

Influencia de Diferentes Materiales de Relleno en Alvéolos Post Exodoncia de Ratas Ovariectomizadas (OVX)

Influence of Different Graft Materials on Post Extraction Sockets of Ovariectomized Rats (OVX)

Marcelo Parra^{1,2,3}; Ingrid Romero^{2,4}; Sergio Olate^{2,3,5}

PARRA, M.; ROMERO, I. & OLATE, S. Influencia de diferentes materiales de relleno en alvéolos post exodoncia de ratas ovariectomizadas (OVX). *Int. J. Morphol.*, 40(3):832-838, 2022.

RESUMEN: El objetivo del presente estudio fue establecer la influencia de diferentes materiales en el proceso de regeneración ósea de alveolos post exodoncia de ratas hembra adultas ovariectomizadas (OVX). Para ello, se utilizaron 40 ratas sprague dawley, divididas en grupo experimental (OVX) (n=20) y grupo control (Sin ovariectomía) (n=20). Todas las ratas del grupo experimental fueron sometidas a ovariectomía bilateral para simular un estado de osteoporosis inducida por déficit de estrógeno. Posterior a 12 semanas post OVX, las ratas de ambos grupos fueron divididas en 4 subgrupos, en los cuales fue extraído el primer molar superior derecho de cada rata. Posteriormente, las terapias realizadas en los alveolos post-exodoncia fueron: A: (N=5) Alveolo no relleno para ser utilizado como control negativo. B: (N=5) Aplicación de injerto bifásico (HA+BTCP). C: (N=5) Aplicación de PRF. D: Aplicación de una combinación de injerto bifásico + PRF. Luego de tres semanas se realizó la eutanasia de los animales y obtención de las muestras para los análisis respectivos. Todos los animales sobrevivieron al final del estudio sin ninguna complicación postoperatoria. Los resultados cuantitativos del área ósea interradicular del segundo molar superior, mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupo control y grupo OVX. Mientras que no se observaron diferencias en la descripción histológica ni en el análisis cuantitativo de fibras colágenas tipo I y III. Es posible concluir que el modelo de osteoporosis inducida por déficit de estrógeno modificaría también la microarquitectura ósea de la Maxila. No obstante, nuevos estudios son necesarios para continuar con el estudio de biomateriales para regeneración ósea en modelos de osteoporosis inducida.

PALABRAS CLAVE: Osteoporosis, Injerto óseo, Ovariectomía

INTRODUCTION

La preservación alveolar post exodoncia, es un procedimiento ampliamente utilizado y de gran utilidad al planificar la rehabilitación implanto asistida de zonas edéntulas, ya sea en maxila o mandíbula, para así evitar el colapso y reabsorción de las estructuras óseas. Para dicho fin, existe en la actualidad una amplia gama de materiales de relleno posibles de utilizar al interior de estos alveolos post exodoncia, siendo el “gold standard” el hueso autógeno o hueso del propio paciente. No obstante, éste posee ciertas desventajas, tales como la necesidad de un sitio donante del propio paciente, ya sea intraoral o extraoral, lo cual aumenta la morbilidad, específicamente del sitio donante (Restoy-

Lozano *et al.*, 2015), además de un aumento en los tiempos quirúrgicos, cantidad de cirugías, cantidad de hueso disponible a extraer (Restoy-Lozano *et al.*) entre otras.

Si bien el hueso autógeno es el “gold standard” debido a que es el único que posee las tres características ideales para la regeneración ósea, que son osteogénesis, osteoconducción y osteoinducción, (Restoy-Lozano *et al.*) no es la opción más favorable de utilizar en sujetos con alguna condición sistémica que provoque una baja calidad o densidad ósea, como por ejemplo la osteoporosis, la cual es una enfermedad generalizada del sistema esquelético carac-

¹ Departamento de Odontología Integral Adultos, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

² Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

³ Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos (CEMyQ), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

⁴ Departamento de Procesos Diagnósticos y Evaluación, Carrera de Nutrición, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile.

