



REVISTA ODONTOLOGÍA

Regeneración ósea con xenoinjerto porcino en defectos en calvaria de guinea pigs. Estudio histológico e histométrico

Bone regeneration with porcine xenograft in calvarial defects of guinea pigs. Histological and histometric study

Blanca Emperatriz Real López^{2-a} | David Alexander Real López^{1-b} |
Bryan Sebastián Tupiza Vasconez^{1-c} | Miryam Katherine Zurita Solís^{2-d} |
Eduardo Garrido-Cisneros^{2-e}

¹ iD | Odontólogo de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador

² iD | PhD en Biomateriales y Biología Oral; Docente de la Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador

HISTORIAL DEL ARTÍCULO

Recepción: 04-02-2022

Aceptación: 30-03-2022

Publicación: 30-01-2023

PALABRAS CLAVE

Regeneración Ósea,
Xenoinjerto, Modelos
Animales, Microscopía
Óptica, Cobayos.

KEY WORDS

Bone Regeneration,
Xenograft, Animal
Models, Optical
Microscopy, Guinea Pigs.

ORCID

^a <https://orcid.org/0000-0002-9798-6202>

^b <https://orcid.org/0000-0003-4803-6814>

^c <https://orcid.org/0000-0002-0306-8639>

^d <https://orcid.org/0000-0002-1668-481X>

^e <https://orcid.org/0000-0001-6583-4610>

CORRESPONDENCIA AUTOR

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, QUITO

E-MAIL: AGARRIDO@UCE.EDU.EC

RESUMEN

Entre los sustitutos óseos, el xenoinjerto es el biomaterial más utilizado en Regeneración Ósea Guiada, su función es dar soporte a la membrana. **Objetivo:** evaluar in vivo la formación ósea en defectos de calvaria de cobayos, cuando se utiliza solo membrana de colágeno o membrana de colágeno más xenoinjerto mediante procedimientos de regeneración ósea guiada. **Material y Métodos:** En 24 cobayos fueron creados defectos de 5 mm en cada parietal (n=48), se realizó Regeneración Ósea Guiada (ROG) conformando dos grupos de estudio: xenoinjerto más membrana colágena y únicamente membrana colágena; se valoró la formación ósea a 15, 30 y 60 días más la estabilidad de la membrana. Al finalizar cada tiempo de estudio, las muestras fueron descalcificadas y preparadas para tinción con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson. De un microscopio óptico con aumentos a 2X y 4X fueron obtenidas imágenes para análisis histológico e histométrico; mediante el programa ImageJ se determinó los porcentajes de neoformación ósea. En el análisis estadístico el Test de Mann Whitney fue aplicado para comparación entre grupos considerando una significancia < 0.05. **Resultados:** los grupos tratados solo con membrana colágena presentaron estadísticamente una mayor formación ósea en todos los tiempos de estudio (p < 0.005), sin embargo, hacia el centro del defecto se observó colapsos de la membrana que no fueron observados en el grupo tratado con xenoinjerto donde se conservó el volumen del defecto. **Conclusión:** El xenoinjerto formó menor porcentaje de hueso nuevo que cuando se usó membrana de colágeno sola, sin embargo, fue más eficiente para dar soporte a la membrana que los defectos vacíos.

ABSTRACT

Between bone substitutes, xenograft is the most widely used biomaterial in Guided Bone Regeneration, which function is to support the membrane. **Objective:** to evaluate in vivo bone formation in calvarial defects in guinea pigs, when a collagen membrane or collagen membrane plus xenograft is used through guided bone regeneration procedures. **Material and Methods:** In 24 guinea pigs, 5-mm defects were created in each parietal (n=48), guided bone regeneration (GRO) was performed, forming two study groups: xenograft plus collagenous membrane and only collagenous membrane; bone formation was assessed at 15, 30 and 60 days plus membrane stability. At the end of each study, the samples were decalcified and prepared for staining with hematoxylin-eosin and Masson's trichrome. Images were obtained from an optical microscope with 2X and 4X magnification for histological and histometric analysis; The percentages of new bone formation were determined using the ImageJ program. In the statistical analysis, the Mann Whitney Test was applied for comparison between groups considering a significance < 0.05. **Results:** the groups treated only with collagenous membrane statistically presented greater bone formation at all study times (p < 0.005), however, the center of the membrane defect observed collapses that were not observed in the treated group with xenograft where the volume of the defect was preserved. **Conclusion:** The xenograft formed a lower percentage of new bone than when collagen membrane alone was used, however, it was more efficient in supporting the membrane than empty defects.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la regeneración ósea guiada (ROG) ha demostrado que es un tratamiento exitoso para recuperar pérdidas óseas verticales del reborde alveolar y regenerar defectos causados por varios factores o patologías¹⁻². El procedimiento consiste en el uso de barreras, conocidas como membranas oclusivas, que pueden ser reabsorbibles o no reabsorbibles y poseer más o menos características que ayuden al proceso de neoformación ósea, como biocompatibilidad, integración al tejido, oclusividad celular, mantenimiento del espacio, estabilidad, facilidad de uso y biodegradación³⁻⁶.

La función principal de la membrana oclusiva es mantener el defecto aislado de células y tejido no osteogénico, además de estimular o permitir la llegada y alojamiento de osteoblastos y otros factores estimulantes de la regeneración en la zona del defecto. En comparación a la membranas no reabsorbibles, las membranas de colágeno cumplen con criterios que aseguran

una adecuada regeneración ósea al permitir un mejor sellado del defecto, tener una fácil manipulación y poseer una estructura que en su parte exterior impide el alojamiento de células y tejido no osteogénico y estimula la llegada de células osteogénicas⁷⁻¹⁰.

