



Trabajo Fin de Grado
Grado en Odontología

Modulación de la Regeneración Ósea en Cirugía Maxilar

Autor:

Kevin Eloy Tejedor Prieto

Director:

Ignacio García-Alonso Montoya



GRALaren ZUZENDARIAREN AMAIERAKO TXOSTENA
INFORME FINAL DEL DIRECTOR DEL TFG

**Modulación de la Regeneración Ósea en
Cirugía Maxilar**

Egilea/Autor:

Kevin Eloy Tejedor Prieto

Zuzendaria/Director:

Ignacio García-Alonso Montoya

Kalifikazioa/ Calificación:

Zenbakiaz/ En número (0-10)	10
Letraz/ En letra	Diez

Zuzendariaren Oharrak eta balorazioak /

Consideraciones y valoraciones del Director:

Ha realizado el estudio con gran dedicación, siguiendo adecuadamente las indicaciones recibidas y proponiendo alternativas con un grado de iniciativa adecuado a su formación. Se han mantenido cuatro sesiones de tutoría en las que ha demostrado adecuado nivel de comprensión del tema.

Lekua eta data / Lugar y fecha: En Leioa, a veinticuatro de marzo de 2018

Firmado/lzenpea:

GRALeko zuzendaria / Director del TFG

GRADU AMAIERAKO LANA / TRABAJO FIN DE GRADO

UPV/EHUren GORDAILU DIGITALEAN (ADDIn) ARGITARATZEKO BAIMENA AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UPV/EHU (ADDI)

GRALaren izenburua / Título del TFG:

1. IKASLEA / ALUMNO

<u>Izen-abizenak/Nombre Apellidos</u>	<u>NAN/DNI</u>
<u>Gradua/Grado</u>	<u>Ikasturtea/Curso Académico</u>

2. GRALaren ZUZENDARIA / DIRECTOR DEL TFG

<u>Izen-abizenak/Nombre Apellidos</u>
<u>Saila/Departamento</u>

Behean sinatzen dutenak: / Los abajo firmantes:

EZ DUTE BAIMENIK EMATEN / NO AUTORIZAN

BAIMENA EMATEN DUTE/ AUTORIZAN

GRAL hau Unibertsitatearen Erakunde-biltegian (ADDIn) gordetzeko, **LIBREKI KONTSULTATU** ahal izateko, **honako modalitate honetan:** / El depósito de este TFG en el Repositorio Institucional de la Universidad (ADDI) para ser consultado en **ACCESO ABIERTO**, en la modalidad siguiente:

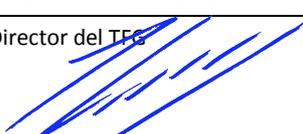
Oharra: Zentroak ezarritako gutxieneko nota gairiditu duten GRALak argitaratuko dira soilik.

Nota: Solo se publicarán los TFG que hayan superado la nota de corte establecida por el Centro.

(adierazi X batekin zer modalitate aukeratu duzun/ marca con una X la modalidad elegida)

1	<input type="checkbox"/>	© Eskubide guztiak gordeta/ Con todos los derechos reservados
2	<input type="checkbox"/>	Creative Commons lizentzia honekin / Con la licencia Creative Commons
	<input type="checkbox"/>	Aitortu /Reconocimiento (cc by)
	<input type="checkbox"/>	Aitortu – PartekatuBerdin /Reconocimiento – CompartirIgual (cc by-sa)
	<input type="checkbox"/>	Aitortu – LanEratorririkGabe /Reconocimiento-SinObraDerivada (cc by-nd)
	<input type="checkbox"/>	Aitortu – EzKomertziala / Reconocimiento-NoComercial (cc by-nc)
	<input type="checkbox"/>	Aitortu – EzKomertziala – PartekatuBerdin /Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual (cc by-nc-sa)
		Aitortu – EzKomertziala – LanEratorririkGabe /Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada (cc by-nc-nd)
Informazio gehiago/ Mas información: http://es.creativecommons.org/blog/licencias/		

Leioan,(ko)arena / En Leioa, a de de

Ikaslea/ Estudiante  Stua./ Fdo. Kevin Eloy Tejedor Prieto	GRALaren Zuzendaria / Director del TFG  Stua./ Fdo. Ignacio García-Monso Montoya
---	---

Contenido

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN	2
1. ANATOMÍA ÓSEA MAXILAR.....	2
Maxilar superior.....	2
Mandíbula (maxilar inferior).....	3
Hueso cigomático.....	4
2. HISTOLOGÍA ÓSEA	4
Estructura histológica del hueso.....	4
Células del tejido óseo	6
Matriz ósea.....	7
3. FORMACIÓN DE LOS HUESOS	8
Tipos de osificación	8
Osificación del maxilar inferior	9
Osificación del maxilar superior	10
4. REPARACIÓN ÓSEA.....	11
Fase inflamatoria.....	11
Fase de calcificación provisional (periostal o periférica)	11
Fase de calcificación provisional (endostal o medular).....	12
Fase de remodelación del callo	12
Regeneración de los injertos óseos	13
5. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS MÁS FRECUENTES EN LA CAVIDAD ORAL	14
MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
RESULTADOS.....	19

1. PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP).....	19
2. FIBRINA RICA EN PLAQUETAS.....	21
3. FACTOR DE CRECIMIENTO RECOMBINANTE DERIVADO DE PLAQUETAS RHPDGF-BB	23
4. PROTEÍNA MORFOGÉNICA ÓSEA	24
5. TERAPIA CELULAR/INGENIERÍA TISULAR PARA LA REGENERACIÓN ÓSEA	27
6. TERAPIA LÁSER DE BAJA INTENSIDAD (TLBI)	28
7. FACTOR DERIVADO DE LA MATRIZ DEL ESMALTE (EDM)	29
CONCLUSION	31
BILBIIOGRAFIA	34

RESUMEN

Los materiales biológicos y sintéticos así como las terapias de modificación celular contribuyen a la regeneración del tejido óseo del macizo maxilofacial, disminuyendo complicaciones y mejorando la cicatrización ósea y de los tejidos blandos. Así mismo, logran reducir los tiempos de curación, facilitando la reintervención y minimizando el discomfort del paciente. Ello se consigue gracias a la acción combinada de los materiales de injerto -continente y contenido- capaces de lograr la osteoconducción y osteoinducción, y de las diferentes terapias y procedimientos dirigidos a la modificación genética de las células. A pesar de que faltan estudios que confirmen y garanticen una total eficacia de estas prácticas, se ha puesto en marcha y ha empezado a desarrollarse una alternativa al injerto clásico que podría mejorar tanto la labor profesional clínica como la calidad de vida de los pacientes.

INTRODUCCIÓN

1. ANATOMÍA ÓSEA MAXILAR

El macizo óseo de la cara se halla situado en la parte anterior de la cabeza. Está dividido en dos porciones llamadas esqueleto facial o viscerocráneo y mandíbula. El macizo facial está compuesto por 13 huesos agrupados en torno a un elemento principal: el maxilar. Un solo hueso constituye la parte inferior: la mandíbula, unido por una articulación móvil a la base del cráneo. En tanto que las piezas que forman el esqueleto facial están soldadas entre sí, la mandíbula es móvil y participa en forma activa en la masticación.

Maxilar superior

Es un hueso par que participa en la constitución de la órbita, la bóveda palatina, las cavidades nasales y la fosa infratemporal. Constituye la pieza principal del esqueleto facial. Una apófisis palatina une al maxilar de un lado, con su homónimo opuesto, formando parte del paladar óseo. Los maxilares así reunidos presentan un contorno inferior en forma de arco, donde se ubican los alvéolos, para los dientes superiores.

El maxilar está formado por hueso compacto con pequeños islotes de tejido esponjoso en la base de la apófisis frontal, sobre todo en el borde alveolar. El centro del hueso presenta una cavidad de forma piramidal que corresponde al seno maxilar. Situado en la parte anterior de la cara, el maxilar es un hueso superficial. El borde anterior de la apófisis frontal, sus caras y las que participan del borde orbitario son subcutáneas y están tapizadas por las partes blandas de la cara y de la mejilla. La cara medial de la apófisis frontal y la superior de la apófisis palatina del maxilar se pueden explorar por vía nasal. El borde alveolar y la cara inferior de la apófisis palatina pueden ser explorados a través de la cavidad bucal.

En el brote yugal del primer arco branquial, en el segundo mes de vida intrauterina, aparecen dos zonas de osificación. éstas se sueldan a nivel de la sutura incisiva. El seno maxilar insufla el esbozo del hueso a partir del sexto mes y alcanza su desarrollo después del nacimiento, debido a la respiración. La ausencia de la

soldadura entre sí de las apófisis palatinas de los dos maxilares genera la hendidura palatina, por la que se comunica la cavidad bucal con las cavidades nasales.

Mandíbula (maxilar inferior)

Hueso simétrico, impar y mediano, es un hueso móvil, situado en la parte inferior de la cara. Tiene un cuerpo de forma cóncava hacia atrás, semejante a una herradura, y sus extremos se dirigen verticalmente hacia arriba, formando con el cuerpo un ángulo casi recto.

La mandíbula es un hueso extremadamente sólido, en especial a nivel de su cuerpo. El hueso compacto que lo forma es espeso y son necesarios traumatismos violentos para fracturarlo. El borde superior del cuerpo está tapizado por una lámina bastante densa de hueso esponjoso que rodea a los alvéolos dentarios. El centro del cuerpo presenta el conducto mandibular, que posee un número de conductos secundarios, verticales, que desembocan en cada alvéolo. Éste conducto mandibular se abre al exterior por medio del foramen mentoniano. La rama es menos espesa y menos sólida, pero su envoltura muscular la torna bastante poco vulnerable.

La mandíbula es bastante superficial y se la puede explorar en una gran extensión. Determina la configuración de la parte inferior del macizo facial, y su ángulo posteroinferior es una referencia importante. Su cara profunda puede ser visible y explorada en el interior de la cavidad bucal. Su movilidad condiciona los movimientos de la masticación; y la presencia así como el desarrollo o la desaparición de los dientes modifica, el aspecto general del hueso y, por lo tanto, de la cara.

El hueso se desarrolla a partir de dos porciones iguales, una derecha y otra izquierda, a expensas del cartílago de Meckel. Varios puntos de osificación aparecen en este cartílago, simétricos con respecto a la línea mediana y ubicados en la región mentoniana a nivel de la apófisis coronoides, del cóndilo, etc. La soldadura de ambas mitades de la mandíbula a nivel de la sínfisis mentoniana se completa a los 90 días de la vida intrauterina.

Hueso cigomático

El hueso cigomático es un sólido arbotante situado entre el maxilar y el frontal, el ala mayor del esfenoides y la apófisis cigomática del hueso temporal.

Constituido por tejido compacto, en él puede observarse tejido esponjoso. El hueso se encuentra atravesado por un canal en forma de Y que en la cara superior del proceso frontal, en el interior del hueso, se divide en dos; uno termina en la cara lateral del hueso y otro en la medial. Este conducto es recorrido por la rama orbitaria del nervio maxilar.

Se origina a partir de 3 puntos de osificación que aparecen al segundo mes y se sueldan en el quinto mes de la vida intrauterina. Uno origina la porción cigomática; los otros dos, la orbitaria¹.

2. HISTOLOGÍA ÓSEA

Estructura histológica del hueso

El tejido óseo es una forma especializada de tejido conjuntivo que, como otros tejidos conjuntivos, está compuesto por células y matriz extracelular. La característica que distingue el tejido óseo de los otros tejidos conjuntivos es la mineralización de su matriz, la cual produce un tejido muy duro capaz de proveer sostén y protección. El mineral es fosfato de calcio en forma de cristales de hidroxiapatita.

El tejido óseo se clasifica en compacto y esponjoso. Al examinar la superficie de corte de un hueso se pueden identificar dos organizaciones estructurales distintas del tejido óseo; una capa densa, compacta, forma la superficie ósea externa, mientras que una malla de aspecto esponjoso compuesta por trabéculas forma la parte interna del hueso. Los espacios que hay en la malla están comunicados y en el ser vivo contiene la médula y vasos sanguíneos.

Los huesos cortos poseen una fina corteza de tejido óseo compacto y en su interior hay tejido óseo esponjoso y espacios medulares. Estos huesos suelen formar

articulaciones móviles con sus vecinos y al igual que los huesos largos pues en cartílago hialino en sus superficies articulares.

Los huesos están revestidos de periostio excepto en las regiones donde se articulan con otro hueso. En este último caso la superficie articular está recubierta de cartílago. El periostio que tapiza un hueso en crecimiento activo se compone de una capa fibrosa externa similar a otros tejidos conjuntivos densos y una capa más celular interna que contiene las células osteoprogenitoras.

Si no se está formando tejido óseo en la superficie del hueso la capa fibrosa es el componente principal del periostio y la capa interna profunda no aparece bien definida. No obstante, con el estímulo adecuado las relativamente pocas células periósticas que hay son capaces de sufrir mitosis y convertirse en osteoblastos. El tejido que reviste tanto el hueso compacto que limita la cavidad medular como las trabéculas del hueso esponjoso se conoce como endostio. El endostio no suele tener más de una capa celular de espesor y consiste en células osteoprogenitoras que pueden diferenciarse en osteoblastos y células de revestimiento óseo.

La cavidad medular en los espacios del hueso esponjoso contiene médula ósea.