⁵ División de Cirugía Oral, Facial y Maxilofacial, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

terizada por la pérdida de masa ósea y por el deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, que compromete la resistencia ósea y que condiciona como consecuencia una mayor fragilidad ósea y una mayor susceptibilidad a las fracturas (Klibanski *et al.*, 2001). El hueso de pacientes con osteoporosis ha demostrado una respuesta celular ineficiente en el proceso de remodelación ósea, en las cuales la reabsorción predomina frente a la formación de hueso. (Chen *et al.*, 2018) Motivo por el cual no sería el material mas indicado a utilizar en estos pacientes.

Además del hueso autógeno, existen otras alternativas para ser utilizadas como materiales de relleno, tales como los aloinjertos, los cuales son hueso de la misma especie pero de distinto genotipo al del huésped, siendo su principal desventaja los procesos infecciosos que se han descritos en su utilización. (Deluiz *et al.*, 2016) Xenoinjertos o injertos provenientes de otra especie, principalmente bovino o porcino, presentando como principal desventaja el rechazo del injerto por parte del huésped y por ende fracaso en la técnica de injerto. (Bahammam, 2016) Así como también los injertos sintéticos o aloplásticos, los cuales se han desarrollado para evitar las complicaciones mencionadas anteriormente. Éstos materiales son principalmente osteoconductivos sin potencial osteoinductivo u osteogénico por sí solos siendo los más comunmente utilizados aquellos en base a Hidroxiapatita; Beta fosfato tricálcico (b-TCP) y fosfatos dicálcicos (Sheikh *et al.*, 2015). Sin embargo, estos tipos de injertos siguen teniendo una función principalmente osteoconductiva. Es por esto, que se ha trabajado en desarrollar coadyudantes en la regeneración ósea para potenciar los efectos de ciertos rellenos óseos, como los concentrados plaquetarios, siendo los más conocidos el PRP (“platelet-rich plasma”) Y el PRF (“platelet-rich fibrin”).

El PRF, es un concentrado plaquetario de segunda generación, obtenido a través de un protocolo específico de centrifugación de la propia sangre del sujeto. (Dohan *et al.*, 2006a) En el PRF es posible encontrar plaquetas, citoquinas y factores de crecimiento de continua liberación, atrapados en un gel de fibrina, como por ejemplo; Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF); Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGF- β), Factor de crecimiento Vascular Endotelial (VEGF) (Dohan *et al.*, 2006b) entre otros, los cuales se sabe que tienen un rol activo en el proceso de regeneración ósea y actuarían como osteoinductores en el proceso de regeneración ósea, al ser aplicados en defectos óseos. (Shi *et al.*, 2022)

La literatura científica es incipiente respecto a la combinación de PRF con materiales de relleno sintéticos, y si bien, algunos estudios han mostrado que la combinación de éstos lograría mejor regeneración ósea que aplicados de for-

ma separada (Parra *et al.*, 2018), la evidencia de su utilización en hueso de baja calidad como en pacientes con osteoporosis aun es limitada. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue establecer la influencia de diferentes materiales en el proceso de regeneración ósea de alveolos post extracción de ratas hembra adultas ovariectomizadas.

MATERIAL Y MÉTODO

Utilizamos 40 ratas hembra (*Ratus norvegicus*) Sprague Dawley de 12 semanas de desarrollo y aproximadamente 200-250 g, divididas en grupo experimental (Ovariectomizados) (n=20) y grupo control (Sin ovariectomía) (n=20). Los animales fueron obtenidos de manera aleatoria, ubicados en jaulas separadas con acceso libre a agua y comida (ad libitum), con temperatura ambiente de 20 ± 2 °C y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. Todos los procedimientos de manejo de los animales fueron llevados a cabo siguiendo las directrices establecidas en la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (2011), y aprobado por el Comité de Ética Científico de la Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. N° 004-19.

Ovariectomía. Todas las ratas del grupo experimental fueron sometidas a ovariectomía bilateral previo anestesia general con ketamina 80 mg/kg y xilacina 10 mg/kg. Posterior a la anestesia, fue rasurada la región cutánea del abdomen con una máquina eléctrica MOSER® y posteriormente aplicación de povidona yodada (MDK S.A.) en la zona de la incisión. Bajo un campo operatorio estéril, se realizó la incisión y acceso de la zona de interés. Posterior a la localización de los ovarios, éstos fueron clampeados con una pinza Kelly y se ligaron sus vasos para evitar hemorragias, para finalmente realizar la ovariectomía. A seguir, se realizó la sutura plano por plano con sutura reabsorbible, (ácido poliglicólico) 4.0 en las zonas más profundas, y seda 3.0 en la piel. Como control postoperatorio, se administró Flunixin meglumine: 1,1 mg /kg vía intramuscular cada 24 h por 3 a 4 días. El tiempo de espera post ovariectomía para generar un estado de osteopenia fue de 12 semanas.

