick y

Clemmons, 2003). Los IGF están regulados por factores de crecimiento locales y hormonas. De este modo, los estrógenos, la GH y la PG aumentan su producción, mientras que los glucocorticoides la inhiben (Kawakami *et ál.*, 1998; Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).

- ✓ **TGF- β (Factor de crecimiento transformante- β).** Son una superfamilia de proteínas muy abundantes en el tejido óseo. Se encuentran en la matriz de forma latente y su actividad tiene lugar durante la reabsorción osteoclástica (Kudo *et ál.*, 2010). TGF- β es un potente estimulador de la formación ósea, ya que potencia la diferenciación osteoblástica y síntesis de la matriz osteoide, e inhibe la síntesis de proteasas. También inhibe la reabsorción al reducir la formación y diferenciación de los osteoclastos (Mishina *et ál.*, 2004).
- ✓ **BMP (Proteínas morfogénicas óseas).** Se incluyen dentro de la familia de los TGF- β . Son 15 proteínas con capacidad para conseguir la transformación del tejido conjuntivo en óseo, por lo que son consideradas osteoinductivas. También estimulan la diferenciación de células pluripotenciales hacia diferentes líneas celulares (tejido adiposo, cartílago y hueso). Abundan en el tejido óseo y durante el proceso de embriogénesis participan en la formación del hueso y cartílago (Canalis *et ál.*, 2003).
- ✓ **PDGF (Factor de crecimiento derivado de plaquetas).** Tiene una doble función, estimulando la síntesis proteica llevada a cabo por los osteoblastos por un lado y, por otro lado, favorece la reabsorción ósea. Otros efectos son: proliferación de células musculares lisas, de fibroblastos, la neovascularización y la síntesis de colágeno, por lo que también favorece la cicatrización (Nash *et ál.*, 1994).
- ✓ **FGF (Factor de crecimiento fibroblástico).** Se trata de un anabolizante óseo, ya que es mitógeno de los osteoblastos y de las células endoteliales vasculares, así como de los fibroblastos (Marie, 2003).
- ✓ **EGF (Factor de crecimiento epidérmico).** Se trata de un potente mitógeno de las células de origen mesodérmico y ectodérmico. Se sintetiza en múltiples tejidos del organismo, por lo que podría estar involucrado en diversas funciones biológicas, aún no bien esclarecidas. Respecto al hueso podría tener una doble acción formadora y destructora, si bien ésta última es la más conocida (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).
- ✓ **VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial).** El VEGF induce a angiogénesis y la proliferación endotelial vascular. Produce vasodilatación

y un incremento de la permeabilidad vascular. Se produce en situaciones de hipoxia y actualmente se está considerando como uno de los factores claves en el desarrollo de las primeras fases del proceso de reparación de fracturas y regeneración ósea, así como en el desarrollo tumoral (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).

- ✓ **GM-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos).** El factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos es importante para la osteoclastogénesis y puede intervenir en la patogenia de la osteopetrosis (Na *et ál.*, 2016).
- ✓ **M-CSF (Factor estimulante de colonias de macrófagos).** El factor estimulador de colonias de macrófagos es producido por los osteoblastos y células del estroma medular y es requerido como factor esencial en las primeras fases de la osteoclastogénesis para la formación de células gigantes multinucleadas, pero no tiene efecto sobre la actividad osteoclástica (Yang *et ál.*, 1996).
- ✓ **TNF (Factor de necrosis tumoral).** El factor de necrosis tumoral *in vitro* estimula la reabsorción y se le ha relacionado con la pérdida ósea de la artritis y de la enfermedad periodontal (David y Schett, 2010).
- **Proteínas de la matriz.** Desarrollan un papel como moduladores de los factores de crecimiento (Young, 2003). Estas proteínas se hallan en una concentración mil veces mayor que los factores de crecimiento, por lo que podrían llevar a cabo un papel más importante en la regulación de las funciones celulares. Por otro lado, este tipo de proteínas también participan en la regulación de la diferenciación de las células contenidas en la matriz (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).
- **Citoquinas.** Se trata de polipéptidos que se sintetizan en células monocíticas y linfocíticas, y desarrollan un papel muy importante en múltiples funciones celulares, como la respuesta inmunológica, la hematopoyesis y la inflamación. También poseen efecto paracrino y autocrino. Las más importantes son (**Tabla 3**):
 - ✓ **Interleuquina 1 (IL-1).** Directamente estimula la reabsorción osteoclástica, incrementando la diferenciación y proliferación de los pre-osteoclastos, así como la actividad osteoclástica e inhibiendo la apoptosis de los osteoclastos (Compston, 2001). Son 3 moléculas diferentes relacionadas: IL-1 α , IL-1 β y Antagonista del receptor de IL-1, siendo esta última inhibidora del efecto de las dos primeras. Su acción sobre la reabsorción es directa e indirecta, a través de la síntesis de prostaglandinas (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).

- ✓ **Interleuquina 6 (IL-6):** Estimula la reabsorción ósea. Se ha demostrado que puede estar implicada en la patogenia de la enfermedad de *Paget*. Se cree que juega un papel importante en las etapas iniciales de la osteoclastogénesis. Se produce en respuesta a PTH, IL-1 y 1,25(OH)₂D₃ (Cheng *et ál.*, 1997).
- ✓ **Interleuquina 11 (IL-11).** Se produce en la medula ósea e induce la osteoclastogénesis (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).
- ✓ **Prostaglandinas (PG).** En estudios realizados in vivo, se han medido niveles de PG en el líquido cervicular, demostrando su participación en la destrucción ósea que tiene lugar en la enfermedad periodontal. En estudios realizados in vitro, se ha visto que favorecen la reabsorción ósea, sobre todo la PGE₂, aunque también la PGE₁, PGG₂ PGI₂ y PGH₂ (Gardner *et ál.*, 2001).

Tabla 3. Clasificación de los factores locales de remodelado óseo de acuerdo con su acción en el metabolismo óseo (Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).

	Estimulan formación	Estimulan reabsorción	Inhiben reabsorción
Factores de crecimiento	BMP-2 (Proteína morfogenética ósea-2)	TNF (Factor de necrosis tumoral)	
	BMP-4 (Proteína morfogenética ósea-4)	EGF (Factor de crecimiento epidérmico)	
	BMP-6 (Proteína morfogenética ósea-6)	PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas)	
	BMP-7 (Proteína morfogenética ósea-7)	FGF (Factor de crecimiento fibroblástico)	
	IGF-I (Factor análogo a la insulina I)	M-CSF (Factor estimulante de colonias de macrófagos)	
	IGF-II (Factor análogo a la insulina II)	GM-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos)	
	TGF-β (Factor transformante del crecimiento β)		
	FGF (Factor de crecimiento fibroblástico)		
	PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas)		
	VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial)		
Citoquinas		IL-1 (Interleuquina-1)	
		IL-6 (Interleuquina-6)	
		IL-8 (Interleuquina-8)	IFN-γ (Interferón γ)
		IL-11 (Interleuquina-11)	IL-4 (Interleuquina-4)
		PGE ₂ (Prostaglandina E-2)	
		PGE ₁ (Prostaglandina E-1)	
		PGI ₂ (Prostaglandina I-2)	
	PGH ₂ (Prostaglandina H-2)		

4.3 Envejecimiento óseo

El mantenimiento de la masa ósea se consigue gracias al equilibrio entre formación y resorción, el cual desaparecerá con el envejecimiento provocado por una disminución progresiva del grosor de las unidades estructurales elementales (Lips *et ál.*, 1978; Chan y Duque, 2002). Durante el climaterio, la bajada de estrógenos provoca una aceleración de la remodelación ósea (Chavassieux y Meunier, 1995). Este mecanismo hace que las trabéculas óseas se adelgacen, perjudicando la microarquitectura e incrementando el riesgo de fractura (Parfitt *et ál.*, 1983; Aaron *et ál.*, 1987; Weinstein y Hutson, 1987; Mellish *et ál.*, 1989).

5. PROPIEDADES MECÁNICAS DEL HUESO

Debido a la amplia capacidad de movimientos del cuerpo, los huesos pueden someterse a diferentes tipos de fuerza, ya sea de tracción, compresión o cizalladura. El hueso cortical es el encargado de resistir la mayor parte de la carga a la que se ven sometidos los huesos. Las fuerzas de compresión son trabajadas fundamentalmente por el hueso trabecular, gracias entre otras características a la de proporcionar ligereza a los huesos en detrimento de su solidez (Ontañón *et ál.*, 2000; Forwood, 2018).

En las propiedades mecánicas del hueso van a influir factores como la edad, la localización del hueso o la presencia de algún tipo de enfermedad (**Tabla 4**).

Tabla 4.- Propiedades mecánicas del hueso. Los valores registrados en los ensayos mecánicos vienen influidos por las condiciones experimentales tales como el grado de humedad, la temperatura o si ha sido congelado para su conservación, entre otras (Proubasta *et ál.*, 1997).

Hueso	Tipo de carga	Resistencia máxima (MPa)	Módulo de Young (GPa)	
Cortical	Tracción	Longitudinal	79-151	
		Transversal	51-56	
	Compresión	Longitudinal	131-224	
		Transversal	106-133	
		Torsión	53-80	3.3
		Compresión	3-20	0.2-5
Trabecular	Torsión	6.6	-	
	Tracción	1.5-5.0	0.1-3	

Las propiedades mecánicas de los huesos formados principalmente por tejido cortical van a depender de la dirección de aplicación de las fuerzas. Así, la resistencia va a ser mayor cuando la fuerza se aplica verticalmente al eje longitudinal, mientras que, si la fuerza actúa de manera oblicua al hueso, la resistencia disminuirá. En los huesos constituidos por tejido esponjoso la

resistencia será mayor cuando la fuerza sea aplicada en la dirección principal de las trabéculas óseas. La medida de las propiedades mecánicas del hueso trabecular va a ser más compleja que en el caso del hueso cortical, dado el pequeño tamaño de las trabéculas y la poca cantidad presente en ciertos huesos (Proubasta *et ál.*, 1997; Ontañón *et ál.*, 2000).

6. INGENIERÍA TISULAR ORTOPÉDICA Y REGENERACIÓN ÓSEA

La ingeniería tisular abarca un área de conocimiento que en los últimos años ha evolucionado sustancialmente. Se han publicado éxitos en la obtención de crecimiento *in vitro* de diversos tejidos como vasos sanguíneos, músculos, ligamentos, cartílago y hueso. Estos logros se han llevado a cabo gracias a un enfoque multidisciplinar en el que juega un papel sustancial el continuo y rápido avance que ha demostrado la biología celular en los últimos años, en cuanto a la mejora del conocimiento de las células madre y sus interacciones con el ambiente en el que se hallen (Finkemeier, 2002).

La ingeniería tisular ortopédica consiste en la regeneración del tejido óseo perdido a raíz de traumatismos o enfermedades. Para conseguir este objetivo, se emplean diferentes técnicas y métodos dirigidos hacia la regeneración del tejido óseo dinámico con sus diferentes tipos de células, fracción mineral y matriz extracelular (Yoshikawa, 2000). La respuesta celular a los biomateriales empleados se estudia inicialmente en medios de cultivo *in vitro*. Después, se comprueba la existencia de regeneración en modelos animales para finalmente proceder al estudio sobre humanos bajo una serie de condiciones éticas previamente establecidas (Sung *et ál.*, 2004; Weir *et ál.*, 2004).

Hoy en día nos encontramos ante un incremento sustancial en la utilización de tejidos y células humanas en la práctica e investigación clínica. Se considera que el tejido óseo es el segundo más trasplantado, junto con los derivados hematológicos (como el plasma rico en plaquetas) son muy de lejos los más comunes. Anualmente se realizan más de 500.000 intervenciones con injertos óseos en Estados Unidos, y cerca de 2.2 millones alrededor de todo el mundo con la finalidad de reparar defectos óseos en odontología, neurocirugía y ortopedia (Campana *et ál.*, 2014).

Actualmente, se considera un reto para los profesionales sanitarios el tratamiento de complicaciones derivadas de patologías óseas postraumáticas como pueden ser pseudoartrosis, consolidaciones viciosas o retardos en la consolidación. Las técnicas de regeneración ósea son también importantes en procedimientos como tumores óseos, deformaciones congénitas o fusiones espinales (González-Alconada, 2016).

La investigación en regeneración ósea tuvo sus inicios en la década de 1960 cuando Burwell (1964) confirmó la osteogénesis de la médula ósea y Urist (1965) descubrió morfógenos óseos. Los avances científicos en la ingeniería del tejido óseo se lograron así a través de un conocimiento profundo de la biología de las células óseas y el progreso en el aislamiento, la purificación y la generación a escala comercial de factores de crecimiento específicos de los huesos. A partir de estos hallazgos evolucionaron dos escuelas de pensamiento relacionadas con la ingeniería del tejido óseo: la reparación ósea se logró, por un lado, mediante el uso de terapias basadas en células (**Tabla 5**); mientras que, por otro lado, la regeneración ósea se abordó utilizando una variedad cada vez más diversa de tecnologías de crecimiento (**Tabla 6**) (Shrivats *et ál.*, 2013).

Actualmente, el *gold standard* en terapia de resolución de defectos óseos es el empleo de injerto córticoesponjoso autólogo de la cresta ilíaca. Esta variedad de injerto se caracteriza por una disponibilidad limitada de hueso y por la posibilidad de ocasionar morbilidad en el sitio donante. Estas circunstancias han motivado el desarrollo de nuevas técnicas de regeneración ósea a través de sustitutos naturales o sintéticos, moléculas inductoras y/o células con capacidad osteogénica como las MSC (Campana *et ál.*, 2014).

6.1 Requisitos de los materiales para regeneración ósea

Los andamios o *scaffolds* son aquellas estructuras que se emplean en la restauración de la funcionalidad de un órgano de forma permanente o temporal (Bohner *et ál.*, 2005). Un andamio ideal para la regeneración ósea debe poseer (Burg *et ál.*, 2000; Huttmacher, 2000; Danoux *et ál.*, 2014; Corcione *et ál.*, 2017):

- Bioactividad: el material debe tener la capacidad de provocar una respuesta en el organismo que le permita formar un enlace directo con el hueso sin interposición de una capsula fibrosa. De este modo, se puede garantizar una correcta interacción material-hueso, permitiendo la presencia de las células óseas necesarias para el proceso de regeneración sobre la superficie del material.
- Biocompatibilidad: ausencia de reacciones alérgicas, inmunitarias, de rechazo, etc., en el contacto entre el material y los tejidos.
- Resistencia mecánica: el diseño del material debe poseer las propiedades mecánicas adecuadas para restablecer la funcionalidad del esqueleto desde los primeros momentos de la recuperación.
- Una degradación controlada y velocidad de reabsorción que sea similar a la velocidad de crecimiento del tejido. De este modo, se favorecería una rápida recuperación de la

zona afectada. Los productos de degradación no deben ser tóxicos para el organismo, y deben poderse eliminar bien metabolizados o bien en los procesos fisiológicos normales.

- Alta porosidad para poder permitir la invasión celular y el transporte de fluidos para hacer llegar los nutrientes y favorecer la eliminación de residuos.
- Propiedades superficiales que estimulen la adhesión, diferenciación celular y proliferación.
- Capacidad para facilitar el proceso de revascularización en la zona afectada, garantizando el suministro de nutrientes y oxígeno, precursores celulares y moléculas que intervendrán en el proceso de regeneración (proteínas morfogenéticas, hormonas, entre otras).
- Facilidad de uso. Su diseño debe ser fácil de manipular, y debe de ser posible su esterilización rutinaria. En cuanto a la práctica quirúrgica, esta debe ser lo más fácil posible y lo menos agresiva de cara al paciente. Un material idóneo puede fracasar si la implantación por parte del cirujano se complica.

6.2 Técnicas de regeneración ósea

Actualmente, existen diferentes técnicas de regeneración tisular y ósea que emplean diversos agentes y biomateriales “biológicamente activos” (Esposito *et ál.*, 2010):

- I. **Injertos de hueso autógeno.** Se trata de injertos óseos tomados de un sitio adyacente o remoto del mismo paciente, y son utilizados para reconstruir un área deficiente. Son considerados el material de elección, es decir, el *gold standard*. Son biológicamente compatibles, ya que son del mismo paciente y proporcionan un andamio en el que puede crecer hueso nuevo. El tejido óseo del interior de la boca se puede utilizar para requisitos de injerto relativamente pequeños o huesos como el de la cadera (cresta ilíaca) para volúmenes óseos más grandes. Todos requieren cirugía en un segundo lugar y, por lo tanto, se debe considerar la morbilidad del sitio donante (Palmer y Palmer, 1999; Osorio *et ál.*, 2020).
- II. **Aloinjertos.** Se trata de injertos óseos extraídos de cadáveres y procesados mediante métodos como congelación o desmineralización y congelación. Luego, los injertos se esterilizan y se suministran mediante bancos de tejidos con licencia especial de varias formas convenientes, como partículas óseas o bloques grandes. Son reabsorbibles (Esposito *et ál.*, 2010; Osorio *et ál.*, 2020).

Tabla 5. Tipos de células utilizadas en ingeniería del tejido óseo. Adaptado de (Szpalski *et ál.*, 2012; Liu *et ál.*, 2015; Csobonyeiova *et ál.*, 2017)

Tipo de célula	Multipotente / diferenciada	Potencial	Ventajas	Inconvenientes
Médula ósea - células madre	Multipotente	Potencial para neovascularización Osteogénico	Adquisición relativamente fácil Caracterización extensa	Morbilidad del donante Potencial proliferativo limitado Menos células en comparación con otras fuentes Depende de la edad y de la salud del donante
Células umbilicales	Multipotente	Osteogénico	Elevada proliferación Morbilidad mínima del donante	No excesivamente caracterizadas
MSC (pulpa dental, células madre gingivales)	Multipotentes	Osteogénico	Abundantes Fácil adquisición	No excesivamente caracterizadas
Células madre derivadas de adipocitos	Multipotente	Potencial para neovascularización Osteogénico	Fácil adquisición Caracterización extensa Capaz de crecer en condiciones no ideales	Morbilidad del donante (debido a anestesia)
EPCs, en concreto ECFC	Linaje dirigido	Potencial para neovascularización Diferenciación osteogénica	Fácil adquisición (sangre periférica, sangre del cordón umbilical) Abundante Morbilidad mínima del donante Pueden ser cosechadas a partir de células madre o médula ósea	No multipotente Potencial de proliferación limitado Las diferencias en los procedimientos de aislamiento y cultivo dificultan los estudios comparativos sobre la funcionalidad de EPC Requiere células cosechadas para estabilización para neovascularización

MSCs: Células madre mesenquimales; EPCs: Células progenitoras endoteliales; ECFC: Células formadoras de colonias endoteliales

Tabla 6. Comparación de los tipos de tecnologías de crecimiento disponibles en bioingeniería ósea.

Adaptado de (Shrivats *et ál.*, 2013; Turnbull *et ál.*, 2018).

Tipo de andamio óseo	Ventajas	Inconvenientes
Metales (o aleaciones de metales). Por ejemplo: titanio, cobalto, níquel, tantalio, acero inoxidable	Biocompatible. Propiedades mecánicas superiores que podría ser útil en situaciones de crecimiento lento de los huesos La bioactividad se puede mejorar mediante técnicas de modificación de superficies Técnicas de fabricación establecidas y ya en uso clínico	Caros Biodegradabilidad pobre La posible liberación de iones puede causar toxicidades locales y distales
Hidrogeles Por ejemplo: colágeno, gelatina, alginato, ácido hialurónico, fibrina, poli (óxido de etileno), poli (etilén glicol)	Generalmente biocompatible El alto contenido de agua permite la encapsulación y el crecimiento celular. Propiedades mecánicas controlables y biodegradabilidad. Liberación de biomoléculas sintonizables Patrones 3D para imitar la/s microarquitectura/s de tejidos Composiciones multimateriales	Manipulación física limitada Resistencia mecánica limitada. El aumento de las propiedades mecánicas del gel puede reducir la supervivencia y la funcionalidad de las células. Se requieren optimizaciones que requieren mucho tiempo, particularmente para aplicaciones de bioimpresión La bioactividad depende de la composición y las propiedades del gel.
Polímeros - Naturales (alginato, gelatino, quitosano, seda) - Sintéticos (policaprolactona, ácido poliláctico...)	Bajo costo. Biocompatible Biodegradabilidad ajustable Las propiedades mecánicas y la bioactividad se pueden controlar ajustando las composiciones	Propiedades mecánicas limitadas Puede carecer de bioactividad Rendimiento y pureza afectados por la calidad de fabricación Se requieren optimizaciones que requieren mucho tiempo, particularmente para aplicaciones de bioimpresión y compuestos
Biocerámicas Por ejemplo: fosfato tricálcico, (nano) hidroxiapatita, fosfato cálcico bifásico	Las propiedades osteoinductoras y osteoconductoras mejoran la osteointegración Biocompatible, similar al contenido mineral óseo nativo. Facilidad de fabricación, entrega y bajo coste p. Ej., Pasta, inyectable, bioimprimible	La fragilidad inherente limita su propiedad mecánica cuando se usa de forma aislada Degradación y reabsorción incontroladas in vivo Inadecuado para la encapsulación celular cuando se usa de forma aislada
Vidrios bioactivos Por ejemplo: Vidrio 4555	Las propiedades osteoconductoras mejoran la osteointegración. Biocompatible Bioactividad sintonizable Ya en uso clínico	La fragilidad inherente limita su propiedad mecánica cuando se usa de forma aislada Manipulación física limitada Mal control de la reabsorción. Liberación potencial de iones tóxicos



- III. **Xenoinjertos.** Se trata de injertos extraídos de animales como la vaca. Estos se procesan para eliminar completamente el componente orgánico (Wenz *et ál.*, 2001; Osorio *et ál.*, 2020).
- IV. **Materiales de injerto aloplásticos.** Estos sustitutos óseos sintéticos incluyen fosfatos de calcio y vidrios bioactivos. Los aloplásticos proporcionan un marco físico para el crecimiento óseo. Algunos clínicos utilizan estos materiales en combinación con injertos de hueso autógeno. Estos materiales pueden o no reabsorberse con el paso del tiempo (Soares *et ál.*, 2018; Turnbull *et ál.*, 2018).
- V. **Regeneración ósea guiada (GBR).** Esta técnica utiliza membranas altamente biológicas que actúan como barreras especiales para proteger los defectos del crecimiento interno de células de tejido blando, de modo que las células progenitoras óseas puedan desarrollar hueso sin inhibiciones. El crecimiento de tejido blando puede alterar o prevenir totalmente la osteogénesis en un defecto o herida. Las membranas pueden ser reabsorbibles o no reabsorbibles. Ejemplos de membranas son politetrafluoroetileno expandido, colágeno porcino y poliglactina. (Lethaus *et ál.*, 2010).
- VI. **Proteínas morfogénicas óseas (BMP) y plasma rico en plaquetas (PRP).** Las BMP son una familia de proteínas presentes de forma natural en los huesos y responsables de la activación del desarrollo óseo. Las BMP pueden estimular la formación de hueso. Pueden incorporarse en cualquiera de los tipos de injertos anteriores. Los factores de crecimiento y PRP se utilizan para promover la formación de hueso (Valentin-Opran *et ál.*, 2002; Schuckert *et ál.*, 2011; López *et ál.*, 2019).

En implantología oral, uno de los desafíos más comunes es la deficiencia de la altura o el ancho del hueso alveolar mandibular o maxilar. Las causas de la pérdida ósea incluyen procesos patológicos como traumatismos, enfermedad periodontal, resecciones de tumores y malformaciones congénitas (Esposito *et ál.*, 2009). Actualmente, las técnicas disponibles que permiten el uso de implantes largos sin reducir el tamaño vertical de la corona son: aumento de la base del seno maxilar, colocación de implantes pterigoideos y transposición del nervio dentario (Krekmanov *et ál.*, 2000). Para modificar la relación de longitud corona-implante, se pueden utilizar otras técnicas como la GBR, el injerto óseo autógeno y la distracción alveolar vertical (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018). Todas estas técnicas aumentan la altura de la cresta alveolar y, por lo tanto, permiten la utilización de coronas más cortas e implantes grandes (Somoza-Martín *et ál.*, 2020).

6.3 Reparación de fracturas o defectos óseos en la práctica clínica

En ingeniería tisular ortopédica, el objetivo fundamental a la hora de reparar defectos óseos es aportar un injerto que cumpla el máximo de las propiedades biomecánicas de un hueso sano. En este sentido, los injertos que presentan propiedades mecánicas adecuadas se pueden emplear en sitios de carga. También se pueden emplear injertos con peores propiedades siempre y cuando favorezcan una rápida formación de hueso mecánicamente competente. Hay que tener en cuenta que el proceso de sustitución por hueso sano es bastante prolongado (1-2 años), por lo que se necesita un equilibrio excelente entre la construcción de hueso nativo y la degradación progresiva del injerto (Vunjak-Novakovic y Goldstein, 2005).

Generalmente, el hueso posee una gran capacidad para la curación, por lo que suele ser suficiente conseguir una alineación tolerable y una fijación estable a la hora de la reconstrucción ósea tras una enfermedad o traumatismo. No obstante, en determinadas situaciones clínicas la reparación natural puede ser inadecuada o demasiado lenta, por lo que se requiere algún tipo de técnica de regeneración (Staubli *et ál.*, 2003).

El injerto del defecto se puede realizar de manera aguda (por ejemplo, rellenando el defecto con sustitutos óseos) (Staubli *et ál.*, 2003), o de manera progresiva mediante una distracción del callo con un alargamiento de la diáfisis (Vunjak-Novakovic y Goldstein, 2005). Por desgracia, las técnicas de relleno están limitadas a segmentos que permitan una fijación rígida y un adecuado aporte vascular. La mayor parte de sus desventajas se limitan a cuestiones técnicas o al tiempo necesario para la formación de hueso que permita una carga completa (Azar *et ál.*, 2020).

El tratamiento quirúrgico de los defectos óseos utilizando auto y aloinjerto ha demostrado mejorar la capacidad de reparación de defectos óseos en mayor o menor medida. Sin embargo, actualmente ninguno de los tejidos utilizados presenta todas las características ideales (Finkemeier, 2002; Corcione *et ál.*, 2017; Ferri *et ál.*, 2018). La ingeniería tisular puede aportar en este sentido la combinación de los avances en el campo de la biología celular y los biomateriales. De este modo, se podría conseguir un injerto que reúna la mayoría de las características ideales (Hubbell, 1999; Cancedda *et ál.*, 2003; Corcione *et ál.*, 2017).

7. DISTRACCIÓN OSTEOGÉNICA

7.1 Concepto y bases clínicas

La distracción osteogénica (DO) es una técnica quirúrgica que permite la formación de hueso nuevo entre dos segmentos separados mediante osteotomía, gradualmente alargados por

tracción incremental del callo óseo formado entre los fragmentos, con la simultánea expansión del tejido adyacente (Saulacic *et al.*, 2004).

La base biológica de la DO se llama callotaxis (etimológicamente: *taxis* = alargamiento), que es el alargamiento progresivo del callo formado alrededor de los segmentos óseos creados por la osteotomía. Este proceso de elongación es progresivo, lo que permite la preservación del torrente sanguíneo. El mecanismo de regeneración ósea se compone de dos procedimientos: histogénesis (alargamiento de los tejidos blandos, vasos sanguíneos, nervios y mucoperiostio) y osteogénesis (creación del callo y generación de hueso nuevo) (Saulacic *et al.*, 2008).

La técnica de DO comprende las siguientes fases: (A) cirugía (osteotomía), (B) latencia, (C) distracción y (D) consolidación (**Figura 6**). El período de distracción incluye dos fenómenos diferentes: la frecuencia de distracción (que es la cantidad de activaciones de distracción que se realizan por día) y la tasa o velocidad de distracción (que es la cantidad diaria de hueso ganado entre el hueso basal y el fragmento de transporte, medido generalmente en milímetros por día) (Hariri *et al.*, 2019; Somoza-Martín *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2021).

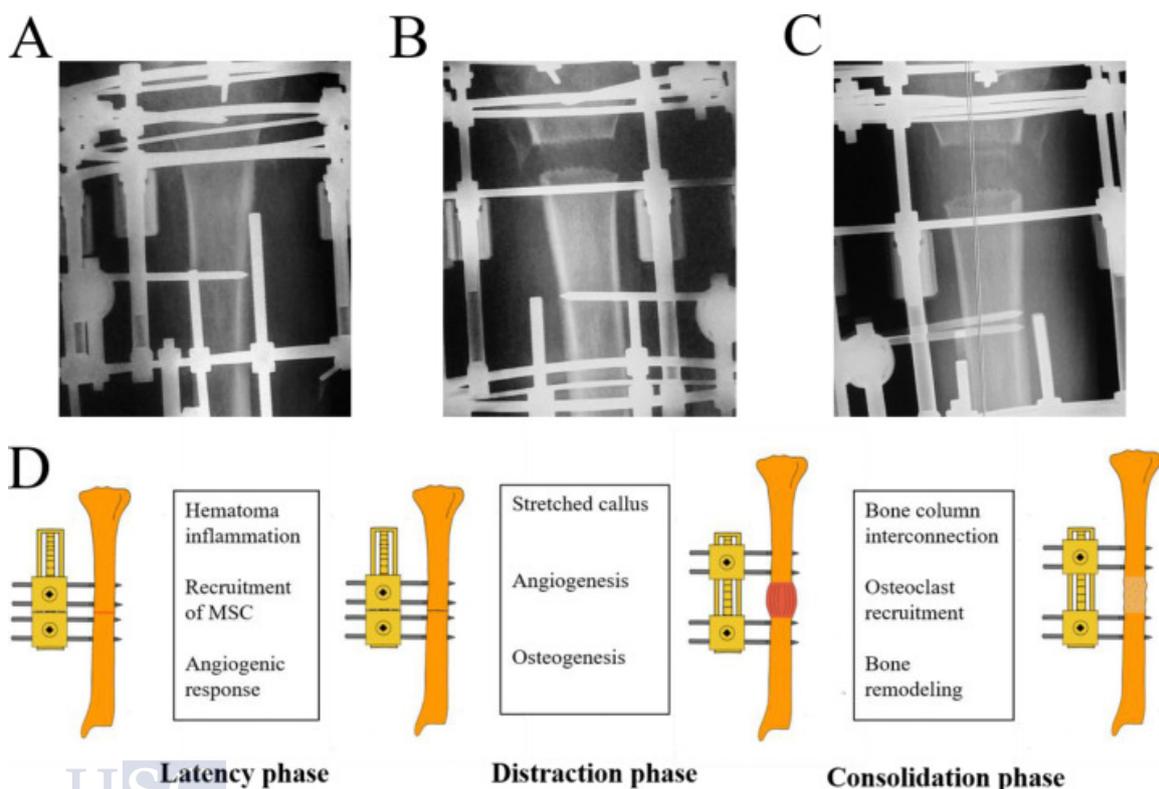


Figura 6. Proceso de distracción osteogénica en un hueso largo. (A) Fase de latencia, (B) Fase de distracción, (C) Fase de consolidación, (D) Diagrama esquemático del proceso de distracción. Los procesos biológicos de la fase de latencia incluyen la inflamación del hematoma, el reclutamiento de células madre mesenquimales y la respuesta de angiogénesis. Los procesos biológicos de la fase de distracción incluyen la formación del callo, la angiogénesis y la osteogénesis. Los procesos biológicos de la fase de consolidación incluyen la formación ósea, el reclutamiento de osteoclastos y la remodelación ósea. Con permiso de reproducción mediante licencia *Creative Commons* (CC BY NC ND 4.0). (Li *et al.*, 2021).