Sin embargo, una limitación de las membranas de colágeno es que pueden sufrir colapsos en defectos grandes por su pobre resistencia mecánica, al tener un espacio vacío o con un coágulo inestable. Por esta razón, es necesario la aplicación de un andamio que brinde el soporte a la membrana para que durante el proceso de regeneración ósea no se deforme o colapse, este andamio es obtenido cuando se aplica un sustituto óseo^{8,11}.

Los sustitutos óseos al igual que las membranas pueden ser de varios tipos, tomando en cuenta su origen son autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos o aloplastos. El "gold estándar" en ROG son los autoinjertos, pero su uso es limitado por la necesidad de un segundo procedimiento quirúrgico o una pobre cantidad que se obtiene de injerto; por esta razón, es necesario utilizar sustitutos de otras fuentes, que proveen una cantidad ilimitada de biomaterial, siendo los xenoinjertos los más utilizados tanto por la fácil manipulación y características como biocompatibilidad, biodegradabilidad, osteoconductividad, propiedades mecánicas similares al tejido óseo¹²⁻¹⁵.

Los xenoinjertos pueden tener distinto origen (porcino, equino o bovino por ej.), los gránulos de hidroxiapatita porcina poseen un tamaño adecuado para que el tiempo de absorción sea adecuado y permita regenerar el defecto óseo y a su vez mantener estructuralmente la membrana en la superficie del defecto cumpliendo la función de andamio¹⁶⁻²⁰. La evidencia científica demuestra que la combinación de un sustituto óseo y una membrana parece la mejor opción para regeneración ósea^{8,21,2}.

En estudios preclínicos son recomendables el uso de modelos animales, teniendo en consideración el tipo de modelo que se use, el tamaño, disponibilidad de los animales y homogeneidad con las condiciones humanas, costo, facilidad de manejo, características cruciales que nos permitan someter a los animales a procedimientos experimentales, siendo de uso frecuente roedores pequeños²², que presentan cierta diferencia en relación con la fisiología y estructura ósea con la humana; pero pese a estas desventajas es un modelo animal que permite realizar estudios preclínicos en relación con la regeneración ósea. Los cobayos, poseen un patrón de cre-

cimiento óseo similar al humano y han sido usados en estudios relacionados con patologías óseas^{23,24}.

La hipótesis nula con la que se trabajó esta investigación fue: No existe diferencia en la regeneración ósea guiada cuando se utiliza membrana de colágeno solamente o bien, membrana de colágeno más xenoinjerto.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación contó con el Aval Ético de la Universidad Central del Ecuador, para uso de animales en investigación-CAE-An-001; registrado en la Dirección de Investigación con el código 21E-2020.

Para el estudio preclínico se utilizó 24 cobayos adultos machos con similar edad (3-4 meses) y peso (+/- 1 Kg). Los animales durante quince días fueron progresivamente adaptados a 90g de alimentación balanceada y agua ad-libitum. Manteniendo los principios bioéticos de protección animal y cumpliendo los principios de las 3 "R"s (Reemplazo, Reducción y Refinamiento), se realizó dos defectos en cada animal (n=48) reduciendo así el número de especímenes y se contó con un protocolo estandarizado bajo los principios de bioética, cuidado y uso de animales en investigación.

La muestra consistió en 48 defectos circunferenciales realizados en cada parietal, que aleatoriamente fueron tratados con membrana colágena de origen porcino (GRUPO MC n=24) y con xenoinjerto porcino más membrana colágena de origen porcino (GRUPO MC-XI n=24); a su vez se valoraron 3 tiempos de estudio: 15, 30 y 60 días.

Fase quirúrgica:

Previo al procedimiento quirúrgico el animal fue anestesiado con dosis en relación al peso (Xilacina- Ketamina 1:1 IM - 0,85 ml/Kg), más administración analgésica preoperatoria (Meloxicam fco 10 ml - 0.15%). A continuación, el área quirúrgica de la calota fue rasurada y desinfectada con solución de clorhexidina 0,12%.

En cada animal se realizó incisiones de aproximadamente 3 cm a nivel sagital desde la sutura frontal hasta la occipital, se levantó un colgajo de espesor total y se creó con una trefina bajo irrigación constante dos defectos de espesor total de 5 mm a cada lado de la sutura sagital.

Un defecto fue tratado con Xenoinjerto porcino (OsteoBiol - mp3, Italia) más membrana colágena porcina (Geistlich Bio-Gide®) y el otro únicamente tratado con membrana

colágena porcina (Geistlich Bio-Gide®) (Figura 1). El cierre de la herida se realizó con sutura Nylon 4-0. En el postoperatorio, los animales fueron monitoreados y evaluados por 4 horas.

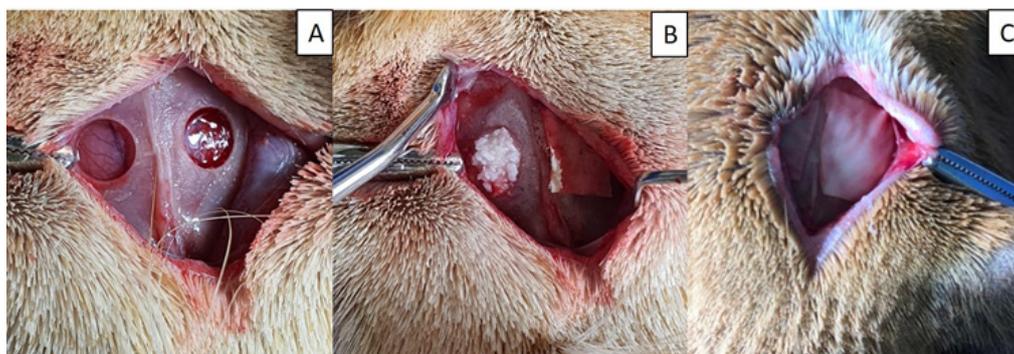


Figura 1. A: defectos biparietales, B: ROG tratamientos sustituto óseo + membrana y solo membrana colágena. C: cobertura con la barrera en los dos defectos.