Protocolo extracciones. A la 12ª semana del grupo experimental, las ratas fueron divididas aleatoriamente en 4 grupos y se extrajo el primer molar superior derecho de cada rata. Posteriormente, las terapias a realizar en el alvéolo post-exodoncia de los grupos control y experimental, fueron:

Grupo A: (N=5) Alvéolo post-extracción no relleno para ser utilizado como control negativo.

Grupo B: (N=5) Alvéolo post-extracción, relleno con injerto bifásico (HA+BTCP).

Grupo C: (N=5) Alvéolo post-extracción, con aplicación de PRF.

Grupo D: (N=5) Alvéolo post-extracción, con aplicación de una combinación de injerto bifásico + PRF.

Protocolo de preparación de PRF: Para preparar el PRF se utilizó el protocolo de Choukron (Dohan *et al.*, 2006a).

Todos los grupos fueron eutanasiados 3 semanas después de la intervención.

Obtención de las muestras. Luego de la fase experimental en ambos grupos, se realizó la eutanasia de los animales con sobredosis de Tiopental Sódico y obtuvieron las muestras para su posterior análisis.

En ambos grupos (experimental y control) y en todos sus subgrupos (A, B, C y D) se realizaron análisis histológicos e histomorfométricos, incluyendo un N de 5 animales en cada subgrupo.

Procesamiento y análisis histológico. Después de extraídas las muestras fueron fijadas en formalina tamponada al 10 % por 48 h. Luego, fueron descalcificadas en EDTA tamponada al 10 % por dos a tres meses, deshidratadas en una batería de alcoholes ascendentes e incluidos en Paraplast (Histosec® pastilles, Merck Millipore, Darmstadt, Alemania). Se realizaron cortes de 6 µm de grosor con disposición proximo-distal, en un micrótopo (Leica® RM2255, Wetzlar, Alemania). Los cortes fueron teñidos con Hematoxilina & Eosina para su análisis histológico. Todas las muestras fueron analizadas bajo microscopía de luz. El análisis descriptivo de las muestras fue realizado empleando microscopía de luz (Leica® DM750, Wetzlar, Alemania).

Cuantificación de fibras colágenas. Para la cuantificación de colágeno I y III en tejido óseo, los cortes histológicos fueron teñidos con Sirius Red F3BA 0,1 % p/v (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EE.UU.) durante 1 h en solución acuosa saturada de ácido pícrico (Merck, Darmstadt, Alemania). Posteriormente, fueron enjuagados en ácido clorhídrico 0,01 N (Merck, Darmstadt, Alemania) durante 2 min, lavados en agua destilada, teñidos con Hematoxilina de Harris (Merck, Darmstadt, Alemania) por 2 min, y lavados en agua corriente. Finalmente, los cortes fueron deshidratados en alcoholes ascendentes, aclarados en Xileno (Merck, Darmstadt, Alemania) y montados con Entellan® (Merck, Darmstadt, Alemania).

Examen histológico. El análisis descriptivo de las muestras fue realizado considerando los patrones de regeneración ósea, tales como: presencia de reacción inflamatoria y de tejido conectivo, estableciendo una relación con las dife-

rentes etapas de la reparación ósea. Se analizó la presencia o ausencia de focos necróticos y hemorrágicos y actividad osteoclástica y osteoblástica en la periferia del defecto, como en el centro del mismo, empleando microscopía de luz (Leica® DM750, Wetzlar, Alemania).

Análisis fenotípico en hueso maxilar. Para determinar la diferencias fenotípicas respecto a la calidad de tejido óseo de la maxila entre grupos control y ovariectomizado, se realizó un análisis de área de ocupación ósea interradicular, específicamente, BAFO (Bone Area Fraction Occupancy) en el hueso interradicular del segundo molar de cada rata, utilizando el software Image J (NIH, Bethesda, Maryland, USA.).