Bernhard von Langenbeck llevó a cabo, en 1869 la primera investigación experimental sobre distracción de huesos largos (Von Langebeck, 1869). El primer estudio sobre distracción oral fue realizado por Rosenthal en 1927 (Saulacic *et ál.*, 2004). Ante las numerosas complicaciones que se presentaron, varios autores criticaron el procedimiento. En el hueso mandibular membranoso humano, la primera distracción osteogénica fue realizada por Snyder *et ál.*, en 1973. Sin embargo, Gabriel Abramowitch Ilizarov ya desarrolló la técnica completa en la década de 1950, realizando numerosos experimentos en perros. Gracias a este autor se logró un gran avance en el uso clínico del procedimiento. Ilizarov también definió la base biológica de la osteogénesis por distracción: (1) la influencia del principio tensión-estrés, (2) la forma ósea y la influencia de la masa, y (3) la influencia de la interacción entre la carga mecánica y el suministro de sangre (Ilizarov, 1989a; b).

Podemos diferenciar entre dos tipos de dispositivos de distracción: extraóseos e intraóseos. Dependiendo de su función, también existe una distinción entre distractores-implantes y distractores. Finalmente, los dispositivos de distracción se pueden clasificar en horizontales o verticales según la dirección del segmento de hueso nuevo regenerado (Esposito *et ál.*, 2010).

En una revisión sistemática, Esposito *et ál.* (2010) no obtuvieron pruebas suficientes sobre cuál era el mejor procedimiento. Sin embargo, informaron que la distracción osteogénica alveolar vertical (VAOD) tenía la mejor capacidad de regeneración vertical entre los procedimientos existentes.

7.2 Biología de la distracción osteogénica.

En la fase de latencia, los segmentos óseos se fijan durante 5-7 días después de la osteotomía, tal y como sugirió Ilizarov en 1989. La expresión de IL-1, IL-6, BMP-2 y BMP-4 se regulan positivamente durante la fase de latencia y posteriormente vuelven a la línea de base (Al-Aql *et ál.*, 2008). Posteriormente, la fase de distracción se realiza a un ritmo/velocidad controlado (alrededor de 1 mm/día) y frecuencia (1-4 veces/día) hasta que se obtiene el alargamiento deseado (Ilizarov, 1989b; Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018). Durante la fase de distracción, la expresión de IL-6 se regula de nuevo, lo que desempeña un papel en la osificación intramembranosa al promover la diferenciación de las células en el linaje osteoblástico (Cho *et ál.*, 2007; Al-Aql *et ál.*, 2008). Se ha demostrado en varios estudios el efecto directo de la tensión mecánica en la mejora de la actividad de los osteoblastos y la promoción de la diferenciación osteoblástica de las MSC (Guo *et ál.*, 2015; Li *et ál.*, 2021; Wu *et ál.*, 2018).

Además, también se ha demostrado que la tensión causada por la distracción podría regular al alza la expresión de neurotróficos (factor de crecimiento nervioso, factor neurotrófico derivado

del cerebro y neurotrófico-3) y sus receptores (quinasas A, B y C relacionadas con la tropomiosina) para mejorar la osteogénesis durante la DO (Aiga *et ál.*, 2006), lo que sugiere la importancia de la respuesta neural inducida por tensión durante la DO. La expresión de IGF-1 y de FGF- β también aumenta durante esta fase (Al-Aql *et ál.*, 2008). Además, VEGF y la expresión de angiopoyetina-1 y -2 se regulan positivamente, estimulando la formación de nuevos vasos y mejorando la plasticidad de los vasos mayores existentes (Pacicca *et ál.*, 2003). La fase de consolidación suele tardar entre medio y un año o más en completarse y contiene un largo período de inmovilización a medida que el callo distraído madura con el soporte mecánico del dispositivo de fijación, lo que mantiene el callo estable y evita la formación de tejido cartilaginoso intermedio. Durante la fase de consolidación, la remodelación ósea comienza permitiendo la formación de hueso laminar con elementos de la médula ósea para ayudar a formar una mejor estructura de remodelación, que puede proporcionar soporte mecánico durante un largo período de tiempo (Hariri *et ál.*, 2019). Los procesos biológicos implicados en la fase de consolidación consisten en la interconexión de las columnas óseas, el reclutamiento de osteoclastos y la remodelación ósea. La expresión de BMP-2, BMP-4 y FGF- β disminuye gradualmente en la fase de consolidación (Al-Aql *et ál.*, 2008). Hacia el final de la fase de consolidación, la expresión de TNF- α aumenta significativamente, lo que sugiere que juega un papel importante en la consolidación ósea (Al-Aql *et ál.*, 2008; Li *et ál.*, 2021).

7.3 Ventajas e inconvenientes

En comparación con otros tratamientos de regeneración tisular, la técnica de distracción presenta varias ventajas, siendo la principal su capacidad de inducir la formación de hueso endógeno (Kempton *et ál.*, 2014; Kong *et ál.*, 2020).

- No presenta morbilidad en el sitio donante.
- Es un procedimiento más sencillo en comparación con otros tratamientos de regeneración.
- La cantidad de hueso ganada es más predecible.
- La tasa de infección y reabsorción ósea es menor.
- La mayoría de las complicaciones son menores.
- Posibilidad de colocación de implantes en el fragmento distraído.
- El período de consolidación es más corto, por lo que el tratamiento tiene una duración más corta.
- Cuando los resultados no son satisfactorios, se pueden utilizar técnicas complementarias.
- Puede estimular la regeneración de los tejidos blandos circundantes, como la piel, los músculos, los tendones y las estructuras neurovasculares al mismo tiempo que se forma el hueso.

La técnica de DO también puede presentar complicaciones (**Tabla 7**) (Cano *et ál.*, 2006; Saulacic *et ál.*, 2009; Borzunov, 2012).

La DO ha alcanzado cierto nivel de aplicación en la cirugía maxilofacial y de implantes como técnica de aumento óseo alveolar. Para la evaluación experimental de la distracción alveolar, necesitamos un modelo biológico adecuado. Este modelo debe ofrecer una cantidad adecuada de hueso para colocar el dispositivo y, posteriormente, diseñar dispositivos de distracción para uso clínico en humanos. Sin embargo, todavía no hay consenso sobre cuál es el modelo biológico animal ideal para la evaluación de la distracción ósea vertical. Las pruebas de distracción alveolar mandibular se han desarrollado en animales pequeños, como ratas o conejos, y en animales medianos y grandes, como perros, ovejas, mini cerdos, cabras y primates. Los primates no humanos podrían representar el modelo biológico ideal para la investigación. Sin embargo, su alto costo, las preocupaciones éticas y el difícil manejo hacen que sea casi imposible. Por todo esto, aún no está definida la selección de un modelo biológico animal para DO (Martínez-González *et ál.*, 2005; García-González *et ál.*, 2020a).

Tabla 7. Principales complicaciones derivadas de la práctica de distracción ósea, prevención y tratamiento (Cano *et ál.*, 2006; Saulacic *et ál.*, 2009; Borzunov, 2012; García-González *et ál.*, 2020a).

Complicación	Prevención	Tratamiento
Infección	Antibióterapia profiláctica e higiene oral	Antibióterapia
Fracturas del hueso basal o segmento de transporte	Utilizar hojas delgadas en la osteotomía y evitar la distracción prematura del hueso	Dejar de distraer. Tratar con técnicas de osteosíntesis
Consolidación prematura	Realizar una osteotomía completa. Utilizar un vector y velocidad de distracción adecuados	Repetir la osteotomía
Retraso de la consolidación por ausencia de unión fibrosa	Perfecta estabilización del dispositivo distractor	No retirar el distractor hasta que el hueso madure. Si no hay unión fibrosa, desbridar y reconstruir con otras técnicas de regeneración
Dehiscencia	Alisar los bordes afilados del segmento de transporte	Suturar para prevenir infección
Desviación del vector de distracción	Evaluación previa de las estructuras (grosor de la mucosa e inserciones linguales y vestibulares)	Corrección temprana con dispositivos correctores de ortodoncia o placas acrílicas
Fracturas del distractor	Evaluación de la oclusión	Retirar fragmentos y reposicionar
Inestabilidad del distractor	Evaluación del modelo de distractor utilizado y la densidad ósea	Depende del distractor utilizado

7.4 Distracción osteogénica alveolar

7.4.1. Anatomía dentaria del perro

Los perros poseen dientes con estructura cónica. Son formaciones duras, blancas o ligeramente amarillentas, implantadas en los alveolos óseos. Tienen dentición difiodonta (se caracterizan por tener una primera dentadura decidua o temporal y una segunda permanente), y heterodonta (más de un tipo de diente: incisivos (I), caninos (C), molares (M) y premolares (PM)). La fórmula dentaria definitiva es la siguiente (**Figura 7**) (Iturriaga *et al.*, 2015):

$$2 (I \ 3/3, C \ 1/1, PM \ 4/4, M \ 2/3), = 42 \text{ dientes.}$$

Los incisivos se sitúan implantados en el maxilar y en la mandíbula. Los caninos se sitúan lateralmente a los incisivos e interrumpen el espacio interalveolar. Premolares y molares forman los lados de la arcada dental. Los premolares se ubican mesial y los molares distalmente. Estos últimos sólo están presentes en la dentición permanente (Fulton *et al.*, 2014).

La estructura básica del diente está compuesta por el esmalte, dentina, cemento, pulpa y periodonto (**Figura 8**) (Gioso y Carvalho, 2005; Eubanks, 2007; Holmstrom, 2012).

- **Esmalte.** Está compuesto por un 96-97% de contenido inorgánico, siendo el tejido más duro y mineralizado del organismo. El esmalte canino es más delgado que el esmalte humano. No posee capacidad reparativa o regeneradora. No está vascularizado.
- **Dentina.** La materia inorgánica supone un 70% de peso húmedo. Su estructura es de tipo tubular. Constituye la mayor parte del diente maduro. A lo largo de la vida del animal, lentamente se va depositando una dentina denominada “dentina secundaria”. En respuesta a traumatismos se formará rápidamente una “dentina reparativa” o “terciaria”.
- **Pulpa.** Está compuesta por tejido conjuntivo y está delimitada por odontoblastos. Contenida en la corona se encuentra la cámara pulpar. El canal radicular constituye la sección de raíz que contiene el tejido pulpar. El ápice radicular es el lugar donde el canal radicular se abre en los tejidos periapicales.
- **Periodonto.** También denominado tejido periodontal. Se trata de una unidad anatómica cuya función es insertar y sujetar el diente al maxilar y a la mandíbula. Proporciona un aparato suspensorio resistente a las fuerzas normales masticatorias. El periodonto está constituido por la encía, el ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar.

Encía. Forma un revestimiento alrededor de cada diente, dando lugar a una encía libre y una encía adherida. El margen de la encía libre forma una invaginación entre diente y encía denominado “surco gingival”, cuya profundidad normal es de 0,5-1 mm en gatos y 1-3 mm en perros.

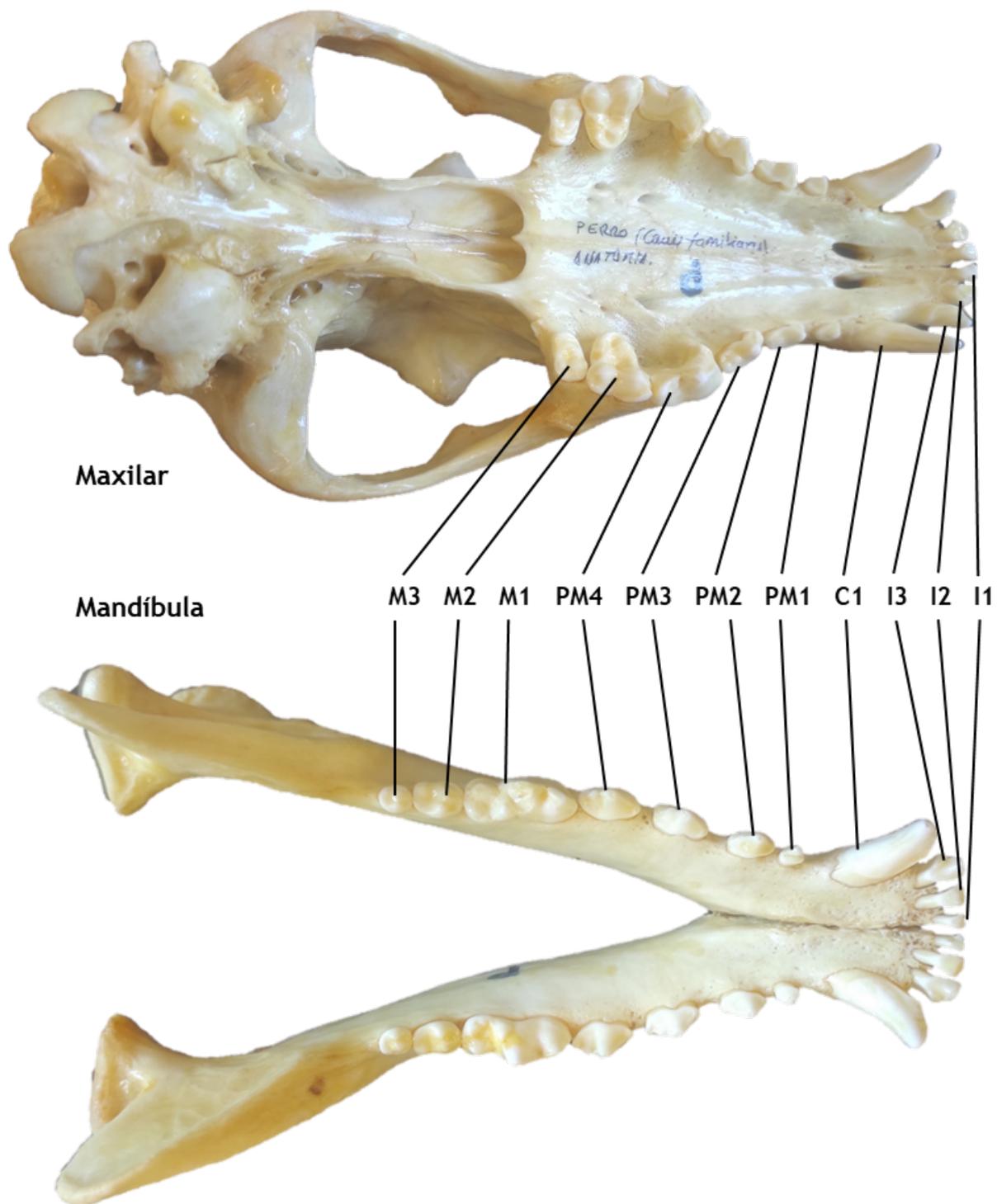


Figura 7. Anatomía dentaria de un perro con erupción permanente (Elaboración propia)

- **Ligamento periodontal.** Es el tejido conjuntivo que une el diente al hueso. Actúa como un ligamento suspensorio para el diente. Está en un estado continuo de actividad fisiológica.

- **Cemento.** Está menos calcificado que la dentina o el esmalte. Se trata de un tejido avascular semejante al hueso. Se va depositando lentamente durante toda la vida del animal. Puede desarrollar procesos de reparación y reabsorción.

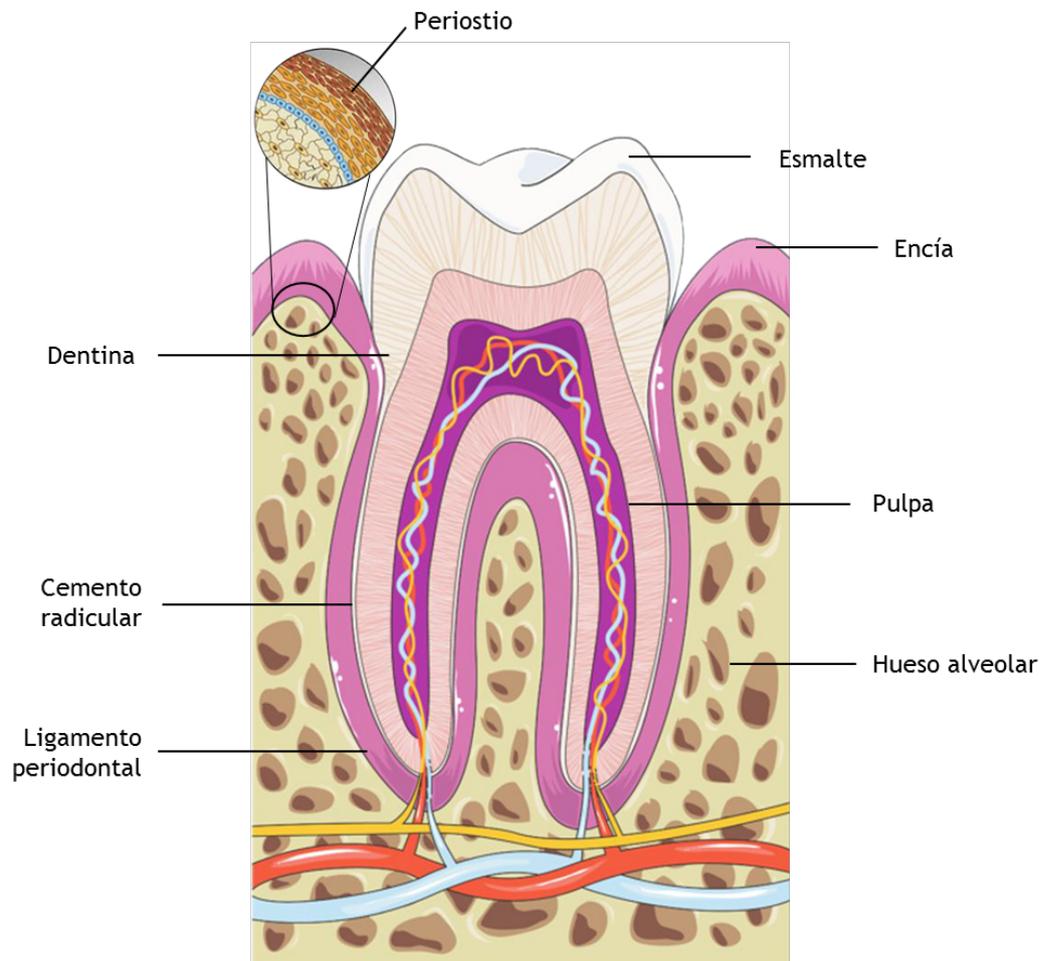


Figura 8. Partes de una pieza dental (Adaptado de Servier Medical Art, con licencia de reproducción Creative Commons Attribution 3.0).

7.4.2. El hueso alveolar

El proceso o apófisis alveolar es la parte de los maxilares (superior e inferior) que alberga los alvéolos de los dientes, es decir, son las cavidades óseas cónicas que alojan las raíces de los dientes. El desarrollo y remodelación del hueso alveolar viene dado en sincronía con la formación y erupción de los dientes. La forma y el volumen del hueso alveolar viene determinado por el eje de erupción, la inclinación y la forma final de los dientes (Lindhe y Berglundh, 2005).

7.4.2.1 Componentes del hueso alveolar.

El hueso alveolar posee dos componentes: el hueso alveolar de la apófisis alveolar y el hueso alveolar propiamente dicho.

- **Hueso alveolar propiamente dicho.** También se denomina hueso alveolar fascicular, fasciculado o *bundle bone*. Se trata del hueso que reviste los alveolos y en el que se insertan los haces de fibras colágenas del ligamento periodontal, las cuales se denominan fibras de Sharpey. El hueso alveolar propiamente dicho también se denomina placa cribiforme ya que está perforado por los conductos de Volkman por donde discurren los vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras nerviosas, las cuales conectan los espacios medulares del hueso alveolar con el ligamento periodontal (Cate, 1997). Radiográficamente presenta radio opacidad elevada ya que está formado por hueso compacto y no contiene trabéculas. Por ello, también se le denomina lámina dura (**Figura 9B**) (Lindhe y Berglundh, 2005).
- **Hueso alveolar de la apófisis alveolar.** Se trata del componente del proceso alveolar que se continúa de forma ininterrumpida, por un lado, con el hueso alveolar propiamente dicho, con el cual forma una unidad anatómica, y por otra, con el hueso basal de los maxilares. Sobre la superficie ósea externa se insertan las fibras del periostio, las cuales permiten una unión firme entre dicha superficie ósea y el periostio (Saffar *et ál.*, 1997).

7.4.2.2 Anatomía macroscópica alveolar

El hueso alveolar consta de una cortical externa, una parte esponjosa central y hueso cortical que rodea el alveolo que es el denominado hueso fascicular. Las corticales externas y el hueso que rodea el alvéolo se encuentran en la cresta alveolar. Esta se alberga normalmente de 1,5 a 2 mm por debajo de la unión amelocementaria del diente que aloja (Nanci, 2017). En cada alvéolo dentario se pueden diferenciar dos tipos de paredes: las corticales alveolares libres y los tabiques alveolares (Campos-Muñoz y De Ferraris, 2002):

- ✓ Las **corticales alveolares libres** (palatina o lingual y vestibular o bucal). Pueden ser observadas realizando un corte vestibulo/bucal-lingual/palatino del proceso alveolar. Cada una presenta una cara alveolar que se denomina cortical periodóntica y otra libre que se denomina cortical perióstica. Entre las tablas corticales se encuentra el hueso trabecular o esponjoso. En el maxilar superior las corticales vestibulares son bastante más delgadas que las palatinas, en especial a nivel de los incisivos y caninos. En el maxilar inferior las corticales vestibulares son mucho más delgadas que las linguales en

la zona de los incisivos y premolares, mientras que en la región molar el hueso alveolar es más grueso por la región vestibular.

- ✓ Los **tabiques alveolares**. Pueden ser observados realizando un corte mesio-distal del proceso alveolar. Se denominan tabiques interdentarios cuando separan los alveolos de dos dientes consecutivos, e interradiculares si separan dos divertículos de un mismo alvéolo (**Figura 9A**). Los tabiques siempre van a presentar abundante cantidad de tejido óseo esponjoso revestido por dos corticales compactas, ambas periodónticas.

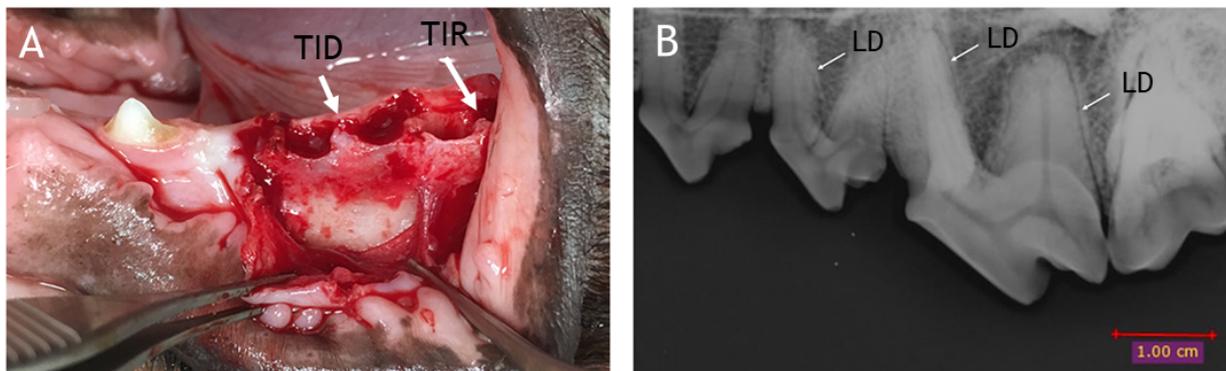


Figura 9. Hueso alveolar. (A) Mandíbula izquierda de un perro, con premolares PM3-PM4 y molar M1 extraídos. TIR: tabique interradicular; TID: tabique interdental. (B) Imagen radiográfica de la región premolar y molar del maxilar izquierdo de un perro. LD: lámina dura (Elaboración propia).

El tejido esponjoso del hueso alveolar contiene trabéculas óseas cuyas dimensiones y arquitectura van a depender en parte genéticamente y en parte serán resultado de las fuerzas a las cuales están expuestos los dientes durante su funcionamiento. Las cavidades de tejido esponjoso están ocupadas por la médula ósea. (Lindhe y Berglundh, 2005).

La cortical externa del hueso alveolar está revestida por el periostio en cuya capa más superficial se encuentran haces de fibras de colágeno que penetran en el tejido óseo alveolar manteniéndole firmemente unido. Las células osteoprogenitoras de la parte interna del periostio desempeñan un papel crucial en el crecimiento del hueso alveolar y en la reparación de fracturas. La esponjosa central del hueso alveolar está recubierta por el endostio (Schenk y Buser, 1998).

7.4.2.3 Histología del hueso alveolar

Histológicamente, se pueden distinguir dos tipos de hueso alveolar: un hueso alveolar inmaduro, primario o reticular, y un hueso alveolar maduro, secundario o laminar. Ambos tejidos poseen una matriz y composición celular similar, diferenciándose en su estructura histológica (Schenk y Buser, 1998).

- **Hueso alveolar inmaduro, primario o reticular.** Las fibras colágenas se distribuyen de manera irregular, sin una orientación definida. La cantidad de minerales es menor y posee mayor cantidad de osteocitos que el hueso alveolar secundario. Funcionalmente,

tiene una capacidad de carga reducida. Inicialmente, se forma para ser reemplazado gradualmente por el hueso alveolar secundario. Se alberga en los huesos maxilares durante el desarrollo embrionario y durante el proceso de formación y crecimiento de los procesos alveolares. En el adulto, se observa durante la cicatrización de los alveolos tras una extracción, siendo el primer tipo de hueso que se forma (Saffar *et ál.*, 1997; Lindhe y Berglundh, 2005). El tejido inmaduro aparece por primera vez a los catorce días de curación, con alto contenido celular y vascular (Cardaropoli *et ál.*, 2003). En humanos, cuando se activa la osteointegración tras la colocación de implantes, es el primer tejido que se forma, produciéndose tejido reticular entre las cuatro y seis semanas tras la intervención (Schenk y Buser, 1998).

- **Hueso alveolar maduro, secundario o laminar.** Generalmente se encuentra en el individuo adulto. Se caracteriza principalmente por estar compuesto de fibras colágenas paralelas entre si organizándose en láminas. Entre ellas se sitúan las lagunas que albergan osteocitos. El colágeno de estas fibras es sintetizado por los fibroblastos del ligamento periodontal (Saffar *et ál.*, 1997).

7.4.2.4 Funciones del hueso alveolar

El periodonto conforma los tejidos que dan soporte y donde se insertan los dientes. Está conformado por el hueso alveolar, la encía y el ligamento periodontal (Cate, 1997). Funcionalmente, el hueso alveolar va a depender de los dientes, por lo que se puede diferenciar en hueso de sostén y hueso de inserción (Campos-Muñoz y De Ferraris, 2002):

- **Hueso de inserción.** Se trata de la parte del proceso alveolar donde se insertan las fibras periodontales y se corresponde con el hueso alveolar fasciculado o propiamente dicho. Esta porción, junto con el ligamento periodontal y el cemento radicular conforman el aparato de inserción del diente cuya función principal consiste en distribuir y absorber las fuerzas generadas por la masticación y otros contactos dentarios (Lindhe y Berglundh, 2005). Posteriormente a la extracción dental, el hueso fasciculado pierde su funcionalidad, desapareciendo gradualmente en las fases tempranas de la cicatrización (Cardaropoli *et ál.*, 2003; Lindhe y Berglundh, 2005).
- **Hueso de sostén.** Está formado por el resto de tejido óseo del borde alveolar y funcionalmente se encarga de dar soporte a los dientes (Lindhe y Berglundh, 2005).



7.4.2.5 Modelado y remodelado alveolar

Una vez formado y mineralizado, el hueso alveolar es un tejido que comienza a ser reformado y renovado mediante procesos de reabsorción y de aposición, mediante modelado y remodelado, que suceden a lo largo de toda la vida y permiten la adaptación a las demandas externas e internas del organismo (Lindhe *et ál.*, 2005).

- ✓ **Modelado alveolar.** Se trata de un proceso que permite un cambio en la arquitectura inicial del hueso alveolar (Lindhe *et ál.*, 2005), asegurando la formación ósea durante la remodelación ósea (Saffar *et ál.*, 1997).
- ✓ **Remodelado alveolar.** Se trata de un cambio que ocurre dentro del hueso alveolar mineralizado sin alteración en la arquitectura del tejido. El remodelado es un proceso importante durante la formación del hueso alveolar ya que hace posible la sustitución del hueso alveolar reticular o primario, con poca capacidad para soportar cargas, por hueso alveolar laminar, el cual es más resistente a la hora de soportar cargas. El proceso de remodelado afecta al hueso cortical así como al hueso esponjoso alveolar, siendo un proceso similar al del tejido óseo (Lindhe *et ál.*, 2005).

7.4.3. Distracción osteogénica alveolar vertical y horizontal

El procedimiento de distracción por osteogénesis alveolar vertical (VAOD) u horizontal (HAOD) es un remedio eficaz para la formación de tejido blando y hueso en áreas atróficas o con poca altura o grosor de hueso alveolar, en las cuales se hace muy difícil la rehabilitación con implantes dentales (Esposito *et ál.*, 2009).

Sobre el segmento de transporte y el hueso basal, se coloca un dispositivo de distracción después de realizar una osteotomía en el hueso alveolar. Debe mantenerse el flujo sanguíneo del periostio para que el segmento de transporte permanezca vascularizado (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018).

Posteriormente, el segmento de transporte se somete a fuerzas de tracción graduales para alejarse del hueso basal. Este procedimiento activa el mecanismo que promoverá la regeneración ósea y la madurez del callo de distracción creado (García-García *et ál.*, 2004; Somoza-Martín *et ál.*, 2020).



7.5 Distracción perióstica

Como ya se ha mencionado anteriormente, la DO consiste en la separación gradual de dos segmentos óseos después de una osteotomía o corticotomía. Puede generar suficiente hueso,

pero es invasivo, la implicación del paciente es necesaria y la duración del tratamiento puede ser larga. Como ya se ha mencionado, la GBR consiste en cubrir el defecto óseo con una membrana, que evita la invasión de tejidos blandos en la región a aumentar y mantiene el coágulo sanguíneo. Su principal desventaja es la calidad del hueso regenerado y la limitada capacidad de aumento óseo vertical (Zhao *et ál.*, 2016). En los últimos años ha surgido una nueva técnica, denominada osteogénesis por distracción perióstica (DP). La DP se considera como la combinación de la DO y la GBR, ya que su objetivo es crear un espacio entre el periostio y la superficie ósea mediante la separación del periostio, junto con la piel y el músculo (**Figura 10**). La DP no requiere osteotomía en comparación con la DO. Además, la morbilidad del sitio donante puede evitarse ya que no se requiere la extracción ósea y no presenta complicaciones inmunitarias. La principal limitación es que la técnica requiere profesionales altamente cualificados (Tudor *et ál.*, 2010).