Fuente: Base de datos de la investigación.

Completados los tiempos de estudio (15, 30 y 60 días), los animales fueron sedados con Ketamina/xilacina 0,40ml/Kg [KET-A-XYL®, ketamina (clorhidrato) 100 mg, xilacina (clorhidrato) 20 mg, atropina sulfato (monohidrato) 1 mg, excipientes c.s.p. 1 ml] y luego sacrificados con inyección intracardíaca 0,30ml/Kg (EUTHANEX®, pentobarbital sódico 390mg/ml, Difenilhidantoina sódica 50 mg/ml).

Obtención de muestras:

Las muestras fueron obtenidas por osteotomía, inmediatamente se fijaron en formaldehído al 10% con tampón fosfato por 24 horas, posteriormente se sometieron a un proceso de descalcificación entre 4 a 6 días en ácido clorhídrico más formaldehído (OSTEMOLL, Merck KGaA, Alemania), luego parafinadas y procesadas con cortes de 5 µm en micrótopo (Microm HM-360, Alemania). A continuación, se realizó el protocolo de tinción con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson. Cada placa fue observada en un microscopio luz (Olympus BX53 – Japón), equipado con cámara para captura de imagen (Olympus DP73 – Japón) y software de procesamiento de imágenes CellSens (Olympus – Japón), se obtuvieron las imágenes de los cortes en aumento de 2X, 4X para el análisis histológico e histométrico.

Las imágenes obtenidas fueron observadas histológicamente para comprobar la estabilidad de la membrana; mientras que para determinar la formación ósea se utilizó el programa ImageJ (National Institutes of Health-USA, Bethesda, MD); para el análisis se tomó en cuenta la totalidad del defecto (2X) y el centro del defecto (4X), determinando el

porcentaje de hueso nuevo formado. Se elaboró una tabla de EXEL (Microsoft®) a partir de lo cual se realizó la estadística descriptiva, prueba de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk y el análisis estadístico o interferencial con pruebas no paramétricas comparando entre grupos en cada tiempo de estudio con la prueba de U Mann Whitney considerando una significancia del 95% ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Análisis histológico:

Defectos tratados con Membrana Colágena (MC): En cada tiempo de estudio se observó progresivamente una mayor formación de hueso, siendo mayor a los 60 días. Fue común el cierre del defecto desde los bordes hacia el centro y siempre mayor la cantidad de nuevo hueso hacia la duramadre. Se pudo reconocer la presencia de la membrana en la parte superior del corte histológico en los tres tiempos de estudio.

En la tinción HE, a los 15,30 y 60 días el patrón estableció el colapso de la membrana en la parte central, este colapso fue característico de este grupo ya que al no presentar andamio que le brinde soporte tendía a deprimirse, cabe recalcar que a pesar de estas depresiones se ha podido encontrar zonas de neoformación ósea, esta regeneración ósea es mayor en zonas proximales a los bordes del defecto y siendo menor en la zona central del mismo. Con la coloración del tricrómico de Masson se pudo confirmar los patrones de formación ósea mencionados (Figura 2, 3).

Defectos tratados con Xenoinjerto más Membrana Colágena (MC-XI): de forma similar al grupo control, se observó mayor forma-

ción ósea en los bordes y hacia la duramadre. La membrana estuvo presente en todos los tiempos de estudio y fue evidente la presencia de los granos de Xenoinjerto distribuidos de manera homogénea en toda el área del defecto. En este grupo la formación ósea fue desarrollada alrededor de los granos del Xenoinjerto, siendo progresivamente mayor cuando aumentó el tiempo de estudio.

El patrón general determinó que la membrana se mantuvo estable, conservando el área del defecto, debido a que el sustituto

óseo brindó la estabilidad necesaria para evitar el colapso en el transcurso del tratamiento de ROG. Debido a la presencia de los granos de Xenoinjerto la neoformación ósea en este grupo fue menor; la hidroxiapatita del xenoinjerto al ser de lenta reabsorción impidió la rápida ocupación del defecto con neoformación ósea. En la coloración con tricrómico de Masson se pudo observar la disposición de las fibras de colágeno alrededor de los gránulos de xenoinjerto (Figura 2, 3).