El hueso maduro está compuesto principalmente por unidades cilíndricas conocidas como osteonas o sistema de Havers. Las osteonas consisten en laminillas concéntricas de matriz ósea alrededor de un conducto central denominado conducto de Havers, que contiene vasos y nervios. El sistema de canalículos que se abren en el sistema de Havers sirve para el intercambio de sustancias entre los osteocitos y los vasos sanguíneos. Entre las osteonas hay restos de laminillas concéntricas antiguas que reciben el nombre de laminillas intersticiales por lo que al hueso maduro también se le denomina como hueso laminillar. Los conductos de Volkmann son túneles en el hueso laminillar a través de los cuales pasan vasos sanguíneos y nervios desde las superficies perióstica y endóstica para alcanzar el conjunto de Havers; también conectan los conductos de Havers entre sí. El hueso esponjoso maduro es de estructura semejante a la del hueso compacto maduro excepto que el tejido se distribuye en forma de espículas o trabéculas entre las cuales hay abundantes espacios medulares intercomunicados y de diversos tamaños.

Células del tejido óseo

Hay 5 tipos de células del tejido óseo: células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo, y osteoclastos.

Las células osteoprogenitoras derivan de células madre mesenquimáticas, estas células responden a estímulos moleculares que las transforman en células formadoras de tejido óseo, la proteína fundamental que desencadena la diferenciación de estas células es un factor de transcripción llamado factor fijador central alfa 1. Las proteínas morfogenéticas óseas también desempeñan un papel en la diferenciación de los osteoblastos. Las células osteoprogenitoras están en las superficies externas e internas de los huesos y también estarían en la microvasculatura que irriga el tejido óseo. Desde el punto de vista morfológico comprenden las células periósticas y las endósticas.

El osteoblasto es la célula osteoformadora diferenciada que secreta matriz ósea, secreta tanto colágeno tipo 1 como proteínas de la matriz ósea que constituyen la matriz no mineralizada inicial llamada osteoide. Esta célula también tiene a su cargo la calcificación de la matriz, proceso que estaría iniciado por el osteoblasto mediante la secreción hacia la matriz de las vesículas matriciales. A medida que se deposita la matriz osteoide, el osteoblasto va quedando rodeado por ella y entonces se convierte en osteocito.

El osteocito es la célula ósea madura que se encuentra encerrada en la matriz ósea, la cual ha sido segregada anteriormente por el osteoblasto. Una de las funciones de los osteocitos es la mecanotransducción en la cual la célula responde a fuerzas mecánicas aplicadas al hueso. Los osteocitos puede sintetizar matriz nueva y también participan en su degradación; estos procesos contribuyen de manera importante a la homeostasis del calcio.

Las células de revestimiento óseo derivan de los osteoblastos y tapizan el tejido óseo que no se está remodelando, se trata de células aplanadas con citoplasma muy adelgazado y orgánulos escasos más allá de la región perinuclear. Estas células intervienen en el mantenimiento y la nutrición de los osteocitos incluidos en la matriz ósea subyacente y regulan el movimiento del calcio y del fosfato desde la sangre hacia el hueso y desde el hueso hacia la sangre.

Los osteoclastos son células multinucleadas grandes que aparecen en los sitios donde ocurren resorción ósea. Están apoyados directamente sobre la superficie ósea en proceso de resorción. Estas células derivan de la fusión de células progenitoras hematopoyéticas mononucleares que dan origen a los linajes de granulocitos y de monocitos. El osteoclasto neoformado tiene que activarse para poder de realizar la resorción ósea. Una vez activado, el osteoclasto reabsorbe el tejido óseo mediante la liberación de protones e hidrolasas lisosómicas hacia el microambiente restringido del espacio extracelular.

Matriz ósea

El principal componente estructural de la matriz ósea es el colágeno tipo I y en menor medida el colágeno tipo V. En la matriz también se han encontrado vestigios de otros tipos de colágeno, como los tipos III, XI y XIII. Todas las moléculas de colágeno constituyen alrededor del 90% del peso total de las proteínas de la matriz ósea.

La matriz también contiene otras proteínas no colágenas que forman la sustancia fundamental del tejido óseo. Como componente menor del tejido dado que constituye sólo el 10% del peso total de las proteínas de la matriz ósea, es indispensable para el desarrollo, el crecimiento, el remodelado óseo y la reparación. Tanto el colágeno como los componentes de la sustancia fundamental se mineralizan para formar el tejido óseo.

Los cuatro grupos principales de proteínas no colágenas que hay en la matriz ósea son los siguientes:

Macromoléculas de proteoglicanos, cuya función es la de ofrecer resistencia a la compresión además de fijar factores de crecimiento e inhibir la mineralización cuando fuera necesario.

Glucoproteínas multiadhesivas, que actúan en la adhesión de las células óseas y las fibras colágenas de la sustancia fundamental mineralizada.

Proteínas dependientes de vitamina K osteoespecíficas, con diversas funciones como la captación de calcio desde la circulación, la estimulación de los osteoclastos,

eliminación de las células que sufren apoptosis y el desarrollo de calcificaciones vasculares.

Factores de crecimiento y citocinas. Son proteínas reguladoras pequeñas entre las que se encuentran los factores de crecimiento similar a la insulina (IGF) el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), el factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), los factores de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) y las interleucinas (IL-1, IL-6)².

3. FORMACIÓN DE LOS HUESOS

Tipos de osificación

Intramembranosa: se realiza a expensas del mesénquima. Los centros de osificación se caracterizan por poseer abundantes capilares, fibras colágenas y osteoblastos que elaboran sustancia osteoide, que se disponen formando trabéculas que construyen una red tridimensional esponjosa. En los espacios intertrabeculares el mesénquima se transforma en médula ósea. El tejido mesenquimatoso circundante externo a las zonas osificadas se diferencia en periostio, estructura a partir de la cual se origina las nuevas trabéculas. A este tejido, tejido óseo primario no laminar, lo sustituye después del nacimiento un tejido óseo secundario laminar. En las zonas periféricas del hueso el tejido óseo se dispone como tejido compacto formando las tablas externa e interna. En la zona intermedia el tejido óseo es de variedad esponjosa y se denomina diploe o areolar. Esta osificación es típica de los huesos planos y del maxilar superior.

Endocondral o molde cartilaginoso: el molde de cartílago hialino es el que guía la formación ósea por remoción del cartílago, quien experimenta numerosos cambios histológicos previos: proliferación e hipertrofia celular, calcificación de la matriz cartilaginosa, erosión (invasión vascular), formación de tejido osteoide y posterior mineralización. Un ejemplo de esta osificación es la de la rama del maxilar inferior.

Osificación del maxilar inferior

El maxilar inferior ofrece un mecanismo de osificación llamado yuxtaparacondral en el que el cartílago de Meckel, denominado cartílago primario, sirve como guía o sostén pero no participa. La osificación se efectúa en forma de una estructura paralela y ubicada al lado del cartílago. El inicio de la formación del tejido óseo se produce a las seis o siete semanas de vida intrauterina. Comienza en la vecindad del ángulo formado por las ramas del nervio mentoniano y del nervio incisivo. Se inicia como un anillo óseo alrededor del nervio mentoniano y, luego las trabéculas se extienden hacia atrás y hacia adelante, en relación externa al cartílago de Meckel.

La porción ventral del cartílago de Meckel es la que sirve de guía al proceso de osificación intramembranoso del cuerpo del maxilar. Simultáneamente, al avanzar la osificación, la porción del cartílago de Meckel que guía este mecanismo involuciona excepto a nivel de la sínfisis mentoniana. La formación del cuerpo de la mandíbula finaliza en la región donde el paquete vásculo-nervioso se desvía en forma manifiesta hacia arriba. A las doce semanas de vida intrauterina aparecen en el mesénquima otros centros de cartílago independientes al cartílago de Meckel, y que juegan un papel importante en la osificación endocondral de la rama ascendente del maxilar.

La osificación es, por tanto, mixta porque además de ser intramembranosa intervienen los cartílagos secundarios: el coronoideo, el incisivo y el condíleo. En los sitios donde aparecen estos cartílagos secundarios, tomarán inserciones los músculos masticadores. Esta interrelación se considera una función inductora donde cada una de estas estructuras estimula el desarrollo de sus tejidos adyacentes.

El crecimiento del maxilar inferior hacia abajo y adelante se desarrolla a expensas del cartílago condilar; en sentido vertical por la formación de los rebordes alveolares. En sentido anteroposterior el crecimiento se produce por aposición en el borde posterior de la rama y por reabsorción en el borde anterior de la misma.

El tejido óseo del maxilar inferior es sumamente activo, ya que presenta un metabolismo muy intenso que le permite realizar aproximadamente cinco recambios en todos sus componentes orgánico-minerales a lo largo de la vida; por ello se lo considera como el tejido de mayor bioplasticidad del organismo.

Osificación del maxilar superior

Al terminar la sexta semana de vida intrauterina comienza la osificación del maxilar superior a partir de dos puntos de osificación situados por fuera del cartílago nasal. Uno a nivel anterior, denominado premaxilar y otro posterior denominado postmaxilar.

A partir del centro de osificación premaxilar rápidamente se forman trabéculas que se dirigen en tres direcciones: 1) hacia arriba para formar la parte anterior de la apófisis ascendente, 2) hacia adelante en dirección hacia la espina nasal anterior y 3) hacia abajo, en dirección a la zona de las apófisis alveolares incisivas.

Del centro postmaxilar las espículas óseas siguen cuatro rutas: 1) hacia arriba para formar la parte posterior de la apófisis ascendente, 2) hacia el piso de la órbita, 3) hacia la zona de la apófisis malar y 4) hacia la porción alveolar posterior.

El conjunto de todas estas trabéculas forman la parte ósea externa del maxilar superior.

La osificación interna o profunda se inicia posteriormente. En este caso las trabéculas avanzan dentro de las crestas palatinas. Alrededor de las doce semanas de vida intrauterina los procesos palatinos laterales se fusionan con el paladar primario hacia adelante y con el tabique nasal hacia arriba para originar el paladar duro.

La formación ósea se realiza por osificación intramembranosa. Su crecimiento es por dominancia de las suturas interóseas y por el desarrollo de cavidades neumáticas influenciado por las funciones de respiración y digestión. El crecimiento por el mecanismo de tipo sutural se realiza en los tres planos del espacio: hacia abajo y adelante por las suturas maxilomalar, frontomaxilar y cigomática temporal. En sentido transversal por la sutura mediopalatina y el crecimiento vertical por el desarrollo de las apófisis alveolares. Se produce una reabsorción del lado nasal del paladar, lo que genera un crecimiento hacia abajo del paladar y por lo tanto un alargamiento vertical del maxilar³.

4. REPARACIÓN ÓSEA

Desde el punto de vista histológico se considera a la reparación que tiene lugar alrededor de un implante como aquella que se instaura en una zona de hueso fracturado, ya que el proceso de la cirugía implantaria supone un traumatismo que produce una discontinuidad del tejido óseo, similar a las fracturas fruto de otro tipo de fuerzas. Se entiende por osteointegración al éxito en la reparación periimplantaria.

Desde el momento en que se produce una fractura hasta su reparación total se sucede una serie de fenómenos biológicos locales que se conocen con el nombre de proceso de consolidación.

La osteogénesis reparadora es un proceso actuado en la naturaleza por el sinergismo de múltiples factores anátomo-funcionales, locales y generales, solicitados y condicionados por los estímulos intrínsecos y extrínsecos adecuados. Consta de las siguientes fases:

Fase inflamatoria

Este proceso envuelve o afecta en las primeras 24-48 horas toda la longitud del segmento interesado para circunscribirse, después de algún día, a la zona inmediatamente limítrofe del foco. Traduce la inmediata reacción del organismo reactivando los mecanismos para compensar los equilibrios anátomo-funcionales producidos por el trauma y remover los detritus necrobióticos locales.

Fase de calcificación provisional (periostal o periférica)

Esta primera respuesta inicial está a cargo prevalentemente de células osteoformadoras localizadas en el estrato profundo del periostio activadas por varios estímulos humorales y siembras bioeléctricas, depositan en los fragmentos óseos, material inicialmente fibroso con trabéculas colágenas irregulares. Sucesivamente en condiciones adecuadas de oxigenación local se produce la mineralización de las trabéculas colágenas y la transformación del tejido fibroso inicial en osteoide. En las zonas en las cuales el aporte de oxígeno es escaso se constata la evolución defectuosa de este tejido en la dirección osteoide y su permanencia en el estado fibroso y su

transformación en cartílago que necesita menos oxígeno. Asimismo, la persistencia de determinados movimientos interfragmentarios produce desconexiones y roturas a nivel del microcírculo vascular local en neoformación. El tejido cartilaginoso se adapta mejor a la hipoxia y se produce en primer lugar.

Fase de calcificación provisional (endostal o medular)

Tiene las mismas características histomorfológicas del callo periférico, pero se desarrolla menos precozmente y más lentamente que el callo provisional periostal. A diferencia del callo periostal, el endostal puede desarrollarse en situaciones que serían desfavorables para la calcificación periférica. Representa en definitiva un mecanismo de consolidación útil sólo en el caso de que exista una deficiente colagénesis periostal.

Fase de remodelación del callo

La fractura está en estos momentos resuelta y solidarizada de modo suficiente por una corona de tejido osteoide. La deficiente seguridad mecánica es compensada por el volumen exuberante. El callo provisional se remodela en su estructura histológica. Del callo osteoide difusa e irregularmente distribuido se pasa al callo óseo laminar y al final a la reestructuración haversiana hasta que la fractura está rígidamente estabilizada⁴.

El mecanismo de osteointegración guarda puntos en común con el de la reparación de las fracturas mediante el callo de fractura: se requiere un período de inmovilización para que se efectúe normalmente una fase inicial de desmineralización a la que sigue otra de remineralización. El implante osteointegrado es aquel capaz de transferir carga al hueso sin que haya movimiento detectable entre éste y el implante. En los casos no osteointegrados, en lugar de contactar metal con hueso, el implante y el tejido óseo se encuentran separados por una capa de tejido blando de naturaleza conectiva.