Análisis estadístico. Las diferencias en los datos cuantitativos fueron evaluadas a través del test de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene. Las diferencias entre los grupos fueron analizadas a través de ANOVA a una vía, seguido por la prueba Post Hoc de Tukey. $P < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo (IBM SPSS Statistics, Versión 21, IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.).

RESULTADOS

Análisis histológico. El análisis microscópico en los grupos control y experimental, no reveló la presencia de focos necróticos ni secuestros óseos. En el subgrupo sin rellenar y rellenado solamente con PRF se pudo apreciar remodelación ósea incipiente, con abundante cantidad de tejido conectivo (Figs. 1A y 1B) Mientras que, tanto en los alvéolos de los grupos rellenado con injerto bifásico, como injerto bifásico + PRF, fue posible apreciar fragmentos del injerto aún en remodelación, aparentemente sin diferencias entre ellos, respecto al grado de maduración del tejido óseo a las 3 semanas. (Figs. 1C y 1D)

Análisis fenotípico en maxila. Los resultados cuantitativos del área de hueso esponjoso en la zona interradicular del segundo molar superior (Fig. 2), mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupo experimental y grupo OVX, siendo el área de hueso significativamente menor en el grupo OVX comparada con el grupo control. ($p=0,001$).

Cuantificación de fibras colágenas. El análisis cuantitativo de fibras colágenas mediante luz polarizada, la cual diferencia entre fibras tipo I de un color más rojizo, y las fibras tipo III de coloración más verdosa (Figs. 3A y 3B) no mostró diferencias cuantitativas ya sea entre grupos control y OVX o entre tipos de material de relleno de los alveolos post exodoncia. (Figs. 4 y 5)