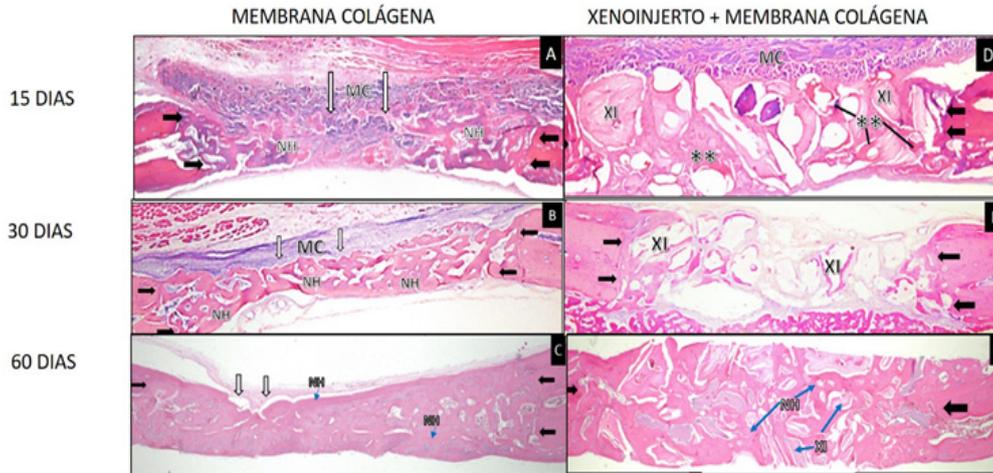


Figura 2. Cortes histológicos con tinción HE: grupos tratados con membrana colágena en A se observa los bordes del parietal con formación de nuevo hueso hacia el centro del defecto (flechas negras), en todos los tiempos de estudio en borde superior se encuentra la membrana colágena (MC) con evidencia de colapso hacia el defecto (flechas blancas); en B y C se identifica formación de nuevo hueso (NH) en toda el área. En los grupos tratados con xenoinjerto + membrana colágena: en D grupo 15 días se observa formación de nuevo hueso a nivel de bordes de parietal (flechas negras), presencia de gránulos de xenoinjerto (XI) de tamaño heterogéneo entre 600 y 1000 μm ocupando gran área del defecto, membrana colágena (MC) posicionada sin colapso, se evidencia formación de nuevo hueso alrededor de los gránulos de xenoinjerto (**), en E y F correspondiente a 30 y 60 días, mayor formación de nuevo hueso alrededor del xenoinjerto que permanece en el defecto con conservación del volumen. Objetivo 2X.

Fuente: Base de datos de la investigación.

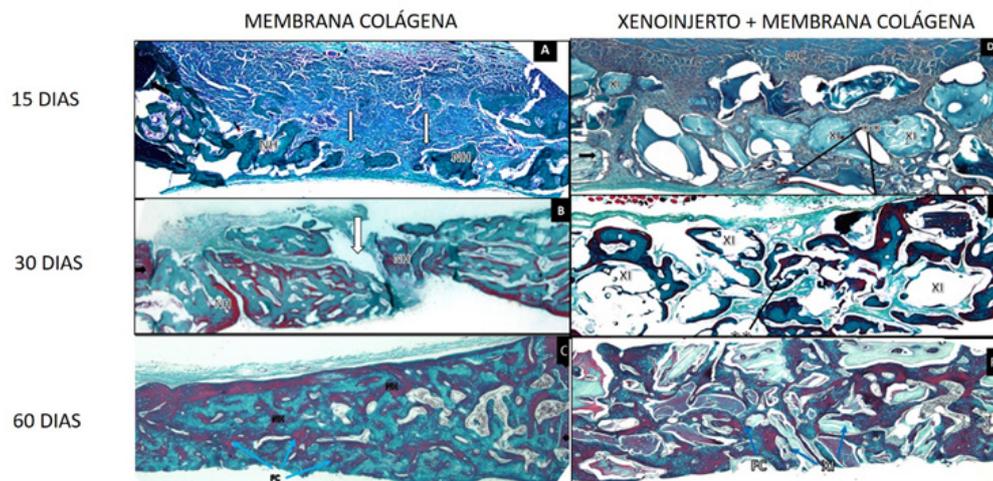


Figura 3. Cortes histológicos con tinción Tricrómico de Masson: en A y D en los dos tipos de tratamiento en 15 días se observa fibras colágenas desorganizadas correspondientes a formación de hueso primario siendo en menor cantidad en el tratado con xenoinjerto cuya formación se encuentra alrededor de los gránulos del sustituto óseo (**), en B y E se observa mayor organización de fibras colágenas correspondientes a nuevo hueso (NH) en el grupo de xenoinjerto siguiendo el patrón de formación alrededor del sustituto, en 60 días C y F la tinción evidencia mayor formación de nuevo hueso, sin embargo en los grupos tratados con sustituto los gránulos ocupan gran parte de área manteniendo el volumen y la posición de la membrana. Objetivo 4X

Fuente: Base de datos de la investigación.

Los datos obtenidos de la tabla de Excel (Microsoft. USA) fueron analizados con el programa estadístico BioStat 5.3 (Instituto Butanta, Brasil), se sometieron a la estadística descriptiva donde se determinó que la formación ósea fue mayor conforme aumentó el tiempo de estudio (15, 30 y 60 días). También fue posible establecer que el promedio del grupo MC presentó mayor formación ósea en cada tiempo que el grupo MC-XI (Tabla 1: Estadística Descriptiva.).

Tabla 1. Estadística Descriptiva.

	MC-15	MC-30	MC-60	MC-XI-15	MC-XI-30	MC-XI-60
n =	8	8	8	8	8	8
Mediana	32.46	53.30	74.16	14.47	25.79	49.16
Desviación estándar	3.96	7.92	9.14	3.89	5.79	6.71
Desvío Intercuartil	6.31	3.65	8.50	4.77	8.53	6.03

Fuente: Base de datos de la investigación.

La prueba de normalidad mediante el test Shapiro-Wilk estableció una distribución heterogénea ($p > 0.05$), por lo que para determinar si la diferencia observada entre los grupos de estudio fue estadísticamente significativa se aplicó el test de Mann-Whitney con una significancia del 95% ($p < 0.05$).

La estadística inferencial determinó que en el grupo MC se formó mayor cantidad de hueso nuevo, que en el grupo MC-XI, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 2. Análisis inferencial. Prueba U Mann-Whitney.

U MANN-WHITNEY	MC-15	MC-XI-15	MC-30	MC-XI-30	MC-60	MC-XI-60
Mediana =	32.46	14.47	53.3	25.79	74.16	49.16
p-valor (bilateral) =	0.0008		0.0011		0.0023	

Fuente: Base de datos de la investigación.