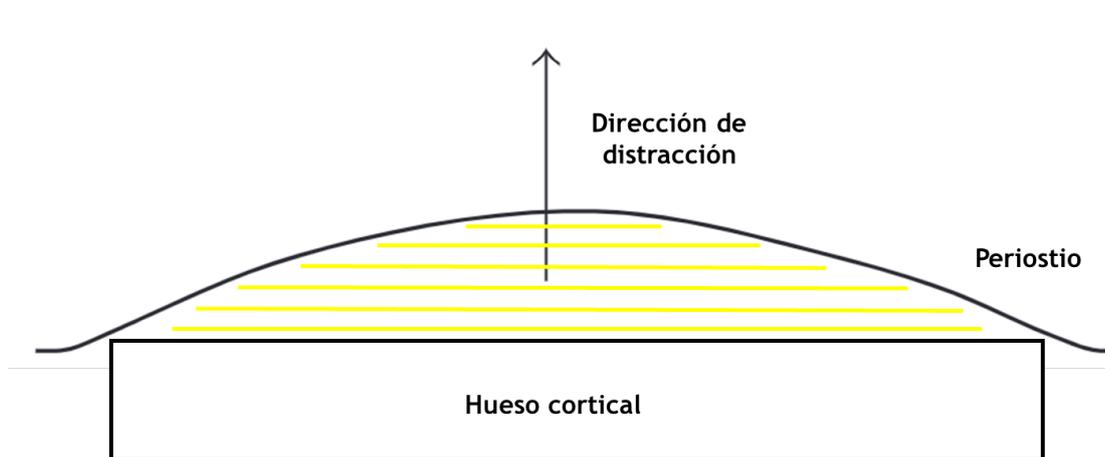


Figura 10. Mecanismo de distracción perióstica. Las líneas amarillas definen el espacio artificial creado para la regeneración ósea (Elaboración propia)

El periostio juega un papel importante en la distracción osteogénica debido a su capa interna muy vascularizada, denominada “cambium”. Esta capa contiene muchas células madre, que tienen capacidad de osteogénesis (Zhao *et ál.*, 2016; García *et ál.*, 2018).

La técnica de distracción perióstica se puede utilizar para la reconstrucción de defectos óseos en la región cráneo-maxilofacial o en neurocirugía; solucionar problemas de déficit óseo en el hueso alveolar para implantología oral; o para los déficits de volumen que a veces ocurren en distracciones verticales o cuando se utilizan injertos óseos (Kessler *et ál.*, 2007; Zhao *et ál.*, 2020).

La DP comprende las siguientes etapas: (A) cirugía, (B) latencia, (C) distracción y (D) consolidación (García *et ál.*, 2018). Los primeros autores que estudiaron la técnica de DP en la

formación ósea fueron Schmidt *et ál.*, en 2002, quienes realizaron un estudio en la región mandibular de conejos.

Desde entonces, se han realizado varios ensayos para estudiar la formación ósea mediante la técnica de DP. Sin embargo, aún no se ha llegado a un consenso sobre el protocolo ideal para realizar la intervención, ya que existe una gran diversidad de variables, como los modelos animales utilizados, dispositivos, sitios anatómicos o variaciones en la técnica quirúrgica (en términos de período de latencia, frecuencia y activación del dispositivo y período de consolidación) (García *et ál.*, 2018; García-González *et ál.*, 2021).

8. RELLENOS ÓSEOS

8.1 Contextualización

Actualmente, los rellenos óseos, también llamados injertos óseos, son muy utilizados en medicina ortopédica y cirugía dental y maxilofacial para regenerar, reparar o reemplazar piezas dentales o defectos óseos. Entre sus principales aplicaciones se encuentran la reconstrucción de defectos óseos, las malformaciones congénitas o las atrofias óseas. Además, se utilizan para promover la regeneración ósea en lesiones o daños tisulares traumáticos (López-Álvarez *et ál.*, 2017). En cirugía maxilofacial y dental, los andamios de injerto óseo se utilizan comúnmente para contribuir al entorno adecuado para la regeneración periodontal y la elevación del seno maxilar, para reparar defectos después de la extracción de dientes y/o en casos de colocación de implantes (Mastrogiacomo *et ál.*, 2005; León y Jansen, 2009; Campos *et ál.*, 2018).

En el ámbito de la ortopedia veterinaria, el *gold standard* sigue siendo la utilización de injertos autógenos de hueso esponjoso fresco para mejorar la curación de defectos. Sin embargo, durante las últimas dos décadas, la aplicación de rellenos óseos sintéticos ha ido en aumento (Pinto *et ál.*, 2016).

Los injertos alogénicos (cadavéricos) y los injertos óseos bovinos desproteinizados (xenogénicos) también se utilizan por su mayor osteoconducción, junto con el rendimiento mecánico de los tejidos reparadores (López-Álvarez *et ál.*, 2017).

En el caso de los aloinjertos, se han utilizado principalmente como sustitutos de los injertos óseos autógenos, pero se han observado problemas importantes como la baja tasa de fusión ósea y el riesgo de transmisión de enfermedades (Chazono *et ál.*, 2004). El hueso bovino desproteinado ha mostrado muy buenas propiedades por su excelente capacidad osteoconductor y biocompatibilidad (Artzi *et ál.*, 2004), así como por su permanencia a largo plazo dentro de la matriz del hueso huésped (Piattelli *et ál.*, 1999).

El descubrimiento de cerámicas de fosfato cálcico y otros biomateriales relacionados ha proporcionado un mejor control del proceso de reabsorción mejorando la capacidad de los materiales en la regeneración ósea (Pinto *et ál.*, 2016; Campos *et ál.*, 2018).

La hidroxiapatita (HA) es el principal componente inorgánico del hueso de los vertebrados y también forma parte de la dentina y el esmalte dental (Boskey, 1997). Las características de la HA se han investigado durante varias décadas. Posner *et ál.*, (1958) propusieron su estructura cristalina a partir del análisis de un monocristal (Posner *et ál.*, 1958; Ivanova *et ál.*, 2001). Su carácter iónico la convierte en una cerámica rígida, refractaria (Williams y Simkins, 1990) e insoluble (Park y Lakes, 2007), con un punto de fusión superior a los 1.500°C (Williams y Simkins, 1990).

La HA se puede obtener sintéticamente, y tiene propiedades de biocompatibilidad, no toxicidad, estabilidad química, osteoconducción y bioactividad. Estas propiedades hacen que el material sea muy práctico para usos médicos. Se puede utilizar como reemplazo de partes pequeñas de hueso, refuerzo en materiales compuestos, relleno de cavidades en odontología y recubrimiento de superficies metálicas para implantes (Ratner y Hoffman, 2004; Lazaruc *et ál.*, 2016).

Las fuentes sintéticas, a diferencia de las naturales, además de los buenos resultados en cuanto a osteointegración, brindan alta disponibilidad, reproducibilidad innata y versatilidad para integrarse en formulaciones concretas para aplicaciones específicas. Por tanto, Landi *et ál.*, (2013) revelaron que la HA tiene un alto potencial como sustituto óseo en la respuesta celular. Los materiales compuestos se propusieron como otra estrategia para incrementar la osteoconductividad y biocompatibilidad, proporcionando una adecuada reabsorción. También se ha probado la regeneración ósea en modelos animales con HA y sulfato de calcio deshidratado reabsorbible (Shih *et ál.*, 2013). Chazono *et ál.*, en 2004 obtuvieron una alta tasa de aposición de minerales en defectos óseos de conejo con polvo de fosfato β -tricálcico (β -TCP) altamente puro mezclado con ácido hialurónico, en comparación con β -TCP puro en bloques. Los vidrios bioactivos son materiales muy activos que inducen la regulación positiva de genes relacionados con la diferenciación y proliferación de osteoblastos. Como resultado, tienen un excelente comportamiento biológico gracias a sus características osteoconductoras (Lee *et ál.*, 2010; Soares *et ál.*, 2018).

Algunos informes de casos proporcionaron detalles sobre el uso de diferentes sustitutos óseos en el campo veterinario. Uno de ellos es una corrección exitosa de una deformidad ósea en la que la tibia distal se gira hacia adentro, hacia el cuerpo (*pie varo*) en dos *teckels*. Para ello, se utilizó una cuña sintética de β -TCP para rellenar los defectos realizados con osteotomías. Ocho semanas después de la intervención, se integró el hueso. Los bloques de TCP se reabsorbieron

por completo después de 4 meses y se observó remodelación en el sitio de la osteotomía (Izumisawa *et ál.*, 2005; Ulery *et ál.*, 2011).

En otra investigación, se utilizó otro método mezclando gránulos de β -TCP con la propia sangre del paciente y se utilizó como sustituto óseo en defectos localizados en huesos largos de 13 pacientes (Campos *et ál.*, 2018). Además, se investigó el tratamiento de una pseudoartrosis atrófica en el área del radio distal de un Yorkshire Terrier, utilizando un andamio de β -TCP impreso en tres dimensiones con proteínas morfogenéticas (Franch *et ál.*, 2006).

El futuro de la ingeniería tisular y de la medicina regenerativa depende, entre otros recursos, del uso de biomateriales que imiten lo más posible la función de los tejidos, es decir, que posean características biomiméticas, biocompatibles y biodegradables, que propicien y estimulen el proceso de angiogénesis y, con preferencia, que sean estructuras tridimensionales estimuladoras de la respuesta natural de la curación de los tejidos, de los mecanismos propios de reparación y del proceso de regeneración.

Entre las metas de la ingeniería tisular está el desarrollo de biomateriales con una función estructural y propiedades biológicas que propicien y permitan el crecimiento directo, la diferenciación y la organización del complejo celular durante el proceso de formación funcional de los tejidos, con espacios físicos y químicos para el desarrollo de estos.

8.2 *Biofast Vet*: un relleno óseo de origen marino

En la actualidad se están realizando numerosas investigaciones para obtener biomateriales de origen marino. Se ha demostrado que el colágeno fibrilar del erizo de mar (*Paracentrotus lividus*) es un biomaterial muy valioso para la producción de andamios similares a la piel (Ferrario *et ál.*, 2020). También se han estudiado biopolímeros extraídos de lombrices de mar (*Arenicola marina*) y se han empleado como transportadores de oxígeno para la curación de heridas gingivales (Batoool *et ál.*, 2020) o para la conservación de órganos vitales en humanos, como el riñón, corazón y pulmón (Thuillier *et ál.*, 2011; Mallet *et ál.*, 2014; Teh *et ál.*, 2017; Glorion *et ál.*, 2018; Le Meur *et ál.*, 2020).

Investigaciones recientes han demostrado la posibilidad de obtener sustitutos óseos de origen marino, como el *Biofast-Vet* (BV). Este novedoso producto fue diseñado para reparar y regenerar el tejido óseo. Está compuesto por un material cerámico obtenido de la revalorización de un subproducto del pescado, los dientes de tiburón (*Prionace glauca*). Es una materia prima muy abundante y de bajo costo en la actualidad (López-Álvarez *et ál.*, 2016, 2017; Aguiar *et ál.*, 2018).

Se ha estudiado la composición, morfología y caracterización de estas bioapatitas marinas mediante espectroscopia Raman y difracción de rayos X (Whitenack *et ál.*, 2011; Boutinguiza *et ál.*, 2012; Enax *et ál.*, 2012; López-Álvarez *et ál.*, 2016, 2017; Aguiar *et ál.*, 2018). Se reveló una estructura porosa globular con composición bifásica ~ 70% apatítica (HA, apatita-CaP, fluorapatita) y ~ 30% de fase no apatítica (whitlockita, β -TCP) y contribuciones de F, Na y Mg. Esta composición y estructura promovieron una densidad mineral ósea significativamente mayor en un modelo de roedor después de 3 semanas de cicatrización en comparación con un injerto óseo bifásico comercial HA / β -TCP (60% / 40%) ($P < 0,05$). Además, las biocerámicas marinas de 1 mm de diámetro desarrollaron una mayor osteointegración y crecimiento horizontal del tejido óseo en el área central del defecto que otras de otro tamaño (López-Álvarez *et ál.*, 2017; Aguiar *et ál.*, 2018).

Una ventaja es que este biomaterial es respetuoso con el medio ambiente, ya que se trata de un producto natural, da valor a los desechos de los peces y reduce el riesgo de transmisión de enfermedades al provenir de una especie filogenéticamente alejada de nuestra especie doméstica (López-Álvarez *et ál.*, 2017).

OBJETIVOS

OBJETIVOS

El objetivo general de este estudio es evaluar la efectividad de dos tecnologías de regeneración ósea en defectos óseos mandibulares y apendiculares en modelos animales.

Los objetivos específicos son los siguientes:

- Evaluar los modelos animales empleados en estudios preclínicos de distracción osteogénica alveolar vertical y distracción perióstica.

Se aborda en las publicaciones 1 y 2.

- Realizar un estudio preclínico en el perro para evaluar el potencial de un “protocolo de bombeo” sobre la regeneración ósea de la mandíbula empleando un distractor alveolar perióstico.

Se aborda en la publicación 3.

- Realizar un estudio clínico preliminar para evaluar la aplicación de bioapatitas marinas derivadas de dientes de tiburón como sustituto óseo en defectos óseos apendiculares en perros y gatos.

Se aborda en las publicaciones 4 y 5.

MATERIAL Y MÉTODOS



MATERIAL Y MÉTODOS

A. ¿INFLUYE EL MODELO ANIMAL EN LOS ESTUDIOS DE DISTRACCIÓN OSTEOGÉNICA ALVEOLAR VERTICAL? REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA

Esta revisión sistemática se ha llevado a cabo siguiendo las normas PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*) (ANEXO II) (Moher *et al.*, 2009). No se requirió aprobación ética para esta revisión. La búsqueda bibliográfica se realizó en las siguientes bases de datos de ciencias de la salud: *PubMed*, *Scopus* y *Web of Science* (WOS), limitando la búsqueda hasta diciembre de 2019. Esta búsqueda fue realizada de forma manual durante el mes de diciembre de 2019 por dos revisores.

Los **criterios de selección** incorporaron permutaciones de los siguientes términos: “distracción vertical alveolar”, “implante dental”, “modelo animal”, “modelo biológico”, “cresta alveolar”, “distracción de la cresta alveolar vertical”, “osteogénesis por distracción”, “cresta alveolar”. “aumento de cresta”, “pérdida de hueso alveolar”, “mandíbulas atróficas”.

Metodología PICO (*Patient, Intervention, Comparison, Outcome*). Modelos animales (P = pacientes), estudios experimentales (I = intervención), de diferentes especies (C = comparación), utilizados para VAOD (O = resultado). Pregunta PICO: ¿Cuál es el modelo animal más apropiado para usar en los estudios experimentales de VAOD?

Criterio de inclusión. Los estudios han sido seleccionados de acuerdo con el siguiente patrón:

1. Estudios experimentales de distracción ósea alveolar dirigida al aumento vertical.
2. Animales utilizados como modelos biológicos.
3. Artículos en inglés.

Evaluación de la calidad. Utilizamos una versión de la escala Newcastle-Ottawa (NOS) para evaluar la calidad de los estudios con un máximo de 9 puntos (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018). Dentro del análisis, los estudios se definieron como de baja calidad (1–3), calidad media (4–6) o alta calidad (7–9). Dos revisores evaluaron la calidad de los estudios por duplicado y de forma independiente.

Análisis y extracción de parámetros de interés. Los estudios se evaluaron analizando los siguientes elementos: número de animales utilizados (número de pacientes), edad, peso, detalles del distractor, número de distractores utilizados, número de segmentos de distracción, ubicación del distractor (mandíbula/maxilar y sitio del segmento), fases del procedimiento (fase de latencia, fase de activación y fase de consolidación), tasa y frecuencia de distracción, ganancia ósea vertical obtenida al final del estudio, especificación del análisis del método de cuantificación y descripción de las complicaciones observadas.

En cuanto a los estudios en los que se observaron complicaciones, se clasificaron en menores y mayores (Enislidis *et ál.*, 2005). Además, se detalló la fase en la que se observaron (Saulacic *et ál.*, 2008).

Análisis estadístico. Se realizó un análisis descriptivo (media \pm desviación estándar; mediana, si corresponde). El acuerdo entre revisores se cuantificó utilizando el estadístico kappa (k) para la evaluación de la calidad de los estudios. El análisis estadístico se realizó utilizando SigmaPlot[®] 12.5 para Windows (Systat Software Inc., San José, CA, EE. UU.).

B. REVISIÓN SISTEMÁTICA Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD UTILIZANDO LAS GUÍAS ARRIVE 2.0 EN MODELOS ANIMALES UTILIZADOS PARA OSTEOGÉNESIS POR DISTRACCIÓN PERIÓSTICA

Esta revisión sistemática sigue las pautas *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Moher *et ál.*, 2009) y el protocolo de revisión sistemática animal realizado por de Vries *et ál.*, en 2015. Los estudios se han recopilado de las siguientes bases de datos de ciencias de la salud: *PubMed*, *Web of Science* (WOS) y *Scopus*, limitando la búsqueda hasta diciembre de 2020. Esta recolección fue realizada de forma manual durante el mes de diciembre de 2020 por dos revisores.

La **estrategia de búsqueda** utilizó las siguientes cláusulas:

- Modelo animal **Y** estudios preclínicos **Y** (osteogénesis por distracción perióstica **Ó** distracción por osteogénesis **Ó** periostio).
- Osteogénesis por distracción perióstica **Y** (aumento óseo **Ó** regeneración ósea).
- Distracción animal **Y** perióstica.

Metodología PICO (*Patient, Intervention, Comparison, Outcome*). Modelos animales (P = pacientes), estudios preclínicos (I = intervención), de diferentes especies (C = comparación), utilizados para DP (O = resultado). Pregunta PICO: ¿Cuál es el modelo animal más apropiado para utilizar en los procedimientos preclínicos de DP?

Criterios de inclusión.

1. Estudios experimentales de distracción perióstica destinados a la regeneración ósea con animales utilizados como modelos biológicos.
2. Estudios indexados en el *Journal Citation Reports* (JCR).
3. Artículos en inglés.

Evaluación de la calidad. Se utilizaron las pautas ARRIVE 2.0 (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) para informar la investigación con animales y evaluar la calidad de los estudios (du Sert *et ál.*, 2020). Para evaluar los 21 ítems, se indicó con “reportado (= 2 puntos)” si la publicación cumplía con todos los subítems, “no reportado (= 0 puntos)” si no los cumplía y “poco claro (= 1 punto)” si no se proporcionaron los detalles suficientes para todos los subelementos. De esta forma, se aplicó a cada estudio un coeficiente de calidad predefinido (0,8–1 Excelente, 0,5–0,8 Medio, <0,5 Pobre) (Schwarz *et ál.*, 2012; Delgado-Ruiz *et ál.*, 2015), calculado como la suma de todos los puntos obtenidos para cada estudio, y dividido por 42 (el máximo de puntos posibles por estudio). Para evaluar los ítems se calculó el porcentaje de ítems informados, no informados o poco claros y el coeficiente. Los ítems evaluados según ARRIVE 2.0 se dividieron en dos grupos. Por un lado, los 10 esenciales: (1) diseño del estudio, (2) tamaño de la muestra, (3) criterios de inclusión y exclusión, (4) aleatorización, (5) cegamiento, (6) análisis de resultado, (7) métodos estadísticos, (8) animal de experimentación, (9) procedimientos experimentales, (10) resultados. Por otro lado, el conjunto de ítems recomendado: (11) resumen, (12) antecedentes, (13) objetivos, (14) declaración ética, (15) alojamiento y manejo, (16) cuidado y monitoreo de animales, (17) interpretación/implicaciones científicas, (18) generalizabilidad/traducción, (19) registro de protocolo, (20) acceso a datos, (21) declaración de intereses.

Riesgo de sesgo. El riesgo de sesgo se evaluó utilizando la herramienta *Systematic Review Center for Laboratory Animal Experimentation* (SYRCLE) para estudios con animales (Hooijmans *et ál.*, 2014). La herramienta de riesgo de sesgo se compone de 10 ítems con preguntas de señalización específicas. Para asignar una evaluación de alto, bajo o poco claro riesgo de sesgo a cada ítem, se indicó como “Sí” cuando el riesgo de sesgo es bajo, “no” indicó alto riesgo de sesgo y “poco claro” indicó que los detalles son insuficientes para evaluar adecuadamente el riesgo de sesgo. Los ítems tenían un riesgo de sesgo incierto si una o más sub-preguntas se cumplían parcialmente y alto riesgo de sesgo si una o más sub-preguntas no se cumplían. La calidad y el riesgo de sesgo de los estudios fue evaluado de forma independiente y por duplicado por dos revisores y el nivel de acuerdo entre ambos se calculó mediante el estadístico Kappa.

Análisis y extracción de parámetros de interés. Los estudios fueron valorados según los siguientes ítems: modelo animal (especie, raza, sexo, edad, peso y número de pacientes), dispositivo (tipo de distractor, número de dispositivos utilizados y región anatómica), fases de distracción (latencia, activación (distracción) y consolidación), tasa y frecuencia de distracción, métodos de evaluación, resultados (histología cualitativa, densidad mineral ósea (BMD), volumen óseo, fracción volumétrica ósea (BV/TV), área de hueso nuevo (NBA), % de hueso nuevo (% NB), grosor trabecular (Tb.Th), ganancia de altura y/o anchura y complicaciones observadas. En cuanto a los estudios en los que se informaron complicaciones, se clasificaron en menores y mayores (Enislidis *et ál.*, 2005). Además, se detalló la fase en la que se observaron (Saulacic *et ál.*, 2007).

Análisis estadístico. Se calculó el análisis descriptivo (media \pm desviación estándar; mediana, si corresponde). El acuerdo entre revisores se cuantificó utilizando el estadístico kappa (k) para la evaluación de la calidad de los estudios. El análisis estadístico se realizó utilizando SigmaPlot® 12.5 para Windows (Systat Software Inc., San José, CA, EE. UU.).

C. REGENERACIÓN DEL HUESO CRANEOFACIAL INDUCIDA POR EL BOMBEO DEL PERIÓSTIO

Biomaterial empleado. Se utilizaron dispositivos de distracción hechos a medida, fabricados en titanio (**Figura 11**). Los dispositivos de distracción estaban compuestos por elementos internos y externos. El elemento interno consta de una placa de distracción y una placa de fijación. El elemento externo tiene un mecanismo de activación y dos

extensiones laterales. Al girar el tornillo de activación, la placa de distracción tira hacia arriba, lo que da como resultado un movimiento angular de la placa de distracción del hueso prístino (primitivo u original).

Modelo animal y condiciones ambientales. Se utilizaron ocho perros Beagle machos (edad $18,12 \pm 1,64$ meses, peso medio $14,01 \pm 1,88$ kg). Los animales se alojaron en una perrera de grupo con áreas interiores (temperatura de 20-22 C con luz natural y renovación de aire) y áreas al aire libre. El protocolo de estudio siguió las directrices de la Directiva del Consejo de la Unión Europea de 1 de febrero de 2013 (R.D.53/2013), y fue aprobada por el Comité Ético de la Fundación Rof Codina, Lugo, España (AELU001 / 66548 / RX 1548438). Después de la primera cirugía y durante todo el período de estudio, los perros recibieron una dieta de alimentos blandos y agua *ad libitum*.

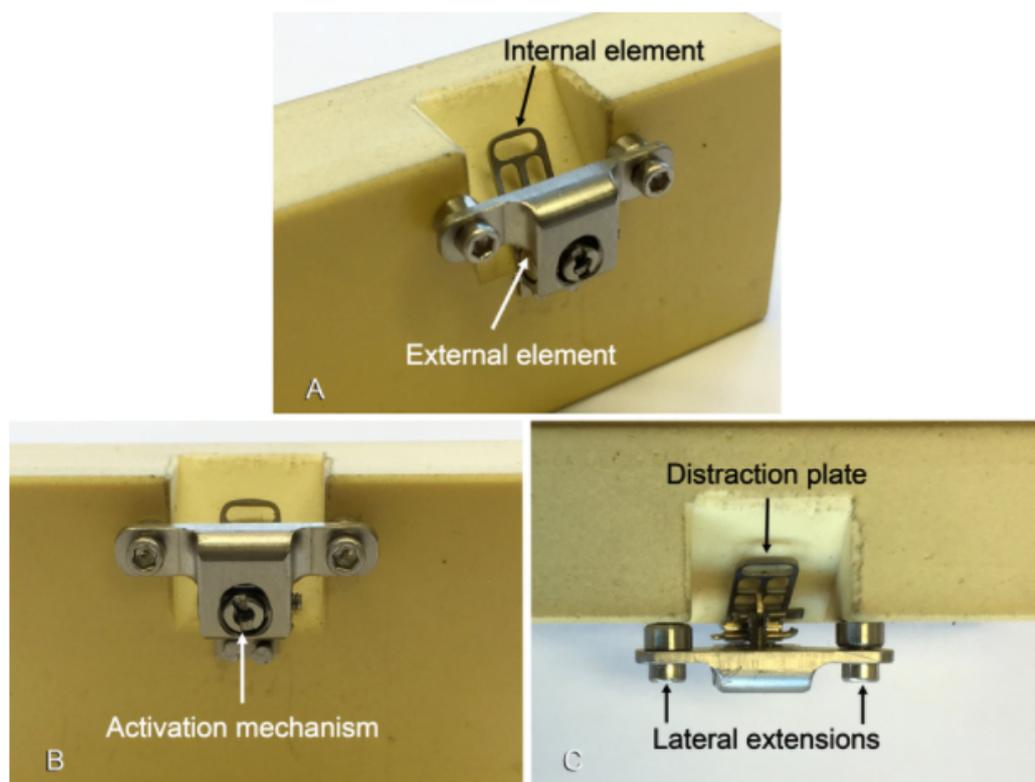


Figura 11. Dispositivo de distracción perióstica hecho a medida. Los dispositivos de distracción hechos a medida se componen de elementos internos y externos (A). El elemento interno consiste en una placa de distracción unida a una placa de fijación mediante una bisagra. El mecanismo de activación del dispositivo en el medio del elemento externo está conectado a la microplaca de distracción (B). Un microtornillo se coloca verticalmente al tornillo de activación para evitar que se afloje. Las extensiones laterales del elemento externo cuentan con orificios para la colocación de los tornillos de fijación (C). Con licencia *Copyright Clearance Center* para su reproducción exclusiva en este documento (Saulacic et ál, 2022).

Protocolo anestésico. Los animales fueron premedicados con morfina (0,4 mg/kg/i.m., Morfina Braun 2%; B. Braun Medical, Barcelona, España) y medetomidina (20 µg/kg/i.m.; Esteve, Barcelona, España). La anestesia fue inducida por propofol (3-5 mg/kg/IV; Propovet®, Abbott Laboratories, Kent, UK), y mantenida por inhalación de una mezcla de O₂ e Isoflurano al 1,3-2% (Isobavet®, Schering-Plough, Madrid, España). Se realizaron bloqueos de rama mandibular con lidocaína y adrenalina (Anesvet®, Ovejero, León, España). Se aplicaron antibióticos de forma profiláctica con cefovecina (8 mg/kg/s.c., Convenia, Zoetis) y cefazolina (20 mg/kg/i.v., Kurgan, Normon). Se administró atipamezol (50 µg/kg/I.M.; Esteve) para revertir los efectos de la medetomidina.

Descripción de las cirugías. En la primera cirugía se extrajeron todos los premolares y los primeros molares (PM1-M1). Se crearon dos defectos de 10 x 10 x 5 mm en cada lado de la mandíbula mediante la ampliación de los alvéolos de extracción. Después de dos meses de curación, se colocaron dos dispositivos de distracción a cada lado de la mandíbula. Tras la elevación del colgajo mucoperióstico, se colocó la placa de distracción (elemento interno) sobre la superficie ósea original y se fijó la placa de fijación mediante dos micro tornillos (**Figura 12**). La varilla de distracción se conectó al mecanismo de activación del elemento externo, que se fijó con dos tornillos. La herida se cerró con suturas reabsorbibles.

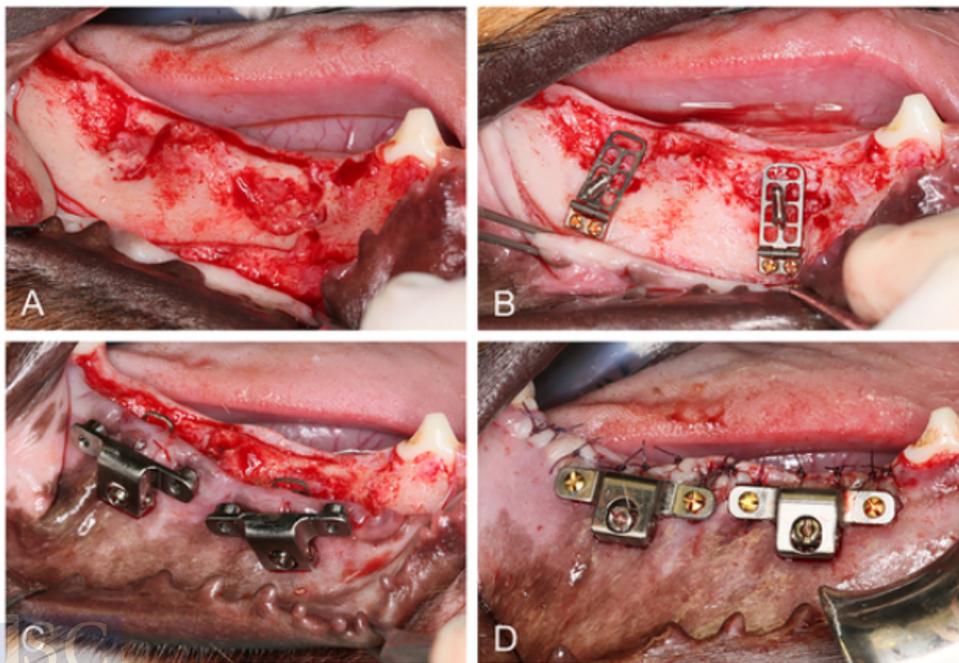


Figura 12. Vista intraoperatoria del área tras la elevación del colgajo (A). La placa de fijación se fija al hueso prístino mediante dos microtornillos (B). Se perfora el colgajo mucoperióstico para conectar la varilla de distracción al elemento externo del dispositivo (C). Se realizan dos pequeñas incisiones verticales, se fijan con tornillos las partes de sostén del elemento externo y se cierra la herida con puntos simples (D). Con licencia *Copyright Clearance Center* para su reproducción exclusiva en este documento (Saulacic et ál, 2022).

Descripción del experimento. Se asignaron cuatro modalidades de tratamiento según un protocolo aleatorio sistemático (www.randomization.com) para cada animal: i) bombeo/distracción perióstica (PPDO), ii) bombeo perióstico (PP), iii) distracción perióstica (PDO, control positivo) y iv) grupo de control negativo (NC). Dado que todas las modalidades de tratamiento se realizaron en cada perro, la unidad de análisis fue el animal. Después de un período de latencia de 7 días, los dispositivos se manipularon con una velocidad de 0,5 mm durante 8 días en todos los animales. En el grupo PPDO, los tornillos de distracción se activaron a las 12 y 24 horas seguidos de la relajación a las 36 horas mediante el giro del tornillo. Los tornillos de distracción se activaron repetidamente y se volvieron a girar cada 12 horas en el grupo PP. En el Grupo PDO, las activaciones se realizaron una vez al día. Los dispositivos que se colocaron en el Grupo NC no recibieron ninguna manipulación. Los dispositivos de distracción fueron manipulados bajo sedación utilizando medetomidina con butorfanol. Se administraron dos fluorocromos. El primer día de distracción se administró calceína (12 mg/kg/im, B. Braun Medical, Barcelona, España) y el último día de distracción alizarin (30 mg/kg/im, B. Braun Medical, Barcelona, España).