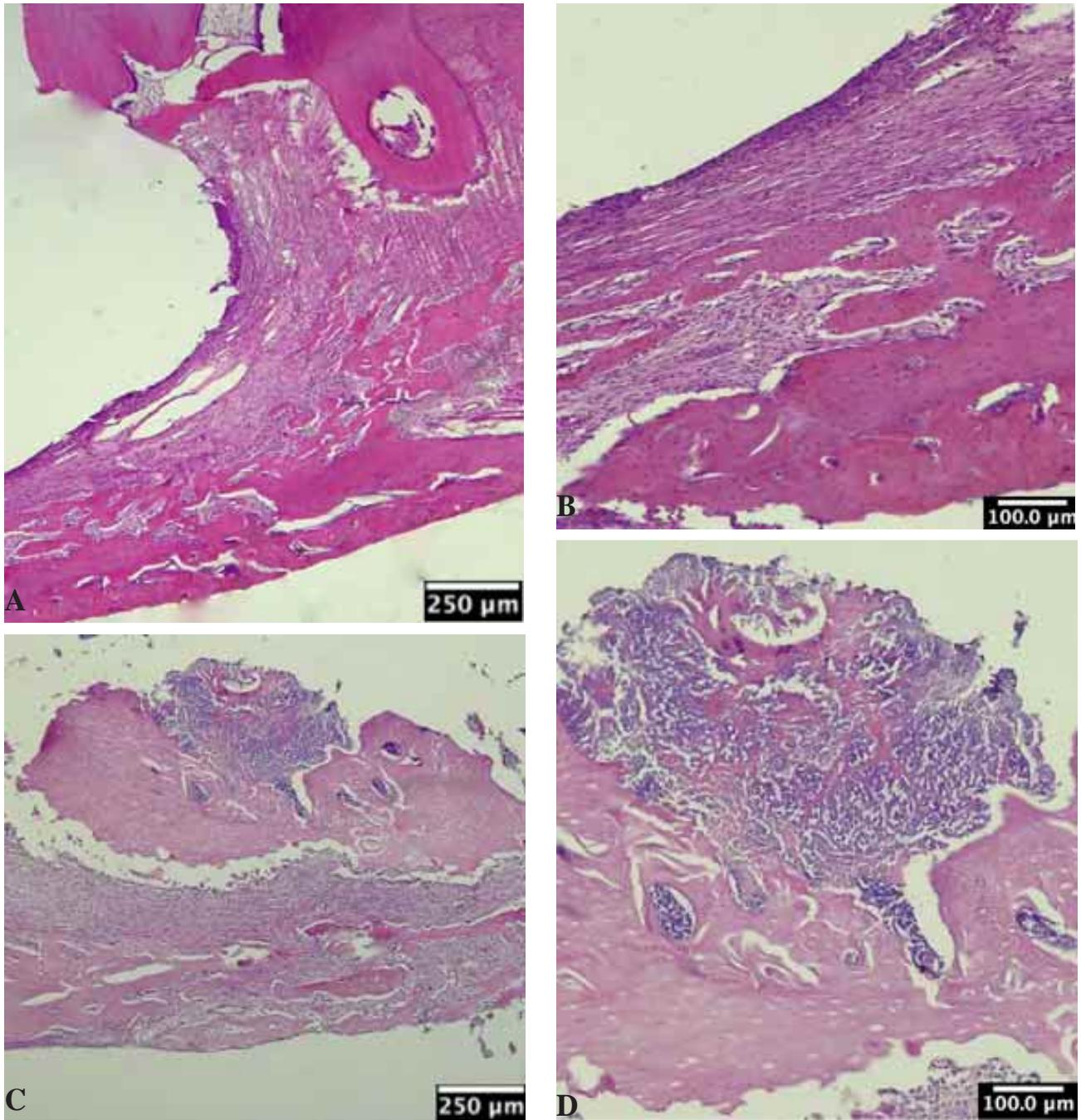


Fig. 1 A. Alvéolo Post-Exodoncia sin rellenar. Tinción H & E. 1 B. Alvéolo Post-Exodoncia sin rellenar. Tinción H & E. 1 C. Alvéolo Post-Exodoncia relleno con injerto bifásico. Tinción H & E. 1 D. Alvéolo Post-Exodoncia relleno con injerto bifásico. Tinción H & E.

DISCUSIÓN

El modelo de osteoporosis inducida por déficit de estrógeno ha sido validado previamente por Parra *et al.*, (2021) en un estudio realizado en ratas. Estos autores repor-

taron en la porción distal del fémur en el grupo OVX, una disminución considerable en el grosor de la cortical del hueso, siendo éste reemplazado por hueso esponjoso y pérdida

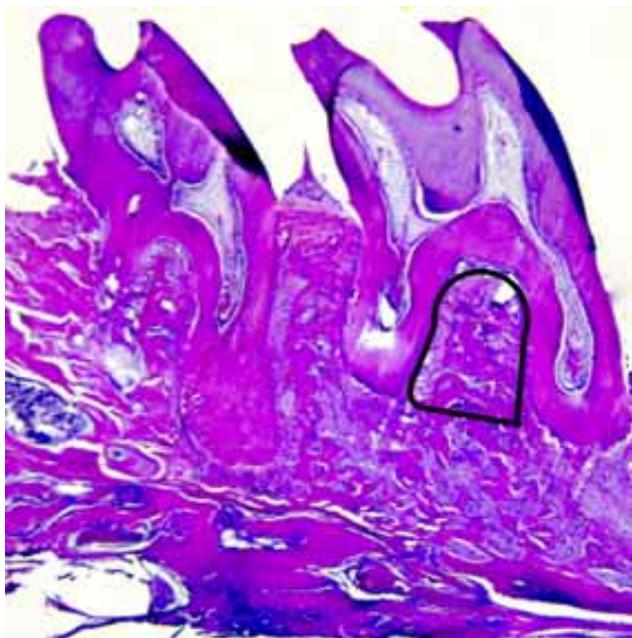


Fig. 2. Zona segundo molar superior derecho en cuya zona interradicular (Encerrado con negro) se realizó el análisis de BAFO (“Bone Area Fraction Occupancy”)

de la organización de los osteocitos. Mientras que en la médula ósea, observaron menor cantidad de tejido hematopoyético y mayor cantidad de tejido adiposo unicelular o blanco. Los resultados del presente estudio, indicarían que los efectos de la osteoporosis inducida mediante ovariectomía, no solamente afectaría a los huesos largos, si no también otro tipo de hueso tales como la maxila.