DISCUSIÓN

El presente estudio, evaluó la formación ósea en defectos de calvaria de 5mm en cobayos, que fueron tratados con ROG aplicando solo membrana de colágeno o xenoinjerto más membrana de colágeno. El grupo MC mostró mayor y más rápida formación ósea que el grupo MC-XI; sin embargo, se observó depresión de la membrana principalmente sobre el área central del defecto cuando no hubo el soporte del sustituto óseo.

Para el procedimiento de regeneración ósea, se utilizó membranas de colágeno bovino como barrera para aislar el área de los defectos óseos y evitar que los tejidos no osteogénicos interfirieran con la regeneración ósea²⁵⁻²⁸. Sin embargo, debido al hecho de que estas membranas son biodegradables, tienen pobre resistencia mecánica y tienden a deprimirse, se valoró si existe una ventaja al usar un material de relleno para evitar el colapso de la membrana sin que se interfiera en la formación ósea. Las membranas de origen bovino y el xenoinjerto de origen porcino han demostrado un gran potencial en la regeneración de defectos óseos (29) (8).

Varios estudios, han confirmado que la hidroxiapatita bovina y porcina presentan una lenta reabsorción²⁹, pero, también se ha observado que esta característica permite un adecuado soporte a la membrana, que sin el relleno se deprimiría fácilmente^{30,31}. Este patrón de formación ósea alrededor de los granos ha confirmado las propiedades osteoconductoras de este material, y al igual que en estudios como el de Nannmark & Sennerby en el 2008, observamos en el presente estudio formación ósea alrededor de los gránulos por la presencia de osteonas^{32,33,19}.

Los resultados obtenidos permiten ratificar la efectividad y biocompatibilidad del xenoinjerto demostrada en procedimientos de ROG, otorgando estabilidad a la membrana de colágeno durante el tiempo de estudio³¹⁻³³.

En el grupo donde se usó únicamente membrana de colágeno, fue frecuente observar una depresión hacia el centro del defecto, disminuyendo el área de regeneración. Se ha descrito que un inconveniente importante de las membranas de colágeno es el potencial de perder la capacidad de mantenimiento del espacio en condiciones fisiológicas³⁴⁻³⁶, estas

membranas no resisten la presión que ejercen los tejidos durante la cicatrización lo que induce al colapso de la herida y por lo tanto al fracaso de la técnica. Es por esta razón que se aconseja su utilización en combinación con distintos tipos de injertos, con la intención de mantener dicho espacio como se ha demostrado en la presente investigación^{30,35,37}.

Los resultados que se obtuvieron al realizar el análisis histomorfométrico evidencian que existe mayor porcentaje de formación ósea en los defectos tratados únicamente con membrana de colágeno porcina que con el grupo de xenoinjerto más membrana colágena, esto puede deberse a que los granos de xenoinjerto al ser de lenta reabsorción están ocupando área del defecto que podría estar ocupada por hueso nuevo; como se observó en los grupos en que se utilizó únicamente membrana, que formaron hueso a nivel transversal de una manera satisfactoria, pero en los casos donde la membrana presentó colapso se dificultó la regeneración en el centro del defecto^{38,39,40}.

En los cortes histológicos obtenidos se observó que la regeneración ósea empieza a darse desde la periferia del defecto hacia el centro, de tal manera que se crea un tejido de granulación vascularizado como fue determinado por Dimitriou y cols. (2012), en una revisión de literatura que incluye revisiones bibliográficas y estudios experimentales⁴¹. Observamos en el modelo utilizado, que al existir en el hueso una zona trabecular, el patrón de formación ósea fue similar a lo que se observa en los maxilares.

El modelo que se utilizó para valorar la regeneración ósea fue el defecto crítico en el hueso parietal; un modelo muy utilizado para el estudio de la regeneración ósea, ya que es de fácil manejo, estable y tiene un mínimo de complicaciones⁴²; se considera un modelo ortotópico y se puede estandarizar el tamaño y el trauma⁴³. Además, la principal ventaja del defecto de 5.0 mm de diámetro es que permite la creación de dos defectos en la región de los huesos parietales, donde los sitios de control y experimentales podrían realizarse en el mismo animal de forma estandarizada sin involucrar la sutura sagital donde se sabe que hay células indiferenciadas⁴⁴.

El animal más utilizado para crear este tipo de defecto son las ratas Wistar, aunque hay evidencia de estudios en conejos⁴⁵ y específicamente cobayos ya que se afirma que este tipo de animales al ser de menor tamaño, fácil reproducción y poseer rápida cicatrización facilitan estudios biológicos, por tal razón

se han destinado al estudio de regeneración ósea^{46-48,8}; Pese a que existen investigaciones de ROG que emplean ratas en su gran mayoría, hay estudios que emplean también cobayos y conejos⁴⁹⁻⁵¹. Consideramos una limitación, la escasa evidencia en torno al tamaño del defecto en relación a estudios en cobayos; probablemente se deba realizar defectos más grandes que permitan ser considerados críticos cuando sean realizados en cobayos.

Para valorar la efectividad del xenoinjerto y la membrana, en este estudio se empleó defectos de 5 mm de diámetro en cada parietal, mostrando esto en literatura previa que hace mención a que es un diámetro viable para la valoración de ROG⁵²⁻⁵⁹; aunque de igual manera hay estudios (Maciel del 2017), en el que utiliza ratas para valorar la cicatrización del defecto crítico usando xenoinjerto más membrana porcina en el cual crea defectos de 8 mm en el centro de la calota, es decir un defecto por animal⁶⁰, en nuestra investigación con el fin de disminuir el número de muestras por aspectos éticos, se disminuyó el diámetro del defecto a 5mm y trabajar con 2 defectos por animal, uno en cada parietal.