Cuidado animal. Los animales fueron monitoreados diariamente durante todo el procedimiento por parte de un veterinario experimentado utilizando criterios de puntuación validados sobre la apariencia, la postura, el comportamiento, la locomoción, la reactividad y la interacción social. El dolor postoperatorio se controló con morfina (0,3 mg/kg/i.m./6h) durante 24 h y meloxicam (0,1 mg/kg/s.i.d/p.o., Metacam®, Boehringer Ingelheim, Barcelona, España) durante los 3 días siguientes. Los dientes, la mucosa oral y los distractores fueron inspeccionados, limpiados y desinfectados tres veces por semana con gasas humedecidas en una solución de clorhexidina al 0,12% (Perio-Aid Tratamiento®, Dentaïd, Barcelona, España). Para el control de placa se utilizó un cepillo de dientes con gel de clorhexidina al 0,2% (Chlorhexidine Bioadhesive Gel, Lacer, Barcelona, España).

Eutanasia y obtención de muestras. Después de 10 semanas de la colocación del dispositivo, los animales fueron sedados con butorfanol (0,1 mg/kg/im Butomidol, Richter Pharma, Austria) y medetomidina (20 µg/kg/i.m.; Esteve, Barcelona, España), inducidos con propofol (3-5 mg/kg/iv) y sacrificados con sobredosis de pentobarbital sódico (50-60 mg/kg/iv, Dolethal, Vetoquinol, Francia). La parte externa del dispositivo de distracción se separó cuidadosamente de la varilla de distracción, dejando la parte interna debajo del mucoperiostio. Treinta y dos segmentos con tejidos blandos intactos se recuperaron mediante disección aguda y se separaron individualmente con una sierra de cinta. Las muestras se fijaron en una solución tamponada de formaldehído al 10 %.

Análisis con Microtomografía Computarizada (μ CT). Todos los segmentos se escanearon utilizando un μ CT de alta resolución (SkyScan 1172, Bruker micro CT NV, Kontich, Bélgica). La fuente de rayos X se fijó en 100 Kv y 100 μ A, con un tamaño de píxel de 13,57 μ m. Se utilizó un filtro de aluminio/cobre. El escaneo se realizó sobre una rotación de 360° obteniendo imágenes cada 0.4°. Las imágenes obtenidas se reconstruyeron con el software NRecon® (Bruker microCT NV, Kontich, Bélgica) y se evaluaron con Data Viewer® (Bruker microCT NV, Kontich, Bélgica) y CtAn® (Bruker micro CT NV, Kontich, Bélgica). El volumen de interés (VOI) de 3 x 5 x 5 mm se seleccionó manualmente, definido por la longitud de la placa de distracción y la distancia distraída. En el grupo control se estableció una longitud de 0,5 mm (lado corto). Los parámetros que se midieron fueron: volumen de hueso nuevo (NBV, mm³), NBV relativo al volumen total (% NBV), densidad mineral ósea (BMD, mg HA/mm³), BMD relativo a la densidad ósea inicial (% BMD), número trabecular (Tb.N) , grosor trabecular (Tb.Th) y separación trabecular (Tb.Sp).

Preparación y análisis histológico. Después de la fijación, las muestras se enjuagaron con agua corriente del grifo, se recortaron, se deshidrataron en concentraciones ascendentes de etanol y se incluyeron en metacrilato de metilo. Los bloques de tejido incrustados se cortaron en el plano bucal-lingual en secciones rectificadas de 1 mm de espesor utilizando una sierra de diamante de baja velocidad (Varicut® VC-50, Leco, Munich, Alemania). Siete secciones por segmento realizadas en sentido oro-bucal fueron esmeriladas y pulidas hasta un espesor final de 300 μ m (Knuth-Rotor-3, Struers, Rodovre/Copenhague, Dinamarca). La sección central correspondía a la varilla de distracción, dos secciones en cada lado y una sección lateralmente a la placa de distracción. Las superficies se tiñeron con fucsina básica y azul de toluidina/McNeal. Las fotografías digitales se tomaron bajo un microscopio óptico (Nikon Eclipse E800) equipado con un sistema de imágenes digitales (NIS Elements; Nikon, Tokio, Japón).

Análisis histomorfométrico. El análisis morfométrico se realizó con la ayuda de un software gráfico (Photoshop CS6; Adobe, San Jose, CA, EE. UU. y Olympus CellSens Dimension 1.15, Olympus Corporation, Japón). La región de interés (ROI) se definió mediante un círculo trazado desde la base de la placa de distracción, correspondiente a la placa de distracción y el marcaje de calceína (**Figura 3 artículo 3**). La distancia distraída se calculó entre las líneas de marcado de rojo de alizarina y calceína con la ayuda de trigonometría. La ROI obtenida se utilizó para el análisis morfométrico en todas las

secciones histológicas y para la definición del VOI. Los parámetros que se midieron fueron: área de hueso nuevo (NBA), NBA relativa al área total (%NBA), área de médula ósea (BMA), BMA relativa al área total (%BMA), área de tejido conectivo (CTA) y CTA relativa al área total (%CTA).

Análisis estadístico. Se comprobó la distribución normal y se evaluó la normalidad de las varianzas mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las diferencias entre los cuatro grupos se compararon mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA). Las comparaciones post hoc se realizaron utilizando la prueba de Tukey para identificar diferencias significativas entre pares de grupos. El análisis se realizó mediante un software estadístico SigmaPlot® 12.5 para Windows (Systat Software Inc., San José, CA, Estados Unidos). Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

D. APLICACIÓN DE BIOAPATITAS DERIVADAS DE DIENTE DE TIBURÓN COMO SUSTITUTO ÓSEO EN ORTOPEDIA VETERINARIA. ENSAYO CLÍNICO PRELIMINAR EN PERROS Y GATOS

Método de obtención de los biomateriales. El método de fabricación del sustituto óseo de origen marino *Biofast-Vet* (BV) se basa en técnicas pirolíticas con el fin de eliminar los compuestos orgánicos. El precursor natural (dientes de tiburón *Prionace glauca*) se calienta a 950°C durante 12 h usando una rampa de calentamiento de 2°C min⁻¹ y una rampa de enfriamiento de 20°C min⁻¹. Una vez pirolizados, los polvos se sometieron a un proceso de tamizado para seleccionar macrogránulos en los rangos de diámetro de 0,5 a 1,0 mm, 1,0 a 2,0 mm y 2,0 a 3,0 mm. El método de esterilización utilizado fue la radiación gamma (Aragogamma SL) (López-Álvarez *et ál.*, 2016, 2017).

Diseño de estudio. El estudio ha sido diseñado por un grupo multidisciplinar formado por investigadores de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales de Vigo y de la Facultad de Veterinaria de Lugo, con la colaboración de especialistas en ortopedia humana cirugía. El material ha pasado previamente pruebas de biocompatibilidad y una evaluación histológica completa en estudios preclínicos (López-Álvarez *et ál.*, 2016, 2017; Aguiar *et ál.*, 2018). El planteamiento inicial fue dilucidar en qué situaciones clínicas sería útil el material objeto de estudio. Una vez alcanzado el consenso, se diseñó el método de recolección de datos. Posteriormente se elaboró un listado de centros veterinarios, clínicas y hospitales veterinarios en España, con la suficiente casuística ortopédica que pudiera ser

incluida en el estudio. Se seleccionaron aleatoriamente seis (CV Miralbueno, Hospital Veterinario Vetpets, Hospital Veterinario Lepanto, CV Fauna, CV Saucos, CV El Parque). Debido a la aleatorización, la muestra de centros veterinarios elegidos es heterogénea en cuanto a la edad del equipo veterinario, equipamiento médico, conocimientos y ubicación geográfica. A todos ellos se les facilitó la documentación disponible sobre el biomaterial y se explicó al personal el protocolo de manipulación. Se suministró material de diferentes granulometrías (rango de diámetros = 500-1.000 y 1.000-2.000 μm) para facilitar su uso y adaptarlo al tamaño del defecto a tratar. También se les proporcionó una lista de técnicas en las que se indicaría el uso de BV. Al final de cada procedimiento, los veterinarios debían rellenar un formulario (ANEXO IV) sobre el uso clínico del biomaterial (uno por caso). Los resultados de esta encuesta, junto con las radiografías, fueron analizados y comparados por un comité de dos expertos externos ciegos que llegaron a un consenso sobre si la evolución era satisfactoria o no.

Selección de casos clínicos y criterios. Los propietarios legales de los animales firmaron un consentimiento informado sobre el uso de BV como parte del tratamiento. Los pacientes fueron seleccionados estrictamente de acuerdo con su estado clínico y un conjunto de criterios establecidos: pacientes de cualquier edad, sexo o peso; sin ninguna enfermedad o infección sistémica; y esqueléticamente maduros. Los criterios de exclusión fueron enfermedad o infección sistémica, tumores malignos, disfunciones renales severas, mayor riesgo anestésico y animales con metabolismo óseo descontrolado.

Evaluación radiográfica. Se tomaron imágenes radiográficas antes de la cirugía para evaluar la lesión y después de la cirugía para evaluar el éxito del procedimiento. Para evaluar la evolución del progreso de los pacientes, se realizaron pruebas radiográficas a las 2, 4, 8 y 12 semanas después de la cirugía. Se realizaron dos vistas radiográficas (anteroposterior y lateral). Las consultas de seguimiento incluyeron un examen físico general, radiografías de control y retroalimentación con el cliente para monitorear el proceso. Cada radiografía se evaluó mediante una puntuación de etapa de 1 a 5 puntos para establecer el tiempo de consolidación (1: formación de callos no visibles; 2: formación de callos apenas visibles; 3: callos dispersos, no homogéneos; 4: formación de callos uniformes y maduros; 5 : formación de callos hipertróficos muy activos) (López *et ál.*, 2019). Los resultados fueron evaluados por el especialista veterinario de la entidad y posteriormente por un panel de dos expertos externos ciegos.

Encuesta epidemiológica. Se envió una encuesta epidemiológica (**ANEXO IV**), como se indicó anteriormente, a todos los veterinarios para cada caso, incluyendo la historia clínica de los pacientes (anamnesis, diagnóstico, tratamiento quirúrgico y evolución), escala de recuperación funcional e información relacionada con el biomaterial y su manejo (tamaño de grano utilizado, dificultad en su uso, mezcla con otro material o sustancia, y un informe radiográfico. Finalmente, los veterinarios brindaron un informe final sobre su experiencia en el uso clínico. Posteriormente, la información obtenida fue revisada por el panel de expertos independientes ciegos para valorar la idoneidad del tratamiento y su correcta evolución.

Recuperación funcional. La recuperación funcional fue evaluada por los clínicos de los centros en cada revisión, utilizando una escala simple (1 a 5) Los criterios que se evaluaron fueron los siguientes: cojera, dolor a la palpación y soporte de peso. Posteriormente se sumaron las puntuaciones, pudiéndose clasificar en tres niveles: buena recuperación funcional (11-15), regular (6-10) y mala (1-5), indicando total, parcial y no recuperación funcional, respectivamente. (**Tabla 8**) (Pruksakorn *et ál.*, 2009; Nganvongpanit *et ál.*, 2013).

Tabla 8. Sistema de puntuación de recuperación funcional para la evaluación de pacientes (Pruksakorn *et ál.*, 2009; Nganvongpanit *et ál.*, 2013).

Criterio	Puntuación	Evaluación clínica
Cojera	1	No anda
	2	Cojera severa al andar
	3	Cojera moderada al andar
	4	Ligera cojera al andar
	5	Sin cojera. Anda normalmente
Dolor al palpar	1	El paciente no se deja palpar
	2	Signos severos. El paciente vocaliza poco agresivo
	3	Signos moderados. El paciente retira la extremidad
	4	Signos leves. El paciente vuelve la cabeza al palpar
	5	Sin signos. Se deja palpar perfectamente
Soporte de peso	1	No soporta el peso en la extremidad en estático ni al andar
	2	Soporte de peso parcial en estático. Sin soporte al andar
	3	Soporte de peso parcial en estático. Soporte al andar
	4	Soporte normal en estático. Favorece el miembro afectado al caminar
	5	Equilibrio en todas las extremidades tanto en estático como al caminar

Análisis estadístico. Se realizó un análisis estadístico con el tiempo de consolidación en busca de diferencias estadísticamente significativas en cuanto a sexo (machos y hembras), peso (tres grupos: (a) <5 kg, (b) 5-20 kg, (c) >20 kg), y procedimiento (fijación interna o externa y artrodesis). El análisis estadístico se realizó con el programa informático SigmaPlot® 12.5 para Windows (Systat Software Inc., San José, CA, Estados Unidos). Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. El estudio descriptivo de la población se mostró como la media \pm desviación estándar. La normalidad de las varianzas se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Para determinar las diferencias entre los grupos para las variables no categóricas (peso), se realizó un análisis de varianza de una vía. Las variables categóricas (sexo y procedimiento) se evaluaron mediante la prueba t de *Student* y el análisis de varianza de una vía.

RESULTADOS



RESULTADOS

La descripción detallada de los resultados de la presente tesis de doctorado ha sido publicada como artículos científicos en cinco revistas científicas indexadas en el JCR, con las siguientes referencias:

1. **García-González, M.**, Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., y Saulacic, N. (2020). Does the Animal Model Influence in Vertical Alveolar Distraction? A Systematic Review of the Literature. *Animals*, 10(12), 2347. <https://doi.org/10.3390/ani10122347>
2. **García-González, M.**, Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., y Saulacic, N. (2021). Systematic Review and Quality Evaluation Using ARRIVE 2.0 Guidelines on Animal Models Used for Periosteal Distraction Osteogenesis. *Animals*, 11(5), 1233. <https://doi.org/10.3390/ani11051233>
3. Saulacic, N., **García-González, M.**, Muñoz, F., García-García, A., Sadath-Marashi, Z., Rohrer, U., Ferrari SL. (2022) Regeneration of Craniofacial Bone Induced by Periosteal Pumping. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 28(2), 61–72. <https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2022.0001>
4. **García-González, M.**, Muñoz Guzón, FM., González-Cantalapiedra, A., González-Fernández, PM., Otero Pérez, R., y Serra Rodríguez, JA. (2020). Application of Shark Teeth-Derived Bioapatites as a Bone Substitute in Veterinary Orthopedics. Preliminary Clinical Trial in Dogs and Cats. *Frontiers in veterinary science*, 7, 574017. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.574017>
5. **García-González, M.**, Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., De Frutos, F., Pereira-Espinel, T., González, P., y Serra, J. (2021). Case Report: First Evidence of a Benign Bone Cyst in an Adult Teckel Dog Treated with Shark Teeth-Derived Bioapatites. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 626992. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.626992>

Artículo 1. *Does the Animal Model Influence in Vertical Alveolar Distraction? A Systematic Review of the Literature.*

García-González M¹, Muñoz F¹, González-Cantalapiedra A¹, López-Peña M¹, y Saulacic N².

¹Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, 27002, Lugo, España.

²Departamento de Cirugía Cráneo-Maxilofacial, Facultad de Medicina, Universidad de Berna, 3008, Berna, Suiza.

ANIMALS

Volumen: 10, Número: 12, Artículo: 2347

DOI: [10.3390/ani10122347](https://doi.org/10.3390/ani10122347)

Enlace: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7764393/>

Fecha de publicación: 9 de diciembre de 2020

ISSN: 2076-2615

Índices de calidad de la revista (2020)

Factor de impacto: 2,752 Citas totales: 6.875

Clasificación por categoría: *Veterinary Sciences* Q1 (19/146)

Agriculture, Dairy & Animal Science Q1 (13/63)

Contribución doctorando: M.G-G concibió la idea, realizó la búsqueda bibliográfica, análisis de calidad, riesgo de sesgo, extrajo los resultados y redactó el manuscrito.

Autorización revista: contenido reproducido bajo las condiciones de Copyright (2020) *Creative Commons Attribution* (CC BY 4.0).



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Resumen.

Este estudio tiene como objetivo sintetizar toda la evidencia disponible sobre la distracción osteogénica alveolar vertical (VAOD) en ensayos con animales para determinar si el modelo animal utilizado y su manipulación influye o no, y encontrar cuál es el modelo animal más adecuado para esta técnica específica. Esta revisión sistemática se ha realizado siguiendo las declaraciones PRISMA. Dos revisores han consultado manualmente las fuentes bibliográficas. El riesgo de sesgo se evaluó mediante una versión de la escala de Newcastle-Ottawa (NOS). Los criterios de selección se establecieron por investigadores expertos para decidir qué estudios deben incluirse en la revisión. Veintiséis estudios cumplieron los criterios de inclusión y se incluyeron en la revisión. Veinticuatro de ellos fueron de calidad alta (puntuación entre 7 y 9), dos de calidad media (puntuación entre 4 y 6) y ninguno de baja calidad (puntuación entre 1 y 3). La puntuación más alta posible fue 9 (de acuerdo con NOS). Seis estudios cumplieron con todos los criterios NOS. Se ha visto que el modelo animal influye en los resultados, lo que lleva al fracaso en algunos casos. El modelo animal más utilizado en VAOD, con menos complicaciones, fue el perro *mongrel*. No se recomienda el uso del cerdo y mini cerdo, debido a las dificultades de manejo y complicaciones encontradas.

Palabras clave: modelo animal, experimentación animal, osteogénesis por distracción, biomateriales, aumento de la cresta alveolar, distracción osteogénica alveolar vertical, revisión sistemática.

Artículo 2. *Systematic Review and Quality Evaluation Using ARRIVE 2.0 Guidelines on Animal Models Used for Periosteal Distraction Osteogenesis.*

García-González M¹, Muñoz F¹, González-Cantalapiedra A¹, López-Peña M¹, y Saulacic N².

¹Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, 27002, Lugo, España.

²Departamento de Cirugía Cráneo-Maxilofacial, Facultad de Medicina, Universidad de Berna, 3008, Berna, Suiza.

ANIMALS

Volumen: 11, Número: 5, Artículo: 1233

DOI: [10.3390/ani11051233](https://doi.org/10.3390/ani11051233)

Enlace: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8144990/>

Fecha de publicación: 24 de abril de 2021

ISSN: 2076-2615

Índices de calidad de la revista (2020)

Factor de impacto: 2,752 Citas totales: 6.875

Clasificación por categoría: *Veterinary Sciences* Q1 (19/146)

Agriculture, Dairy & Animal Science Q1 (13/63)

Contribución doctorando: M.G-G concibió la idea, realizó la búsqueda bibliográfica, análisis de calidad, riesgo de sesgo, extrajo los resultados y redactó el manuscrito.

 **Autorización revista:** contenido reproducido bajo las condiciones de Copyright (2021) *Creative Commons Attribution* (CC BY 4.0).



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Resumen.

El objetivo de esta revisión sistemática fue sintetizar todos los estudios preclínicos realizados en osteogénesis por distracción perióstica (PDO) con el fin de evaluar la calidad mediante las guías ARRIVE. Se analizaron los modelos animales utilizados y la influencia de las complicaciones con el fin de establecer los modelos más adecuados para esta técnica. Se han seguido las declaraciones PRISMA. Dos revisores han consultado manualmente las fuentes bibliográficas. El riesgo de sesgo se evaluó mediante la herramienta SYRCLE para estudios en animales y la calidad de los estudios con las pautas ARRIVE 2.0. Se aplicaron criterios de selección establecidos por investigadores expertos para decidir qué estudios debían incluirse en la revisión, resultando en veinticuatro estudios. El conejo como modelo animal ha presentado buenos resultados en PDO, tanto para hueso calvarial como para mandíbula. Las ratas han mostrado buenos resultados para la PDO en el hueso calvarial. El mini cerdo no se recomienda como modelo animal en PDO. A pesar del aumento en la calidad de los estudios desde la implementación de las guías ARRIVE 2.0, sería necesario mejorar la calidad de los estudios para facilitar la transparencia, comparación y reproducibilidad de trabajos futuros.

Palabras clave: modelos animales, osteogénesis por distracción perióstica, distracción osteogénica, regeneración ósea, revisión sistemática.

Artículo 3. *Regeneration of Craniofacial Bone Induced by Periosteal Pumping.*

Saulacic N¹, **García-González M²**, Muñoz F², García García A³, Sadath-Marashi Z¹, Rohrer U⁴ y Ferrari SL⁵.

¹Departamento de Cirugía Cráneo-Maxilofacial, Facultad de Medicina, Universidad de Berna, 3008, Berna, Suiza.

²Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, 27002, Lugo, España.

³Departamento de Cirugía Maxilofacial, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y Unidad de Cirugía Oral, Facultad de Odontología, Universidade de Santiago de Compostela, España.

⁴Centro de Ingeniería Biomédica ARTORG, Universidad de Berna, 3008, Berna, Suiza.

⁵Sección de Enfermedades Óseas, Departamento de Especialidades de Medicina Interna, Hospital Universitario de Ginebra y Facultad de Medicina, Ginebra, Suiza.

TISSUE ENGINEERING PART C-METHODS

Volumen; 28, Número: 2, Páginas: 61-72

Fecha de publicación: 17 de febrero de 2022

DOI: [10.1089/ten.TEC.2022.0001](https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2022.0001)

Enlace: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/35107342/>

ISSN: 1937-3384 eISSN: 1937-3392

Índices de calidad de la revista (2020)

Factor de impacto: 3,056 Citas totales: 3.973

Clasificación por categoría: *Cell Biology* Q3 (142/195) *Cell & Tissue Engineering* Q4 (24/29)
Engineering, Biomedical Q3 (48/89)
Materials Science, Biomaterials Q3 (28/41)

Contribución doctorando: M.G-G participó en la fase experimental, llevó a cabo parte del procesado histológico, realizó el análisis histomorfométrico, microtomográfico y estadístico, y redactó los resultados y parte del material y métodos.

Autorización revista: Los autores de la publicación poseen los derechos de copyright para el uso y reproducción de los contenidos del artículo en la presente tesis.

Resumen.

Antecedentes: Se han desarrollado una variedad de técnicas quirúrgicas y estrategias de ingeniería de tejidos que utilizan el potencial osteogénico del periostio para la reparación de deficiencias óseas extendidas. El objetivo del presente estudio fue evaluar el impacto de un protocolo alternativo de osteogénesis por distracción perióstica en la regeneración ósea en un modelo intraoral.

Experimento: Para el estudio se utilizaron ocho perros Beagle machos adultos. Se colocaron dos dispositivos de distracción a cada lado de la mandíbula. Después de un período de latencia de 7 días, los dispositivos de distracción en todos los animales (salvo el control negativo) se manipularon a una velocidad de 0,5 mm durante un total de 8 días. El protocolo de bombeo en dos grupos de prueba se realizó dos veces al día alternando la activación con la relajación. En el grupo de bombeo perióstico/distracción (PPDO), los tornillos de distracción se activaron dos veces (a las 12 y 24 horas) y luego se relajaron (a las 36 horas), y en el grupo de bombeo perióstico (PP) se activaron repetidamente y a las 12 horas se relajó. En el grupo de distracción perióstica (PDO), solo se realizó la activación una vez al día (control positivo). Los dispositivos se dejaron inactivados en el grupo de control negativo (NC). Las muestras se recolectaron después de 8 semanas de consolidación y se analizaron mediante micro-CT y análisis histológico.

Resultados: Se formó nuevo hueso lamelar maduro sobre el hueso prístino en todos los grupos. Los grupos PPDO y PDO mostraron más área de hueso nuevo en comparación con los grupos PP ($p < 0,001$ y $p < 0,001$, respectivamente) y NC ($p = 0,032$ y $p = 0,031$, respectivamente). Además, se encontró mayor área de hueso nuevo en el grupo PP que en el grupo NC ($p = 0,006$). El grupo PDO demostró un área relativa de tejido conectivo más alta que el grupo PPDO ($p = 0,005$) y un volumen relativo de hueso nuevo más bajo que el grupo NC ($p = 0,025$).

Conclusión: El protocolo de bombeo de distracción perióstica puede inducir con éxito la regeneración endógena del hueso mandibular en perros.

Palabras clave: modelos animales, periostio, hueso, dental, periodontal, distracción osteogénica.

Artículo 4. *Application of Shark Teeth-Derived Bioapatites as a Bone Substitute in Veterinary Orthopedics. Preliminary Clinical Trial in Dogs and Cats.*

García-González M¹, Muñoz Guzón FM¹, González-Cantalapiedra A¹, González-Fernández PM², Otero Pérez R, y Serra Rodríguez JA².

¹Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, 27002, Lugo, España.

²Grupo de Nuevos Materiales, Departamento de Física Aplicada, Universidad de Vigo, Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur (IISGS), 36312, Vigo, España.

³Unidad de Traumatología y Ortopedia, Hospital POVISA, 36211, Vigo, España.

FRONTIERS IN VETERINARY SCIENCE

Volumen: 7, Artículo: 574017

DOI: [10.3389/fvets.2020.574017](https://doi.org/10.3389/fvets.2020.574017)

Enlace: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7655648/>

Fecha de publicación: 28 de octubre de 2020

ISSN: 2297-1769

Índices de calidad de la revista (2020)

Factor de impacto: 3,412 Citas totales: 5.002

Clasificación por categoría: *Veterinary Sciences* Q1 (9/146)

Contribución doctorando: M.G-G recopiló toda la información de los casos y analizó la idoneidad del tratamiento y su correcta evolución, llevó a cabo el diseño del manuscrito y lo redactó.

Autorización  **revista:** contenido reproducido bajo las condiciones de Copyright (2020) *Creative Commons Attribution* (CC BY).

Copyright © 2020 García-González, Muñoz Guzón, González-Cantalapiedra, González-Fernández, Otero Pérez and Serra Rodríguez. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Resumen.

Antecedentes. El autoinjerto todavía se considera el estándar de oro para el tratamiento de defectos óseos. Sin embargo, dada la importante morbilidad del sitio donante con el que se ha asociado, se han desarrollado sustitutos alternativos para los injertos óseos. En el presente estudio se utilizó un sustituto óseo compuesto por biocerámicas bifásicas de CaP obtenidas de dientes de tiburón.

Objetivo. El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia de una bioapatita marina en el ámbito clínico veterinario utilizándola como injerto óseo en perros y gatos.

Métodos. El biomaterial se distribuyó aleatoriamente en 6 centros clínicos veterinarios de España y se utilizó en 24 casos (20 perros y 4 gatos) incluyendo 14 fracturas, 9 artrodesis y 1 quiste óseo. Se utilizaron granos entre 500 y 2.000 μm . Se establecieron criterios de inclusión y exclusión. Se evaluó cuantitativa y cualitativamente el tiempo de consolidación y recuperación funcional. Para ello, se realizó un seguimiento a las 2, 4, 8 y 12 semanas, que incluyó imágenes radiográficas, exploración física y “feed-back” con los propietarios.

Resultados. Diecinueve casos completaron el estudio (18 perros y 1 gato; 11 fracturas, 7 artrodesis y 1 quiste óseo). Los cinco restantes fueron excluidos por no completar el seguimiento radiográfico (tres gatos y dos perros), siendo tres artrodesis y dos fracturas. En 18 de 19 casos, el uso del biomaterial fue exitoso; uno de ellos fracasó por causas ajenas al biomaterial. No hubo reacciones adversas a nivel local o sistémico. Dieciocho pacientes tuvieron una buena recuperación funcional. El tiempo medio de consolidación fue de 5,94 semanas en perros con fracturas y artrodesis, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre sexo, peso y procedimiento.

Conclusiones. Este biomaterial se presenta como un candidato muy adecuado para la cirugía ortopédica en el ámbito veterinario. Los resultados preliminares mostraron que su uso reduce el tiempo de consolidación en perros con fracturas y artrodesis. Además, no se han observado reacciones adversas sistémicas o locales derivadas de su uso.



Palabras clave: hidroxapatita, fosfato β -tricálcico, biomateriales, regeneración ósea, sustituto óseo, ortopedia veterinaria, bioapatitas marinas.

Artículo 5. Case Report: First Evidence of a Benign Bone Cyst in an Adult Teckel Dog Treated with Shark Teeth-Derived Bioapatites.

García-González M¹, Muñoz Guzón FM¹, González-Cantalapiedra A¹, López-Peña M, de Frutos-Pachón F², Pereira-Espinol T², González-Fernández PM³ y Serra Rodríguez JA³.

¹Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, 27002, Lugo, España.

²Unidad de Traumatología y Ortopedia, Hospital POVISA, 36211, Vigo, España.

³Grupo de Nuevos Materiales, Departamento de Física Aplicada, Universidad de Vigo, Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur (IISGS), 36312, Vigo, España.

FRONTIERS IN VETERINARY SCIENCE

Volumen: 8, Artículo: 626992

DOI: [10.3389/fvets.2021.626992](https://doi.org/10.3389/fvets.2021.626992)

Enlace: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7937721/>

Fecha de publicación: 22 de febrero de 2021

ISSN: 2297-1769

Índices de calidad de la revista (2020)

Factor de impacto: 3,412 Citas totales: 5.002

Clasificación por categoría: *Veterinary Sciences* Q1 (9/146)

Contribución doctorando: M.G-G recopiló toda la información de caso y analizó la idoneidad del tratamiento y su correcta evolución, llevó a cabo el diseño del manuscrito y lo redactó.

Autorización revista: contenido reproducido bajo las condiciones de Copyright (2021) *Creative Commons Attribution* (CC BY).

Copyright © 2020 García-González, Muñoz Guzón, González-Cantalapiedra, González-Fernández, Otero Pérez and Serra Rodríguez. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Resumen.

Los quistes óseos son una patología ortopédica muy rara en medicina veterinaria, cuya prevalencia general se desconoce. Se diagnosticó un quiste óseo unicameral en una perra *teckel* adulta con cojera y se trató quirúrgicamente llenando el defecto con bioapatitas marinas. El tratamiento fue eficaz y a las 8 semanas el defecto se había remodelado en un 50,24%. Dieciocho meses después de la cirugía, el defecto había remodelado 94.23%. La cojera desapareció después de la cirugía y la recuperación funcional fue buena en todas las etapas posteriores a la cirugía. No se observaron reacciones adversas a nivel local o sistémico. Este es el primer informe de un quiste óseo benigno en una perra *teckel* adulta con cojera, tratado con éxito con una nueva bioapatita marina.

Palabras clave: biomaterial respetuoso con el medio ambiente, quiste óseo, regeneración ósea, andamio marino, biomaterial marino, bioapatitas, medicina regenerativa, *teckel*, perro.

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

En la presente tesis de doctorado se han investigado la efectividad de dos tecnologías de regeneración ósea. La primera de ellas, un distractor perióstico alveolar, mediante un estudio preclínico empleando como modelo animal el perro Beagle. La segunda de ellas, un relleno óseo de origen marino, mediante un ensayo clínico preliminar en perros y gatos.

En el primer y segundo estudio se han llevado a cabo dos revisiones sistemáticas de la literatura en las que se evaluó el modelo animal y la calidad de los estudios realizados en distracción osteogénica alveolar vertical y en distracción osteogénica perióstica, respectivamente.

En el tercer estudio, se ha realizado un estudio preclínico en el perro Beagle, en el cual se ha evaluado un nuevo distractor perióstico, así como un protocolo alternativo de bombeo del periostio, no descrito con anterioridad en la literatura bajo el conocimiento de los autores.