Esquemáticamente la osteointegración seguiría los siguientes pasos:

1. El hueso esponjoso no se une íntimamente al implante.
2. Contacto entre el implante y el hueso.

3. Hematoma en la cavidad cerrada limitada entre el implante y el hueso.
4. Durante el período cicatricial sin carga el hematoma se transforma en hueso nuevo para la formación de un callo óseo.
5. El hueso dañado sufre una revascularización, desmineralización y remineralización.
6. Después del periodo cicatricial el tejido óseo vital se encuentra en íntimo contacto con el implante, sin ningún tejido intermedio.
7. En los casos en que el implante no se osteointegra el tejido conjuntivo no mineralizado formado alrededor del implante produce una pseudoartrosis. Esto puede producirse por un trauma excesivo durante la preparación quirúrgica, por una infección, por una carga demasiado prematura durante el periodo cicatricial, o por una carga supraluminal en cualquier momento⁵.

Regeneración de los injertos óseos

La cascada de fenómenos desencadenados por un injerto óseo puede variar según las características de éste (sea de tipo esponjoso o cortical), su vascularización y las particularidades de la zona receptora. Inicialmente, se forma un hematoma que rodea al injerto. La mayor parte de los osteocitos mueren (excepto si éste está microvascularizado). Sólo sobreviven las células situadas en la superficie del injerto o las que pueden restablecer su nutrición por conexiones vasculares con el lecho receptor. El hematoma se reorganiza en un tejido fibrovascular mientras que el tejido conectivo de la zona receptora envía hacia el injerto vasos sanguíneos con células mesenquimales precursoras de los osteocitos. A partir de este momento se pueden encontrar tres tipos de curación en los injertos óseos:

1. Osteogénesis: es la formación de nuevo hueso en los preosteoblastos y osteoblastos supervivientes del injerto. Esta curación es más importante en los tejidos esponjosos que en los corticales debido a la más rápida revascularización de los primeros. Los injertos óseos con anastomosis microvasculares también curan por este mecanismo.
2. Osteoconducción: la curación de un injerto óseo por osteoconducción es un proceso lento y prolongado donde el injerto funciona únicamente como andamio o esqueleto. Es el tipo de curación ósea que predomina en los

injertos corticales, donde éste es colonizado progresivamente por vasos sanguíneos y células osteoprogenitoras de la zona receptora que van reabsorbiéndolo lentamente y depositando hueso nuevo.

3. Osteoinducción: es la transformación de las células mesenquimales indiferenciadas perivasculares de la zona receptora en células osteoformadoras en presencia de ciertas sustancias polipeptídicas (BMN)⁶.

5. PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS MÁS FRECUENTES EN LA CAVIDAD ORAL

Elevación de seno: se trata de un procedimiento de cirugía maxilar consistente en la apertura del seno maxilar por su base ósea cortical, el acceso a la cavidad sinusal, el despegamiento y elevación de la membrana de Scheneider y el relleno del espacio formado mediante injertos de diversa composición. Tiene por objetivo aumentar el volumen óseo adyacente a la zona alveolar maxilar para permitir la colocación de implantes con una longitud que asegure la estabilidad e integración implantaria a largo plazo.

Extracciones dentales: por extracción dental se entiende el procedimiento quirúrgico que se utiliza para sacar un elemento dental del propio alvéolo.

Quistectomía: se trata de la extirpación quirúrgica completa de un pequeño quiste con sellado posterior de la herida. Tras cortar la mucosa se elimina completamente el saco quístico. Dicha operación puede combinarse asimismo con una resección de la punta de la raíz. A continuación, se procede al sellado de la mucosa por encima del defecto óseo.

Injertos óseos para la curación de defectos óseos maxilares: procedimientos quirúrgicos encaminados a restaurar la morfología y/o volumen del tejido óseo perdido por diversas causas, infecciones, traumatismos, y que se realiza mediante la interposición de injertos de diversa composición.

Distracciones óseas: procedimientos de ortopedia dentofacial destinados al aumento de la anchura de estructuras óseas realizados generalmente mediante tracción.

En la mayoría de las ocasiones estos procedimientos traen consigo la necesidad de formación de tejido óseo a novo. Para ello existen diversos tipos de injertos, compuestos y técnicas adyuvantes presentes en la literatura, entre todos ellos trataremos los siguientes: factores de crecimiento plasmáticos, proteínas morfogenéticas óseas, células madre, terapias láser, e ingeniería tisular. Así mismo se expondrá su utilidad frente a los injertos óseos convencionales y tradicionales sobre los cuales existe una efectividad especialmente demostrada a lo largo de muchos estudios avalados.

Durante las últimas décadas se han utilizado los injertos de hueso autólogo como material de reconstrucción de los defectos óseos o como base ósea para la regeneración a novo, dando resultados satisfactorios⁷. Esta técnica consiste en la extirpación en bloque o parcial de tejido óseo del propio paciente y su colocación a distancia del sitio donante también sobre el mismo paciente. Al tratarse de tejido autólogo, la histocompatibilidad es completa, no existiendo posibilidad de rechazo, salvo en casos de infecciones o de situaciones derivadas del incorrecto manejo clínico del mismo. Como desventaja fundamental destaca la morbilidad asociada, la necesidad de reintervenir quirúrgicamente al paciente, las molestias que ello genera y el mayor tiempo necesario para la recuperación. Por todo ello se han buscado alternativas que permitan obtener los mismos resultados óptimos de regeneración ósea evitando los inconvenientes del autoinjerto. Como alternativa se han desarrollado injertos provenientes de otros humanos (aloinjertos), de otras especies (xenoinjertos) y sintéticos (injertos aloplásticos), con los inconvenientes del rechazo por histocompatibilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Para esta revisión se ha realizado una búsqueda de la literatura en la base de datos MEDLINE (1983-2017, vía PUBMED). La estrategia de búsqueda usada fue una combinación de términos MeSH y palabras de texto libre; “Osteoinduction”[MeSH] OR “Platelet derived growth factor”[MeSH] OR “Platelet rich plasma”[MeSH] OR “Recombinant human bone morphogenetic protein 2”[MeSH] OR “Autologous cell therapy”[MeSH] OR “LLLTT bone”[MeSH] OR “EMD”[MeSH] AND (Maxillary), “Platelet rich plasma”[MeSH] AND (bone) AND (maxillary), “Platelet rich fibrin”[MeSH] AND (Maxillary).

Se tomaron como artículos relevantes aquellos que incluían elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, uso de injertos para la regeneración ósea y expansión palatina, tanto en animales como en humanos, recogándose un total de 123 artículos. Se obtuvieron documentos de texto completo de los artículos relevantes, para su lectura y análisis, y se incluyeron las ideas principales y fundamentales en este trabajo.

Tabla 1. Resumen de las búsquedas bibliográficas realizadas

Búsqueda	Fechas	Totales	Criterios inclusión	Incluidos
“osteoinduction AND maxillary”	Agosto 1983- Junio 2016	22	Se seleccionan solo los artículos que incluyen elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, y en los que se usaban injertos para la regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	9
“platelet derived growth factor AND maxillary”	Febrero 1988-Abril 2017	58	Se seleccionan solo los artículos que incluyen las palabras “platelet derived growth factor” y sus abreviaturas, “platelet rich plasma” y sus abreviaturas, y “bone”, “maxillary” y “regeneration”, incluyéndose tanto estudios realizados en animales y humanos.	16

"platelet rich plasma" AND "bone" AND "maxillary"	2010-2017	180	Se seleccionan solo los artículos que incluían elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, y en los que se usaban injertos para la regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	20
"recombinant human bone morphogenetic protein 2" AND "maxillary"	1996-2017	97	Se seleccionan solo los artículos que incluían elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, y en los que se usaban injertos para la regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	41
"autologous cell therapy" AND "maxillary"	2003-2016	38	Se seleccionan solo los artículos que incluían elevaciones de seno, terapia genética, modulación genética, defectos óseos y cirugías implantarias, y en los que se usaban injertos para la regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	12
"Ilit bone" AND "maxillary"	2007-2017	51	Se seleccionan solo los artículos que incluían elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, expansión palatina, y en los que se usaban injertos para la regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	19
"EMD" AND "maxillary"	2001-2017	37	Se seleccionan solo los artículos que incluían elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, y en los que se usaban injertos para la regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	3
"EMD" AND "osteoblastic"	2003-2017	34	Se seleccionan solo los artículos que incluían elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, y en los que se usaban injertos para la	14

			regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	
"Platelet rich fibrin" AND "maxillary"	2002-2017	98	Se seleccionan solo los artículos que incluyen elevaciones de seno, defectos óseos y cirugías implantarias, y en los que se usaban injertos para la regeneración ósea, incluyendo tanto aquellos realizados con humanos como en animales.	24

RESULTADOS

1. PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)

El plasma rico en plaquetas es una fuente autóloga de una gran cantidad de factores de crecimiento que es obtenido mediante secuestro y concentración de plaquetas por centrifugación. Entre los treinta factores de crecimiento que contiene el PRP, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante β (TGF β -1 y β -2), el factor de crecimiento insulínico (IGF), el factor de crecimiento epidérmico, el factor endotelial vascular y el factor de crecimiento fibroblástico son los que juegan un papel importante en el metabolismo óseo y en la regulación de la proliferación celular. El factor de crecimiento derivado de plaquetas durante la curación de una herida es un activador de la colagenasa, que promueve la resistencia y estabilidad del tejido cicatrizado. El TGF- β activa a los fibroblastos para formar procolágeno, lo que da como resultado la deposición de colágeno dentro de la herida. Un factor de transcripción específico de osteoblastos (cbfa1) que es esencial para la diferenciación de osteoblastos se expresa mediante el PRP. Además, la osteoprotegerina, inhibidora de la osteoclastogénesis, también está presente en el PRP. También actúa como un agente antiinflamatorio lo que sugiere que el PRP facilita la cicatrización controlando la respuesta inflamatoria local⁸. Los injertos óseos contienen células con receptores para el PDGF y TGF-b, que activan los receptores de membrana de las células diana, activándose así mismo proteínas de señal para finalmente ponerse en marcha una serie de actividades específicas dentro de la célula diana. Las actividades específicas más importantes del PDGF son: mitogénesis, angiogénesis (mitosis de las células endoteliales) y activación de los macrófagos (desbridamiento de la herida, y una segunda cascada de factores de crecimiento que continúan con la reparación y la regeneración ósea); las actividades del TGF son: estimulación de la quimiotaxis y mitosis de los precursores osteoblásticos⁹.

Los factores de crecimiento que son liberados al tejido después de un traumatismo pueden ser usados como un pegamento fisiológico con propiedades curativas y que estimulan la angiogénesis, arteriogenesis y vasculogénesis¹⁰. El PRP autólogo, por

proceder del propio paciente es una fuente de factores de crecimiento segura, biocompatible y efectiva, sin riesgos de transmisión de enfermedades¹¹.

El gel de PRP se obtiene mezclando PRP, derivado de la centrifugación de sangre, con trombina y cloruro de calcio. La trombina activa directamente las plaquetas, y el ion calcio repone al ion que estaba unido por el citrato ácido dextrosa tipo A anticoagulante y esto da como resultado la activación de la cascada de factores de crecimiento de los gránulos alfa de las plaquetas¹².

El PRP cuando se utiliza junto con hueso autólogo para injertos en elevaciones de seno mejora la densidad ósea del hueso neoformado a largo plazo, es decir, no tiene un efecto inmediato sobre el tejido óseo en formación pero sí influye en su maduración, además a corto plazo se acelera la curación y se promueve la osteoformación^{13,14}. En cuanto al volumen óseo y a la estabilidad implantaria a largo plazo no se encuentran diferencias significativas en cuanto a uso o no del PRP^{15,16}, resultados similares cuando se emplea beta fosfato tricálcico (b-TCP)¹⁷, además esta última combinación aumenta la cantidad de células inflamatorias y disminuye la cantidad de células osteoprogenitoras¹⁸. Cuando se trata de combinar PRP con cristales de hidroxiapatita como material de relleno en elevaciones de seno, el plasma dota de mayor densidad al hueso nuevo, mejorando cualitativamente el uso de autoinjertos¹⁹. Asimismo el PRP mejora la reabsorción del injerto de hidroxiapatita y favorece la osteoformación²⁰. En relleno de defectos óseos alveolares la combinación de estos dos productos mejora la densidad ósea y aumenta la cantidad de hueso²¹, e incluso el PRP sólo mejora su curación²².

En quistectomías se ha demostrado que añadir PRP en el interior del defecto óseo favorece la formación ósea, formándose mayor cantidad de tejido óseo que cuando los defectos sólo se rellenan con el propio coágulo sanguíneo²³.

El PRP junto con el hueso bovino desproteínizado en elevaciones de seno y posterior colocación implantaria no produce diferencias significativas en cuanto a volumen, densidad ósea y estabilidad implantaria²⁴. Sin embargo otros estudios afirman que su combinación produce mayor cantidad de hueso y de mayor madurez²⁵. En lo que sí coinciden numerosos estudios es que el PRP acelera la formación de hueso en los periodos tempranos de cicatrización²⁶. Además los pacientes que recibieron PRP

junto con el injerto de hueso bovino desproteínizado refirieron menos dolor, hinchazón y hematomas, mejorando su calidad de vida tras la intervención quirúrgica²⁷. El hueso bovino con PRP en el tratamiento de las dehiscencias óseas alrededor de implantes de carga inmediata mejora la densidad ósea²⁸. Con injertos minerales naturales el PRP reduce el tiempo de curación favoreciendo una óptima regeneración ósea²⁹.

El uso tanto de fibrina con PRP o PRP sólo previo a la colocación de implantes mejora la estabilidad primaria y la osteointegración implantaria³⁰⁻³².

Estudios experimentales han determinado que el PRP mejora la capacidad regenerativa de las células madre del líquido amniótico en la curación de defectos óseos maxilares³³.