El modelo de extracciones dentarias en ratas es difícil de abordar, los molares de rata poseen raíces muy finas, la cuales recurrentemente se fracturan al momento de realizar la exodoncia, lo cual requiere de un abordaje quirúrgico más invasivo el intentar retirarlas del alveolo correspondiente. Existen reportes en la literatura en el cual han subsanado la complicación de las raíces que persisten al interior del alveolo realizando su eliminación con una fresa quirúrgica. (Egashira *et al.*, 2022) No obstante, realizar dicho proceso, elimina el ligamento periodontal remanente post extracción, el cual es de vital importancia para la regeneración alveolar, siendo esta una de las explicaciones que los autores del presente estudio dan al hecho de no haber encontrado diferencias significativas entre grupos.

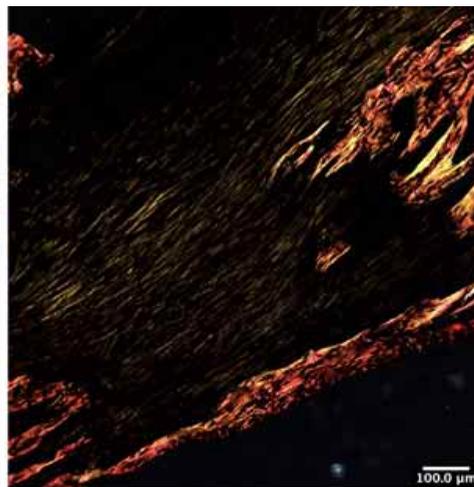
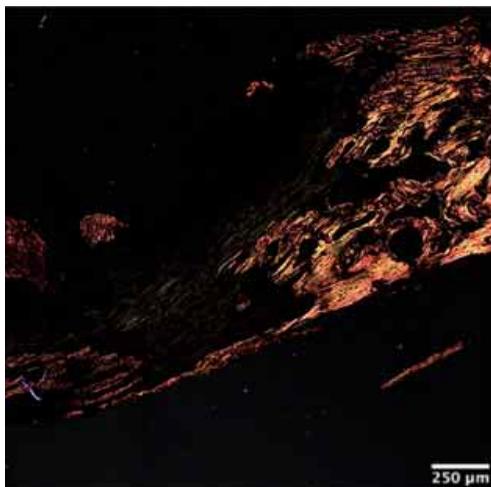


Fig. 3 A. Grupo control sin rellenar. Picosirius.

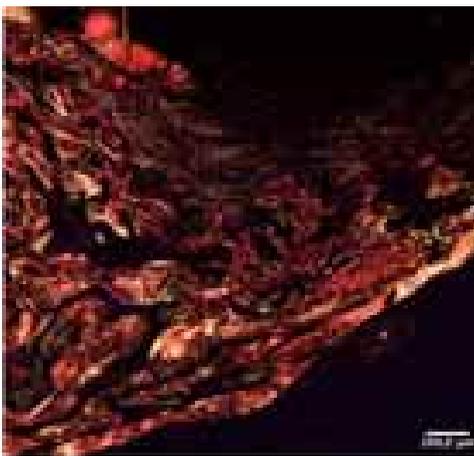
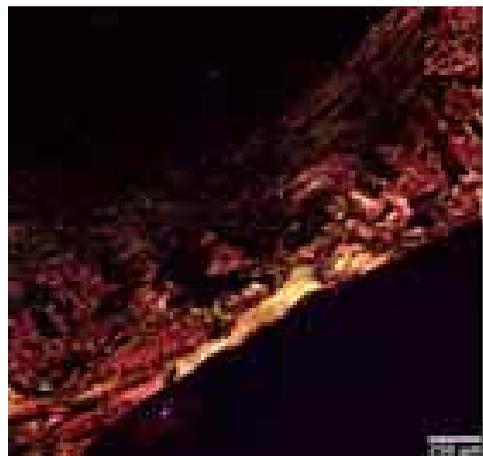


Fig. 3 B. Grupo experimental (OVX) sin rellenar. Picosirius.