En el cuarto estudio, se ha evaluado la eficacia de bioapatitas derivadas de dientes de tiburón utilizadas como relleno óseo en el ámbito de la ortopedia veterinaria, mediante un estudio clínico preliminar en perros y gatos. De este estudio derivó el quinto estudio debido a la evidencia del primer caso de quiste óseo benigno en una perra Teckel adulta.

Estudio 1. *Does the Animal Model Influence in Vertical Alveolar Distraction? A Systematic Review of the Literature.*

Esta revisión sistemática de la literatura se centró en un total de 26 estudios que evaluaron la técnica de osteogénesis por distracción alveolar vertical en estudios preclínicos con animales. Hasta el momento, no hay consenso sobre cuál es el animal ideal para las pruebas de distracción alveolar vertical. En esta revisión, el animal más utilizado y con menos complicaciones fue el perro (20 de 26 estudios; 145 de 241 animales; 140 de 327 dispositivos). Entre las razas, la *mongrel* fue la más utilizada (11 de 20 estudios).

La regeneración ósea en DO se ha relacionado con la edad del paciente; siendo más rápida en pacientes jóvenes y más lenta en pacientes mayores. En un estudio realizado en ratas de entre 4 y 24 meses, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la radiodensidad del segmento distraído de la tibia. Se observó un 95% de hueso mineralizado en ratas de 4 meses,

mientras que en ratas de 24 meses se observó hasta un 36% de hueso mineralizado (Aronson *et ál.*, 2001). Todos los animales incluidos en esta revisión eran esqueléticamente maduros (promedio de 18 meses en perros y 13 meses en ovejas), lo que sugiere que los resultados no se vieron afectados por la edad del paciente.

Aunque el procedimiento de VAOD se ha utilizado durante más de 25 años, todavía existe controversia sobre el protocolo ideal, aunque las fases clínicas del proceso (cirugía u osteotomía, latencia, distracción y consolidación) siguen siendo las mismas. La mayoría de los estudios de esta revisión utilizaron una fase de latencia de 7 días, con una media de 6,13 días (de 0 a 8), con resultados similares. Altuğ *et ál.*, en 2011 compararon dos períodos de latencia diferentes (1 y 7 días) en conejos, sin observar diferencias en las características y cantidad del hueso nuevo. En estudios en humanos, no se observaron diferencias significativas. En un conjunto de 3278 expedientes de casos clínicos de distracción cráneo-facial, Mofid *et ál.*, (2001) no encontraron diferencias significativas entre los médicos que establecieron un período de latencia y los que no, en parámetros como ausencia de unión fibrosa (0,4% frente a 0,25%) o consolidación prematura (2% frente a 0,76%) de los casos). Sin embargo, es aconsejable un período de latencia de 4-7 días en la DO alveolar con el objetivo de evitar la exposición prematura del hueso al medio oral (Jensen *et ál.*, 2002). Este problema puede ser aún más importante cuando usamos un modelo animal.

El período entre la activación inicial y final del distractor se denomina período de distracción. Hay varias opciones de ritmo y frecuencia de distracción. La mayoría de los autores coinciden en un máximo de 1 mm por día. En esta revisión, el ritmo osciló entre 0,25 y 1 mm, con una media de 0,8 mm por día. No existen revisiones previas de estudios en animales. En humanos, se encontró un ritmo que variaba entre 0,375 y 1 mm (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018) o entre 0,44 y 0,98 mm (Saulacic *et ál.*, 2008) por día. En cuanto a la frecuencia de distracción, esta delicada fase debe ser realizada por personal especialmente capacitado. En los trabajos estudiados, los rangos variaron principalmente de una a dos veces por día. En un estudio, la distracción se utilizó una vez cada dos días (Li *et ál.*, 2015). Cuando la distracción se aplica más de 2 veces al día puede complicar el procedimiento (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018) y puede ser la razón para aplicar una baja tasa de distracción en los animales.

La distracción osteogénica es una técnica con la capacidad de producir un aumento de la altura del hueso alveolar que puede variar entre 4 y 15 mm, con una media de 9,9 mm (Chiapasco *et ál.*, 2004). La ganancia media obtenida en VAOD en esta revisión fue de 6,13 mm, siendo mayor con los dispositivos de distracción extraóseos que con los intraóseos (6,26 vs 6,02 mm). Una limitación de la presente revisión fue que la ganancia vertical obtenida por VAOD no se comparó directamente con otras técnicas quirúrgicas para el aumento óseo como materiales

xenogénicos ($5,2 \pm 0,79$ mm) o aloinjertos, injertos óseos autógenos o aloinjertos (Artzi *et ál.*, 2003). No obstante, dado que la altura ganada con estas técnicas fue menor (por ejemplo, $5,2 \pm 0,79$ mm para xenogénicos), la técnica VAOD puede considerarse la más adecuada cuando el objetivo es la ganancia ósea vertical (Esposito *et ál.*, 2009; Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018).

En el período de consolidación se observó un promedio de 9,93 semanas (rango entre 0 y 50 semanas). Se encontraron muchas discrepancias en comparación con estudios en humanos, con una media de 12,05 (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018), 11,22 (Saulacic *et ál.*, 2008) y 11,83 semanas (Rodríguez-Grandjean *et ál.*, 2015). Para observar la fusión del hueso basal con el segmento distraído, se necesita un mínimo de 10 semanas de consolidación (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018). Los períodos de consolidación más cortos utilizados en animales pueden explicarse por el metabolismo más rápido en comparación con los humanos.

Se estudiaron múltiples formas de clasificar las complicaciones. En esta revisión utilizamos una modificación de la clasificación realizada por Enislidis *et ál.*, en 2005 y Saulacic *et ál.*, en 2008. Estos autores clasificaron las complicaciones en mayores y menores, y se basaron en cuándo ocurrieron estas complicaciones. Encontramos complicaciones en 12 estudios (24 pacientes, 9,95% del total), en los que once pacientes (4,56% del total) presentaron complicaciones mayores. De los pacientes con complicaciones mayores, 9 tuvieron que ser descartados (3,73% de fracasos). Se observaron tasas de fracaso similares en estudios en humanos, con un 3,44% de fallos (Saulacic *et ál.*, 2008). Otras complicaciones importantes se solucionaron con la reubicación del dispositivo de distracción.

Según otros estudios, la complicación menor más común es la dehiscencia (Chiapasco *et ál.*, 2004; Enislidis *et ál.*, 2005). Es aconsejable reducir la frecuencia y la tasa de distracción si la dehiscencia es considerable y persiste (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018). Para complicaciones menores, como inflamaciones, dehiscencia e infecciones, se recomienda un tratamiento conservador. Las complicaciones menores suelen tener una solución sencilla, que no interfiere con los resultados de la técnica.

El mantenimiento de un nivel adecuado de higiene bucal en los animales es a veces un gran desafío, ya que los sitios quirúrgicos en la boca de los animales tienen más probabilidades de infectarse, lo que aumenta la tasa de fracaso. El manejo de cerdos y minicerdos puede resultar especialmente difícil, debido a los hábitos de masticación y difícil higiene, que afectan la tasa de fracaso.



Estudio 2. *Systematic Review and Quality Evaluation Using ARRIVE 2.0 Guidelines on Animal Models Used for Periosteal Distraction Osteogenesis.*

En esta revisión se ha evaluado la calidad de los estudios en modelos animales utilizados en ensayos preclínicos de distracción perióstica de acuerdo con las guías ARRIVE 2.0. Se han seleccionado un total de 24 estudios sobre DP, según los criterios de inclusión previamente establecidos.

→ Modelos animales y complicaciones.

A pesar de ser una técnica relativamente nueva, se han encontrado una gran variedad de modelos biológicos utilizados para su investigación (conejos, ratas, perros y minicerdos).

Se ha encontrado un porcentaje menor de complicaciones en comparación con la técnica VAOD (distracción de la osteogénesis alveolar vertical) (7,3 frente al 9,95%) (García-González *et ál.*, 2020a). Además, la tasa de pérdida de dispositivos en comparación con VAOD también es más baja en DP (1,46 frente a 3,31%). Esto puede deberse a que la distracción perióstica no requiere una osteotomía y puede evitar posibles complicaciones como fracturas, desviación del vector de inclinación o secuestro de fragmentos (Saulacic *et ál.*, 2007; Perez Sayans *et ál.*, 2018).

Aunque el conejo ha presentado el mayor número de complicaciones (16 animales; 45% de las complicaciones), también ha sido la especie más utilizada (327 de 481 pacientes). Además, 12 animales de los que presentaron complicaciones (34,3% de las complicaciones) pertenecen a un único estudio que fracasó por infecciones graves (Estrada *et ál.*, 2007). A veces se elige al conejo porque el tamaño de su mandíbula se ajusta al tamaño del dispositivo y por su capacidad para volver rápidamente a los hábitos alimentarios normales. Pero, por otro lado, debe considerarse la diferente respuesta osteogénica en comparación con los humanos (Schmidt *et ál.*, 2002; Bayar *et ál.*, 2012). Además, su relevancia clínica es a veces limitada para los pacientes humanos, dada la discrepancia en el tamaño mandibular, la morfología y la función de sus contrapartes (Tee y Sun, 2015). En ocasiones, se ha observado que el animal deja de comer debido al dolor que le provoca el dispositivo en la cavidad bucal. En este caso, dada la ausencia de estímulo masticatorio, la maduración ósea puede verse afectada (Sencimen *et ál.*, 2007; Altuğ *et ál.*, 2011).

Solo se han reportado dos estudios en los que se ha implementado la técnica DP en perros. Mientras que en uno de ellos no hubo complicaciones (Inoue *et ál.*, 2014), en el otro se informó una alta tasa de complicaciones (Estrada *et ál.*, 2007). Por lo tanto, no se puede llegar a una conclusión sobre la idoneidad del perro como modelo animal, correspondiente los resultados obtenidos en VAOD (García-González *et ál.*, 2020). Los estudios futuros deberían investigar al perro como modelo animal en DP.

En cerdos, se han notificado una complicación mayor y tres menores. Sin embargo, deben tenerse en cuenta la dificultad de manipulación y el mantenimiento de la higiene bucal, así como

una alta incidencia de infección (Martínez-González *et ál.*, 2005). El mini cerdo no es un modelo recomendable para la DP en ausencia de más estudios, especialmente dado el alto coste de mantenimiento y las frecuentes tasas de complicaciones previamente observados en VAOD (García-González, *et ál.*, 2020).

Las ratas han mostrado buenos resultados con respecto a su uso en estudios de DP en el hueso calvarial. Son animales pequeños y fáciles de manipular, y a menudo se utilizan muestras de gran tamaño. Al igual que en los conejos, se debe considerar la relevancia clínica en humanos.

Para reducir el número de animales, algunos autores recomiendan el uso de animales más grandes porque pueden soportar varios dispositivos, incluido el control (Tee y Sun, 2015). Sin embargo, deben considerarse cuidadosamente las implicaciones éticas que surgen de su uso y emplearse solo cuando los dispositivos se encuentran en las etapas finales de investigación.

Se ha demostrado que la edad del paciente puede influir en los resultados (Aronson *et ál.*, 2001). En este estudio, al igual que en el estudio anterior realizado en VAOD (García-González, *et ál.*, 2020), todos los animales incluidos eran adultos, por lo que los resultados no se vieron influidos por la edad del paciente.

→Protocolo.

Con respecto al protocolo, aún existen algunas discrepancias sobre el ideal en DP. Al igual que en VAOD, las fases han sido las mismas (cirugía, latencia, distracción y consolidación). En esta revisión, la mayoría de los estudios han utilizado una latencia de 7 días (al igual que en VAOD), con una media de 6,5 (6,13 en VAOD). Estudios previos en humanos sobre DO convencional no han encontrado diferencias utilizando diferentes períodos de latencia (Mofid *et ál.*, 2001). Aun así, se recomienda un período de latencia de 4-7 días para evitar una exposición ósea prematura, especialmente en modelos animales (Jensen *et ál.*, 2002). En cuanto al período de distracción, la mayoría de los estudios utilizaron 10 días, con una media de 10,3 (9,15 en VAOD). La frecuencia y la tasa de distracción fueron 1 o 2 veces al día, y una media de 0,52 mm por día (0,8 en VAOD). Más de 2 veces al día puede perjudicar el procedimiento y no se recomienda más de 1 mm de distracción al día (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018). Finalmente, en el período de consolidación, se informó una media de 4,9 semanas (rango de 1 a 12,86 semanas) (9,93 en VAOD). Se recomienda un mínimo de 10 semanas para observar la consolidación completa en VAOD en humanos (Pérez-Sayáns *et ál.*, 2018), pero los períodos de consolidación más cortos en animales pueden explicarse debido al metabolismo más rápido en comparación con los humanos.

→Fortalezas y limitaciones de los datos.

Además de evaluar los modelos animales utilizados en DP, la presente revisión también se propone identificar las deficiencias de los estudios preclínicos informados. Según las normas ARRIVE para la experimentación animal con modelos animales (Kilkenny *et ál.*, 2010, 2014), se ha observado un aumento en la calidad de los estudios desde su imposición. Sin embargo, la mayoría de los estudios no han seguido todas las recomendaciones propuestas por estas guías. Esto puede deberse a que no todas las revistas que publicaron los estudios incluidos en esta revisión sugirieron u obligaron a seguir las pautas de ARRIVE.

En esta revisión, la puntuación máxima según las guías ARRIVE 2.0 fue de 36 puntos. Aunque nueve estudios han obtenido una calificación de excelente, ninguno de ellos alcanzó la puntuación máxima. Al analizar las categorías, sólo tres de ellas se reportaron en todos los estudios: (6) medidas de resultados, (10) resultados y (11) resumen. Las categorías con los coeficientes más bajos fueron (19) registro de protocolo, (20) acceso a datos y (21) declaración de interés. La mayoría de los estudios se calificaron como excelentes (coeficientes entre 0,8 y 1) ya que informaron sistemáticamente los criterios. Cabe señalar que un gran número de estudios no justificaron adecuadamente el uso del modelo animal. Estos valores concuerdan con los resultados de las revisiones sistemáticas obtenidas por Delgado-Ruiz *et ál.*, en 2015, quienes evaluaron los defectos críticos de tamaño en experimentos de regeneración ósea en calvaria de conejo, y con Schwarz *et ál.*, en 2012, quienes evaluaron el tratamiento de la periimplantitis.

El presente estudio presenta algunas limitaciones. Cuando los estudios incluidos se categorizan de acuerdo con las pautas de ARRIVE 2.0, se otorga el mismo peso a los diez ítems esenciales que a los once restantes.

Si un estudio experimental no está diseñado para producir resultados sólidos, y las publicaciones no se informan con suficiente detalle, los recursos de investigación y los animales se desperdician. Según Kilkenny *et ál.*, en 2009 y 2010 al abordar la calidad de la información de los estudios experimentales con animales, la falta de un enfoque integral y sistemático en la descripción del método puede conducir a informes confusos, con implicaciones tanto éticas como económicas. Los experimentos con animales deben diseñarse correctamente, analizarse adecuadamente y reportarse de manera transparente a la comunidad científica con el fin de aumentar su confiabilidad y validez científica, maximizando los conocimientos adquiridos en cada investigación. Por este motivo, se han diseñado las directrices ARRIVE 2.0.

Todos los estudios incluidos en esta revisión contaron con la aprobación bioética de un comité competente. A pesar de esto, dos estudios fueron clasificados en el ítem 14 (“Declaración ética”) como “poco claros” porque no informaron el nombre del comité ético o institución competente que les dio autorización para realizar el estudio.

El riesgo de sesgo de los estudios realizados en esta revisión fue bajo, aunque cuatro categorías dieron como resultado un riesgo de sesgo poco claro. En los estudios de regeneración ósea con animales es especialmente importante informar la aleatorización de los dispositivos y protocolos en la metodología, ya que la calidad del hueso regenerado puede variar dentro de varios sitios en un animal (Ulm *et ál.*, 1999; Delgado-Ruiz *et ál.*, 2015).

De acuerdo con lo anterior, sería necesario mejorar la calidad de los estudios preclínicos en animales en términos de detalles esenciales, para facilitar la comparación y reproducción en trabajos futuros.

Estudio 3. *Regeneration of Craniofacial Bone Induced by Periosteal Pumping.*

Los hallazgos del presente estudio respaldan el conocimiento actual de que la elevación gradual y controlada del periostio induce la formación de hueso en el sitio de su aposición desde la superficie ósea existente. Diferentes tipos de manipulación mecánica del periostio dieron como resultado la formación de hueso nuevo, pero no fueron igual de eficientes en este modelo. El beneficio del protocolo de bombeo estuvo evidenciado por más hueso nuevo y menos tejido conectivo en el grupo PPDO que en el grupo PDO; sin embargo, solo se encontraron diferencias significativas para el área de tejido conectivo.

La calidad del hueso recién formado en todos los grupos se asemejaba al hueso original, lo que se corresponde con lo descrito en la literatura en sitios extraorales (Oda *et ál.*, 2009; Yamauchi *et ál.*, 2013; Saulacic *et ál.*, 2016). El principio de distracción perióstica en el presente estudio se utilizó para regenerar deficiencias óseas extendidas en la mandíbula de perros, un modelo clínicamente relevante utilizado tanto para DO convencional como para DP (Nosaka *et ál.*, 2005; Yamauchi *et ál.*, 2009, 2010). La gravedad y la incidencia de las complicaciones de los tejidos blandos se correspondieron a los hallazgos de la DO convencional; las complicaciones menores relacionadas con los tejidos blandos fueron relativamente frecuentes, pero curaron con medidas conservadoras (Takahashi *et ál.*, 2004; Nosaka *et ál.*, 2005; Yamauchi *et ál.*, 2009, 2013). Por tanto, la distracción perióstica parece favorecer la ausencia de infección mayor (Laster *et ál.*, 2005; Watzak *et ál.*, 2006; Yamauchi *et ál.*, 2013). El movimiento angular de la placa de distracción controlado por el mecanismo del elemento externo probablemente redujo

los problemas relacionados con la inclinación (Watzak *et ál.*, 2006). Sin embargo, sigue siendo un requisito importante el mantenimiento meticuloso de la higiene bucal.

Los dispositivos de distracción se colocaron dos meses después de la formación del defecto para minimizar el posible efecto de las células madre del periodonto en la osteogénesis. La formación ósea en el grupo NC podría atribuirse a la capacidad de curación favorable de los perros (**Figura 4D y 4H artículo 3**). La región de los premolares en los perros se considera el modelo estándar, pero se deben tener en cuenta las diferencias en el tamaño y el grosor del hueso. El aumento significativo de la formación ósea en los grupos PPDO y PDO en comparación con los grupos PP y NC confirmó la relevancia del espacio preservado proporcionado por la placa de distracción (**Figura 6A artículo 3**).

Los valores medios de área de hueso nuevo fueron mayores en el grupo PPDO, mientras que el volumen de hueso nuevo fue menor en el grupo PDO. La discrepancia entre NBA y NBV podría deberse a las dificultades para diferenciar el hueso maduro nuevo del hueso prístino y la eliminación de los artefactos de halo inherentes en la μ CT. Los valores de %NBA y %NBV fueron más altos en el grupo PPDO, pero ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa. Sin embargo, el grupo PDO demostró valores de %NBV más bajos que alcanzaron la significación estadística en comparación con el grupo NC (**Figura 8B artículo 3**).

La duración del período de latencia y la tasa de distracción aplicadas en el presente estudio correspondieron a los informes previos sobre DP intraoral (Yamauchi *et ál.*, 2009, 2010) y DO horizontal (Aparicio y Jensen, 2001; Takahashi *et ál.*, 2004; Watzak *et ál.*, 2006) En comparación con los grupos sin bombeo, el protocolo de bombeo mejoró la formación de hueso fuera de la placa de distracción. El contacto entre el periostio y el hueso original es esencial para que las células periósticas ejerzan su capacidad osteogénica (Melcher, 1976; Canalis y Burstein, 1985; Kostopoulos y Karring, 1995; Aparicio y Jensen, 2001; Shimizu *et ál.*, 2001).

La angiogénesis facilitada en el periostio durante la distracción es esencial para el proceso de cicatrización (Yasui *et ál.*, 1991). Se prefiere un protocolo de distracción alternado a una compresión al final de la activación, que se asocia con el colapso de la luz vascular y la disminución de la vascularización (Mori *et ál.*, 2006).

El marcaje con fluorocromo óseo reveló la formación de hueso a partir de la superficie ósea original (**Figura 5 artículo 3**). Las células madre esqueléticas desempeñan un papel importante como promotores de la regeneración mandibular durante la DO, utilizando un entorno mecánico guiado (Shah *et ál.*, 2021). En realidad, las células dentro del periostio lateral de la mandíbula distraída vuelven a un estado de línea celular, que no se ve en la curación del defecto (Ransom *et ál.*, 2018). En general, los resultados actuales corroboran el beneficio del protocolo alternado

observado en DO convencional (Mofid *et ál.*, 2002; Krishnan *et ál.*, 2006; Makhdom y Hamdy, 2013; Kocyigit *et ál.*, 2014; Kwon *et ál.*, 2020).

Mientras que los grupos PPDO y PP mostraron más hueso nuevo que los grupos PDO y NC, se detectó una diferencia significativa sólo entre los grupos PP y NC para el NBA. Las diferencias sutiles en la formación ósea inducidas por diferentes tasas de distracción pueden notarse más a nivel molecular que histológicamente (Pacicca *et ál.*, 2003; Correia *et ál.*, 2013). La replicación de estímulos fisiológicos a osteogénicos de células por flujo intersticial pulsátil mejoró la pre diferenciación osteogénica y el depósito de proteínas de marcadores osteogénicos (OPN, OCN, Col I y BSP) sobre el flujo constante (Correia *et ál.*, 2013). Los osteoblastos expuestos a diferentes tensiones (es decir, distracción versus compresión) pueden activar distintas vías y dar como perfiles de proliferación y diferenciación únicos para el tipo de estrés aplicado (Gabbay *et ál.*, 2006). El estiramiento/relajación mecánico cíclico estimuló la diferenciación de osteoblastos en etapas tempranas (ALP, BMP, RunX2) y tardías (OCN, Col1 α) mediante la interconexión recíproca entre mTOR y NF- κ B a un nivel moderado (ni demasiado alto ni demasiado bajo) (Wang *et ál.*, 2020). Cómo la población de células óseas es influenciada por el entorno mecánico, todavía se desconoce el estado de respuesta al bombeo perióstico para regenerar y remodelar una estructura ósea exitosa. Aún no se ha determinado el papel de los morfógenos y los factores de transcripción en la regeneración ósea (Shah *et ál.*, 2021).

Dentro de sus limitaciones, el presente estudio indicó que el hueso mandibular tiene potencial de regeneración endógena inducida por distracción perióstica. Por lo tanto, el bombeo del periostio podría ser una alternativa atractiva al injerto óseo en bloque autógeno para el tratamiento de deficiencias óseas extendidas. El protocolo es seguro de aplicar, e incluso más económico que las aplicaciones selectivas topográficamente específicas de agentes osteogénicos. El diseño del dispositivo de distracción aún necesitaría algunas mejoras antes de su uso en seres humanos.

Estudio 4. *Application of Shark Teeth-Derived Bioapatites as a Bone Substitute in Veterinary Orthopedics. Preliminary Clinical Trial in Dogs and Cats.*

El presente estudio demostró que las bioapatitas globulares porosas son viables para su uso en ortopedia veterinaria. En todos los casos, no hubo evidencias de reacciones adversas ni en el lugar del injerto ni a nivel sistémico. Excepto en un caso, no hubo registros de infección postoperatoria o reacción a cuerpo extraño, independientemente de la cantidad de material injertado. En el caso 11, por tratarse de una antigua fractura por arma de fuego, y remitida desde una clínica poco especializada, la infección no se trató adecuadamente desde el inicio y el injerto no fue exitoso, produciéndose una fístula a las 2 semanas. Las fracturas por arma de

fuego representan una situación delicada en traumatología desde hace tiempo (Gustilo *et ál.*, 1969). El grupo que revisó el caso consideró que el uso del biomaterial estaba contraindicado.

Las fracturas son las lesiones traumáticas en huesos grandes más comunes (Einhorn y Gerstenfeld, 2015). La reacción normal y fisiológica cuando ocurre una fractura incluye una serie de eventos: reacción inflamatoria inicial, establecimiento de callos blandos y posteriormente duros y, finalmente, remodelación ósea (Lopes *et ál.*, 2018; Rajhans *et ál.*, 2018). En los casos en los que este proceso fisiológico no ocurre, la cirugía está indicada (Khan *et ál.*, 2008). Un aporte insuficiente de sangre, una enfermedad que afecta sistemáticamente, o una infección del callo óseo, pueden tener un efecto negativo en la regeneración del hueso, lo que puede desencadenar una pseudoartrosis (Janicki y Schmidmaier, 2011). En aquellas situaciones en las que no se logra la curación, está indicado el uso de sustitutos óseos (Şen *et ál.*, 2018). El injerto autólogo sigue siendo el estándar de oro en este tipo de situaciones, porque no desencadena reacciones inmunológicas, proporciona factores de crecimiento para ayudar a la osteoinducción y también es parte de la estructura del hueso nuevo (Khan *et ál.*, 2008; Bohner, 2010; Rogers y Greene, 2012). Sin embargo, el uso de hueso autólogo tiene desventajas: anestesia más prolongada, la disponibilidad de hueso autólogo es limitada, alta morbilidad del sitio donante (riesgo de sangrado intraoperatorio, dolor, posibilidad de fracturas por estrés), mayor probabilidad de infección local y riesgo de fracaso (Nandi *et ál.*, 2008; Pinto *et ál.*, 2016; Bai *et ál.*, 2018; Campos *et ál.*, 2018; Ferracini *et ál.*, 2018). Cabe señalar también que la cantidad de hueso autólogo recolectado y la viabilidad de las células recolectadas son limitadas, lo que limita la aplicación en situaciones donde los defectos son críticos (Rogers y Greene, 2012). Estas desventajas pueden evitarse utilizando sustitutos óseos sintéticos en lugar de hueso autólogo. Una de las ventajas de estos sustitutos óseos es su facilidad de almacenamiento (Finkemeier, 2002; Lobato *et ál.*, 2006; Bohner, 2010). En este informe presentamos una serie de casos en los que el relleno óseo de origen marino BV se mostró como una alternativa eficaz y sin efectos adversos. Este biomaterial es un excelente andamio cerámico para promover y fortalecer el proceso de regeneración ósea. BV contiene una gran cantidad de HA, que es uno de los principales componentes de la matriz mineral ósea (Anandan y Jaiswal, 2018).

Uno de los desafíos del uso de sustitutos óseos sintéticos es el mantenimiento en el defecto. La mezcla de BV con la propia sangre del paciente consiguió el efecto deseado, evitándose la fuga. Además, las congregaciones de células dentro de los coágulos sanguíneos son potenciales bioactivos que favorecen la curación del defecto, promoviendo una mejor remodelación (Schuckert *et ál.*, 2011). La mezcla del biomaterial con plasma rico en plaquetas también podría haber sido interesante, dados los buenos resultados obtenidos en un estudio en el que se utilizó para el tratamiento de fracturas en perros (López *et ál.*, 2019).

Otras cerámicas de fosfato cálcico se han utilizado previamente como sustitutos óseos en el ámbito veterinario, obteniendo buenos resultados en cuanto a mejora de la calidad de vida del paciente, velocidad de curación ósea y disminución de la morbilidad (Lobato *et ál.*, 2006; Pinto *et ál.*, 2016). Se estudió la efectividad del material en defectos óseos apendiculares y maxilares / mandibulares. Los pacientes no presentaron efectos adversos a nivel local ni sistémico, y la recuperación funcional fue buena en todos los casos, como en el presente estudio. A pesar de ser un estudio preliminar, en el presente estudio se obtuvieron tiempos de consolidación más cortos con respecto a otros biomateriales similares (5.94 vs 9.07 semanas) (Campos *et ál.*, 2018). Sin embargo, serían necesarios estudios controlados para dar más peso a esta premisa.

A pesar de no haber encontrado diferencias estadísticamente significativas en la comparación del tiempo de consolidación con el sexo, el peso y el procedimiento, se ha podido observar una ligera tendencia en un tiempo de consolidación más corto en perros menores de 5 kg y en machos.

Este estudio tiene algunas limitaciones. El uso diagnóstico de la tomografía computarizada habría sido interesante para evaluar la densidad de mineralización ósea posquirúrgica y a las 12 semanas en el defecto. El uso de cuestionarios en los propietarios podría haber proporcionado más datos sobre la recuperación del animal. No se dispuso de un grupo control. El análisis estadístico de la variable edad podría haber proporcionado datos cuantitativos, pero no se pudo realizar porque no todas las edades exactas fueron reportadas.

Viendo los resultados prometedores que se han obtenido en este estudio preliminar, sería de gran utilidad realizar un ensayo clínico controlado para complementar y aportar más datos cuantitativos y comparativos sobre el estudio de este biomaterial.

Estudio 5. Case Report: First Evidence of a Benign Bone Cyst in an Adult Teckel Dog Treated with Shark Teeth-Derived Bioapatites.

Los quistes óseos suelen ser lesiones benignas, pero a veces se vuelven malignas o provocan fracturas secundarias (Pernell *et ál.*, 1992; Shimada *et ál.*, 1996; Barnhart, 2002). Las primeras hipótesis que se han planteado fueron sospechar de un origen causado por problemas de drenaje linfático en la zona del quiste (Cohen, 1960), aumento de la presión arterial (Chigira *et ál.*, 1983; Olstad *et ál.*, 2015) o estasis venosa (Komiya *et ál.*, 1994). Recientemente, se han descrito casos en caballos que fueron causados por un suministro sanguíneo deficiente o necrosis del cartílago isquémico (Olstad *et ál.*, 2015). También se teoriza que pueden ocurrir como consecuencia de un traumatismo, hiperplasia ósea, hematoma u obstrucción de los vasos sanguíneos, desencadenando una acumulación de líquido en el hueso (Nojiri *et ál.*, 2015). Un

incremento de la actividad lisosomal enzimática en el líquido del quiste puede desempeñar un papel en la lisis ósea, junto con niveles elevados de radicales libres de oxígeno citotóxico (Gerasimov *et ál.*, 1991).

Los signos clínicos suelen ser secundarios a la expansión progresiva del quiste e incluyen hinchazón, dolor, cojera, especialmente después de un ejercicio prolongado, y en casos avanzados fracturas patológicas si el hueso cortical se adelgaza mucho (Stanton y Abdel-Mota'al, 1998; Olstad *et ál.*, 2015; Petazzoni *et ál.*, 2015). En muchos casos, los quistes óseos son hallazgos asintomáticos e incidentales. Si aparecen signos clínicos, el diagnóstico se centrará en métodos de imagen como la radiografía, la tomografía o la resonancia magnética (De Wilde *et ál.*, 2004; McCarthy y McNally, 2004; Shikhare *et ál.*, 2018). Los signos de imagen muestran una lesión radiolúcida y un adelgazamiento cortical. A veces, un quiste se divide en varios compartimentos separados por tabiques trabeculares (Petazzoni *et ál.*, 2015). La histología de las muestras revela una pared interna compuesta por un tejido conectivo rico en fibras de colágeno, tejido de granulación y células multinucleadas (Pernell *et ál.*, 1992; Kadhim *et ál.*, 2014). El contenido es similar al plasma o un exudado sanguinolento seroso (Kadhim *et ál.*, 2014).