2. FIBRINA RICA EN PLAQUETAS

La fibrina rica en plaquetas es un concentrado plaquetario modificado, que se obtiene con una preparación simple de centrifugado a 3000 rpm durante 12 minutos, y sin manipulación bioquímica de la sangre. No requiere el uso de anticoagulantes o trombina bovina (u otro agente gelificante). La ausencia de anticoagulantes en el estrato utilizable del centrifugado de la sangre permite la activación de las plaquetas en contacto con el tubo de muestra, iniciándose el proceso de coagulación. El PRF parece estimular la osteogénesis y la angiogénesis en el tejido óseo, permite la migración celular y, además, por sus características mecánicas y elásticas, tiene función de membrana, permitiendo el correcto desarrollo del tejido óseo y del tejido blando separándolos y sin que colapsen uno en el otro.

El PRF es efectivo en el cierre de comunicaciones oroantrales mayores a 3 mm causadas por extracción dental, evitando el cierre con colgajos y otros tipos de cirugía^{34,35}. También se muestra eficaz para la reparación de la membrana de Schneider perforada³⁶.

El PRF sólo induce la regeneración ósea de forma adecuada en elevaciones de seno³⁷⁻⁴⁰, además de acelerar la maduración⁴¹, y regenera exitosamente el hueso periimplantario⁴². También induce la formación ósea en quistes óseos⁴³.

Blood products	PRF (2004)	PRGF (2001)	PRP (1998)
Protocol	Easy	Complex	Very complex
Speed-rate	Fast	Very Slow	Slow
Reproducibility	No Bias	Possible Bias	Possible Bias
Use of anticoagulants	No	Yes	Yes
Amount obtainable	Good	Poor	Enough
Costs of the protocol	Low	High	Moderate
Amount of fibrin obtainable	High	Low	Low
Speed of fibrin formation	Physiological	High	High
Fibrin morphology	Trimolecular	Tetramolecular	Tetramolecular
Leukocytes amount	65%	0%	0-50%
Immunomodulatory properties	Yes	No	Poor
Neo-angiogenic potential	+++++	++	+
Osteoconductive potential (scaffolding)	High	Poor	Poor
Mechanical properties (sol-gel-membrane)	Good	Poor	Enough
Presence of MSCs	Yes	Yes	Yes

Figura 1. Comparación entre la Fibrina Rica en Plaquetas (PRF), el Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF) y el Plasma Rico en Plaquetas (PRP). Cogido de: S. Giannini, A. Cielo. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19 (6): 927-930

No se encuentran diferencias histológicas e histomorfométricas significativas entre el uso de hueso mineral bovino desproteínizado con o sin PRF en elevaciones de seno⁴⁴⁻⁴⁶. Sin embargo se produce un efecto sinérgico en su uso combinado, aumentando la cantidad de nuevo hueso formado⁴⁷. También se encuentra sinergia cuando se combina hueso autólogo con PRF en reconstrucciones óseas alveolares, aumentando el volumen óseo, pero sin diferencias de densidad⁴⁸.

En combinación con Bio-Oss se reducen los tiempos de curación⁴⁹ al igual que con beta fosfato tricálcico⁵⁰ y con otros materiales de hueso liofilizado⁵¹.

La elevación sinusal con colocación inmediata de implantes usando PRF como único material de relleno consigue resultados satisfactorios en cuanto al volumen y densidad ósea y estabilidad implantaria^{52,53}. El uso de una membrana de PRF en la colocación inmediata de implantes tras extracción dentaria permite una correcta reparación del tejido óseo y del tejido blando periimplantario y su posterior mantenimiento en el tiempo⁵⁴. Asimismo no hay diferencias significativas en el volumen óseo entre el uso de membranas sintéticas como Bio-Gide y la porción membranosa del PRF en elevaciones de seno de abordaje lateral⁵⁵.

Como en los demás casos, la estimulación de la proliferación y diferenciación de las células madre de la médula ósea, así como el efecto que el PRF produce en la reparación de los tejidos es dependiente a la dosis⁵⁶.

3. FACTOR DE CRECIMIENTO RECOMBINANTE DERIVADO DE PLAQUETAS RHPDGF-BB

El factor de crecimiento recombinante derivado de plaquetas (rhPDGF-bb) forma parte de las biomoléculas candidatas para la regeneración ósea en la esfera oral y maxilofacial. In vitro, el rhPDGF-bb permite reclutar las células madre mesenquimales y facilita su diferenciación en osteoblastos. El homodímero de PDGF bb humano recombinante es un potente reclutador y un potente factor mitogénico para las células cruciales para la regeneración del tejido musculoesquelético, incluidas las células madre mesenquimales (MSC), las células osteogénicas y los tenocitos, además de regular positivamente la angiogénesis. Estas propiedades permiten que rhPDGF-BB active la cascada de reparación del tejido óseo y la regeneración de los tejidos blandos adyacentes⁵⁷.

El rhPDGF-bb junto con hueso bovino esponjoso no mejora los resultados en cuanto a las características del hueso neoformado, sin embargo sí acelera la cicatrización y la formación de hueso vital^{58,59}. Junto con hueso autólogo, si bien mejora el remodelado óseo, las diferencias en cuanto al volumen y densidad ósea no son significativamente diferentes^{60,61}. El uso combinado del factor de crecimiento con fosfato tricálcico en defectos óseos conduce a importantes mejoras en la regeneración de los tejidos periodontales, con efectos sobre las células de tejidos duros y blandos⁶².

El rhPDGF-bb aumenta la expresión de los marcadores osteogénicos y la osteocalcina⁶³, Junto con el TGF-beta-1 se consigue una sinergia que mejora la expresión de la integrina-beta-3 en el ligamento periodontal y acelera su remodelado. Cuando se combina con simvastatina se consigue efectividad para prevenir las complicaciones inducidas por el calor y facilita la osteointegración implantaria⁶⁴, es decir, la efectividad del factor de crecimiento plasmático depende de su efecto sinérgico con otros elementos, así como de su concentración. Menores cantidades parecen ser más efectivas en la regeneración ósea frente a mayores dosis⁶⁵.

4. PROTEÍNA MORFOGÉNICA ÓSEA

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) son miembros de la superfamilia del factor de crecimiento transformante β y se han utilizado ampliamente para estimular la regeneración ósea debido a su fuerte actividad osteogénica. Entre ellas, BMP-2 y BMP-7 son los factores más eficaces para el desarrollo esquelético, incluida la proliferación y la formación de células óseas y cartilagosas⁶⁶.

La combinación de hidroxiapatita con rhBMP-2 frente al uso de hueso bovino desproteinizado no produce diferencias significativas en la formación ósea tras la elevación de seno, así como el rhBMP-2 frente al uso de hueso autógeno^{67,68}, demostrando la efectividad del rhBMP-2⁶⁹.

El hueso alogénico mezclado con rhBMP-2 a diferentes concentraciones mejora la formación ósea a los 6 meses tras la cirugía (medio plazo). Hay estudios que afirman que se alcanza hasta una altura ósea de 8.53 mm⁷⁰, sin embargo a partir de los 9 meses no se encuentran diferencias significativas con el grupo control que usa hueso alogénico sin rhBMP-2. Asimismo hay diferencias en la cantidad de hueso formado según la cantidad de factor de crecimiento que se utilice⁷¹.; concentraciones altas juegan un papel negativo, inhibiendo la formación ósea⁷².

El fosfato de calcio junto con rhBMP-2 produce un aumento de tejido ósea localizado en la membrana de Schneider, hecho explicable por la capacidad del rhBMP-2 de aumentar el potencial osteogénico de ésta⁷³, siendo la formación ósea más homogénea cuando no se usa el factor de crecimiento. Además el rhBMP-2 aumenta la inflamación⁷⁴, no favoreciendo la osteoformación⁷⁵. Otros estudios, sin embargo, afirman que la combinación de estos dos productos favorece la formación ósea y mejoran el remodelado y la calcificación⁷⁶ a las 2⁷⁷ y 4⁷⁸ semanas, es decir, aceleran la curación; además cuando se combina el rhBMP-2 con elementos osteoformadores como las células madre mesenquimales de la médula ósea se potencian los efectos, confirmando la capacidad sinérgica de este factor de crecimiento⁷⁹. El carrier utilizado determina también la eficacia, éste debe ser lo suficientemente resistente para soportar los cambios de presiones constantes de los senos maxilares, de lo contrario los procesos de cicatrización ósea fallan, no formándose hueso de forma correcta. Un ejemplo de ello es la esponja de colágeno

absorbible (ACS), si bien junto con el rhBMP-2 favorece la osteoinducción y la maduración ósea⁸⁰ y favorece una masa ósea cualitativa y cuantitativamente adecuada para la colocación implantaria⁸¹, su escasa resistencia pone en duda su uso como carrier⁸².

El rhBMP-2 junto con hueso sintético en elevaciones de seno con colocación inmediata de implantes mejora significativamente los resultados volumétricos, formándose mayor cantidad de tejido óseo, además los análisis histométricos revelan una mejor osteointegración implantaria⁸³.

El rhBMP-2 con ACS mejora la densidad y calidad ósea tras la elevación de seno frente al hueso autólogo. Sin embargo no hay diferencias significativas en cuanto a la altura ósea y a la osteointegración implantaria^{84,85}. Otros estudios sin embargo afirman que la combinación con ACS sí aumenta la altura ósea⁸⁶.

El rhBMP-2 es útil tanto sólo como en combinación con otros materiales como el ACS, el carrier de polietileno poroso reforzado con titanio, hueso liofilizado... en la curación de defectos óseos de origen infeccioso (periodontitis, periimplantitis), traumático o terapéutico (extracciones dentales). En cuanto a los defectos periodontales el rhBMP-2/ACS consigue una correcta regeneración ósea a los 3 meses⁸⁷; sin embargo la formación de cemento radicular es significativamente menor⁸⁸. En casos de periimplantitis el rhBMP-2/ACS mejora la altura ósea significativamente así como la reosteointegración implantaria frente al uso exclusivo de la esponja de colágeno⁸⁹. Además el uso de rhBMP-2 junto con hueso liofilizado en defectos periimplantarios muestra en periodos de 28 semanas una reducción significativa de la profundidad de sondaje y un relleno óseo radiográfico⁹⁰.

El rhBMP-2 es efectivo también en la regeneración de defectos y discrepancias óseas maxilares y mandibulares⁹¹, con resultados similares que el injerto de hueso autólogo, e incluso con notables resultados en pacientes con fallos previos de injertos óseos⁹². Sin embargo el injerto de rhBMP-2 trae consigo una menor morbilidad, coste económico similar, pero produce mayor edema como complicación^{93,94}. En su uso con la ACS se han registrado aumentos de la altura ósea de la cresta alveolar que partía de 1-2 mm hasta los 6-9 mm en periodos de 7 meses⁹⁵.

Los defectos mandibulares amplios secundarios a trauma pueden ser tratados exitosamente mediante el desbridamiento del tejido contaminado y de los fragmentos óseos en conminuta, seguido de una reconstrucción combinando matrices rígidas resistentes a la compresión con rhBMP-2, sin precisar de injertos óseos autólogos que suponen gran morbilidad⁹⁶. En cuanto a la curación de los alvéolos postextracción se ha demostrado que el rhBMP-2 estimula la proliferación y diferenciación de las células mesenquimales en el alvéolo, (así como a las células madre⁹⁷, sin evidencias de condrogénesis, acelerando la formación ósea⁹⁸. El uso de hueso autólogo para este fin da mejores resultados en cuanto a la cantidad de tejido óseo neoformado. No obstante el rhBMP-2 promueve la curación ósea de forma satisfactoria, además de traer consigo menos complicaciones y morbilidad⁹⁹. También en este caso el efecto del factor de crecimiento es dependiente de su concentración, variando la cantidad y calidad del tejido óseo según la cantidad mg/ml del rhBMP-2^{100,101}; y del medio junto con el que se coloca, ya que una de las principales limitaciones del rhBMP-2 es la falta de un sistema de contención rígido fiable que evite el colapso de los tejidos blandos. Carriers como el polietileno poroso reforzado con titanio han dado satisfactorios resultados¹⁰². También cuando se combina el factor de crecimiento con materiales como Bio-Oss se consiguen efectos negativos sobre la formación ósea¹⁰³, y al contrario, cuando se mezclan con sustancias como la rh-osteoprotegerina se consiguen efectos sinérgicos¹⁰⁴.

Durante la colocación de implantes es efectivo cubrir éstos con rhBMP-2 ya que favorece la osteogénesis alrededor del implante, mejorando los resultados en términos de osteoformación a lo largo de su superficie, dotándolos de una mayor estabilidad temprana¹⁰⁵. El rhBMP-2 junto a fosfato de calcio en el alveolo receptor del implante tras una extracción dental mejora la osteointegración y promueve la formación de hueso nuevo alrededor de los implantes¹⁰⁶, además acelera la curación y mejora la estabilidad¹⁰⁷.

En distracciones óseas el rhBMP-2 aumenta significativamente el volumen de hueso, contribuyendo a una correcta anchura, altura y densidad del hueso neoformado¹⁰⁸.

5. TERAPIA CELULAR/INGENIERÍA TISULAR PARA LA REGENERACIÓN ÓSEA

Se trata del uso de células madre modificadas o sin modificar como medio osteoformador para la cicatrización ósea aprovechando su característica de pluripotencialidad. El término ingeniería tisular describe la producción de tejidos orgánicos a través de técnicas de proliferación celular *in vivo* o *ex vivo*, que se pueden combinar con un carrier y / o factores de crecimiento. Estas técnicas tienen como ventaja la capacidad de conseguir células capaces de formar e inducir directamente la formación ósea, pudiendo modificar su respuesta mediante modificación genética y sin mostrar incompatibilidades histológicas al tratarse de células autógenas.