Netto y Cols. (2013), trabajaron en defectos de 8 mm en calota de perros para comprobar la eficacia de la regeneración ósea utilizando matriz ósea bovina y hueso autógeno, en él se encontró neoformación ósea en la periferia del defecto junto con tejido conjuntivo, sin embargo que en nuestro estudio se manejaron distintos tiempos y diámetro del defecto; además de que a las 3 semanas existió limitada formación ósea en el centro del defecto junto con restos de material injertado, siendo características similares a los resultados de esta investigación en los tiempos de 15 y 30 días en el grupo de xenoinjerto más membrana de colágeno^{61,39}.

En el caso de la membrana de colágeno utilizada en este estudio, presenta características en sus superficies como: una estructura de doble capa, un lado liso y un lado rugoso; esto favorece a que en la parte superior que es lisa y condensada evita la filtración de tejido y células que impiden la regeneración ósea, mientras que la cara inferior que va expuesta al defecto es rugosa permitiendo la invasión celular^{62,20}. Otra característica importante de mencionar es que la regeneración ósea que permite la membrana depende de su porosidad y del diámetro de estos poros ya que estos facilitarían una neovascularización en la zona del defecto a regenerar^{41,6}.

El empleo de esta membrana oclusiva en tratamientos de ROG muestra ciertas venta-

jas como la de permitir una mejor regeneración ósea mixta (regeneración en anchura y altura)^{39,35}, característica que se ha podido observar en nuestro grupo tratado con xenoinjerto más membrana, el xenoinjerto actuando como un andamio para evitar la depresión de la membrana oclusiva de tal manera se tiene una regeneración ósea con altura adecuada la misma que se deberá comprobar con mayores tiempos de estudio, por otro lado, nuestro grupo de trabajo que empleó únicamente la membrana oclusiva, presenta ciertas depresiones en el centro del defecto ya que al no tener la presencia de los granos de xenoinjerto en el área del defecto, la membrana tiende a colapsar; lo que probablemente dificultara la regeneración ósea vertical en el defecto como ha sido descrito⁶³.

Por lo tanto, con los resultados obtenidos se puede ratificar la biocompatibilidad que poseen los materiales utilizados en procedimientos de regeneración ósea, además de la eficacia en regeneración, comprobando que los patrones de regeneración en estudios previos son los mismos que sigue nuestro es-

tudio, sin embargo es necesario realizar estudios con mayor tiempo de exposición para determinar junto con la cantidad de neoformación ósea, la calidad de la misma, y el patrón de reabsorción de los gránulos de xenoinjerto que es citado en la literatura como de lenta reabsorción^{38,2}.

CONCLUSIÓN

El xenoinjerto con membrana colágeno formó menor porcentaje de hueso nuevo que cuando se usó membrana de colágeno sola, sin embargo, fue más eficiente para dar soporte a la membrana que los defectos vacíos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Francisco Estrella Vázquez quien dio las facilidades para la obtención de las imágenes. Al Md.Vet. Javier Tingo quien asesoró y supervisó el manejo de los animales durante la fase experimental. Agradecemos también a la Dirección de Investigación y a la Facultad de Odontología por el apoyo a la ejecución de este proyecto de investigación.

REFERENCIAS

1. Ten Heggeler J, Slot D, Van der Weijden G. Effect of socket preservation therapies following tooth extraction in non molar regions in humans: a systematic review. *Clinical oral implants research*. 2011;22(8):779-88.
2. Naung NY, Shehata E, Van Sickels JE. Resorbable versus nonresorbable membranes: when and why? *Dental Clinics*. 2019;63(3):419-31.
3. Yang J-W, Park H-J, Yoo K-H, Chung K, Jung S, Oh H-K, et al. A comparison study between periosteum and resorbable collagen membrane on iliac block bone graft resorption in the rabbit calvarium. *Head & Face Medicine*. 2014;10(1):1-11.
4. Dung S-Z, Tu Y-K, Lu H-K. Soft tissue response to fenestration type defects in the gingiva treated with various barrier membranes for regeneration. *Journal of Dental Sciences*. 2014;9(2):136-43.
5. Caballé-Serrano J, Munar-Frau A, Ortiz-Puigpelat O, Soto-Penaloza D, Peñarrocha M, Hernández-Alfaro F. On the search of the ideal barrier membrane for guided bone regeneration. *Journal of Clinical and Experimental dentistry*. 2018;10(5):e477.
6. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *European journal of oral sciences*. 2017;125(5):315-37.
7. Blinstein B, Bojarskas S. Efficacy of autologous platelet rich fibrin in bone augmentation and bone regeneration at extraction socket. *Stomatologija*. 2018;20(4):111-8.
8. Príncipe-Delgado Y, Mallma-Medina A, Castro-Rodríguez Y. Efectividad del plasma rico en fibrina y membrana de colágeno en la regeneración ósea guiada. *Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral*. 2019;12(2):63-5.
9. Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Furuhashi A, Koyano K. Current barrier membranes: titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *Journal of prosthodontic research*. 2013;57(1):3-14.
10. Meyer M. Processing of collagen based biomaterials and the resulting materials properties. *Biomedical engineering online*. 2019;18(1):1-74.
11. Cdr AV, de Lima C. Tratamiento regenerativo de las lesiones de furcación, resultados y evidencia científica. *Revisión bibliográfica. Revista Dental de Chile*. 2015;106(2):9-14.
12. Gómez Arcila V, Benedetti Angulo G, Castellar Mendoza C, Fang Mercado L, Díaz Caballero A. Regeneración ósea guiada: nuevos avances en la terapéutica de los defectos óseos. *Revista cubana de estomatología*. 2014;51(2):187-94.
13. Sinjab K, Garaicoa-Pazmino C, Wang H-L. Decision making for management of periimplant diseases. *Implant dentistry*. 2018;27(3):276-81.