El diagnóstico diferencial en perros incluye quistes óseos subcondrales o aneurismáticos, infección bacteriana o micótica, displasia fibrosa, hematoma subperióstico o neoplasia (Lokiec *et ál.*, 1996; Shimada *et ál.*, 1996; Nomura y Sato, 1997; Kadhim *et ál.*, 2014; Olstad *et ál.*, 2015).

El tratamiento quirúrgico de los quistes óseos sintomáticos se basa en un legrado abierto seguido de un injerto óseo (Dueland y VanEnkevort, 1995; Petazzoni *et ál.*, 2015). En otros estudios se ha descrito el uso de matriz ósea desproteinizada de origen animal (De Wilde *et ál.*, 2004). También se ha descrito la resección completa de un quiste, pero a veces no es posible, como ocurre con los quistes que involucran los huesos sesamoideos (Lokiec *et ál.*, 1996). En los casos en que el quiste es grande, se pueden utilizar dispositivos de fijación de titanio para prevenir fracturas. En ocasiones la consecuencia de utilizar la fijación interna es tener que realizar una artrodesis, haciendo que el paciente pierda calidad de vida (Dueland y VanEnkevort, 1995; Nojiri *et ál.*, 2015). En estudios en humanos, la inyección percutánea de corticosteroides (succinato de metilprednisolona) se ha relacionado con un incremento en los niveles de prostaglandina E2 en el líquido quístico, lo que tiene un efecto beneficioso sobre la terapia (Shindell *et ál.*, 1989). Otros estudios también han estudiado los fosfatos de calcio sintéticos en defectos mandibulares y apendiculares. Se obtuvieron resultados prometedores en términos de velocidad de curación ósea, reducción de la morbilidad y mejora de la calidad de vida de los pacientes (Campos *et ál.*, 2018).

En otros estudios, se han utilizado autoinjertos para curar defectos óseos (Janicek *et ál.*, 2010). En un estudio reciente realizado en humanos (Nunziato *et ál.*, 2020), se comparó el autoinjerto con un relleno sintético para el tratamiento de quistes óseos unicamerales, y la evidencia indicó que el uso del relleno sintético disminuyó la tasa de reintervención. En ese caso, dado el tamaño del defecto en relación con el tamaño del animal, es muy difícil obtener tal cantidad de injerto dada la morbilidad del sitio donante, el alto riesgo de infección y el número de reintervenciones.

En el presente estudio se ha utilizado una bioapatita de origen marino para reducir el riesgo de fractura durante la curación ósea, evitando complicaciones derivadas de aloinjertos y autoinjertos. El relleno se realiza con un material cerámico obtenido del uso de un subproducto de pescado, dientes de tiburón (*Prionace glauca*). Es un material muy abundante, de bajo costo y biomaterial ecológico. Además, reduce el riesgo de transmisión de enfermedades en comparación con los aloinjertos (López-Álvarez *et ál.*, 2016, 2017). En este momento se desconoce el uso de otras bioapatitas marinas para el tratamiento de defectos óseos.

Las limitaciones del presente estudio son no poder realizar una tomografía computarizada justo después de la cirugía y en la última revisión. De esta forma, se podría haber evaluado la densidad de mineralización ósea. No se ha podido comparar con ningún control.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El modelo más adecuado para la técnica de distracción ósea alveolar vertical es el perro de raza Mongrel. La rata y el conejo son adecuados como modelos de distracción perióstica. No se recomienda el uso de animales de la especie porcina por sus problemas de manejo y su tasa de complicaciones en ambos tipos de distracción.
2. En las condiciones de nuestro estudio, el hueso mandibular se regeneró mediante las técnicas empleadas de distracción perióstica. Los mejores resultados se consiguieron mediante la distracción perióstica con o sin bombeo, aunque consideramos que se requieren más estudios para validar la técnica.
3. El uso de bioapatitas de origen marino para su uso en algunas técnicas de ortopedia veterinaria ha demostrado su eficacia, mejorando los tiempos de consolidación y no observándose reacciones adversas. No obstante, se necesitan más ensayos controlados para evaluar su comportamiento en diferentes situaciones clínicas.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Aaron, J.E., Makins, N.B., y Sagreiya, K. (1987). The microanatomy of trabecular bone loss in normal aging men and women. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (215): 260-271.
- Aguiar, H., Chiussi, S., López-Álvarez, M., González, P., y Serra, J. (2018). Structural characterization of bioceramics and mineralized tissues based on Raman and XRD techniques. *Ceram. Int.* 44(1): 495-504. <https://doi:10.1016/j.ceramint.2017.09.203>.
- Aiga, A., Asami, K., Lee, Y.J., Kadota, H., Mitani, S., Ozaki, T., y Takigawa, M. (2006). Expression of neurotrophins and their receptors tropomyosin-related kinases (Trk) under tension-stress during distraction osteogenesis. *Acta Med. Okayama* 60(5): 267-277. <https://doi:10.18926/AMO/30739>.
- Al-Aql, Z.S., Alagl, A.S., Graves, D.T., Gerstenfeld, L.C., y Einhorn, T.A. (2008). Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. *J. Dent. Res.* 87(2): 107-118. <https://doi:10.1177/154405910808700215>.
- Almeida, M., Iyer, S., Martin-Millan, M., Bartell, S.M., Han, L., Ambrogini, E., Onal, M., Xiong, J., Weinstein, R.S., Jilka, R.L., O'Brien, C.A., y Manolagas, S.C. (2013). Estrogen receptor- α signaling in osteoblast progenitors stimulates cortical bone accrual. *J. Clin. Invest.* 123(1): 394-404. <https://doi:10.1172/JCI65910>.
- Altuğ, H.A., Aydintuğ, Y.S., Şençimen, M., Günhan, Ö., Ortakoğlu, K., Bayar, G.R., y Doğan, N. (2011). Histomorphometric analysis of different latency periods effect on new bone obtained by periosteal distraction: An experimental study in the rabbit model. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* 111(5): 539-546. <https://doi:10.1016/j.tripleo.2010.06.009>.
- Anandan, D., y Jaiswal, A.K. (2018). Synthesis and characterization of human bone-like hydroxyapatite using Schiff's base. *Ceram. Int.* 44(8): 9401-9407. <https://doi:10.1016/J.CERAMINT.2018.02.156>.
- Aparicio, C., y Jensen, O. (2001). Alveolar ridge widening by distraction osteogenesis: a case report. *Pr. Proced Aesthet Dent* 13(8): 663-8.
- Aronson, J., Gao, G.G., Shen, X.C., McLaren, S.G., Skinner, R.A., Badger, T.M., y Lumpkin, C.K. (2001). The effect of aging on distraction osteogenesis in the rat. *J. Orthop. Res.* 19(3): 421-427. [https://doi:10.1016/S0736-0266\(00\)90025-1](https://doi:10.1016/S0736-0266(00)90025-1).

- Artzi, Z., Dayan, D., Alpern, Y., y Nemcovsky, C.E. (2003). Vertical ridge augmentation using xenogenic material supported by a configured titanium mesh: clinicohistopathologic and histochemical study.. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 18(3): 440-6.
- Artzi, Z., Weinreb, M., Givol, N., Rohrer, M.D., Nemcovsky, C.E., Prasad, H.S., y Tal, H. (2004). Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis.. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 19(3): 357-68.
- Avila Rodríguez, M.I., Rodríguez Barroso, L.G., y Sánchez, M.L. (2018). Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *J. Cosmet. Dermatol.* 17(1): 20-26. <https://doi:10.1111/JOCD.12450>.
- Azar, S.F., Canale, S.T., y Beaty, J. (2020). *Campbell's Operative Orthopedics*. Mosby Elsevier, Philadelphia.
- Bai, X., Gao, M., Syed, S., Zhuang, J., Xu, X., y Zhang, X.-Q. (2018). Bioactive hydrogels for bone regeneration. *Bioact. Mater.* 3(4): 401-417. <https://doi:10.1016/J.BIOACTMAT.2018.05.006>.
- Barnhart, M.D. (2002). Malignant transformation of an aneurysmal bone cyst in a dog.. *Vet. Surg. VS Off. J. Am. Coll. Vet. Surg.* 31(6): 519-524. <https://doi:10.1053/jvet.2002.36014>.
- Batool, F., Stutz, C., Petit, C., Benkirane-Jessel, N., Delpy, E., Zal, F., Leize-Zal, E., y Huck, O. (2020). A therapeutic oxygen carrier isolated from *Arenicola marina* decreased P. gingivalis induced inflammation and tissue destruction. *Sci. Rep.* 10(1): 14745. <https://doi:10.1038/s41598-020-71593-8>.
- Bayar, G.R., Gunaydin, Y., Ortakoglu, K., Gunhan, O., Aydintug, Y.S., y Sencimen, M. (2012). Histomorphometric analysis of new bone obtained by osteogenic periosteal distraction in ovariectomized rabbits. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 113(4): 472-479. <https://doi:10.1016/j.tripleo.2011.04.012>.
- Bennett, C.N., Longo, K.A., Wright, W.S., Suva, L.J., Lane, T.F., Hankenson, K.D., y MacDougald, O.A. (2005). Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102(9): 3324-3329. <https://doi:10.1073/PNAS.0408742102>.
- Bilezikian, J.P., Bouillon, R., Clemens, T., Compston, J., Bauer, D.C., Ebeling, P.R., Engelke, K., Goltzman, D., Guise, T., Jan De Beur, S.M., Jüppner, H., Lyons, K., McCauley, L., McClung, M.R., Miller, P.D., Papapoulos, S.E., Roodman, G.D., Rosen, C.J., Seeman, E., Thakker, R. V., Whyte, M.P., y Zaidi, M. (2018). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Wiley, Ames, USA.

- Bohner, M. (2010). Resorbable biomaterials as bone graft substitutes. *Mater. Today* 13(1-2): 24-30. [https://doi:10.1016/S1369-7021\(10\)70014-6](https://doi:10.1016/S1369-7021(10)70014-6).
- Bohner, M., Van Lenthe, G.H., Grünenfelder, S., Hirsiger, W., Evison, R., y Müller, R. (2005). Synthesis and characterization of porous β -tricalcium phosphate blocks. *Biomaterials* 26(31): 6099-6105. <https://doi:10.1016/j.biomaterials.2005.03.026>.
- Borzunov, D.Y. (2012). Long bone reconstruction using multilevel lengthening of bone defect fragments. *Int. Orthop.* 36(8): 1695-1700. <https://doi:10.1007/s00264-012-1562-1>.
- Boskey, A.L. (1997). Amorphous Calcium Phosphate: The Contention of Bone. *J. Dent. Res.* 76(8): 1433-1436. <https://doi:10.1177/00220345970760080501>.
- Boskey, A.L., y Robey, P.G. (2013). *The Composition of Bone*. Wiley Blackwell, Ames, USA.
- Boutinguiza, M., Pou, J., Comesaña, R., Lusquiños, F., de Carlos, A., y León, B. (2012). Biological hydroxyapatite obtained from fish bones. *Mater. Sci. Eng. C* 32(3): 478-486. <https://doi:10.1016/J.MSEC.2011.11.021>.
- Boyce, B.F., y Xing, L. (2008). Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch. Biochem. Biophys.* 473(2): 139. <https://doi:10.1016/J.ABB.2008.03.018>.
- Buckwalter, J.A., Glimcher, M.J., Cooper, R.R., y Recker, R. (1996). Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *Instr Course Lect* 45: 387-99.
- Burg, K.J.L., Porter, S., y Kellam, J.F. (2000). Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials* 21(23): 2347-2359. [https://doi:10.1016/S0142-9612\(00\)00102-2](https://doi:10.1016/S0142-9612(00)00102-2).
- Burwell, R.G. (1964). Studies in the transplantation of bone VII. The fresh composite homograft.autograft of cancellous bone: an analysis of factors leading to osteogenesis in marrow transplants and in marrow-containing bone grafts. *J. Bone Joint Surg Br* 64(2): 110-140.
- Campana, V., Milano, G., Pagano, E., Barba, M., Cicione, C., Salonna, G., Lattanzi, W., y Logroscino, G. (2014). Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 25(10): 2445-2461. <https://doi:10.1007/s10856-014-5240-2>.
- Campos-Muñoz, A., y De Ferraris, M.E. (2002). *Histología y Embriología Bucodental*. Médica Panamericana, España.

- Campos, J.M., Sousa, A.C., Pinto, P.O., Ribeiro, J., França, M.L., Caseiro, A.R., Branquinho, M.V., Pedrosa, S.S., Mendonça, C., Brandão, A., Santos, J.D., Afonso, A., Atayde, L.M., Luís, A.L., y Maurício, A.C. (2018). Application of Bonelike® as synthetic bone graft in orthopaedic and oral surgery in veterinary clinical cases. *Biomater. Res.* 22(1): 38. <https://doi:10.1186/s40824-018-0150-x>.
- Canalis, E., y Delany, A.M. (2002). Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 966: 73-81. <https://doi:10.1111/J.1749-6632.2002.TB04204.X>.
- Canalis, E., Economides, A.N., y Gazzerro, E. (2003). Bone Morphogenetic Proteins, Their Antagonists, and the Skeleton. *Endocr. Rev.* 24(2): 218-235. <https://doi:10.1210/ER.2002-0023>.
- Canalis, R.F., y Burstein, F.D. (1985). Osteogenesis in Vascularized Periosteum: Interactions With Underlying Bone. *Arch. Otolaryngol.* 111(8): 511-516. <https://doi:10.1001/ARCHOTOL.1985.00800100059007>.
- Cancedda, R., Dozin, B., Giannoni, P., y Quarto, R. (2003). Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. Páginas 81-91 in *Matrix Biology. Matrix Biol.*
- Cano, J., Campo, J., Moreno, L.A., y Bascones, A. (2006). Osteogenic alveolar distraction: A review of the literature. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 101(1): 11-28. <https://doi:10.1016/j.tripleo.2005.04.015>.
- Cardaropoli, G., Araújo, M., y Lindhe, J. (2003). Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites: An experimental study in dogs. *J. Clin. Periodontol.* 30(9): 809-818. <https://doi:10.1034/j.1600-051X.2003.00366.x>.
- Cate, A.R. (1997). The development of the periodontium - A largely ectomesenchymally derived unit. *Periodontol.* 2000 13(1): 9-19. <https://doi:10.1111/j.1600-0757.1997.tb00093.x>.
- Chambers, T.J., y Fuller, K. (1985). Bone cells predispose bone surfaces to resorption by exposure of mineral to osteoclastic contact. *J. Cell Sci.* 76: 155-165.
- Chambers, T.J., y Magnus, C.J. (1982). Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts. *J. Pathol.* 136(1): 27-39. <https://doi:10.1002/PATH.1711360104>.
- Chan, G.K., y Duque, G. (2002). Age-related bone loss: Old bone, new facts. *Gerontology* 48(2): 62-71. <https://doi:10.1159/000048929>.
- Chavassieux, P., y Meunier, P.J. (1995). Mechanisms of bone loss in osteoporosis. *Rev Prat.* 45(9): 1083-8.

- Chazono, M., Tanaka, T., Komaki, H., y Fujii, K. (2004). Bone formation and bioresorption after implantation of injectable β -tricalcium phosphate granules-hyaluronate complex in rabbit bone defects. *J. Biomed. Mater. Res.* 70A(4): 542-549. <https://doi:10.1002/jbm.a.30094>.
- Cheng, M.Z., Zaman, G., Rawlinson, S.C.F., Pitsillides, A.A., Suswillo, R.F.L., y Lanyon, L.E. (1997). Enhancement by sex hormones of the osteoregulatory effects of mechanical loading and prostaglandins in explants of rat ulnae. *J. Bone Miner. Res.* 12(9): 1424-1430. <https://doi:10.1359/jbmr.1997.12.9.1424>.
- Chiapasco, M., Consolo, U., Bianchi, A., y Ronchi, P. (2004). Alveolar distraction osteogenesis for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a multicenter prospective study on humans.. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 19(3): 399-407.
- Chigira, M., Maehara, S., Arita, S., y Udagawa, E. (1983). The aetiology and treatment of simple bone cysts.. *J. Bone Joint Surg. Br.* 65(5): 633-7.
- Cho, T.J., Kim, J.A., Chung, C.Y., Yoo, W.J., Gerstenfeld, L.C., Einhorn, T.A., y Choi, I.H. (2007). Expression and role of interleukin-6 in distraction osteogenesis. *Calcif. Tissue Int.* 80(3): 192-200. <https://doi:10.1007/s00223-006-0240-y>.
- Cohen, J. (1960). Simple bone cysts. Studies of cyst fluid in six cases with a theory of pathogenesis.. *J. Bone Joint Surg. Am.* 42-A: 609-16.
- Cohick, W.S., y Clemmons, D.R. (2003). The Insulin-Like Growth Factors. *Annu. Rev. Physiol.* 55: 131-153. <https://doi:10.1146/ANNUREV.PH.55.030193.001023>.
- Compston, J.E. (2001). Sex steroids and bone. *Physiol. Rev.* 81(1): 419-447. <https://doi:10.1152/PHYSREV.2001.81.1.419>.
- Corcione, C., Gervaso, F., Scalera, F., Montagna, F., Sannino, A., y Maffezzoli, A. (2017). The feasibility of printing polylactic acid–nanohydroxyapatite composites using a low-cost fused deposition modeling 3D printer. *J. Appl. Polym. Sci.* 134(13). <https://doi:10.1002/app.44656>.
- Correia, C., Bhumiratana, S., Sousa, R.A., Reis, R.L., y Vunjak-Novakovic, G. (2013). Sequential application of steady and pulsatile medium perfusion enhanced the formation of engineered bone. *Tissue Eng. Part A* 19(9-10): 1244-1254. <https://doi:10.1089/TEN.TEA.2011.0701>.
- Cowin, S.C. (2001). *Bone Mechanics Handbook*. 2nd Ed. CRC Press, Boca Ratón.
- Csobonyei, M., Polak, S., Zamborsky, R., y Danisovic, L. (2017). iPS cell technologies and their prospect for bone regeneration and disease modeling: A mini review. *J. Adv. Res.*

8(4): 321-327. <https://doi:10.1016/j.jare.2017.02.004>.

Currey, J. (2008). The structure and mechanical properties of bone. Elsevier Inc., University of York, UK.

Curtis, E.M., Moon, R.J., Dennison, E.M., Harvey, N.C., y Cooper, C. (2016). Recent advances in the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Clin. Med. J. R. Coll. Physicians London* 16(4): 360-364. <https://doi:10.7861/clinmedicine.16-4-360>.

Danoux, C., Barbieri, D., Yuan, H., De Bruijn, J., Van Blitterswijk, C., y Habibovic, P. (2014). In vitro and in vivo bioactivity assessment of a polylactic acid/hydroxyapatite composite for bone regeneration. *Biomatter* 4: e27664. <https://doi:10.4161/biom.27664>.

David, J.P., y Schett, G. (2010). TNF and Bone. *Curr. Dir. Autoimmun.* 11: 135-144. <https://doi:10.1159/000289202>.

Delgado-Ruiz, R.A., Calvo-Guirado, J.L., y Romanos, G.E. (2015). Critical size defects for bone regeneration experiments in rabbit calvariae: Systematic review and quality evaluation using ARRIVE guidelines. *Clin. Oral Implants Res.* 26(8): 915-930. <https://doi:10.1111/clr.12406>.

Dueland, R.T., y VanEnkevort, B. (1995). Lateral Tibial Head Buttress Plate: Use in a Pathological Femoral Fracture Secondary to a Bone Cyst in a Dog. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 08(04): 196-199. <https://doi:10.1055/s-0038-1632455>.

Einhorn, T.A., y Gerstenfeld, L.C. (2015). Fracture healing: Mechanisms and interventions. *Nat. Rev. Rheumatol.* 11(1): 45-54. <https://doi:10.1038/nrrheum.2014.164>.

Elliott, J.C. (1994). Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates. Elsevier Science, London, UK.

Enax, J., Prymak, O., Raabe, D., y Epple, M. (2012). Structure, composition, and mechanical properties of shark teeth. *J. Struct. Biol.* 178(3): 290-299. <https://doi:10.1016/j.jsb.2012.03.012>.

Enislidis, G., Fock, N., Millesi-Schobel, G., Klug, C., Wittwer, G., Yerit, K., y Ewers, R. (2005). Analysis of complications following alveolar distraction osteogenesis and implant placement in the partially edentulous mandible. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* 100(1): 25-30. <https://doi:10.1016/j.tripleo.2004.11.021>.

Esposito, M., Grusovin, M.G., Felice, P., Karatzopoulos, G., Worthington, H. V., y Coulthard, P. (2010). The Efficacy of Horizontal and Vertical Bone Augmentation Procedures for Dental Implants: A Cochrane Systematic Review. *Evidence-Based Pract. Towar. Optim. Clin. Outcomes* : 195-218. https://doi:10.1007/978-3-642-05025-1_13.

- Esposito, M., Grusovin, M.G., Felice, P., Karatzopoulos, G., Worthington, H. V, y Coulthard, P. (2009). Interventions for replacing missing teeth: horizontal and vertical bone augmentation techniques for dental implant treatment.. *Cochrane database Syst. Rev.* (4): CD003607. <https://doi:10.1002/14651858.CD003607.pub4>.
- Estrada, J.I.C., Saulacic, N., Vazquez, L., Lombardi, T., Ramirez, J.U.C., y Bernard, J.P. (2007). Periosteal distraction osteogenesis: Preliminary experimental evaluation in rabbits and dogs. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 45(5): 402-405. <https://doi:10.1016/j.bjoms.2006.02.005>.
- Eubanks, D.L. (2007). Oral soft tissue anatomy in the dog and cat. *J. Vet. Dent.* 24(2): 126-129. <https://doi:10.1177/089875640702400212>.
- Falahati-Nini, A., Riggs, B.L., Atkinson, E.J., O'Fallon, W.M., Eastell, R., y Khosla, S. (2000). Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J. Clin. Invest.* 106(12): 1553-1560. <https://doi:10.1172/JCI10942>.
- Farley, J., Dimai, H.P., Stilt-Coffing, B., Farley, P., Pham, T., y Mohan, S. (2000). Calcitonin increases the concentration of insulin-like growth factors in serum-free cultures of human osteoblast-line cells. *Calcif. Tissue Int.* 67(3): 247-254. <https://doi:10.1007/S002230001112>.
- Fernández-Tresguerres, I., Angel Alobera Gracia, M., del Canto Pingarrón, M., Blanco Jerez, L., y Rey, J.C. (2006). Bases fisiológicas de la regeneración ósea II: El proceso de remodelado. *Med. Oral, Patol. Oral y Cirugía Bucal* 11(2): 151-157.
- Ferracini, R., Martínez Herreros, I., Russo, A., Casalini, T., Rossi, F., y Perale, G. (2018). Scaffolds as Structural Tools for Bone-Targeted Drug Delivery. *Pharmaceutics* 10(3): 122. <https://doi:10.3390/pharmaceutics10030122>.
- Ferrario, C., Rusconi, F., Pulaj, A., Macchi, R., Landini, P., Paroni, M., Colombo, G., Martinello, T., Melotti, L., Gomiero, C., Candia Carnevali, M.D., Bonasoro, F., Patruno, M., y Sugni, M. (2020). From Food Waste to Innovative Biomaterial: Sea Urchin-Derived Collagen for Applications in Skin Regenerative Medicine. *Mar. Drugs* 18(8). <https://doi:10.3390/md18080414>.
- Ferri, J.M., Jordá, J., Montanes, N., Fenollar, O., y Balart, R. (2018). Manufacturing and characterization of poly(lactic acid) composites with hydroxyapatite. *J. Thermoplast. Compos. Mater.* 31(7): 865-881. <https://doi:10.1177/0892705717729014>.
- Finkemeier, C.G. (2002). Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J. Bone Jt. Surgery-*

American Vol. 84(3): 454-464. <https://doi:10.2106/00004623-200203000-00020>.

Florencio-Silva, R., Sasso, G.R.D.S., Sasso-Cerri, E., Simões, M.J., y Cerri, P.S. (2015). Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res. Int.* 2015. <https://doi:10.1155/2015/421746>.

Forwood, M.R. (2018). *Mechanical Loading and the Developing Skeleton*. Wiley, Queensland, Australia.

Franch, J., Díaz-Bertrana, C., Lafuente, P., Fontecha, P., y Durall, I. (2006). Beta-tricalcium phosphate as a synthetic cancellous bone graft in veterinary orthopaedics: a retrospective study of 13 clinical cases.. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 19(4): 196-204.

Fulton, A.J., Fiani, N., y Verstraete, F.J.M. (2014). Canine pediatric dentistry. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 44(2): 303-324. <https://doi:10.1016/J.CVSM.2013.11.004>.

Gabbay, J.S., Zuk, P.A., Tahernia, A., Askari, M., O'Hara, C.M., Karthikeyan, T., Azari, K., Hollinger, J.O., y Bradley, J.P. (2006). In vitro microdistraction of preosteoblasts: Distraction promotes proliferation and oscillation promotes differentiation. *Tissue Eng.* 12(11): 3055-3065. <https://doi:10.1089/ten.2006.12.3055>.

Garcia-Garcia, A., Somoza-Martin, M., Gandara-Vila, P., Saulacic, N., y Gandara-Rey, J.M. (2004). Horizontal alveolar distraction: A surgical technique with the transport segment pedicled to the mucoperiosteum. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 62(11): 1408-1412. <https://doi:10.1016/j.joms.2004.07.004>.

García-González, M., Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., y Saulacic, N. (2020a). Does the Animal Model Influence in Vertical Alveolar Distraction? A Systematic Review of the Literature. *Animals* 10(12): 2347. <https://doi:10.3390/ani10122347>.

García-González, M., Muñoz, F., González-Cantalapiedra, A., López-Peña, M., y Saulacic, N. (2021). Systematic review and quality evaluation using arrive 2.0 guidelines on animal models used for periosteal distraction osteogenesis. *Animals* 11(5). <https://doi:10.3390/ani11051233>.

García-González, M., Muñoz Guzón, F., González Cantalapiedra, A., Gonzalez Fernández, P., Otero Pérez, R., y Serra Rodríguez, J. (2020b). Application of Shark Teeth-Derived Bioapatites as a Bone Substitute in Veterinary Orthopedics. Preliminary Clinical Trial in Dogs and Cats. *Front. Vet. Sci.* 7: 831. <https://doi:10.3389/FVETS.2020.574017>.

Gardner, C.R., Blanqué, R., y Cottreaux, C. (2001). Mechanisms involved in prostaglandin-induced increase in bone resorption in neonatal mouse calvaria. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 64(2): 117-125. <https://doi:10.1054/plef.2001.0250>.

- Gerasimov, A.M., Toporova, S.M., Furtseva, L.N., Berezhnoy, A.P., Vilensky, E. V, y Alekseeva, R.I. (1991). The role of lysosomes in the pathogenesis of unicameral bone cysts.. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (266): 53-63.
- Gioso, M.A., y Carvalho, V.G.G. (2005). Oral anatomy of the dog and cat in veterinary dentistry practice. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 35(4): 763-780. <https://doi:10.1016/J.CVSM.2004.10.003>.
- Glorion, M., Polard, V., Favereau, F., Hauet, T., Zal, F., Fadel, E., y Sage, E. (2018). Prevention of ischemia-reperfusion lung injury during static cold preservation by supplementation of standard preservation solution with HEMO 2 life ® in pig lung transplantation model. *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 46(8): 1773-1780. <https://doi:10.1080/21691401.2017.1392315>.
- González-Alconada, R. (2016). Regeneración ósea en un modelo de xenotrasplante de células madre. Universidad de Salamanca, Salamanca.
- Grant, S.F.A., y Ralston, S.H. (1997). Genes and osteoporosis. *Trends Endocrinol. Metab.* 8(6): 232-236. [https://doi:10.1016/S1043-2760\(97\)00058-1](https://doi:10.1016/S1043-2760(97)00058-1).
- Guo, Y., Wang, Y., Liu, Y., Wang, H., Guo, C., Zhang, X., y Bei, C. (2015). Effect of the same mechanical loading on osteogenesis and osteoclastogenesis in vitro. *Chinese J. Traumatol. - English Ed.* 18(3): 150-156. <https://doi:10.1016/j.cjte.2014.09.004>.
- Gustilo, R.B., Simpson, L., Nixon, R., Ruiz, A., y Inceck, W. (1969). Analysis of 511 open fractures.. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 66: 148-54.
- Haberland, M., Schilling, A.F., Rueger, J.M., y Amling, M. (2001). Brain and bone: Central regulation of bone mass. A new paradigm in skeletal biology. *J. Bone Jt. Surg. - Ser. A* 83(12): 1871-1876. <https://doi:10.2106/00004623-200112000-00016>.
- Hariri, F., Yoong Chin, S., Rengarajoo, J., Chao Foo, Q., Nur Nabihah Zainul Abidin, S., y Fadhli Ahmad Badruddin, A. (2019). Distraction Osteogenesis in Oral and Craniomaxillofacial Reconstructive Surgery. IntechOpen.
- Hauschka, P. V., Mavrakos, A.E., Iafrati, M.D., Doleman, S.E., y Klagsbrun, M. (1986). Growth factors in bone matrix. Isolation of multiple types by affinity chromatography on heparin-Sepharose. *J. Biol. Chem.* 261(27): 12665-12674. [https://doi:10.1016/s0021-9258\(18\)67143-1](https://doi:10.1016/s0021-9258(18)67143-1).
- Holmstrom, S.E. (2012). Veterinary dentistry in senior canines and felines. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 42(4): 793-808. <https://doi:10.1016/J.CVSM.2012.04.001>.
- Hooijmans, C.R., Rovers, M.M., De Vries, R.B.M., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., y

- Langendam, M.W. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med. Res. Methodol.* 14(1). <https://doi:10.1186/1471-2288-14-43>.
- Horowitz, M. (2003). Matrix Proteins versus Cytokines in the Regulation of Osteoblast Function and Bone Formation. *Calcif. Tissue Int.* 2003 721 72(1): 5-7. <https://doi:10.1007/S00223-002-1048-Z>.
- Hubbell, J.A. (1999). Bioactive biomaterials. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10(2): 123-129. [https://doi:10.1016/S0958-1669\(99\)80021-4](https://doi:10.1016/S0958-1669(99)80021-4).
- Hutmacher, D.W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 21(24): 2529-2543. [https://doi:10.1016/S0142-9612\(00\)00121-6](https://doi:10.1016/S0142-9612(00)00121-6).
- Ilizarov, G.A. (1989a). The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (238): 249-281. <https://doi:10.1097/00003086-198901000-00038>.
- Ilizarov, G.A. (1989b). The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (239): 263-285. <https://doi:10.1097/00003086-198902000-00029>.
- Inoue, H., Kuroiwa, Y., Naitoh, M., Arijji, E., Sugita, Y., Maeda, H., y Kurita, K. (2014). Image analysis of lateral alveolar ridge augmentation using periosteal distraction osteogenesis. *J. Hard Tissue Biol.* 23(1): 125-130. <https://doi:10.2485/jhtb.23.125>.
- Inzerillo, A.M., Zaidi, M., y Huang, C.L.H. (2004). Calcitonin: The Other Thyroid Hormone. *Thyroid* 12(9): 791-798. <https://doi:10.1089/105072502760339352>.
- Iturriaga, S.Y., Vizcaino, M.A., y Moreno, C.G. (2015). El tejido óseo. M.A. Lecuona, A.E. Castell, E.A. Sampedro, S. Acevedo, A. Guerrero, y A.F. Fernández, ed. Elsevier, Barcelona.
- Ivanova, T.I., Frank-Kamenetskaya, O.V., Kol'tsov, A.B., y Ugolkov, V.L. (2001). Crystal Structure of Calcium-Deficient Carbonated Hydroxyapatite. Thermal Decomposition. *J. Solid State Chem.* 160(2): 340-349. <https://doi:10.1006/JSSC.2000.9238>.
- Izumisawa, Y., Seno, T., Abe, R., Miyoshi, K., Maehara, S., Wakaiki, S., Kushiro, T., Umar, M.A., Tsuzuki, K., Yamashita, K., y Hayashi, S. (2005). Axial Correction of Pes Varus by Transverse-Opening Wedge Osteotomy and T-Plate Fixation with Beta-Tricalcium Phosphate (β -TCP) Transplantation in Dachshunds. *J. Vet. Med. Sci.* 67(4): 437-440. <https://doi:10.1292/jvms.67.437>.
- Janicek, J.C., Cook, J.L., Wilson, D.A., y Ketzner, K.M. (2010). Multiple osteochondral autografts for treatment of a medial trochlear ridge subchondral cystic lesion in the equine

- tarsus. *Vet. Surg.* 39(1): 95-100. <https://doi:10.1111/j.1532-950X.2009.00576.x>.
- Janicki, P., y Schmidmaier, G. (2011). What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells. *Injury* 42(2): S77-S81. <https://doi:10.1016/j.injury.2011.06.014>.
- Jensen, O.T., Bell, W., y Cottam, J. (2010). Osteoperiosteal flaps and local osteotomies for alveolar reconstruction. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* 22(3): 331-346. <https://doi:10.1016/j.coms.2010.04.003>.
- Jensen, O.T., Cockrell, R., Kuhike, L., y Reed, C. (2002). Anterior maxillary alveolar distraction osteogenesis: a prospective 5-year clinical study.. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 17(1): 52-68.
- Jódar Gimeno, E., Muñoz-Torres, M., Escobar-Jiménez, F., Quesada Charneco, M., Luna Del Castillo, J.D., y Oleà, N. (1997). Identification of Metabolic Bone Disease in Patients with Endogenous Hyperthyroidism: Role of Biological Markers of Bone Turnover. *Calcif. Tissue Int.* 1997 615 61(5): 370-376. <https://doi:10.1007/S002239900350>.
- Kadhim, M., Thacker, M., Kadhim, A., y Holmes, L. (2014). Treatment of unicameral bone cyst: Systematic review and meta analysis. *J. Child. Orthop.* 8(2): 171-191. <https://doi:10.1007/s11832-014-0566-3>.
- Katznelson, L., Finkelstein, J.S., Schoenfeld, D.A., Rosenthal, D.I., Anderson, E.J., y Klibanski, A. (1996). Increase in bone density and lean body mass during testosterone administration in men with acquired hypogonadism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(12): 4358-4365. <https://doi:10.1210/JCEM.81.12.8954042>.
- Kawakami, A., Nakashima, T., Tsuboi, M., Urayama, S., Matsuoka, N., Ida, H., Kawabe, Y., Sakai, H., Migita, K., Aoyagi, T., Nakashima, M., Maeda, K., y Eguchi, K. (1998). Insulin-like Growth Factor I Stimulates Proliferation and Fas-Mediated Apoptosis of Human Osteoblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 247(1): 46-51. <https://doi:10.1006/BBRC.1998.8728>.
- Kempton, S.J., McCarthy, J.E., y Afifi, A.M. (2014). A systematic review of distraction osteogenesis in hand surgery: What are the benefits, complication rates, and duration of treatment?. *Plast. Reconstr. Surg.* 133(5): 1120-1130. <https://doi:10.1097/PRS.0000000000000247>.
- Kessler, P., Bumiller, L., Schlegel, A., Birkholz, T., Neukam, F.W., y Wiltfang, J. (2007). Dynamic periosteal elevation. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 45(4): 284-287. <https://doi:10.1016/j.bjoms.2006.09.010>.