El tipo de células empleadas y su manipulación genética previa así como el tipo de carrier al que se incorporen, la presencia o no de factores de crecimiento y el tipo de lesión ósea a reparar son los factores que determinan la mayor o menor efectividad del injerto.

El uso de células madre CD90+ y CD14+ sin modificación genética junto a fosfato de calcio trifásico en elevaciones de seno aportan mayor densidad ósea y de fracción de volumen óseo (volumen de hueso mineralizado por unidad de volumen de la muestra), es decir mejor calidad ósea. Sin embargo esta combinación no aumenta el volumen de hueso¹⁰⁹. Cuando las células madre de la médula ósea se cultivan junto a factores osteoinductores y se colocan con PRP se consigue un injerto eficaz, suficiente para alcanzar un volumen y mineralización óseos adecuados para osteointegración implantaria¹¹⁰, además de reducir los tiempos de cicatrización ósea¹¹¹. Hay injertos como el BioOss y membranas colagénicas (Bio-Gide) junto a los cuales añadir o no células madre parece no mejorar los resultados^{112,113}. Las células madre de la médula ósea aumentan la cantidad de células nucleadas y las colonias de fibroblastos y promueven la aposición mineral en los periodos de curación tempranos¹¹⁴, así como en su combinación con hidroxiapatita¹¹⁵ y con pegamento de fibrina¹¹⁶.

La modificación genética para la expresión de proteínas específicas del tejido óseo es una de las claves para acelerar el proceso curativo del hueso. Cuando se usan genes

para aumentar la cantidad de proteína de matriz dentinaria tipo 1 (DMP-1) se consigue una correcta calidad y volumen óseo apto para la osteointegración implantaria., frente al uso de otros genes control como aquel que codifica la proteína verde fluorescente¹¹⁷, las cargas genéticas para la codificación de proteína de matriz ósea tipo 2 (BMP-2) son efectivos moduladores genéticos para la diferenciación de las células madre en células osteoprogenitoras¹¹⁸.

No todas las células promueven de igual manera la formación ósea. Las células periósticas, por ejemplo, generan más hueso que las células del hueso maxilar¹¹⁹. Además las biopsias de hueso tras injertos de células periósticas cultivadas, hueso autólogo y PRP muestran gran cantidad de osteoblastos y osteoclastos acompañados de una importante angiogénesis alrededor del hueso regenerado, con un remodelado del injerto más rápido que en los injertos convencionales. El uso de células periósticas cultivadas permite reducir a menos del 40% la cantidad de partículas de hueso autólogo a utilizar en los injertos, haciendo que el procedimiento sea menos invasivo y con menos complicaciones¹²⁰. Las células madre del tejido adiposo junto con proteína morfogénica tipo 2 y fosfato de calcio trifásico forma un tegumento biológico que, integrándose en el organismo consigue diferenciarse y formar una masa ósea válida como injerto¹²¹.

La terapia genética está demostrando ser útil también en sujetos de pronóstico reservado en cuanto a la cirugía ósea por alta posibilidad de necrosis, como podrían ser los pacientes sometidos a altas dosis de radioterapia. Estudios experimentales en perros has demostrado la eficacia de injertos de fosfato de calcio macroporoso y células madre en la cicatrización tisular, evitando el riesgo de osteonecrosis postradiación¹²².

6. TERAPIA LÁSER DE BAJA INTENSIDAD (TLBI)

La terapia láser, fototerapia o fotobiomodulación se refiere al uso de fotones a una radiación no térmica para alterar la actividad biológica. El TLBI utiliza tanto fuentes de luz coherentes (láser), como no coherentes (LED) o una combinación de ambas. Los fotones son absorbidos por los cromóforos mitocondriales. Como consecuencia se activan diversas vías de señalización, el transporte de electrones, la liberación de

óxido nítrico con adenosina trifosfato y aumenta el flujo sanguíneo y las especies reactivas de oxígeno, dando como resultado, en este caso, una alteración en los procesos de curación ósea y de los tejidos blandos adyacentes.

La terapia láser promueve la diferenciación osteoblástica y aumenta la expresión de osteocalcina¹²³, es capaz de aumentar la proliferación y la expresión de fenotipos osteoblásticos¹²⁴, acelera la curación temprana reduciendo las células inflamatorias y aumentando el número de células encargadas de la formación ósea¹²⁵. Además el TLBI mejora el postoperatorio, disminuyendo significativamente el dolor y la inflamación^{126,127}.

La fototerapia aumenta el volumen, mineralización y densidad ósea de forma significativa y acelera la curación de los tejidos blandos¹²⁸, promueve la maduración trabecular¹²⁹ y, en general, acelera la formación de hueso a novo¹³⁰.

En tratamientos ortodóncicos de expansión del paladar medio el TLBI ha demostrado su eficacia durante la fase de retención de la expansión, acelerando la reparación ósea^{131,132}, aumentando el depósito de hidroxiapatita en la sutura palatina¹³³ y la fibrogénesis y osteogénesis del hueso palatino^{134,135}.

En cuanto a los implantes, la fotomodulación mejora la estabilidad implantaria¹³⁶ y aumenta el éxito de osteointegración¹³⁷ debido a sus efectos antiinflamatorios y de estimulación ósea¹³⁸.

Al igual que con el resto de elementos osteoinductores, la cantidad, intensidad, tiempo de uso¹³⁹ y combinación con otros métodos determinan la mayor o menor eficacia de la TLBI. Dosis altas y bajas parecen tener mejores resultados que dosis medias¹⁴⁰. La variación de la intensidad estimula o inhibe una variedad de procesos celulares¹⁴¹. El uso sinérgico con ultrasonidos¹⁴² y con factores de crecimiento como el PDGF¹⁴³ mejora la densidad del hueso neoformado.

7. FACTOR DERIVADO DE LA MATRIZ DEL ESMALTE (EDM)

Las matrices derivadas están compuestas principalmente de amelogenina y proteínas relacionadas derivadas de los gérmenes dentarios y estas proteínas derivadas de la matriz del esmalte son fundamentales para el desarrollo del cemento acelular, del

ligamento periodontal y del hueso alveolar. Sirven como andamio para la formación ósea (osteoconducción), y estimulan la formación de nuevo hueso y ligamento periodontal (osteoinducción).

El EMD potencia la diferenciación osteoblástica y la mineralización de las células madre pluripotenciales¹⁴⁴, y de células madre mesenquimales C2C12¹⁴⁵, Sus efectos son estimuladores e inhibidores, con predominio de los estimuladores^{146,147}, y dependientes de su concentración¹⁴⁸, Estimula la expresión de la osteoprotegerina (inhibiendo la función osteoclástica)¹⁴⁹, promueve el aumento de la fosfatasa alcalina y la mineralización de las células madre¹⁵⁰, y, junto con la simvastatina¹⁵¹ y el agregado trióxido mineral tiene acción sinérgica en la diferenciación osteoblástica¹⁵².

Cuando se impregnan implantes con EMD no hay aumento significativo de la cantidad de osteoblastos y de matriz ósea alrededor del implante¹⁵³. En cambio cuando se trata de implantes de zirconia el derivado de matriz del esmalte contribuye al éxito de la osteointegración mediante la promoción de la actividad y proliferación osteoblástica¹⁵⁴.

La mayoría de estudios coinciden en que el EMD es inefectivo en la osteoformación¹⁵⁵⁻¹⁵⁷. Ello se debe a que este compuesto si bien favorece la proliferación de células osteoblásticas (que forman parte del cemento y ligamento periodontal), inhibe por medio del TGF-beta-1 la expresión genética de la osteocalcina, el uso de anticuerpos anti TGF-beta-1 elimina la capacidad inhibitoria de la osteocalcina del EMD¹⁵⁸. Así mismo el EMD junto con TGF-beta-1 promueven la proliferación del número de células osteoblásticas, así como su actividad, pero reduciendo la actividad de la fosfatasa alcalina y la mineralización de la matriz ósea^{159,160}.

Todo ello deja en duda la efectividad del EMD en la formación ósea no relacionada con la regeneración periodontal.

CONCLUSION

Los injertos óseos autólogos brindan las tres características fundamentales de la reparación ósea, que son:

osteoconducción, por su rigidez y estabilidad espacial;

osteoinducción, por poseer factores y elementos que favorecen la activación, diferenciación, proliferación y puesta en marcha de los elementos celulares y no celulares que regulan la cicatrización ósea y de los tejidos blandos adyacentes;

osteoformación, al contener estos injertos en sí mismos células osteoblásticas.

Su efectividad está demostrada por su uso exitoso a lo largo de las últimas décadas; sin embargo, tienen un inconveniente que hace que hoy en día -y cada vez más- se busquen alternativas que faciliten la regeneración ósea con resultados similares: la obtención de los injertos óseos autólogos trae consigo una intervención quirúrgica encaminada a la sección del tejido óseo y preparación del lecho receptor, con su morbilidad asociada. Además de ser incómodo para el paciente, éste tendrá, por la naturaleza de la intervención, que recuperarse de las lesiones quirúrgicas, con el consiguiente abanico de posibles complicaciones: infección, inflamación, edema, hematoma y malestar local de la zona donante. Estas complicaciones, en general, se traducen en mayor tiempo total de recuperación y un mayor discomfort.

Frente a ello se han desarrollado y puesto en práctica materiales biológicos (humanos y animales) y sintéticos encaminados a sustituir a los injertos autólogos convencionales. Con ellos se evita la intervención quirúrgica en el lecho donante, y se mejora, por tanto, la comodidad del paciente durante y después del tratamiento. Además, elimina la morbilidad asociada a todo el proceso de obtención del autoinjerto. Estos injertos, sin embargo, van a carecer de dos de los pilares de la regeneración ósea (osteoformación y osteoinducción), tratándose por tanto de elementos de soporte, con mayores o menores características estructurales óseas, sobre los cuales se va a ir estableciendo y madurando un tejido que tras su mineralización se convertirá en el nuevo tejido óseo. Al tratarse de materiales

osteconductivos, el tiempo de regeneración ósea con respecto a los autoinjertos será mayor; es decir, mayor tiempo hasta la curación.

Para dotar a estos materiales de características osteoinductivas, y por lo tanto acelerar la curación del tejido óseo, así como mejorar la calidad de vida del paciente en la fase postoperatoria, se han ido estudiando y desarrollando una serie de agregados y terapias adyuvantes que -junto a los injertos- generan una respuesta más parecida cualitativamente y cuantitativamente a aquellos que se consiguen mediante los injertos óseos autólogos.

El plasma rico en plaquetas, al igual que sus formas derivadas (fibrina rica en plaquetas, factores recombinantes plaquetarios), contiene una gran cantidad de factores de crecimiento que tanto de forma individual como combinada mejoran el tiempo de curación, proveen al material sólido del injerto de mayor estabilidad y solidez, mejorando su manipulación, y mejoran la calidad y volumen del tejido óseo neoformado. Lo mismo ocurre con la proteína morfogénica ósea.

La terapia celular representa un medio osteoformador por su característica pluripotencial, posibilitando la formación de tejidos orgánicos compatibles con la regeneración del hueso. Las células madre aumentan la cantidad de células nucleadas y las colonias de fibroblastos, promoviendo la aposición mineral en los periodos de curación temprana. Así mismo, su uso reduce cuantitativamente las necesidades de tejido autólogo en los injertos. La modificación genética de estas células también mejora la formación ósea al aumentar de forma dirigida y específica la expresión de diferentes factores de crecimiento y proteínas óseas.

La terapia láser de baja intensidad es capaz de aumentar la expresión de proteínas óseas, la proliferación y expresión de fenotipos osteoblásticos y la diferenciación osteoblástica acelerando de esta manera la regeneración ósea y la maduración trabecular; además es una terapia antiinflamatoria que mejora el postoperatorio de forma muy significativa.

Existen otros componentes -como el factor derivado de la matriz del esmalte- cuya función en la ayuda a la regeneración ósea está en duda. Por una parte hay estudios que han demostrado su capacidad para promover la actividad y proliferación osteoblástica, el aumento de la fosfatasa alcalina y la mineralización de las células

madre. Sin embargo, la mayoría de los estudios coinciden en su ineficacia -en general- para la osteoformación, aunque se han documentado casos en los que sí ha tenido un moderado éxito, como por ejemplo, en la osteointegración implantaria.

Los productos descritos que han demostrado una eficacia en la formación de tejido óseo, logran un hueso similar cuantitativamente y cualitativamente al tejido regenerado mediante autoinjertos, con las ventajas que conllevan en el marco de la reintervención quirúrgica del lecho donante, la recuperación y condición de salud postoperatoria del paciente y el coste económico. Sin embargo no hay establecidos protocolos claros y consensuados en cuanto a las cantidades a utilizar de cada producto, encontrándose muchas diferencias e incluso resultados opuestos para los mismos elementos a concentraciones diferentes, reiterando en la suma importancia de las dosis en la eficacia final.

En general, si bien estas combinaciones biológicas son eficaces, es necesario realizar un número significativo de estudios de cara a determinar con exactitud las relaciones dosis/efecto de cada producto, de manera que se puedan consensuar protocolos para su uso clínico.