14. Cuozzo RC, Sartoretto SC, Resende RF, Alves ATN, Mavropoulos E, Prado da Silva MH, et al. Biological evaluation of zinc containing calcium alginate hydroxyapatite composite microspheres for bone regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020;108(6):2610-20.
15. Stumbras A, Kuliesius P, Januzis G, Juodzbaly G. Alveolar ridge preservation after tooth extraction using different bone graft materials and autologous platelet concentrates: a systematic review. *Journal of oral & maxillofacial research*. 2019;10(1).
16. Gutiérrez García AC. Enucleación quística periapical e intervención oroantral para remoción de quiste en seno maxilar así como regeneración tisular guiada.
17. Robert LJM. Aumento vertical de los sectores posteriores mandibulares atróficos con injertos Onlay: bloques intraorales vs. Regeneración ósea guiada. Revisión sistemática. 2022.
18. Cherrez VRH, Ortega JAG. Rehabilitación Integral en Odontología. *Dominio de las Ciencias*. 2019;5(1):713-21.
19. Artas G, Gul M, Acikan I, Kirtay M, Bozoglan A, Simsek S, et al. A comparison of different bone graft materials in peri-implant guided bone regeneration. *Brazilian Oral Research*. 2018;32.
20. Testori T, Weinstein T, Scutellà F, Wang HL, Zucchelli G. Implant placement in the esthetic area: criteria for positioning single and multiple implants. *Periodontology 2000*. 2018;77(1):176-96.
21. Sculean A, Nikolidakis D, Schwarz F. Regeneration of periodontal tissues: combinations of barrier membranes and grafting materials—biological foundation and preclinical evidence: a systematic review. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35:106-16.
22. Cardoso GBC, Chacon EL, Maia LRB, Zavaglia CAD, Cunha MRd. The Importance of Understanding Differences in a Critical Size Model: a Preliminary In Vivo Study Using Tibia and Parietal Bone to Evaluate the Reaction with Different Biomaterials. *Materials Research*. 2018;22.
23. da Silva Morais A, Oliveira JM, Reis RL. Small animal models. *Osteochondral Tissue Engineering*. 2018:423-39.
24. Sparks DS, Saifzadeh S, Savi FM, Dlaska CE, Berner A, Henkel J, et al. A preclinical large-animal model for the assessment of critical-size load-bearing bone defect reconstruction. *Nature Protocols*. 2020;15(3):877-924.
25. Jung RE, Kokovic V, Jurisic M, Yaman D, Subramani K, Weber FE. Guided bone regeneration with a synthetic biodegradable membrane: a comparative study in dogs. *Clinical oral implants research*. 2011;22(8):802-7.
26. Schlegel K, Donath K, Rupprecht S, Falk S, Zimmermann R, Felszeghy E, et al. De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials*. 2004;25(23):5387-93.
27. Aldazábal-Martínez C. REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA PARA IMPLANTES DENTALES. *Revista KIRU*. 2015;10(1).
28. Vargas J. Membranas de uso en regeneración ósea guiada. *Odontología Vital*. 2016(24):35-42.
29. Guirado JLC, López-Marí L, Ruiz AJO, Negri B, Zamora GP, Fernández PR, et al. Estimulación ósea mediante hueso colagenizado porcino y melatonina relacionado con implantes dentales de superficie rugosa: estudio experimental en perros beagle. *Gaceta dental: Industria y profesiones*. 2010(216):110-21.
30. Bernales DM, Caride F, Lewis A, Martin L. Membranas de colágeno polimerizado: consideraciones sobre su uso en técnicas de regeneración tisular y ósea guiadas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2004;23(2):65-74.
31. Alcázar-Aguilar OO, Aldazabal-Martínez C, Infantes-Vargas VJ, Gil-Cueva SL, Vásquez-Segura MD. Regeneración ósea post exodoncia por fractura dentaria de origen traumático. *Revista Peruana de Investigación en Salud*. 2022;6(1):49-53.
32. Nannmark U, Sennerby L. The bone tissue responses to prehydrated and collagenated cortico cancellous porcine bone grafts: a study in rabbit maxillary defects. *Clinical implant dentistry and related research*. 2008;10(4):264-70.
33. Scarano A, Lorusso F, Ravera L, Mortellaro C, Piattelli A. Bone regeneration in iliac crestal defects: An experimental study on sheep. *BioMed research international*. 2016;2016.
34. Zhang Y, Zhang X, Shi B, Miron R. Membranes for guided tissue and bone regeneration. *Annals of Oral & Maxillofacial Surgery*. 2013;1(1):10.
35. Ferrer Díaz P, Martín Ares M, Trapote Mateo S, Jiménez García J, Santiago Saracho JE, Manrique García C. Regeneración horizontal en sector anterosuperior con injerto en bloque vs particulado. *Cient dent (Ed impr)*. 2019:35-9.
36. Morales Navarro D, Vila Morales D. Regeneración ósea guiada en estomatología. *Revista Cubana de Estomatología*. 2016;53(1):67-83.
37. Chappuis V, Cavusoglu Y, Buser D, von Arx T. Lateral ridge augmentation using autogenous block grafts and guided bone regeneration: A 10 year prospective case series study. *Clinical implant dentistry and related research*. 2017;19(1):85-96.
38. Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2001;3(2):87-96.