- Khan, Y., Yaszemski, M.J., Mikos, A.G., y Laurencin, C.T. (2008). Tissue Engineering of Bone: Material and Matrix Considerations. *J. Bone Jt. Surgery-American Vol.* 90(Suppl 1): 36-42. <https://doi:10.2106/JBJS.G.01260>.
- Kilkenny, C., Browne, W., Cuthill, I., Emerson, M., y Altman, D. (2014). Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *Animals* 4(1): 35-44. <https://doi:10.3390/ani4010035>.
- Kilkenny, C., Browne, W.J., Cuthill, I.C., Emerson, M., y Altman, D.G. (2010). Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *PLoS Biol.* 8(6): e1000412. <https://doi:10.1371/journal.pbio.1000412>.
- Kilkenny, C., Parsons, N., Kadyszewski, E., Festing, M.F.W., Cuthill, I.C., Fry, D., Hutton, J., y Altman, D.G. (2009). Survey of the Quality of Experimental Design, Statistical Analysis and Reporting of Research Using Animals. *PLoS One* 4(11). <https://doi:10.1371/journal.pone.0007824>.
- Kocyigit, I.D., Tuz, H.H., Ozgul, O., Coskunes, F.M., y Kisnisci, R.S. (2014). A simple solution for vector control in vertical alveolar distraction osteogenesis. *J. Oral Implantol.* 40(5): 557-560. <https://doi:10.1563/AAID-JOI-D-12-00018>.
- Komiya, S., Tsuzuki, K., Mangham, D.C., Sugiyama, M., y Inoue, A. (1994). Oxygen scavengers in simple bone cysts.. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (308): 199-206.
- Kong, L. chi, Li, H.A., Kang, Q. lin, y Li, G. (2020). An update to the advances in understanding distraction histogenesis: From biological mechanisms to novel clinical applications. *J. Orthop. Transl.* 25: 3-10. <https://doi:10.1016/j.jot.2020.09.003>.
- Kostopoulos, L., y Karring, T. (1995). Role of periosteum in the formation of jaw bone: An experiment in the rat. *J. Clin. Periodontol.* 22(3): 247-254. <https://doi:10.1111/j.1600-051X.1995.tb00142.x>.
- Krekmanov, L., Kahn, M., Rangert, B., y Lindström, H. (2000). Tilting of posterior mandibular and maxillary implants for improved prosthesis support.. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 15(3): 405-14.
- Krishnan, A., Pamecha, C., y Patwa, J.J. (2006). Modified Ilizarov technique for infected nonunion of the femur: the principle of distraction-compression osteogenesis. *J. Orthop. Surg.* 14(3): 265-272. <https://doi:10.1177/230949900601400307>.
- Kudo, T.A., Kanetaka, H., Watanabe, A., Okumoto, A., Asano, M., Zhang, Y., Zhao, F., Kano, M., Shimizu, Y., Tamura, S., y Hayashi, H. (2010). Investigating bone morphogenetic protein (BMP) signaling in a newly established human cell line expressing BMP receptor

- type II. *Tohoku J. Exp. Med.* 222(2): 121-129. <https://doi:10.1620/TJEM.222.121>.
- Kwon, H.J., Cha, J.Y., Park, J.T., Kim, H.J., y Kim, H.J. (2020). Effect of cyclic compressive forces on new bone formation during the distraction period in mandibular distraction osteogenesis using a microactuator-generated distractor. *Plast. Reconstr. Surg.* : 783-791. <https://doi:10.1097/PRS.00000000000007152>.
- Landi, E., Uggeri, J., Medri, V., y Guizzardi, S. (2013). Sr, Mg cosubstituted HA porous macrogranules: Potentialities as resorbable bone filler with antiosteoporotic functions. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 101A(9): 2481-2490. <https://doi:10.1002/jbm.a.34553>.
- Von Langebeck, B. (1869). Ueber krankhaftes Längenwachsthum der Röhrenknochen und seine Verwerthung für die chirurgische Praxis. *Berl Klin Wochenschr* 16: 265.
- Laster, Z., Rachmiel, A., y Jensen, O.T. (2005). Alveolar width distraction osteogenesis for early implant placement. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 63(12): 1724-1730. <https://doi:10.1016/j.joms.2005.09.001>.
- Lazaruc, D., Forna, D.A., y Forna, N.C. (2016). Bone Regeneration Material with a Potential in GuM Regeneration. *Mater. Plast.* 53(3): 561-563.
- Lee, S.B., Jung, U.W., Choi, Y., Jamiyandorj, O., Kim, C.S., Lee, Y.K., Chai, J.K., y Choi, S.H. (2010). Investigation of bone formation using calcium phosphate glass cement in beagle dogs. *J. Periodontal Implant Sci.* 40(3): 125-131. <https://doi:10.5051/jpis.2010.40.3.125>.
- León, B., y Jansen, J.A. (2009). Thin Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants. B. León y J. Jansen, ed. Springer New York, New York.
- Lethaus, B., Tudor, C., Bumiller, L., Birkholz, T., Wiltfang, J., y Kessler, P. (2010). Guided bone regeneration: Dynamic procedures versus static shielding in an animal model. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 95(1): 126-130. <https://doi:10.1002/jbm.b.31691>.
- Li, T., Zhang, Y., Shao, B., Gao, Y., Zhang, C., Cao, Q., y Kong, L. (2015). Partially Biodegradable Distraction Implant to Replace Conventional Implants in Alveolar Bone of Insufficient Height: A Preliminary Study in Dogs. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 17(6): 1164-1173. <https://doi:10.1111/cid.12229>.
- Li, Y., Pan, Q., Xu, J., He, X., Li, H.A., Oldridge, D.A., Li, G., y Qin, L. (2021). Overview of methods for enhancing bone regeneration in distraction osteogenesis: Potential roles of biomaterials. *J. Orthop. Transl.* 27: 110-118. <https://doi:10.1016/j.jot.2020.11.008>.
- Lindhe, J., y Berglundh, T. (2005). La inserción transmucosa. Médica Panamericana, Madrid,

España.

- Lindhe, J., Karting, T., y Lang, N.P. (2005). *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. 4a Edición. Editorial Médica Panamericana S.A., Buenos Aires.
- Lindhe, J., y Lang, N. (2017). *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. 6ª Ed. Médica Panamericana, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- Lips, P., Courpron, P., y Meunier, P.J. (1978). Mean wall thickness of trabecular bone packets in the human iliac crest: Changes with age. *Calcif. Tissue Res.* 26(1): 13-17. <https://doi:10.1007/BF02013227>.
- Liu, Y., Chan, J.K.Y., y Teoh, S.H. (2015). Review of vascularised bone tissue-engineering strategies with a focus on co-culture systems. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 9(2): 85-105. <https://doi:10.1002/term.1617>.
- Lobato, J.V., Hussain, N.S., Botelho, C.M., Maurício, A.C., Afonso, A., y Santos, J.D. (2006). Assessment of Bonelike® graft with a resorbable matrix using an animal model. *Thin Solid Films* 515(1): 362-367. <https://doi:10.1016/J.TSF.2005.12.153>.
- Lokiec, F., Ezra, E., Khermosh, O., y Wientroub, S. (1996). Simple bone cysts treated by percutaneous autologous marrow grafting. A preliminary report. *J. Bone Joint Surg. Br.* 78(6): 934-7. <https://doi:10.1302/0301-620x78b6.6840>.
- Lopes, D., Martins-Cruz, C., Oliveira, M.B., y Mano, J.F. (2018). Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. *Biomaterials* 185: 240-275. <https://doi:10.1016/j.biomaterials.2018.09.028>.
- López-Álvarez, M., Pérez-Davila, S., Rodríguez-Valencia, C., González, P., y Serra, J. (2016). The improved biological response of shark tooth bioapatites in a comparative in vitro study with synthetic and bovine bone grafts. *Biomed. Mater.* 11(3): 035011. <https://doi:10.1088/1748-6041/11/3/035011>.
- López-Álvarez, M., Vigo, E., Rodríguez-Valencia, C., Outeiriño-Iglesias, V., González, P., y Serra, J. (2017). In vivo evaluation of shark teeth-derived bioapatites. *Clin. Oral Implants Res.* 28(9): e91-e100. <https://doi:10.1111/clr.12934>.
- López, S., Vilar, J.M., Sopena, J.J., Damià, E., Chicharro, D., Carrillo, J.M., Cuervo, B., y Rubio, M. (2019). Assessment of the efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of traumatic canine fractures. *Int. J. Mol. Sci.* 20(5). <https://doi:10.3390/ijms20051075>.
- Makhdom, A.M., y Hamdy, R.C. (2013). The Role of Growth Factors on Acceleration of Bone Regeneration During Distraction Osteogenesis. *Tissue Eng. Part B Rev.* 19(5): 442-453. <https://doi:10.1089/TEN.TEB.2012.0717>.

- Mallet, V., Dutheil, D., Polard, V., Rousselot, M., Leize, E., Hauet, T., Goujon, J.M., y Zal, F. (2014). Dose-ranging study of the performance of the natural oxygen transporter HEMO2life in organ preservation. *Artif. Organs* 38(8): 691-701. <https://doi:10.1111/aor.12307>.
- Marie, P.J. (2003). Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation. *Gene* 316(1-2): 23-32. [https://doi:10.1016/S0378-1119\(03\)00748-0](https://doi:10.1016/S0378-1119(03)00748-0).
- Martínez-González, J.M., Cano-Sánchez, J., Campo-Trapero, J., Gonzalo-Lafuente, J.C., Díaz-Regañón, J., y Vázquez-Piñero, M.T. (2005). Evaluation of minipigs as an animal model for alveolar distraction. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 99(1): 11-16. <https://doi:10.1016/j.tripleo.2004.02.068>.
- Mastrogiacomo, M., Muraglia, A., Komlev, V., Peyrin, F., Rustichelli, F., Crovace, A., y Cancedda, R. (2005). Tissue engineering of bone: search for a better scaffold. *Orthod. Craniofacial Res.* 8(4): 277-284. <https://doi:10.1111/j.1601-6343.2005.00350.x>.
- McCarthy, C.L., y McNally, E.G. (2004). The MRI appearance of cystic lesions around the knee. *Skeletal Radiol.* 33(4): 187-209. <https://doi:10.1007/s00256-003-0741-y>.
- Melcher, A.H. (1976). On the Repair Potential of Periodontal Tissues. *J. Periodontol.* 47(5): 256-260. <https://doi:10.1902/JOP.1976.47.5.256>.
- Mellish, R.W.E., Garrahan, N.J., y Compston, J.E. (1989). Age-related changes in trabecular width and spacing in human iliac crest biopsies. *Bone Miner.* 6(3): 331-338. [https://doi:10.1016/0169-6009\(89\)90038-X](https://doi:10.1016/0169-6009(89)90038-X).
- Melville, K.M., Kelly, N.H., Khan, S.A., Schimenti, J.C., Ross, F.P., Main, R.P., y Van Der Meulen, M.C.H. (2014). Female mice lacking estrogen receptor-alpha in osteoblasts have compromised bone mass and strength. *J. Bone Miner. Res.* 29(2): 370-379. <https://doi:10.1002/JBMR.2082>.
- Mescher, A.L. (2021). Bone. 16 Ed. McGraw Hill, Indiana.
- Le Meur, Y., Badet, L., Essig, M., Thierry, A., Büchler, M., Drouin, S., Deruelle, C., Morelon, E., Pesteil, F., Delpéch, P.O., Boutin, J.M., Renard, F., y Barrou, B. (2020). First-in-human use of a marine oxygen carrier (M101) for organ preservation: A safety and proof-of-principle study. *Am. J. Transplant.* 20(6): 1729-1738. <https://doi:10.1111/ajt.15798>.
- Mishina, Y., Starbuck, M.W., Gentile, M.A., Fukuda, T., Kasparcova, V., Seedor, J.G., Hanks, M.C., Amling, M., Pinero, G.J., Harada, S.I., y Behringer, R.R. (2004). Bone morphogenetic protein type IA receptor signaling regulates postnatal osteoblast function and bone remodeling. *J. Biol. Chem.* 279(26): 27560-27566.

<https://doi:10.1074/JBC.M404222200>.

- Mofid, M.M., Inoue, N., Atabey, A., Marti, G., Chao, E.Y.S., Manson, P.N., y Vander Kolk, C.A. (2002). Callus stimulation in distraction osteogenesis. *Plast. Reconstr. Surg.* 109(5): 1621-1629. <https://doi:10.1097/00006534-200204150-00020>.
- Mofid, M.M., Manson, P.N., Robertson, B.C., Tufaro, A.P., Elias, J.J., y Vander Kolk, C.A. (2001). Craniofacial distraction osteogenesis: A review of 3278 cases. *Plast. Reconstr. Surg.* 108(5): 1103-1114. <https://doi:10.1097/00006534-200110000-00001>.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., y Altman, D.G. (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med.* 6(7): e1000097. <https://doi:10.1371/journal.pmed.1000097>.
- Morey, E.R., y Baylink, D.J. (1978). Inhibition of Bone Formation During Space Flight. *Science* (80-). 201(4361): 1138-1141. <https://doi:10.1126/SCIENCE.150643>.
- Mori, S., Akagi, M., Kikuyama, A., Yasuda, Y., y Hamanishi, C. (2006). Axial shortening during distraction osteogenesis leads to enhanced bone formation in a rabbit model through the HIF-1 α /vascular endothelial growth factor system. *J. Orthop. Res.* 24(4): 653-663. <https://doi:10.1002/jor.20076>.
- Na, Y.R., Jung, D., Gu, G.J., y Seok, S.H. (2016). GM-CSF Grown Bone Marrow Derived Cells Are Composed of Phenotypically Different Dendritic Cells and Macrophages. *Mol. Cells* 39(10): 734-741. <https://doi:10.14348/MOLCELLS.2016.0160>.
- Nakahara, K., Haga-Tsujimura, M., Iizuka, T., y Saulacic, N. (2016). Periosteum-Induced Bone Formation by Distraction Osteogenesis: Histologic and Microcomputed Tomography Analysis. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 31(4): 785-792. <https://doi:10.11607/jomi.4316>.
- Nanci, A. (2017). Oral Histology. Development, Structure, and function. 9th Ed. Elsevier, St. Louis.
- Nandi, S.K., Kundu, B., Ghosh, S.K., De, D.K., y Basu, D. (2008). Efficacy of nano-hydroxyapatite prepared by an aqueous solution combustion technique in healing bone defects of goat.. *J. Vet. Sci.* 9(2): 183-91. <https://doi:10.4142/JVS.2008.9.2.183>.
- Nash, T.J., Howlett, C.R., Martin, C., Steele, J., Johnson, K.A., y Hicklin, D.J. (1994). Effect of platelet-derived growth factor on tibial osteotomies in rabbits. *Bone* 15(2): 203-208. [https://doi:10.1016/8756-3282\(94\)90709-9](https://doi:10.1016/8756-3282(94)90709-9).
- Nganvongpanit, K., Boonsri, B., Sripratak, T., y Markmee, P. (2013). Effects of one-time and two-time intra-articular injection of hyaluronic acid sodium salt after joint surgery in dogs.

- J. Vet. Sci.* 14(2): 215-222. <https://doi:10.4142/jvs.2013.14.2.215>.
- Nojiri, A., Akiyoshi, H., Ohashi, F., Ijiri, A., Sawase, O., Matsushita, T., Takemoto, M., Fujibayashi, S., Nakamura, T., y Yamaguchi, T. (2015). Treatment of a unicameral bone cyst in a dog using a customized titanium device. *J. Vet. Med. Sci.* 77(1): 127-131. <https://doi:10.1292/jvms.13-0548>.
- Nomura, K., y Sato, K. (1997). Pelvic aneurysmal bone cyst in a dog.. *J. Vet. Med. Sci.* 59(11): 1027-30. <https://doi:10.1292/jvms.59.1027>.
- Nosaka, Y., Kobayashi, M., Kitano, S., y Komori, T. (2005). Horizontal alveolar ridge distraction osteogenesis in dogs: radiographic and histologic studies.. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 20(6): 837-42.
- Nunziato, C., Williams, J., y Williams, R. (2020). Synthetic Bone Graft Substitute for Treatment of Unicameral Bone Cysts. *J. Pediatr Orthop* . <https://doi:10.1097/BPO.0000000000001680>.
- Oda, T., Kinoshita, K., y Ueda, M. (2009). Effects of Cortical Bone Perforation on Periosteal Distraction: An Experimental Study in the Rabbit Mandible. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 67(7): 1478-1485. <https://doi:10.1016/j.joms.2008.06.085>.
- Olstad, K., Ostevik, L., Carlson, C.S., y Ekman, S. (2015). Osteochondrosis Can Lead to Formation of Pseudocysts and True Cysts in the Subchondral Bone of Horses.. *Vet. Pathol.* 52(5): 862-72. <https://doi:10.1177/0300985814559399>.
- Olszta, M.J., Cheng, X., Jee, S.S., Kumar, R., Kim, Y.Y., Kaufman, M.J., Douglas, E.P., y Gower, L.B. (2007). Bone structure and formation: A new perspective. *Mater. Sci. Eng. R Reports* 58(3-5): 77-116. <https://doi:10.1016/j.mser.2007.05.001>.
- Ontañón, M., Aparicio, C., Ginebra, M.P., y Planell, J.A. (2000). Structure and Mechanical Properties of Cortical Bone. Elsevier, Barcelona.
- Osorio, C.C., Escobar, L.M., González, M.C., Gamboa, L.F., y Chambrone, L. (2020). Evaluation of density, volume, height and rate of bone resorption of substitutes of autologous bone grafts for the repair of alveolar clefts in humans: A systematic review. *Heliyon* 6(9). <https://doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04646>.
- Pacicca, D.M., Patel, N., Lee, C., Salisbury, K., Lehmann, W., Carvalho, R., Gerstenfeld, L.C., y Einhorn, T.A. (2003). Expression of angiogenic factors during distraction osteogenesis. *Bone* 33(6): 889-898. <https://doi:10.1016/j.bone.2003.06.002>.
- Palmer, P., y Palmer, R. (1999). Implant surgery to overcome anatomical difficulties. *Br. Dent. J.* 187(10): 532-540. <https://doi:10.1038/sj.bdj.4800325>.

- Parfitt, A.M. (2015). *Pharmacologic Manipulation of Bone Remodelling and Calcium Homeostasis*. Karger Publishers, Basel.
- Parfitt, A.M., Mathews, C.H.E., Villanueva, A.B., Kleerekoper, M., Frame, B., y Rao, D.S. (1983). Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. *J. Clin. Invest.* 72(4): 1396-1409. <https://doi:10.1172/JCI111096>.
- Park, J., y Lakes, R. (2007). *Biomaterials. An Introduction*. 3rd Ed. Springer, New York.
- Pérez-Sayáns, M., Martínez-Martín, J.M., Chamorro-Petronacci, C., Gallas-Torreira, M., Marichalar-Mendía, X., y García-García, A. (2018). 20 years of alveolar distraction: A systematic review of the literature. *Med. Oral Patol. Oral y Cir. Bucal* 23(6): e742-e751. <https://doi:10.4317/medoral.22645>.
- Perez Sayans, M., Martín, J.M.M., Torreira, M.G., Martínez, M. del M.M., y García-García, A. (2018). Periosteal distraction as bone regenerative alternative. *Biomed. Res.* 29(13): 2766-2772. <https://doi:10.4066/biomedicalresearch.29-17-4030>.
- Pernell, R.T., Dunstan, R.W., y DeCamp, C.E. (1992). Aneurysmal bone cyst in a six-month-old dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201(12): 1897-9.
- Petazzoni, M., Briotti, F., y Beale, B. (2015). Unicameral bone cyst of the patella in a young dog. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 28(5): 359-363. <https://doi:10.3415/VCOT-14-12-0187>.
- Pharaon, S.K., Schoch, S., Marchand, L., Mirza, A., y Mayberry, J. (2018). Orthopaedic traumatology: Fundamental principles and current controversies for the acute care surgeon. *Trauma Surg. Acute Care Open* 3(1): 1-8. <https://doi:10.1136/tsaco-2017-000117>.
- Piattelli, M., Favero, G.A., Scarano, A., Orsini, G., y Piattelli, A. (1999). Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 14(6): 835-40.
- Pinto, P.O., Atayde, L.M., Atayde, L.M., Campos, J.M., Campos, J.M., Caseiro, A.R., Caseiro, A.R., Caseiro, A.R., Pereira, T., Pereira, T., Mendonça, C., Mendonça, C., Santos, J.D., Maurxhtício, A.C., y Maurxhtício, A.C. (2016). *Therapeutic Strategies for Bone Regeneration: The Importance of Biomaterials Testing in Adequate Animal Models*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Pocock, N.A., Eisman, J.A., Hopper, J.L., Yeates, M.G., Sambrook, P.N., y Eberl, S. (1987). Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J. Clin. Invest.* 80(3): 706-710.

- <https://doi:10.1172/JCI113125>.
- Posner, A.S., Perloff, A., y Diorio, A.F. (1958). Refinement of the hydroxyapatite structure. *Acta Crystallogr.* 11(4): 308-309. <https://doi:10.1107/s0365110x58000815>.
- Proubasta, I., Gil, F.J., y Planell, J.A. (1997). Fundamentos de biomecánica y biomateriales . Ergorn, Madrid.
- Pruksakorn, D., Rojanasthien, S., Pothacharoen, P., Luevitoonvechkij, S., Wongtratanachai, P., Ong-chai, S., y Kongtawelert, P. (2009). Chondroitin sulfate epitope (WF6) and hyaluronic acid as serum markers of cartilage degeneration in patients following anterior cruciate ligament injury. *J. Sci. Med. Sport* 12(4): 445-448. <https://doi:10.1016/j.jsams.2008.02.003>.
- Raisz, L.G. (1993). Bone cell biology: New approaches and unanswered questions. *J. Bone Miner. Res.* 8(S2): S457-S465. <https://doi:10.1002/JBMR.5650081306>.
- Rajhans, M.S., Lokhande, D.U., Khandekar, G.S., Dhande, P.L., Gaikwad, S.V., y Velhankar, R.D. (2018). Use of biphasic calcium phosphate in repair of long bone fracture with bone loss in dogs. *Vet. Pract.* 19(1): 73-75.
- Ransom, R.C., Carter, A.C., Salhotra, A., Leavitt, T., Marecic, O., Murphy, M.P., Lopez, M.L., Wei, Y., Marshall, C.D., Shen, E.Z., Jones, R.E., Sharir, A., Klein, O.D., Chan, C.K.F., Wan, D.C., Chang, H.Y., y Longaker, M.T. (2018). Mechanoresponsive stem cells acquire neural crest fate in jaw regeneration. *Nature* 563(7732): 514-521. <https://doi:10.1038/S41586-018-0650-9>.
- Ratner, B., y Hoffman, A. (2004). Biomaterials Science. B. Ratner, A. Hoffman, F. Schoen, y J. Lemons, ed. Elsevier, London.
- Robling, A.G., Castillo, A.B., y Turner, C.H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 8: 455-498. <https://doi:10.1146/annurev.bioeng.8.061505.095721>.
- Rodan, G.A., y Martin, T.J. (1981). Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption-A hypothesis. *Calcif. Tissue Int.* 33(1): 349-351. <https://doi:10.1007/BF02409454>.
- Rodriguez-Grandjean, A., Reininger, D., y López-Quiles, J. (2015). Complications in the treatment with alveolar extraosseous distractors. Literature review. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* 20(4): e518-e524. <https://doi:10.4317/medoral.20512>.
- Rogers, G.F., y Greene, A.K. (2012). Autogenous Bone Graft. *J. Craniofac. Surg.* 23(1): 323-327. <https://doi:10.1097/SCS.0b013e318241dcba>.

- Ross, M.H., y Pawlina, W. (2020). *Histology. A text and Atlas with correlated cell and molecular biology*. 8ª. Wolters Kluwer Health Inc, Philadelphia.
- Saffar, J.L., Lasfargues, J.J., y Cherruau, M. (1997). Alveolar bone and the alveolar process: The socket that is never stable. *Periodontol. 2000* 13(1): 76-90. <https://doi:10.1111/j.1600-0757.1997.tb00096.x>.
- Sarinho, E.S.C., y Melo, V.M.P.P. (2017). GLUCOCORTICOID-INDUCED BONE DISEASE: MECHANISMS AND IMPORTANCE IN PEDIATRIC PRACTICE. *Rev. Paul. Pediatr.* 35(2): 207. <https://doi:10.1590/1984-0462;2017;35;2;00007>.
- Saulacic, N., Gándara-Vila, P., Somoza-Martín, M., y García-García, A. (2004). Distraction osteogenesis of the alveolar ridge: a review of the literature.. *Med. Oral* 9(4): 321-7.
- Saulacic, N., Iizuka, T., Martin, M.S., y Garcia, A.G. (2008). Alveolar distraction osteogenesis: a systematic review. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 37(1): 1-7. <https://doi:10.1016/j.ijom.2007.07.020>.
- Saulacic, N., Nakahara, K., Iizuka, T., Haga-Tsujimura, M., Hofstetter, W., y Scolozzi, P. (2016). Comparison of two protocols of periosteal distraction osteogenesis in a rabbit calvaria model. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 104(6): 1121-1131. <https://doi:10.1002/jbm.b.33461>.
- Saulacic, N., Somosa Martín, M., de los Angeles Leon Camacho, M., y García García, A. (2007). Complications in Alveolar Distraction Osteogenesis: A Clinical Investigation. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 65(2): 267-274. <https://doi:10.1016/j.joms.2006.03.049>.
- Saulacic, N., Zix, J., y Iizuka, T. (2009). Complication rates and associated factors in alveolar distraction osteogenesis: a comprehensive review. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 38(3): 210-217. <https://doi:10.1016/j.ijom.2009.01.002>.
- Schenk, R.K., y Buser, D. (1998). Osseointegration: A reality. *Periodontol. 2000* 17(1): 22-35. <https://doi:10.1111/j.1600-0757.1998.tb00120.x>.
- Schmidt, B.L., Kung, L., Jones, C., y Casap, N. (2002). Induced osteogenesis by periosteal distraction. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 60(10): 1170-1175. <https://doi:10.1053/joms.2002.34993>.
- Schuckert, K.-H., Jopp, S., y Osadnik, M. (2011). The use of platelet rich plasma, bone morphogenetic protein-2 and different scaffolds in oral and maxillofacial surgery - literature review in comparison with own clinical experience.. *J. oral Maxillofac. Res.* 2(1): e2. <https://doi:10.5037/jomr.2011.2102>.
- Schwarz, F., Iglhaut, G., y Becker, J. (2012). Quality assessment of reporting of animal studies

- on pathogenesis and treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis. A systematic review using the ARRIVE guidelines. *J. Clin. Periodontol.* 39(SUPPL.12): 63-72. <https://doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01838.x>.
- Şen, C., Balci, H.I., Celiktaş, M., Ozkan, C., y Gulsen, M. (2018). Definitive Surgery for Open Fractures of the Long Bones with External Fixation. Springer International Publishing, Cham, Switzerland.
- Sencimen, M., Aydıntug, Y.S., Ortakoglu, K., Karşlioglu, Y., Gunhan, O., y Gunaydin, Y. (2007). Histomorphometrical analysis of new bone obtained by distraction osteogenesis and osteogenesis by periosteal distraction in rabbits. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 36(3): 235-242. <https://doi:10.1016/j.ijom.2006.08.016>.
- du Sert, N.P., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M.T., Baker, M., Browne, W.J., Clark, A., Cuthill, I.C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S.T., Howells, D.W., Hurst, V., Karp, N.A., Lazic, S.E., Lidster, K., MacCallum, C.J., Macleod, M., Pearl, E.J., Petersen, O.H., Rawle, F., Reynolds, P., Rooney, K., Sena, E.S., Silberberg, S.D., Steckler, T., y Würbel, H. (2020). Reporting animal research: Explanation and elaboration for the arrive guidelines 2.0. *PLoS Biol.* 18(7): e3000411. <https://doi:10.1371/journal.pbio.3000411>.
- Shah, H.N., Jones, R.E., Borrelli, M.R., Robertson, K., Salhotra, A., Wan, D.C., y Longaker, M.T. (2021). Craniofacial and Long Bone Development in the Context of Distraction Osteogenesis. *Plast. Reconstr. Surg.* 147(1): 54E-65E. <https://doi:10.1097/PRS.00000000000007451>.
- Shih, T.-C., Teng, N.-C., Wang, P.-D., Lin, C.-T., Yang, J.-C., Fong, S.-W., Lin, H.-K., y Chang, W.-J. (2013). In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in beagles: Histological properties. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 101(8): 2405-2411. <https://doi:10.1002/jbm.a.34540>.
- Shikhare, S.N., See, P.L.P., Chou, H., Al-Riyami, A.M., y Peh, W.C.G. (2018). Magnetic Resonance Imaging of Cysts, Cystlike Lesions, and Their Mimickers Around the Knee Joint. *Can. Assoc. Radiol. J.* 69(2): 197-214. <https://doi:10.1016/j.carj.2017.12.002>.
- Shimada, A., Yanagida, M., Umemura, T., Tsukamoto, S., y Suganuma, T. (1996). Aneurysmal bone cyst in a dog. *J. Vet. Med. Sci.* 58(10): 1037-1038. https://doi:10.1292/jvms.58.10_1037.
- Shimizu, T., Sasano, Y., Nakajo, S., Kagayama, M., y Shimauchi, H. (2001). Osteoblastic differentiation of periosteum-derived cells is promoted by the physical contact with the bone matrix in vivo. *Anat. Rec.* 264(1): 72-81. <https://doi:10.1002/AR.1126>.