BILBIOGRAFIA

1. Latarjet, Ruiz Liard. Anatomía Humana. 4ª ed. 2ª reimp. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006. p. 84-93
2. Michael H. Ross, Wojciech Pawlina. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2012. p. 218-231
3. Gómez de Ferraris M^a. E, Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. 2º ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2002. p. 67-74
4. Ilizarov GA, Bianchi Maiocchi A, Martí González JC. Osteosíntesis: Técnica de Ilizarov. 1ª ed. Madrid: Ediciones Norma; 1990. p. 8-10
5. Raspall G. Cirugía Oral e Implantología. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006. p.171-172
6. Raspall G. Cirugía Oral e Implantología. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006. p.215-216
7. Tolstunov L. Maxillary tuberosity block bone graft: innovative technique and case report. J Oral Maxillofac Surg. 2009 Aug;67(8):1723-9. doi:10.1016/j.joms.2009.03.043.
8. Marx RE, Carlson ER, Eishstaed RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet - rich plasma; Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;96:638-46.
9. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998 Jun;85(6):638-46.
10. Bir SC1, Esaki J, Marui A, Yamahara K, Tsubota H, Ikeda T, et al. Angiogenic properties of sustained release platelet-rich plasma: characterization in-vitro and in the ischemic hind limb of the mouse. J Vasc Surg. 2009 Oct;50(4):870-879.e2. doi: 10.1016/j.jvs.2009.06.016. Epub 2009 Aug 12.
11. Kumar KA, Rao JB, Pavan Kumar B, Mohan AP, Patil K, Parimala K. A prospective study involving the use of platelet rich plasma in enhancing the uptake of bone grafts in the oral and maxillofacial region. J Maxillofac Oral Surg. 2013 Dec;12(4):387-94. doi: 10.1007/s12663-012-0466-3.
12. T.F. Tozum, B. Demiralp. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. J Can Dent Assoc. 2003. p. 664
13. Khairy NM, Shendy EE, Askar NA, El-Rouby DH. Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). Int J Oral Maxillofac Surg. 2013 Feb;42(2):249-55. doi: 10.1016/j.ijom.2012.09.009.
14. Kumar NK, Shaik M, Nadella KR, Chintapalli BM. Comparative study of alveolar bone height and implant survival rate between autogenous bone mixed with platelet rich plasma versus venous blood for maxillary sinus lift

- augmentation procedure. *J Maxillofac Oral Surg.* 2015 Jun;14(2):417-22. doi: 10.1007/s12663-014-0643-7.
15. Badr M, Coulthard P, Alissa R, Oliver R. The efficacy of platelet-rich plasma in grafted maxillae. A randomised clinical trial. *Eur J Oral Implantol.* 2010 Autumn;3(3):233-44.
 16. Danesh-Meyer MJ, Filstein MR, Shanaman R. Histological evaluation of sinus augmentation using platelet rich plasma (PRP): a case series. *J Int Acad Periodontol.* 2001 Apr;3(2):48-56.
 17. Kiliç SC, Güngörmüş M . Cone Beam Computed Tomography Assessment of Maxillary Sinus Floor Augmentation Using Beta-Tricalcium Phosphate Alone or in Combination with Platelet-Rich Plasma: A Randomized Clinical Trial. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2016 Nov/Dec;31(6):1367-1375. doi: 10.11607/jomi.5205.
 18. Cömert Kılıç S, Güngörmüş M, Parlak SN. Histologic and histomorphometric assessment of sinus-floor augmentation with beta-tricalcium phosphate alone or in combination with pure-platelet-rich plasma or platelet-rich fibrin: A randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2017 Jul 26. doi: 10.1111/cid.12522.
 19. Riaz R, Ravindran C, Ramkumar, Nandakumar. Efficacy of platelet rich plasma in sinus lift augmentation. *J Maxillofac Oral Surg.* 2010 Sep;9(3):225-30. doi: 10.1007/s12663-010-0033-8.
 20. Poeschl PW, Ziya-Ghazvini F, Schicho K, Buchta C, Moser D, Seemann R, et al. Application of platelet-rich plasma for enhanced bone regeneration in grafted sinus. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012 Mar;70(3):657-64. doi: 10.1016/j.joms.2011.04.027.
 21. Gupta G . Clinical and radiographic evaluation of intra-bony defects in localized aggressive periodontitis patients with platelet rich plasma/hydroxyapatite graft: A comparative controlled clinical trial. *Contemp Clin Dent.* 2014 Oct;5(4):445-51. doi: 10.4103/0976-237X.142806.
 22. Antonello Gde M, Torres do Couto R, Giongo CC, Corrêa MB, Chagas Júnior OL, Lemes CH. Evaluation of the effects of the use of platelet-rich plasma (PRP) on alveolar bone repair following extraction of impacted third molars: prospective study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013 Jun;41(4):e70-5. doi: 10.1016/j.jcms.2012.11.003.
 23. Parikh B, Navin S, Vaishali P. A comparative evaluation of healing with a computed tomography scan of bilateral periapical lesions treated with and without the use of platelet-rich plasma. *Indian J Dent Res* 2011;22:497-8
 24. Cabbar F, Güler N, Kürkcü M, Işeri U, Sençift K. The effect of bovine bone graft with or without platelet-rich plasma on maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Oct;69(10):2537-47. doi: 10.1016/j.joms.2011.03.040.

25. Yilmaz S, Karaca EO, Ipci SD, Cakar G, Kuru BE, Kullu S, et al. Radiographic and histologic evaluation of platelet-rich plasma and bovine-derived xenograft combination in bilateral sinus augmentation procedure. *Platelets*. 2013;24(4):308-15. doi: 10.3109/09537104.2012.695033.
26. Taschieri S, Testori T, Corbella S, Weinstein R, Francetti L, Di Giancamillo A, et al. Platelet-Rich Plasma and Deproteinized Bovine Bone Matrix in Maxillary Sinus Lift Surgery: A Split-Mouth Histomorphometric Evaluation. *Implant Dent*. 2015 Oct;24(5):592-7. doi: 10.1097/ID.0000000000000293.
27. Del Fabbro M, Corbella S, Ceresoli V, Ceci C, Taschieri S. Plasma Rich in Growth Factors Improves Patients' Postoperative Quality of Life in Maxillary Sinus Floor Augmentation: Preliminary Results of a Randomized Clinical Study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015 Aug;17(4):708-16. doi: 10.1111/cid.12171.
28. ArRejaie A, Al-Harbi F, Alagl AS, Hassan KS. Platelet-Rich Plasma Gel Combined with Bovine-Derived Xenograft for the Treatment of Dehiscence Around Immediately Placed Conventionally Loaded Dental Implants in Humans: Cone Beam Computed Tomography and Three-Dimensional Image Evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2016 Mar-Apr;31(2):431-8. doi: 10.11607/jomi.3859.
29. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli LV, Scacco S, et al. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations. *Int J Med Sci*. 2012;9(10):872-80. doi: 10.7150/ijms.5119.
30. Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, Inchingolo AM, Inchingolo AD, Dipalma G, et al. Regenerative surgery performed with platelet-rich plasma used in sinus lift elevation before dental implant surgery: an useful aid in healing and regeneration of bone tissue. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012 Sep;16(9):1222-6.
31. Quesada-García MP, Prados-Sánchez E, Olmedo-Gaya MV, Muñoz-Soto E, Vallecillo-Capilla M, Bravo M. Dental implant stability is influenced by implant diameter and localization and by the use of plasma rich in growth factors. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012 Dec;70(12):2761-7. doi: 10.1016/j.joms.2012.08.006.
32. Taschieri S, Del Fabbro M . Postextraction osteotome sinus floor elevation technique using plasma-rich growth factors. *Implant Dent*. 2011 Dec;20(6):418-24. doi: 10.1097/ID.0b013e3182354063.
33. Wang M, Li H, Si J, Dai J, Shi J, Wang X. Amniotic fluid-derived stem cells mixed with platelet rich plasma for restoration of rat alveolar bone defect. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2017 Mar 1;49(3):197-207. doi: 10.1093/abbs/gmw133.
34. Bilginaylar K. The Use of Platelet-Rich Fibrin for Immediate Closure of Acute Oroantral Communications: An Alternative Approach. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017 Aug 3. pii: S0278-2391(17)31010-8. doi: 10.1016/j.joms.2017.07.168.

35. Assad M, Bitar W, Alhadj MN. Closure of Oroantral Communication Using Platelet-rich Fibrin: A Report of Two Cases. *Ann Maxillofac Surg.* 2017 Jan-Jun;7(1):117-119.
36. Öncü E, Kaymaz E. Assessment of the effectiveness of platelet rich fibrin in the treatment of Schneiderian membrane perforation. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2017 Dec;19(6):1009-1014. doi: 10.1111/cid.12528.
37. Aoki N, Kanayama T, Maeda M, Horii K, Miyamoto H, Wada K. Sinus Augmentation by Platelet-Rich Fibrin Alone: A Report of Two Cases with Histological Examinations. *Case Rep Dent.* 2016;2016:2654645.
38. Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant Dent.* 2011 Feb;20(1):2-12.
39. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D. Osteotome-mediated sinus floor elevation using only platelet-rich fibrin: an early report on 110 patients. *Implant Dent.* 2010 Oct;19(5):447-56.
40. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *J Periodontol.* 2009 Dec;80(12):2056-64.
41. Kanayama T, Horii K, Senga Y, Shibuya Y. Crestal Approach to Sinus Floor Elevation for Atrophic Maxilla Using Platelet-Rich Fibrin as the Only Grafting Material: A 1-Year Prospective Study. *Implant Dent.* 2016 Feb;25(1):32-8.
42. Del Corso M, Mazor Z, Rutkowski JL, Dohan Ehrenfest DM. The use of leukocyte- and platelet-rich fibrin during immediate postextractive implantation and loading for the esthetic replacement of a fractured maxillary central incisor. *J Oral Implantol.* 2012 Apr;38(2):181-7.
43. Magremanne M, Baeyens W, Awada S, Vervaeke C. Solitary bone cyst of the mandible and platelet rich fibrin (PRF). *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2009 Apr;110(2):105-8.
44. Nizam N, Eren G, Akcalı A, Donos N. Maxillary sinus augmentation with leukocyte and platelet-rich fibrin and deproteinized bovine bone mineral: A split-mouth histological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res.* 2017 Aug 8. doi: 10.1111/clr.13044.
45. Bolukbasi N, Ersanlı S, Keklikoglu N, Basegmez C, Ozdemir T. Sinus Augmentation With Platelet-Rich Fibrin in Combination With Bovine Bone Graft Versus Bovine Bone Graft in Combination With Collagen Membrane. *J Oral Implantol.* 2015 Oct;41(5):586-95.
46. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a

- histological and histomorphometric study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012 Jun;40(4):321-8.
47. Tanaka H, Toyoshima T, Atsuta I, Ayukawa Y, Sasaki M, Matsushita Y, et al. Additional Effects of Platelet-Rich Fibrin on Bone Regeneration in Sinus Augmentation With Deproteinized Bovine Bone Mineral: Preliminary Results. *Implant Dent.* 2015 Dec;24(6):669-74.
 48. Shawky H, Seifeldin SA. Does Platelet-Rich Fibrin Enhance Bone Quality and Quantity of Alveolar Cleft Reconstruction?. *Cleft Palate Craniofac J.* 2016 Sep;53(5):597-606. doi: 10.1597/14-290.
 49. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli LV, Scacco S, et al. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations. *Int J Med Sci.* 2012;9(10):872-80.
 50. Jayalakshmi KB, Agarwal S, Singh MP, Vishwanath BT, Krishna A, Agrawal R. Platelet-Rich Fibrin with β -Tricalcium Phosphate-A Novel Approach for Bone Augmentation in Chronic Periapical Lesion: A Case Report. *Case Rep Dent.* 2012;2012:902858.
 51. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006 Mar;101(3):299-303.
 52. Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013 Jan-Feb;28(1):77-83.
 53. Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 May;105(5):572-9.
 54. Marrelli M, Tatullo M. Influence of PRF in the healing of bone and gingival tissues. Clinical and histological evaluations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013 Jul;17(14):1958-62.
 55. Gassling V, Purcz N, Braesen JH, Will M, Gierloff M, Behrens E, et al. Comparison of two different absorbable membranes for the coverage of lateral osteotomy sites in maxillary sinus augmentation: a preliminary study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013 Jan;41(1):76-82.
 56. Dohan Ehrenfest DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Arch Oral Biol.* 2010 Mar;55(3):185-94.
 57. Friedlaender GE, Lin S, Solchaga LA, Snel LB, Lynch SE. The role of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) in orthopaedic bone repair and regeneration. *Curr Pharm Des.* 2013;19(19):3384-90.