39. Martínez Álvarez O, Barone A, Covani U, Fernández Ruíz A, Jiménez Guerra A, Monsalve Guil L, et al. Injertos óseos y biomateriales en implantología oral. *Avances en odontoestomatología*. 2018;34(3):111-9.
40. Benic GI, Thoma DS, Jung RE, Sanz-Martin I, Unger S, Cantalapiedra A, et al. Guided bone regeneration with particulate vs. block xenogenic bone substitutes: A pilot cone beam computed tomographic investigation. *Clinical Oral Implants Research*. 2017;28(11):e262-e70.
41. Dimitriou R, Mataliotakis GI, Calori GM, Giannoudis PV. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: current experimental and clinical evidence. *BMC medicine*. 2012;10(1):1-24.
42. Verna C, Bosch C, Dalstra M, Wikesjö UM, Trombelli L. Healing patterns in calvarial bone defects following guided bone regeneration in rats: A micro CT scan analysis. *Journal of clinical periodontology*. 2002;29(9):865-70.
43. Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regenerating materials. *The Journal of craniofacial surgery*. 1998;9(4):310-6.
44. Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG. Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nature protocols*. 2012;7(10):1918-29.
45. Emilov-Velev K, Clemente-de-Arriba C, Alobera-García M, Moreno-Sansalvador E, Campo-Loarte J. Regeneración ósea en animales de experimentación, mediante cemento de fosfato cálcico en combinación con factores de crecimiento plaquetarios y hormona de crecimiento humana. *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología*. 2015;59(3):200-10.
46. Donos N, Dereka X, Mardas N. Experimental models for guided bone regeneration in healthy and medically compromised conditions. *Periodontology 2000*. 2015;68(1):99-121.
47. Liebschner MA. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials*. 2004;25(9):1697-714.
48. Gomes P, Fernandes M. Rodent models in bone-related research: the relevance of calvarial defects in the assessment of bone regeneration strategies. *Laboratory animals*. 2011;45(1):14-24.
49. Calciolari E, Ravanetti F, Strange A, Mardas N, Bozec L, Cacchioli A, et al. Degradation pattern of a porcine collagen membrane in an in vivo model of guided bone regeneration. *Journal of periodontal research*. 2018;53(3):430-9.
50. Delgado Ruiz RA, Calvo Guirado JL, Romanos GE. Critical size defects for bone regeneration experiments in rabbit calvariae: systematic review and quality evaluation using ARRIVE guidelines. *Clinical Oral Implants Research*. 2015;26(8):915-30.
51. de Lima Taga ML, Granjeiro JM, Cestari TM, Taga R. Healing of critical-size cranial defects in guinea pigs using a bovine bone-derived resorbable membrane. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2008;23(3).
52. Hoffmann O. Animal models of bone disease and repair. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2014;13:1-2.
53. von Rechenberg B. Animal models in bone repair. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2014;13:23-7.
54. Li Y, Chen S-K, Li L, Qin L, Wang X-L, Lai Y-X. Bone defect animal models for testing efficacy of bone substitute biomaterials. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2015;3(3):95-104.
55. Peric M, Dumic-Cule I, Grcevic D, Matijasic M, Verbanac D, Paul R, et al. The rational use of animal models in the evaluation of novel bone regenerative therapies. *Bone*. 2015;70:73-86.
56. Toker H, Ozdemir H, Ozer H, Eren K. A comparative evaluation of the systemic and local alendronate treatment in synthetic bone graft: a histologic and histomorphometric study in a rat calvarial defect model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;114(5 Suppl):S146-52.
57. Ferreira LB, Bradaschia-Correa V, Moreira MM, Marques ND, Arana-Chavez VE. Evaluation of bone repair of critical size defects treated with simvastatin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres in rat calvaria. *J Biomater Appl*. 2015;29(7):965-76.
58. D'Aoust P, McCulloch CA, Tenenbaum HC, Lekic PC. Etidronate (HEBP) promotes osteoblast differentiation and wound closure in rat calvaria. *Cell Tissue Res*. 2000;302(3):353-63.
59. Camati PR, Giovanini AF, de Miranda Peixoto HE, Schuanka CM, Giacomel MC, de Araújo MR, et al. Immunoexpression of IGF1, IGF2, and osteopontin in craniofacial bone repair associated with autogenous grafting in rat models treated with alendronate sodium. *Clinical Oral Investigations*. 2017;21(5):1895-903.
60. Maciel J, Momesso GAC, Ramalho-Ferreira G, Consolaro RB, Perri de Carvalho PS, Faverani LP, et al. Bone healing evaluation in critical-size defects treated with xenogenous bone plus porcine collagen. *Implant dentistry*. 2017;26(2):296-302.
61. Chaves Netto HDdM, Olate S, Chaves MdGAM, Barbosa JRdA, Mazzone R. Análisis Histológico del Proceso de Reparación en Defectos Óseos: Reconocimiento de Defectos Críticos. *International Journal of Morphology*. 2009;27(4):1121-7.
62. Hutmacher D, Hürzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 1996;11(5).

63. Cha JK, Joo MJ, Yoon S, Lee JS, Choi SH, Jung UW. Sequential healing of onlay bone grafts using combining biomaterials with cross linked collagen in dogs. *Clinical oral implants research*. 2017;28(1):76-85.

COMO CITAR

Real López, B. E., Real López, D. A., Tupiza Vasconez, B. S., Zurita Solís, M. K., & Garrido-Cisneros, E. (2023). Regeneración ósea con xenoinjerto porcino en defectos en calvaria de guinea pigs. Estudio histológico e histométrico. *Revista Odontología*, 25(1), 50-59. <https://doi.org/10.29166/odontologia.vol25.n1.2023-e4387>