- Shindell, R., Hurman, W.W., Lippiello, L., y Connolly, J.F. (1989). Prostaglandin levels in unicameral bone cysts treated by intralesional steroid injection.. *J. Pediatr. Orthop.* 9(5): 516-9. <https://doi:10.1097/01241398-198909010-00003>.
- Shrivats, A.R., Alvarez, P., Schutte, L., y Hollinger, J.O. (2013). Bone Regeneration. Elsevier Inc.
- Siddiqui, J.A., y Partridge, N.C. (2016). Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda)*. 31(3): 233-245. <https://doi:10.1152/PHYSIOL.00061.2014>.
- Snyder, C.C., Levine, G.A., Swasson, H.M., y Browne, E.Z. (1973). Mandibular lengthening by gradual distraction: Preliminary report. *Plast. Reconstr. Surg.* 51(5): 506-508. <https://doi:10.1097/00006534-197305000-00003>.
- Soares, P.B.F., Moura, C.C.G., Chinaglia, C.R., Zanotto, E.D., Zanetta-Barbosa, D., y Stavropoulos, A. (2018). Effect of titanium surface functionalization with bioactive glass on osseointegration: An experimental study in dogs. *Clin. Oral Implants Res.* 29(11): 1120-1125. <https://doi:10.1111/clr.13375>.
- Somoza-Martín, J., Vázquez-Casal, A., Suárez-Cunqueiro, M., García-García, A., Gándara-Vila, P., y Pérez-Sayáns, M. (2020). A new morphologic classification of the alveolar ridge after distraction osteogenesis in human patients. A 17 years retrospective case series study. *Med. Oral Patol. Oral y Cir. Bucal* : 0-0. <https://doi:10.4317/medoral.24196>.
- Stanton, R.P., y Abdel-Mota'al, M.M. (1998). Growth arrest resulting from unicameral bone cyst.. *J. Pediatr. Orthop.* 18(2): 198-201.
- Staubli, A.E., De Simoni, C., Babst, R., y Lobenhoffer, P. (2003). TomoFix: A new LCP-concept for open wedge osteotomy of the medial proximal tibia - Early results in 92 cases. *Injury* 34(Suppl. 2). <https://doi:10.1016/j.injury.2003.09.025>.
- Sung, H.J., Meredith, C., Johnson, C., y Galis, Z.S. (2004). The effect of scaffold degradation rate on three-dimensional cell growth and angiogenesis. *Biomaterials* 25(26): 5735-5742. <https://doi:10.1016/j.biomaterials.2004.01.066>.
- Szpalski, C., Barbaro, M., Sagebin, F., y Warren, S.M. (2012). Bone tissue engineering: Current strategies and techniques-Part II: Cell types. *Tissue Eng. - Part B Rev.* 18(4): 258-269. <https://doi:10.1089/ten.teb.2011.0440>.
- Takahashi, T., Funaki, K., Shintani, H., y Haruoka, T. (2004). Use of horizontal alveolar distraction osteogenesis for implant placement in a narrow alveolar ridge: a case report . *Int J Oral Maxillofac Implant.* 19(2): 291-4.

- Tee, B.C., y Sun, Z. (2015). Mandibular distraction osteogenesis assisted by cell-based tissue engineering: A systematic review. *Orthod. Craniofacial Res.* 18(S1): 39-49. <https://doi:10.1111/ocr.12087>.
- Teh, E.S., Zal, F., Polard, V., Menasché, P., y Chambers, D.J. (2017). HEMO2life as a protective additive to Celsior solution for static storage of donor hearts prior to transplantation. *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 45(4): 717-722. <https://doi:10.1080/21691401.2016.1265974>.
- Thuillier, R., Dutheil, D., Trieu, M.T.N., Mallet, V., Allain, G., Rousselot, M., Denizot, M., Goujon, J.M., Zal, F., y Hauet, T. (2011). Supplementation with a new therapeutic oxygen carrier reduces chronic fibrosis and organ dysfunction in kidney static preservation. *Am. J. Transplant.* 11(9): 1845-1860. <https://doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03614.x>.
- Trueta, J. (1963). THE ROLE OF THE VESSELS IN OSTEOGENESIS. *Bone Joint J* 45B(2): 402-418. <https://doi:10.1302/0301-620X.45B2.402>.
- Tudor, C., Bumiller, L., Birkholz, T., Stockmann, P., Wiltfang, J., y Kessler, P. (2010). Static and dynamic periosteal elevation: A pilot study in a pig model. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 39(9): 897-903. <https://doi:10.1016/j.ijom.2010.05.005>.
- Turnbull, G., Clarke, J., Picard, F., Riches, P., Jia, L., Han, F., Li, B., y Shu, W. (2018). 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioact. Mater.* 3(3): 278-314. <https://doi:10.1016/j.bioactmat.2017.10.001>.
- Ulery, B.D., Nair, L.S., y Laurencin, C.T. (2011). Biomedical Applications of Biodegradable Polymers.. *J. Polym. Sci. B. Polym. Phys.* 49(12): 832-864. <https://doi:10.1002/polb.22259>.
- Ulm, C., Kneissel, M., Schedle, A., Solar, P., Matejka, M., Schneider, B., y Donath, K. (1999). Characteristic features of trabecular bone in edentulous maxillae. *Clin. Oral Implants Res.* 10(6): 459-467. <https://doi:10.1034/j.1600-0501.1999.100604.x>.
- Urist, M.R. (1965). Bone: Formation by autoinduction. *Science (80-)*. 150(3698): 893-899. <https://doi:10.1126/science.150.3698.893>.
- Vaes, G. (1988). Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. A review of recent developments on the formation, activation, and mode of action of osteoclasts. *Clin. Orthop. Relat. Res.* (231): 239-271. <https://doi:10.1097/00003086-198806000-00033>.
- Valentin-Opran, A., Wozney, J., Csimma, C., Lilly, L., y Riedel, G.E. (2002). Clinical evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2. Páginas 110-120 in *Clinical Orthopaedics and Related Research*. Lippincott Williams and Wilkins.

- Valín, A., Guillén, C., y Esbrit, P. (2001). C-terminal parathyroid hormone-related protein (PTHrP) (107-139) stimulates intracellular Ca(2+) through a receptor different from the type 1 PTH/PTHrP receptor in osteoblastic osteosarcoma UMR 106 cells. *Endocrinology* 142(7): 2752-2759. <https://doi:10.1210/ENDO.142.7.8276>.
- de Vries, R.B.M., Hooijmans, C.R., Langendam, M.W., van Luijk, J., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., y Wever, K.E. (2015). A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. *Evidence-based Preclin. Med.* 2(1): e00007. <https://doi:10.1002/ebm2.7>.
- Vunjak-Novakovic, G., y Goldstein, S.A. (2005). *Basic Orthopaedic Biomechanics and Mechanology*. 3 Ed. Lippincot Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Wadsworth, T.G. (1988). Orthopaedics—the Principles and Practice of Musculoskeletal Surgery. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* 70(5): 323.
- Wang, D., Cai, J., Zeng, Z., Gao, X., Shao, X., Ding, Y., Feng, X., y Jing, D. (2020). The interactions between mTOR and NF-κB: A novel mechanism mediating mechanical stretch-stimulated osteoblast differentiation. *J. Cell. Physiol.* 236(6): 4592-4603. <https://doi:10.1002/JCP.30184>.
- Watzak, G., Zechner, W., Tepper, G., Vasak, C., Busenlechner, D., y Bernhart, T. (2006). Clinical study of horizontal alveolar distraction with modified micro bone screws and subsequent implant placement. *Clin. Oral Implants Res.* 17(6): 723-729. <https://doi:10.1111/j.1600-0501.2006.01267.x>.
- Weinstein, R.S., y Hutson, M.S. (1987). Decreased trabecular width and increased trabecular spacing contribute to bone loss with aging. *Bone* 8(3): 137-142. [https://doi:10.1016/8756-3282\(87\)90012-3](https://doi:10.1016/8756-3282(87)90012-3).
- Weir, N.A., Buchanan, F.J., Orr, J.F., y Dickson, G.R. (2004). Degradation of poly-L-lactide. Part 1: In vitro and in vivo physiological temperature degradation. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H J. Eng. Med.* 218(5): 307-319. <https://doi:10.1243/0954411041932782>.
- Wenz, B., Oesch, B., y Horst, M. (2001). Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. *Biomaterials* 22(12): 1599-1606. [https://doi:10.1016/S0142-9612\(00\)00312-4](https://doi:10.1016/S0142-9612(00)00312-4).
- Whitenack, L.B., Simkins, D.C., y Motta, P.J. (2011). Biology meets engineering: The structural mechanics of fossil and extant shark teeth. *J. Morphol.* 272(2): 169-179. <https://doi:10.1002/jmor.10903>.
- De Wilde, V., De Maeseneer, M., Lenchik, L., Van Roy, P., Beeckman, P., y Osteaux, M.

- (2004). Normal osseous variants presenting as cystic or lucent areas on radiography and CT imaging: a pictorial overview. *Eur. J. Radiol.* 51(1): 77-84. [https://doi:10.1016/S0720-048X\(03\)00180-3](https://doi:10.1016/S0720-048X(03)00180-3).
- Williams, R.A., y Simkins, D.C. (1990). *Bioquímica Dental Básica y Aplicada* - Williams. 2a ed. Manual Moderno, México.
- Wojciech, P., y Ross, M.H. (2020). Capítulo 8. Tejido óseo. 8ª ed. Wolters Kluwer Medknow Publications, Barcelona.
- Wu, J., Zhao, J., Sun, L., Pan, Y., Wang, H., y Zhang, W.B. (2018). Long non-coding RNA H19 mediates mechanical tension-induced osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells via FAK by sponging miR-138. *Bone* 108: 62-70. <https://doi:10.1016/j.bone.2017.12.013>.
- Yakar, S., y Rosen, C.J. (2016). From Mouse to Man: Redefining the Role of Insulin-Like Growth Factor-I in the Acquisition of Bone Mass1:. *Exp. Biol. Med.* 228(3): 245-252. <https://doi:10.1177/153537020322800302>.
- Yamaguchi, A., Komori, T., y Suda, T. (2000). Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. *Endocr. Rev.* 21(4): 393-411. <https://doi:10.1210/EDRV.21.4.0403>.
- Yamauchi, K., Takahashi, T., Funaki, K., Hamada, Y., y Yamashita, Y. (2010). Histological and histomorphometrical comparative study of β -tricalcium phosphate block grafts and periosteal expansion osteogenesis for alveolar bone augmentation.. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 39(10): 1000-6. <https://doi:10.1016/j.ijom.2010.05.008>.
- Yamauchi, K., Takahashi, T., Funaki, K., Miyamoto, I., y Yamashita, Y. (2009). Implant placement for periosteal expansion osteogenesis using β -tricalcium phosphate block: An experimental study in dogs. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* 108(6): 861-866. <https://doi:10.1016/j.tripleo.2009.07.047>.
- Yamauchi, K., Takahashi, T., Tanaka, K., Nogami, S., Kaneuji, T., Kanetaka, H., Miyazaki, T., Lethaus, B., y Kessler, P. (2013). Self-activated mesh device using shape memory alloy for periosteal expansion osteogenesis. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 101 B(5): 736-742. <https://doi:10.1002/jbm.b.32876>.
- Yang, S., Zhang, Y., Rodriguiz, R.M., Ries, W.L., y Key, L.L. (1996). Functions of the M-CSF receptor on osteoclasts. *Bone* 18(4): 355-360. [https://doi:10.1016/8756-3282\(96\)00013-0](https://doi:10.1016/8756-3282(96)00013-0).
- Yasui, N., Kojimoto, H., Shimizu, H., y Shimomura, Y. (1991). The effect of distraction upon bone, muscle, and periosteum. *Orthop Clin North Am* 22(4): 563-7.

Yoshikawa, T. (2000). Bone reconstruction by cultured bone graft. *Mater. Sci. Eng. C* 13(1-2): 29-37. [https://doi:10.1016/S0928-4931\(00\)00173-9](https://doi:10.1016/S0928-4931(00)00173-9).

Young, M.F. (2003). Bone Matrix Proteins: More Than Markers. *Calcif. Tissue Int.* 2003 721 72(1): 2-4. <https://doi:10.1007/S00223-002-1017-6>.

Zhao, D., Jiang, W., Wang, Y., Wang, C., Zhang, X., Li, Q., y Han, D. (2020). Three-Dimensional-Printed Poly-L-Lactic Acid Scaffolds with Different Pore Sizes Influence Periosteal Distraction Osteogenesis of a Rabbit Skull. *Biomed Res. Int.* 2020. <https://doi:10.1155/2020/7381391>.

Zhao, D., Wang, Y., y Han, D. (2016). Periosteal Distraction Osteogenesis: An Effective Method for Bone Regeneration. <https://doi:10.1155/2016/2075317>.

ANEXOS

A continuación, se anexan los materiales suplementarios correspondientes con las publicaciones científicas incluidas en la presente Tesis de Doctorado.

I. MATERIAL SUPLEMENTARIO ARTÍCULO 1



Review

Does the Animal Model Influence in Vertical Alveolar Distraction? A Systematic Review of the Literature

Mario García-González ^{1,*}, Fernando Muñoz ¹, Antonio González-Cantalapiedra ¹, Mónica López-Peña ¹ and Nikola Saulacic ²

¹ Department of Veterinary Clinical Sciences, Faculty of Veterinary, University of Santiago de Compostela, 27002 Lugo, Spain; fernandom.munoz@usc.es (F.M.); antonio.cantalapiedra@usc.es (A.G.-C.); monica.lopez@usc.es (M.L.-P.)

² Department of Cranio-Maxillofacial Surgery, Faculty of Medicine, University of Bern, 3008 Bern, Switzerland; nikola.saulacic@insel.ch

* Correspondence: mariog.gonzalez@usc.es

Received: 4 November 2020; Accepted: 7 December 2020; Published: date

Table S1. Most common complications in VAOD, prevention and treatment.

Complication	Prevention	Treatment
Infection	Prophylactic antibiotic and correct oral hygiene	Antibiotics
Fractures of basal or transported bone	Use thin blades in the osteotomy and evite distraction of the bone	Stop distraction. Treatment with osteosynthesis techniques
Premature consolidation	Implement a complete osteotomy. Use appropriate distractor vector and rate	Replay the osteotomy
Delay of consolidation due to fibrous union absence	Perfect stabilization of the distractor device	Do not remove the distractor until the bone strengthens. If there is no fibrous junction, debride and rebuild with regeneration techniques
Dehiscence	Smooth the transport segment sharp edges	Suture to prevent infection
Distraction vector deviation	Prior evaluation of the structures (mucosa thickness and lingual and vestibular insertions)	Early correction with orthodontic corrective devices or acrylic plates
Fractures of the distractor	Occlusion evaluation	Remove fragments and repositioning
Instability of the distractor	Evaluation of distractor model used and the bone density	It depends on the distractor used

Table S2. PRISMA 2009 Checklist.

Section/Topic	#	Checklist Item	Reported on Page #
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	1
Abstract			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	1
Introduction			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	1–3
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	3
Methods			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	-
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	3
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	3
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	3
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	3
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	3 Figure 1
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	3
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	3–4 Table 1
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	3
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I ²) for each meta-analysis.	3
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	3–4

Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	-
Results			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	3–4 Figure 1
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	4–5
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	-
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	4–5 Tables 2–4
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	-
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	-
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression (see Item 16)).	-
Discussion			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	6–7
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	6–7
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	10
Funding			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	-

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097. For more information, visit: www.prisma-statement.org.



Table S3. Indication and location for distraction.

Location	N° of studies	%	N° of patients	%	N° of devices	%	N° Of segments	%
Maxilla								
Posterior right	1	3.8	3	1.3	3	0.9	3	1.1
Posterior left	1	3.8	16	6.7	16	4.9	16	5.7
Posterior bilateral	0	0	0	0	0	0	0	0
Anterior	1	3.8	5	2.1	10	3.1	5	1.8
Not specified	0	0	0	0	0	0	0	0
Jaw								
Posterior right	5	19.2	59	24.5	50	15.3	59	21.2
Posterior left	11	42.5	82	34.1	134	41	105	37.8
Posterior bilateral	3	11.4	21	8.7	39	12.9	29	10.4
Anterior	0	0	0	0	0	0	0	0
Not specified	4	15.5	55	22.6	75	22.9	61	22
Total	26	100	241	100	327	100	278	100

II. MATERIAL SUPLEMENTARIO ARTÍCULO 2

PRISMA 2009 Checklist

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	1
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	1
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	1-2
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	2
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	-
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	2-3
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	2-3
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	2-3
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	2-3
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	2-3 Figure 1
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	2-3
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	3
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	3
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.	3

PRISMA 2009 Checklist

Page 1 of 2

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	3
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	-
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	5 Table 2
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	5-7
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	11 Figure 3
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	5-7 Table 3-4 and S2
Synthesis of results	21	Present the main results of the review. If meta-analysis are done, including confidence intervals and measures of consistency.	5-11
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see item 15).	11 Figure 3
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see item 16]).	-
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	11-13
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	11-13
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	13
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	-

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097

Supplementary Table S2.- Main results of the studies.

Author	Year	Animal	Evaluation Method	QH	BMD (mgHA/mm ³)	BV	BV/TV (%)	Tb.Th (μ m)	NB Area (mm ²)	%NB	Height Gain (mm)	Width (mm)
Schmidt et al. [7]	2002	Rabbit	Histologic and Histomorphometric	Y	-	-	-	-	-	-	2.86	-
Sencimen et al. [29]	2007	Rabbit	Histomorphometric	Y	-	-	-	-	14.4	-	-	-
Estrada et al. [30]	2007	Dog	Radiograph and histologic	Y	-	-	-	-	-	-	-	-
Casap et al. [31]	2008	Rabbit	Micro-CT and Histomorphometric	N	-	13%	41	-	-	-	1.7	-
Oda et al. [32]	2009	Rabbit	Radiograph and histologic	Y	-	-	-	-	19.3	67	-	-
Altuğ et al. [33]	2011	Rabbit	Histologic and Histomorphometric	Y	-	-	-	-	294	-	-	-
Bayar et al. [34]	2012	Rabbit	Histomorphometric	Y	-	-	-	-	16.49	-	-	-
Inoue et al. [16]	2014	Dog	Micro-CT	N	-	-	-	-	3.31	-	-	0.7
Suer et al. [17]	2014	Rabbit	Radiologic, photodensitometric and Histologic	Y	-	-	-	-	-	-	-	-
Kahraman et al. [18]	2015	Rabbit	Radiologic, Micro-CT and Histomorphometric	Y	-	62%	-	0.295	-	-	-	-
Pripatnanont et al. [19]	2015	Rabbit	Micro-CT, Histologic and Histomorphometric	Y	-	53.2%	-	-	-	48	-	-
Kessler et al. [4]	2006	Mimpig	Micro-CT and Histologic	Y	-	-	58	-	-	-	-	-
Estrada et al. [30]	2007	Rabbit	Radiograph and histologic	Y	-	-	-	-	-	-	-	-
Lethaus et al. [20]	2010	Mimpig	Micro-CT and Histologic	Y	-	-	66	-	-	-	-	-
Sato et al. [21]	2010	Rabbit	Micro-CT, Histologic and Immunohistochemistry	Y	390	153.7 mm ³	-	-	-	-	6.2	-
Tudor et al. [2]	2010	Mimpig	Micro-CT and Histologic	Y	-	-	67	-	-	-	-	-
Zakaria et al. [22]	2012	Rabbit	Micro-CT and Histologic	Y	-	52%	-	-	-	-	-	-
Zakaria et al. [23]	2012	Rabbit	Micro-CT and Histologic	Y	-	47%	-	-	-	-	-	-
Saulacic et al. [24]	2013	Rat	Histologic and Histomorphometric	Y	109	861 mm ³	-	-	-	-	2.1	-
Saulacic et al. [25]	2013	Rat	Histologic and Histomorphometric	Y	-	-	-	-	-	-	0.79	-
Saulacic et al. [26]	2016	Rabbit	Histologic and Micro-CT	Y	679	35.5 mm ³	-	-	-	-	-	-
Nakahara et al. [27]	2016	Rat	Histologic and Micro-CT	Y	838	23.2 mm ³	-	-	-	-	-	-
Nakahara et al. [28]	2017	Rat	Histologic and Micro-CT	Y	869	12.37 mm ³	-	-	-	-	-	-
Zhao et al. [5]	2020	Rabbit	Histologic and Micro-CT	Y	820	24 mm ³	-	-	-	-	-	-

QH: qualitative histology; BMD: bone mineral density; BV: bone volume; TV: tissue volume; Tb.Th: trabecular thickness; NB: new bone; Y: reported; N: not reported

III. MATERIAL SUPLEMENTARIO ARTÍCULO 3

Table 1. Areas and Percentages of New Bone (Osteoid and Mineralized Bone), Bone Marrow and Soft Connective Tissue (means \pm SD)

Group	New Bone Area (mm ²)	Relative New Bone Area (%)	Bone Marrow Area (mm ²)	Relative Bone Marrow (%)	Connective Tissue Area (mm ²)	Relative Connective Tissue Area (%)
PPDO	1.329 \pm 1.422	19,438 \pm 13,297	0.07 \pm 0.06; 0.05	1.71 \pm 1.73; 0.99	3.04 \pm 2.67; 3.21	74.22 \pm 12.21; 76.5
PDO	0.979 \pm 0.533	15,278 \pm 7,638	0.21 \pm 0.23; 0.12	2.75 \pm 2.71; 1.74	4.91 \pm 3.46; 4.97	78.16 \pm 10.86; 79.24
PP	0.73 \pm 1.038	13,509 \pm 10,138	0.261 \pm 0.362; 0.08	2.83 \pm 3.46; 0.54	4.03 \pm 1.83; 3.22	74.78 \pm 16.3; 75.44
NC	0.614 \pm 0.301	13,993 \pm 6,682	0.17 \pm 0.227; 0.06	1.79 \pm 1.93; 0.23	3.74 \pm 2.02; 4.07	80.11 \pm 16.71; 84.59

PPDO, periosteal pumping/distraction group; PDO, periosteal distraction group; PP, periosteal pumping group; NC, negative control group.

Table 2. Parameters of New Bone Assessed by Micro-CT (means \pm SD)

Group	New Bone Volume (mm ³)	Relative New Bone Volume (%)	Mineral Bone Density (mg HA/ mm ³)	Relative Mineral Bone Density (%)	Trabecular Thickness (μ m)	Trabecular Separation (μ m)	Trabecular Number (1/ μ m)
PPDO	50,71 \pm 31,71	39.20 \pm 12.77	1.98 \pm 0.40	1.18 \pm 0.23	0,169 \pm 0,0146	0,225 \pm 0,0566	1,856 \pm 1,204
PDO	52,23 \pm 21,58	33.67 \pm 10.12	2.17 \pm 0.44	1.29 \pm 0.25	0,160 \pm 0,0339	0,252 \pm 0,0206	1,776 \pm 0,966
PP	46,66 \pm 27,46	41.83 \pm 13.04	1.99 \pm 0.22	1.17 \pm 0.13	0,169 \pm 0,0336	0,221 \pm 0,0664	2,370 \pm 1,693
NC	37,70 \pm 11,61	47.53 \pm 8.77	1.88 \pm 0.22	1.09 \pm 0.15	0,167 \pm 0,0255	0,183 \pm 0,0305	2,875 \pm 0,531

PPDO, periosteal pumping/distraction group; PDO, periosteal distraction group; PP, periosteal pumping group; NC, negative control group.

IV. MATERIAL SUPLEMENTARIO ARTÍCULO 4

Supplementary material 1. Epidemiological survey and case data collect

Case n:			
Specie :	Breed:	Activity level:	Age:
Clinical History			
Description of the intervention			BIOFAST-VET
			Grain size used: 0.5- 1mm <input type="checkbox"/> 1mm – 2mm <input type="checkbox"/> Quantity: < 1cc <input type="checkbox"/> 1cc <input type="checkbox"/> 2cc <input type="checkbox"/> > 2 cc <input type="checkbox"/>
Results and evolution			
Use of BIOFAST	Handling	Dificulty of use YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Mix with other material YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Grade: 1 2 3 4 Which one:
	Advantages in relation to other fillers	In this pathology it is always necessary to use a bone graft? YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Compared with other bone grafts used in this pathology Does the use of BIOFAST bring advantages? YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> What are the advantages of using BIOFAST compared to other bone fillers ?: Reduces the ossification time of the fracture YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Improves the quality of bone repair YES <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Other comments:	
Veterinarian testimony and conclusions			

FUNCTIONALITY SCALE

CRITERIA	SCORE	CLINICAL EVALUATION
Lameless	1	Not walk
	2	Severe limp when walking
	3	Moderate Limp when walking
	4	Slight limp when walking
	5	No limp. walk normally
Pain on palpation	1	Patient cannot be palpated
	2	Severe signs; dog vocalizeas or becomes aggressive
	3	Moderate signs; dog pulls limb away
	4	Mild signs; dog turns head in recognition
	5	None
Weight-bearing	1	Non-weight-bearing standing and walking
	2	Partial weight-bearing standing; non-weight-bearing walking
	3	Partial weight-bearing standing; non-weight-bearing walking
	4	Normal standing; favors affected limb when walking
	5	Equal on all limbs standing and walking

RADIOGRAPHIC ASSESSMENT

V. MATERIAL SUPLEMENTARIO ARTÍCULO 5

Supplementary Table 1. Functionality recovery scoring system for assessing patients (Pruksakorn et al., 2009; Nganvongpanit et al., 2013)

CRITERIA	SCORE	CLINICAL EVALUATION
Lameness	1	Not walk
	2	Severe limp when walking
	3	Moderate limp when walking
	4	Slight limp when walking
	5	No limp. Walk normally
Pain on palpation	1	Patient cannot be palpated
	2	Severe signs; patient vocalizes or becomes aggressive
	3	Moderate signs; patient pulls limb away
	4	Mild signs; patient turns head in recognition
	5	None
Weight-bearing	1	Non-weight-bearing standing and walking
	2	Partial weight-bearing standing; non-weight-bearing walking
	3	Partial weight-bearing standing; non-weight-bearing walking
	4	Normal standing; favors affected limb when walking
	5	Equal on all limbs standing and walking

Topic	Item	Checklist item description	Reported on Line
Abstract (no references)	1	The diagnosis or intervention of primary focus followed by the words "case report"	1
	2	2 to 5 key words that identify diagnoses or interventions in this case report, including "case report"	15-16
	3a	Introduction: What is unique about this case and what does it add to the scientific literature?	21-23
	3b	Main symptoms and/or important clinical findings	18
Introduction	3c	The main diagnoses, therapeutic interventions, and outcomes	17-20
	3d	Conclusion—What is the main "take-away" lesson(s) from this case?	21-23
	4	One or two paragraphs summarizing why this case is unique (may include references)	44-53
Patient Information	5a	De-identified patient specific information	71-73
	5b	Primary concerns and symptoms of the patient	71-73
	5c	Medical, family, and psycho-social history including relevant genetic information	71-73
	5d	Relevant past interventions with outcomes	-
	6	Describe significant physical examination (PE) and important clinical findings	72
Timeline	7	Historical and current information from this episode of care organized as a timeline	-
	8a	Diagnostic testing (such as PE, laboratory testing, imaging, surveys)	74-77
Diagnostic Assessment	8b	Diagnostic challenges (such as access to testing, financial, or cultural)	-
	8c	Diagnosis (including other diagnoses considered)	87
	8d	Prognosis (such as staging in oncology) where applicable	-
	9a	Types of therapeutic intervention (such as pharmacologic, surgical, preventive, self-care)	78-83
Therapeutic Intervention	9b	Administration of therapeutic intervention (such as dosage, strength, duration)	-
	9c	Changes in therapeutic intervention (with rationale)	-
	10a	Clinician and patient-assessed outcomes (if available)	97-100
Follow-up and Outcomes	10b	Important follow-up diagnostic and other test results	97-100
	10c	Intervention adherence and tolerability (How was this assessed?)	97-100
	10d	Adverse and unanticipated events	-
Discussion	11a	A scientific discussion of the strengths AND limitations associated with this case report	132-143
	11b	Discussion of the relevant medical literature with references	102-143
	11c	The scientific rationale for any conclusions (including assessment of possible causes)	106-110
Patient Perspective	11d	The primary "take-away" lessons of this case report (without references) in a one paragraph conclusion	132-140
	12	The patient should share their perspective in one to two paragraphs on the treatment(s) they received	-
Informed Consent	13	Did the patient give informed consent? Please provide if requested	Yes <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>





El objetivo general del presente estudio es evaluar la efectividad de dos tecnologías de regeneración ósea en defectos óseos mandibulares y apendiculares en modelos animales. Se realizó una revisión exhaustiva y sistemática de la literatura con el fin de conocer los modelos animales más utilizados en osteogénesis por distracción alveolar vertical y perióstica. Posteriormente se exponen los resultados de un estudio preclínico en el que se ha evaluado la eficacia de un distractor osteogénico perióstico, poniendo a prueba un nuevo protocolo de activación basado en el bombeo del periostio. Finalmente se realizó un ensayo clínico preliminar en el que se ha evaluado la aplicación de bioapatitas marinas derivadas de dientes de tiburón como sustituto óseo en defectos óseos apendiculares en perros y gatos.