58. Kubota A, Sarmiento H, Alqahtani MS, Llobell A, Fiorellini JP. The Use of Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor for Maxillary Sinus Augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2017 Mar/Apr;37(2):219-225. doi: 10.11607/prd.2776.
59. Froum SJ, Wallace S, Cho SC, Rosenburg E, Froum S, Schoor R, et al. A histomorphometric comparison of Bio-Oss alone versus Bio-Oss and platelet-derived growth factor for sinus augmentation: a postsurgical assessment. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2013 May-Jun;33(3):269-79. doi: 10.11607/prd.1614.
60. Nevins M, Camelo M, Nevins ML, Ho DK, Schupbach P, Kim DM. Growth factor-mediated combination therapy to treat large local human alveolar ridge defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012 Jun;32(3):263-71.
61. Urban I, Caplanis N, Lozada JL. Simultaneous vertical guided bone regeneration and guided tissue regeneration in the posterior maxilla using recombinant human platelet-derived growth factor: a case report. *J Oral Implantol*. 2009;35(5):251-6. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-09-00004.1.
62. Nevins M, Giannobile WV, McGuire MK, Kao RT, Mellonig JT, Hinrichs JE, et al. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol*. 2005 Dec;76(12):2205-15.
63. Abreu FA, Ferreira CL, Silva GA, Paulo Cde O, Miziara MN, Silveira FF, et al. Effect of PDGF-BB, IGF-I growth factors and their combination carried by liposomes in tooth socket healing. *Braz Dent J*. 2013;24(4):299-307. doi: 10.1590/0103-6440201302238.
64. Chang PC, Lim LP, Chong LY, Dovban AS, Chien LY, Chung MC, et al. PDGF-simvastatin delivery stimulates osteogenesis in heat-induced osteonecrosis. *J Dent Res*. 2012 Jun;91(6):618-24. doi: 10.1177/0022034512445194.
65. Catros S, Kuhn L, Yang X, Freilich M. Intérêt du rhPDGF-bb dans la régénération osseuse chez la souris: étude dose-réponse. 59ème Congrès de la SFMBCB, 02008 (2012) DOI:10.1051/sfmbcb/20125902008
66. H.C. Kim, S.N. Kim. Successful strategy of treatment using rhBMP-2 for maxillary sinus graft. *J. Korean Dent. Assoc.*, 53 (2015), pp. 14-27
67. Wada K, Niimi A, Watanabe K, Sawai T, Ueda M. Maxillary sinus floor augmentation in rabbits: a comparative histologic-histomorphometric study between rhBMP-2 and autogenous bone. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2001 Jun;21(3):252-63.
68. She XM, Zhang Q, Tian K, Yang L, Xiong GF. Clinical research on repairing alveolar cleft with osteoinduction active material. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2010 Aug;28(4):391-4.
69. Kim HJ, Chung JH, Shin SY, Shin SI, Kye SB, Kim NK, et al. Efficacy of rhBMP-2/Hydroxyapatite on Sinus Floor Augmentation: A Multicenter,

- Randomized Controlled Clinical Trial. *J Dent Res*. 2015 Sep;94(9 Suppl):158S-65S. doi: 10.1177/0022034515594573.
70. Misch CM, Jensen OT, Pikos MA, Malmquist JP. Vertical bone augmentation using recombinant bone morphogenetic protein, mineralized bone allograft, and titanium mesh: a retrospective cone beam computed tomography study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015 Jan-Feb;30(1):202-7. doi:10.11607/jomi.3977.
 71. Froum SJ, Wallace S, Cho SC, Khouly I, Rosenberg E, Corby P, et al. Radiographic comparison of different concentrations of recombinant human bone morphogenetic protein with allogenic bone compared with the use of 100% mineralized cancellous bone allograft in maxillary sinus grafting. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2014 Sep-Oct;34(5):611-20. doi: 10.11607/prd.2037.
 72. Boyne PJ, Lilly LC, Marx RE, Moy PK, Nevins M, Spagnoli DB, et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Dec;63(12):1693-707.
 73. Kim MS, Kwon JY, Lee JS, Song JS, Choi SH, Jung UW. Low-dose recombinant human bone morphogenetic protein-2 to enhance the osteogenic potential of the Schneiderian membrane in the early healing phase: in vitro and in vivo studies. *J Oral Maxillofac Surg*. 2014 Aug;72(8):1480-94. doi: 10.1016/j.joms.2014.03.027.
 74. Hong JY, Kim MS, Lim HC, Lee JS, Choi SH, Jung UW. A high concentration of recombinant human bone morphogenetic protein-2 induces low-efficacy bone regeneration in sinus augmentation: a histomorphometric analysis in rabbits. *Clin Oral Implants Res*. 2016 Dec;27(12):e199-e205. doi: 10.1111/clr.12603.
 75. Kim MS, Lee JS, Shin HK, Kim JS, Yun JH, Cho KS. Prospective randomized, controlled trial of sinus grafting using Escherichia-coli-produced rhBMP-2 with a biphasic calcium phosphate carrier compared to deproteinized bovine bone. *Clin Oral Implants Res*. 2015 Dec;26(12):1361-8. doi:10.1111/clr.12471.
 76. Kim BJ, Kwon TK, Baek HS, Hwang DS, Kim CH, Chung IK, et al. A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2-coated tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin-mixed tricalcium phosphate in rabbits. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012 May;113(5):583-92. doi: 10.1016/j.tripleo.2011.04.029.
 77. Choi Y, Lee JS. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates the osteogenic potential of the Schneiderian membrane: a histometric analysis in rabbits. *Tissue Eng Part A*. 2013 Sep;19(17-18):1994-2004. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0724.
 78. Choi H, Park NJ, Jamiyandorj O, Choi KH, Hong MH, Oh S, et al. Improvement of osteogenic potential of biphasic calcium phosphate bone substitute coated with two concentrations of expressed recombinant human bone morphogenetic

- protein 2. *J Periodontal Implant Sci.* 2012 Aug;42(4):119-26. doi: 10.5051/jpis.2012.42.4.119.
79. Xia L, Xu Y, Wei J, Zeng D, Ye D, Liu C, et al. Maxillary sinus floor elevation using a tissue-engineered bone with rhBMP-2-loaded porous calcium phosphate cement scaffold and bone marrow stromal cells in rabbits. *Cells Tissues Organs.* 2011;194(6):481-93. doi: 10.1159/000323918.
 80. Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M, Wozney JA, Palmer R, Graham D. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1996 Feb;16(1):8-19.
 81. Boyne PJ, Marx RE, Nevins M, Triplett G, Lazaro E, Lilly LC, et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1997 Feb;17(1):11-25.
 82. Choi Y, Yun JH, Kim CS, Choi SH, Chai JK, Jung UW. Sinus augmentation using absorbable collagen sponge loaded with Escherichia coli-expressed recombinant human bone morphogenetic protein 2 in a standardized rabbit sinus model: a radiographic and histologic analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Jun;23(6):682-9. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02222.x.
 83. Joo MJ, Cha JK, Lim HC, Choi SH, Jung UW. Sinus augmentation using rhBMP-2-loaded synthetic bone substitute with simultaneous implant placement in rabbits. *J Periodontal Implant Sci.* 2017 Apr;47(2):86-95. doi: 10.5051/jpis.2017.47.2.86 .
 84. Lee J, Susin C, Rodriguez NA, de Stefano J, Prasad HS, Buxton AN, et al. Sinus augmentation using rhBMP-2/ACS in a mini-pig model: relative efficacy of autogenous fresh particulate iliac bone grafts. *Clin Oral Implants Res.* 2013 May;24(5):497-504. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02419.x.
 85. Triplett RG, Nevins M, Marx RE, Spagnoli DB, Oates TW, Moy PK, et al. Pivotal, randomized, parallel evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2/absorbable collagen sponge and autogenous bone graft for maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Sep;67(9):1947-60. doi: 10.1016/j.joms.2009.04.085.
 86. Hanisch O, Tatakis DN, Rohrer MD, Wöhrle PS, Wozney JM, Wikesjö UM. Bone formation and osseointegration stimulated by rhBMP-2 following subantral augmentation procedures in nonhuman primates. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997 Nov-Dec;12(6):785-92.
 87. Kumar MS, Kumar MH, Vishalakshi K, Sabitha H. Radiographic Assessment of Bone Formation Using rhBMP2 at Maxillary Periapical Surgical Defects: A Case Series. *J Clin Diagn Res.* 2016 Apr;10(4):ZR01-4. doi: 10.7860/JCDR/2016/11775.7522.
 88. Blumenthal NM, Koh-Kunst G, Alves ME, Miranda D, Sorensen RG, Wozney JM, et al. Effect of surgical implantation of recombinant human bone

- morphogenetic protein-2 in a bioabsorbable collagen sponge or calcium phosphate putty carrier in intrabony periodontal defects in the baboon. *J Periodontol.* 2002 Dec;73(12):1494-506.
89. Hanisch O, Tatakis DN, Boskovic MM, Rohrer MD, Wikesjö UM. Bone formation and reosseointegration in peri-implantitis defects following surgical implantation of rhBMP-2. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997 Sep-Oct;12(5):604-10.
90. Rotenberg SA, Tatakis DN. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for peri-implant bone regeneration: a case report. *J Periodontol.* 2011 Aug;82(8):1212-8. doi: 10.1902/jop.2011.100626.
91. Ribeiro Filho SA, Francischone CE, de Oliveira JC, Ribeiro LZ, do Prado FZ, Sotto-Maior BS. Bone augmentation of the atrophic anterior maxilla for dental implants using rhBMP-2 and titanium mesh: histological and tomographic analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015 Dec;44(12):1492-8. doi: 10.1016/j.ijom.2015.07.004. Epub 2015 Jul 30.
92. Herford AS, Tandon R, Stevens TW, Stoffella E, Cicciu M. Immediate distraction osteogenesis: the sandwich technique in combination with rhBMP-2 for anterior maxillary and mandibular defects. *J Craniofac Surg.* 2013 Jul;24(4):1383-7. doi: 10.1097/SCS.0b013e318292c2ce.
93. Marx RE, Armentano L, Olavarria A, Samaniego J. rhBMP-2/ACS grafts versus autogenous cancellous marrow grafts in large vertical defects of the maxilla: an unsponsored randomized open-label clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013 Sep-Oct;28(5):e243-51. doi: 10.11607/jomi.te04.
94. de Freitas RM, Susin C, Spin-Neto R, Marcantonio C, Wikesjö UM, Pereira LA, et al. Horizontal ridge augmentation of the atrophic anterior maxilla using rhBMP-2/ACS or autogenous bone grafts: a proof-of-concept randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2013 Oct;40(10):968-75. doi: 10.1111/jcpe.12148.
95. Mehanna R, Koo S. Recombinant human bone morphogenetic protein 2 in lateral ridge augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2013 Jan-Feb;33(1):97-102.
96. Lewis JR, Boudrieau RJ, Reiter AM, Seeherman HJ, Gilley RS. Mandibular reconstruction after gunshot trauma in a dog by use of recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Am Vet Med Assoc.* 2008 Nov 15;233(10):1598-604. doi: 10.2460/javma.233.10.1598.
97. Luo G, Huang Y, Gu F. rhBMP2-loaded calcium phosphate cements combined with allogenic bone marrow mesenchymal stem cells for bone formation. *Biomed Pharmacother.* 2017 Aug;92:536-543. doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.083.
98. Matin K, Nakamura H, Irie K, Ozawa H, Ejiri S. Impact of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on residual ridge resorption after tooth extraction:

- an experimental study in the rat. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001 May-Jun;16(3):400-11.
99. Alonso N, Tanikawa DY, Freitas Rda S, Canan L Jr, Ozawa TO, Rocha DL. Evaluation of maxillary alveolar reconstruction using a resorbable collagen sponge with recombinant human bone morphogenetic protein-2 in cleft lip and palate patients. *Tissue Eng Part C Methods*. 2010 Oct;16(5):1183-9. doi:10.1089/ten.TEC.2009.0824.
 100. Fiorellini JP, Howell TH, Cochran D, Malmquist J, Lilly LC, Spagnoli D, et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *J Periodontol*. 2005 Apr;76(4):605-13.
 101. Mayer M, Hollinger J. Maxillary alveolar cleft repair in dogs using recombinant human bone morphogenetic protein-2 and a polymer carrier. *Plast Reconstr Surg*. 1996 Aug;98(2):247-59.
 102. Hart KL, Bowles D . Reconstruction of alveolar defects using titanium-reinforced porous polyethylene as a containment device for recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012 Apr;70(4):811-20. doi: 10.1016/j.joms.2011.09.025.
 103. Kao DW, Kubota A, Nevins M, Fiorellini JP. The negative effect of combining rhBMP-2 and Bio-Oss on bone formation for maxillary sinus augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012 Feb;32(1):61-7.
 104. Yao Y, Wang G, Wang Z, Wang C, Zhang H, Liu C. Synergistic enhancement of new bone formation by recombinant human bone morphogenetic protein-2 and osteoprotegerin in trans-sutural distraction osteogenesis: a pilot study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011 Nov;69(11):e446-55. doi: 10.1016/j.joms.2011.07.002.
 105. Thoma DS, Yoon SR, Cha JK, Lim HC, Lee JS, Choi SH, et al. Sinus floor elevation using implants coated with recombinant human bone morphogenetic protein-2: micro-computed tomographic and histomorphometric analyses. *Clin Oral Investig*. 2017 Jul 6. doi: 10.1007/s00784-017-2158-3.
 106. Lee JH, Ryu MY, Baek HR, Lee HK, Seo JH, Lee KM, et al. The effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2-loaded tricalcium phosphate microsphere-hydrogel composite on the osseointegration of dental implants in minipigs. *Artif Organs*. 2014 Feb;38(2):149-58. doi: 10.1111/aor.12275.
 107. Matin K, Senpuku H, Hanada N, Ozawa H, Ejiri S. Bone regeneration by recombinant human bone morphogenetic protein-2 around immediate implants: a pilot study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003 Mar-Apr;18(2):211-7.
 108. Terbish M, Yoo SH, Kim HJ, Yu HS, Hwang CJ, Baik HS, et al. Accelerated Bone Formation in Distracted Alveolar Bone After Injection of Recombinant

- Human Bone Morphogenetic Protein-2. *J Periodontol.* 2015 Sep;86(9):1078-86. doi: 10.1902/jop.2015.140697.
109. Kaigler D, Avila-Ortiz G, Travan S, Taut AD, Padial-Molina M, Rudek I, et al. Bone Engineering of Maxillary Sinus Bone Deficiencies Using Enriched CD90+ Stem Cell Therapy: A Randomized Clinical Trial. *J Bone Miner Res.* 2015 Jul;30(7):1206-16. doi: 10.1002/jbmr.2464.
 110. Yamada Y, Nakamura S, Ito K, Kohgo T, Hibi H, Nagasaka T, et al. Injectable tissue-engineered bone using autogenous bone marrow-derived stromal cells for maxillary sinus augmentation: clinical application report from a 2-6-year follow-up. *Tissue Eng Part A.* 2008 Oct;14(10):1699-707. doi: 10.1089/ten.tea.2007.0189.
 111. Yamada Y, Nakamura S. Osteotome technique with injectable tissue-engineered bone and simultaneous implant placement by cell therapy. *Clin Oral Implants Res.* 2013 Apr;24(4):468-74. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02353.x.
 112. Sun XJ, Zhang ZY, Wang SY, Gittens SA, Jiang XQ, Chou LL. Maxillary sinus floor elevation using a tissue-engineered bone complex with OsteoBone and bMSCs in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2008 Aug;19(8):804-13. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01577.x.
 113. Chen J, Yang J, Huang W. Study on collagen membrane combining with autogenous bone marrow stromal cells or platelet rich plasma in repairing alveolar bone defect in dogs. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2007 May;21(5):523-7.
 114. Sununliganon L, Peng L . Osteogenic efficacy of bone marrow concentrate in rabbit maxillary sinus grafting. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014 Dec;42(8):1753-65. doi: 10.1016/j.jcms.2014.06.011.1
 115. Gali RS, Devireddy SK, Mohan Rao N, Kishore Kumar RV, Kanubaddy SR, Dasari M, et al. Autogenous Bone Marrow Aspirate Coated Synthetic Hydroxyapatite for Reconstruction of Maxillo-Mandibular Osseous Defects: A Prospective Study. *J Maxillofac Oral Surg.* 2017 Mar;16(1):71-78. doi: 10.1007/s12663-016-0924-4.
 116. Zhang L, Wang P, Mei S, Li C, Cai C, Ding Y. In vivo alveolar bone regeneration by bone marrow stem cells/fibrin glue composition. *Arch Oral Biol.* 2012 Mar;57(3):238-44. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.08.025
 117. Liu X, Li Q, Wang F, Wang Z. Maxillary sinus floor augmentation and dental implant placement using dentin matrix protein-1 gene-modified bone marrow stromal cells mixed with deproteinized bovine bone: A comparative study in beagles. *Arch Oral Biol.* 2016 Apr;64:102-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.01.004.
 118. Chang SC, Chuang HL, Chen YR, Chen JK, Chung HY, Lu YL, et al. Ex vivo gene therapy in autologous bone marrow stromal stem cells for tissue-

- engineered maxillofacial bone regeneration. *Gene Ther.* 2003 Nov;10(24):2013-9.
119. Springer IN, Nocini PF, Schlegel KA, De Santis D, Park J, Warnke PH, et al. Two techniques for the preparation of cell-scaffold constructs suitable for sinus augmentation: steps into clinical application. *Tissue Eng.* 2006 Sep;12(9):2649-56.
 120. Nagata M, Hoshina H, Li M, Arasawa M, Uematsu K, Ogawa S, et al. A clinical study of alveolar bone tissue engineering with cultured autogenous periosteal cells: coordinated activation of bone formation and resorption. *Bone.* 2012 May;50(5):1123-9. doi: 10.1016/j.bone.2012.02.631.
 121. Mesimäki K, Lindroos B, Törnwall J, Mauno J, Lindqvist C, Kontio R, et al. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Mar;38(3):201-9. doi: 10.1016/j.ijom.2009.01.001.
 122. Malard O, Guicheux J, Bouler JM, Gauthier O, de Montreuil CB, Aguado E, et al. Calcium phosphate scaffold and bone marrow for bone reconstruction in irradiated area: a dog study. *Bone.* 2005 Feb;36(2):323-30.
 123. Mergoni G, Vescovi P, Sala R, Merigo E, Passerini P, Maestri R, et al. The effect of laser therapy on the expression of osteocalcin and osteopontin after tooth extraction in rats treated with zoledronate and dexamethasone. *Support Care Cancer.* 2016 Feb;24(2):807-813. doi: 10.1007/s00520-015-2847-x.
 124. da Silva AP, Petri AD, Crippa GE, Stuani AS, Stuani AS, Rosa AL, et al. Effect of low-level laser therapy after rapid maxillary expansion on proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul;27(4):777-83. doi: 10.1007/s10103-011-0968-0.
 125. Park JJ, Kang KL . Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study. *Lasers Med Sci.* 2012 Jan;27(1):223-30. doi: 10.1007/s10103-011-0944-8.
 126. Zaky AA, El Shenawy HM, Harhsh TA, Shalash M, Awad NM. Can Low Level Laser Therapy Benefit Bone Regeneration in Localized Maxillary Cystic Defects? - A Prospective Randomized Control Trial. *Open Access Maced J Med Sci.* 2016 Dec 15;4(4):720-725. doi: 10.3889/oamjms.2016.140.
 127. Ozcelik O, Cenk Haytac M, Seydaoglu G. Enamel matrix derivative and low-level laser therapy in the treatment of intra-bony defects: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2008 Feb;35(2):147-56.
 128. Noda M, Aoki A, Mizutani K, Lin T, Komaki M, Shibata S, et al. High-frequency pulsed low-level diode laser therapy accelerates wound healing of tooth extraction socket: An in vivo study. *Lasers Surg Med.* 2016 Dec;48(10):955-964. doi: 10.1002/lsm.22560.
 129. Kim KA, Choi EK, Ohe JY, Ahn HW, Kim SJ. Effect of low-level laser therapy on orthodontic tooth movement into bone-grafted alveolar defects. *Am*

- J Orthod Dentofacial Orthop. 2015 Oct;148(4):608-17. doi: 10.1016/j.ajodo.2015.04.034.
130. Han KH, Park JH, Bayome M, Jeon IS, Lee W, Kook YA. Effect of frequent application of low-level laser therapy on corticotomized tooth movement in dogs: a pilot study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014 Jun;72(6):1182.e1-12. doi: 10.1016/j.joms.2014.02.028.
 131. Garcia VJ, Arnabat J, Comesaña R, Kasem K, Ustrell JM, Pasetto S, et al. Effect of low-level laser therapy after rapid maxillary expansion: a clinical investigation. *Lasers Med Sci.* 2016 Aug;31(6):1185-94. doi: 10.1007/s10103-016-1970-3.
 132. Ferreira FN, Gondim JO, Neto JJ, Dos Santos PC, de Freitas Pontes KM, Kurita LM, et al. Effects of low-level laser therapy on bone regeneration of the midpalatal suture after rapid maxillary expansion. *Lasers Med Sci.* 2016 Jul;31(5):907-13. doi: 10.1007/s10103-016-1933-8.
 133. Rosa CB, Habib FA, de Araújo TM, Aragão JS, Gomes RS, Barbosa AF, et al. Effect of the laser and light-emitting diode (LED) phototherapy on midpalatal suture bone formation after rapid maxilla expansion: a Raman spectroscopy analysis. *Lasers Med Sci.* 2014 May;29(3):859-67. doi: 10.1007/s10103-013-1284-7.
 134. Santiago VC, Piram A, Fuziy A. Effect of soft laser in bone repair after expansion of the midpalatal suture in dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012 Nov;142(5):615-24. doi: 10.1016/j.ajodo.2012.05.015.
 135. Cepera F 1, Torres FC, Scanavini MA, Paranhos LR, Capelozza Filho L, Cardoso MA, et al. Effect of a low-level laser on bone regeneration after rapid maxillary expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012 Apr;141(4):444-50. doi:10.1016/j.ajodo.2011.10.023.
 136. Mandić B, Lazić Z, Marković A, Mandić B, Mandić M, Djinić A, et al. Influence of postoperative low-level laser therapy on the osseointegration of self-tapping implants in the posterior maxilla: a 6-week split-mouth clinical study. *Vojnosanit Pregl.* 2015 Mar;72(3):233-40.
 137. Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Aug;18(4):517-24.
 138. Garcez AS, Suzuki SS, Martinez EF, Iemini MG, Suzuki H. Effects of low-intensity laser therapy over mini-implants success rate in pigs. *Lasers Med Sci.* 2015 Feb;30(2):727-32. doi: 10.1007/s10103-013-1367-5.
 139. Park JB, Ahn SJ, Kang YG, Kim EC, Heo JS, Kang KL. Effects of increased low-level diode laser irradiation time on extraction socket healing in rats. *Lasers Med Sci.* 2015 Feb;30(2):719-26. doi: 10.1007/s10103-013-1402-6.

140. Altan AB, Bicakci AA, Avunduk MC, Esen H. The effect of dosage on the efficiency of LLLT in new boneformation at the expanded suture in rats. *Lasers Med Sci.* 2015 Jan;30(1):255-62. doi: 10.1007/s10103-014-1645-x.
141. Zaky AA, El Shenawy HM, Harhsh TA, Shalash M, Awad NM. Can Low Level Laser Therapy Benefit Bone Regeneration in Localized Maxillary Cystic Defects? - A Prospective Randomized Control Trial. *Open Access Maced J Med Sci.* 2016 Dec 15;4(4):720-725. doi: 10.3889/oamjms.2016.140
142. Andrade Gomes do Nascimento LE, Sant'anna EF, Carlos de Oliveira Ruellas A, Issamu Nojima L, Gonçalves Filho AC, Antônio Pereira Freitas S. Laser versus ultrasound on bone density recuperation after distraction osteogenesis-a cone-beam computer tomographic analysis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013 May;71(5):921-8. doi: 10.1016/j.joms.2012.11.010.
143. Chang PC, Wang CY, Sheng-Chueh T. Combination of LED light and platelet-derived growth factor to accelerate dentoalveolar osteogenesis. *J Clin Periodontol.* 2014 Oct;41(10):999-1006. doi: 10.1111/jcpe.12301. Epub 2014 Sep 15.
144. Hisanaga Y, Suzuki E, Aoki H, Sato M, Saito A, Saito A, et al. Effect of the combined use of enamel matrix derivative and atelocollagen sponge scaffold on osteoblastic differentiation of mouse induced pluripotent stem cells in vitro. *J Periodontal Res.* 2017 Oct 17. doi: 10.1111/jre.12511.
145. Katayama N, Kato H, Taguchi Y, Tanaka A, Umeda M. The effects of synthetic oligopeptide derived from enamel matrix derivative on cell proliferation and osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci.* 2014 Aug 13;15(8):14026-43. doi: 10.3390/ijms150814026.
146. Yoneda S, Itoh D, Kuroda S, Kondo H, Umezawa A, Ohya K, et al. The effects of enamel matrix derivative (EMD) on osteoblastic cells in culture and bone regeneration in a rat skull defect. *J Periodontal Res.* 2003 Jun;38(3):333-42.
147. Yoneda S. The effects of enamel matrix derivative (EMD) on osteoblastic cells. *Kokubyo Gakkai Zasshi.* 2002 Sep;69(3):207-14.
148. Houshmand B, Behnia H, Khoshzaban A, Morad G, Behrouzi G, Dashti SG, et al. Osteoblastic differentiation of human stem cells derived from bone marrow and periodontal ligament under the effect of enamel matrix derivative and transforming growth factor-beta. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013 Nov-Dec;28(6):e440-50. doi: 10.11607/jomi.te24.
149. He J, Jiang J, Safavi KE, Spångberg LS, Zhu Q. Emdogain promotes osteoblast proliferation and differentiation and stimulates osteoprotegerin expression. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 Feb;97(2):239-45.
150. Hägewald S, Pischon N, Jawor P, Bernimoulin JP, Zimmermann B. Effects of enamel matrix derivative on proliferation and differentiation of primary osteoblasts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 Aug;98(2):243-9.

151. Karanxha L, Park SJ, Son WJ, Nör JE, Min KS. Combined effects of simvastatin and enamel matrix derivative on odontoblastic differentiation of human dental pulp cells. *J Endod.* 2013 Jan;39(1):76-82. doi: 10.1016/j.joen.2012.10.013.
152. Min KS, Yang SH, Kim EC. The combined effect of mineral trioxide aggregate and enamel matrix derivative on odontoblastic differentiation in human dental pulp cells. *J Endod.* 2009 Jun;35(6):847-51. doi: 10.1016/j.joen.2009.03.014.
153. Birang R, Shahabooei M, Mashhadiabbas F, Atabaki M, Naghsh N, Kavosh K, et al. Effect of enamel matrix derivative on bone formation around intraosseous titanium implant: An experimental study in canine model. *Dent Res J (Isfahan).* 2012 Nov;9(6):790-6.
154. Wada Y, Mizuno M, Nodasaka Y, Tamura M. The effect of enamel matrix derivative on spreading, proliferation, and differentiation of osteoblasts cultured on zirconia. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2012 Jul-Aug;27(4):849-58.
155. Nery JC, Pereira LAVD, Guimarães GF, Scardueli CR, França FMG, Spin-Neto R, et al. β -TCP/HA with or without enamel matrix proteins for maxillary sinus floor augmentation: a histomorphometric analysis of human biopsies. *Int J Implant Dent.* 2017 Dec;3(1):18. doi: 10.1186/s40729-017-0080-8.
156. Shirakata Y, Eliezer M, Nemcovsky CE, Weinreb M, Dard M, Sculean A, et al. Periodontal healing after application of enamel matrix derivative in surgical supra/infrabony periodontal defects in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Periodontal Res.* 2014 Feb;49(1):93-101. doi: 10.1111/jre.12084.
157. Nemcovsky CE, Zahavi S, Moses O, Kebudi E, Artzi Z, Beny L, et al. Effect of enamel matrix protein derivative on healing of surgical supra-infrabony periodontal defects in the rat molar: a histomorphometric study. *J Periodontol.* 2006 Jun;77(6):996-1002.
158. Wada Y, Yamamoto H, Nanbu S, Mizuno M, Tamura M. The suppressive effect of enamel matrix derivative on osteocalcin gene expression of osteoblasts is neutralized by an antibody against TGF-beta. *J Periodontol.* 2008 Feb;79(2):341-7. doi: 10.1902/jop.2008.070197.
159. Palioto DB, Rodrigues TL, Marchesan JT, Beloti MM, de Oliveira PT, Rosa AL. Effects of enamel matrix derivative and transforming growth factor- β 1 on human osteoblastic cells. *Head Face Med.* 2011 Jul 18;7:13. doi: 10.1186/1746-160X-7-13.
160. Hama H, Azuma H, Seto H, Kido J, Nagata T. Inhibitory effect of enamel matrix derivative on osteoblastic differentiation of rat calvaria cells in culture. *J Periodontal Res.* 2008 Apr;43(2):179-85. doi: 10.1111/j.1600-0765.2007.01010.x.