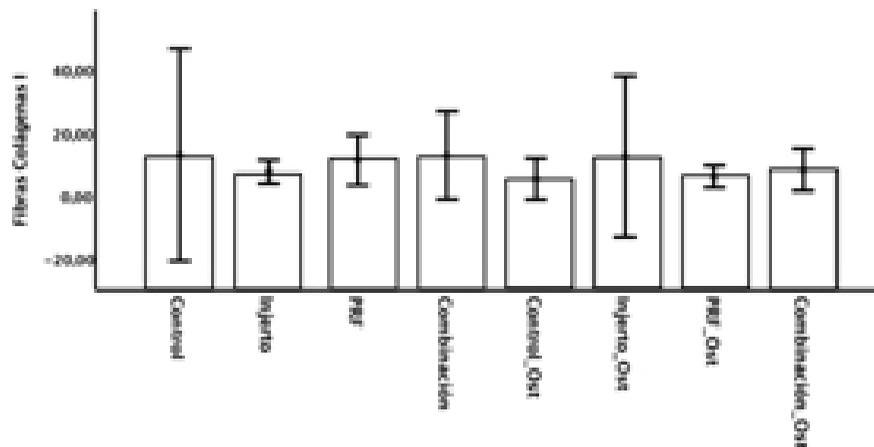


Fig. 4. Gráfica estadística fibras colágenas tipo I por Grupo (Control y OVX) y subgrupo (Tipo de relleno).

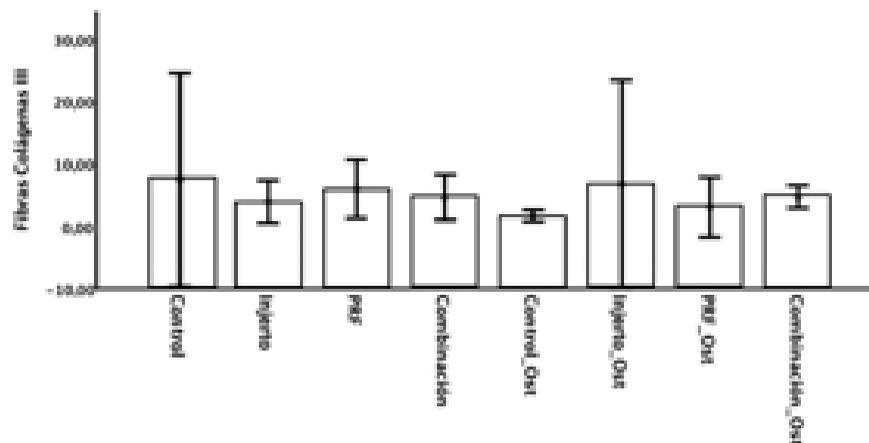


Fig. 5. Gráfica estadística fibras colágenas tipo I por Grupo (Control y OVX) y subgrupo (Tipo de relleno).

Si bien el presente estudio no mostró diferencias aparentes al aplicar el material de injerto solo o en combinación con PRF, si podemos ver que el PRF por si solo no logró diferenciarse de dejar el alveolo vacío, lo cual concuerda podría explicarse debido a que al ser un relleno solamente osteoinductor, sin características osteoconductoras por si mismo, no brindaría las condiciones necesarias para generar un proceso óptimo de regeneración ósea.

Estudios previos han mostrado diferencias entre materiales de relleno no solo mediante estudios histológicos, si no también mediante inmunohistoquímica y estudios moleculares. Al respecto, Bac'evic' *et al.*, (2019) en un estudio realizado en calota de conejos con diabetes inducida, utilizaron una combinación de un xenoinjerto con L-PRF, encontrando un aumento en los niveles de MMP-9, el cual está involucrado en el proceso de regeneración ósea al ser "gen target" para miR-21 (Darabi *et al.*, 2016). Mientras

que Kangwannarongkul *et al.*, (2018) en un estudio realizado en ratas, en el cual compararon aloinjertos con xenoinjertos reportaron que en ambos materiales de relleno, hubo un incremento en la expresión de Runx2, Fosfatasa Alcalina (ALP), Osteopontina (OPN) y Osteocalcina (OCN) Por lo tanto, análisis moleculares por ejemplo mediante cultivo celular de las muestras óseas extraídas y posterior análisis mediante qPCR, serían de gran utilidad para identificar diferencias entre materiales de relleno.

Si bien los resultados del presente estudio no muestran diferencias entre los distintos materiales de relleno, si permiten establecer que el modelo de osteoporosis inducida por déficit de estrógeno modificaría también a microarquitectura ósea de la Maxila. No obstante, nuevos estudios son necesarios para continuar con el estudio de biomateriales para regeneración ósea en modelos de osteoporosis inducida.

PARRA, M.; ROMERO, I. & OLATE, S. Influence of different graft materials on post extraction sockets of ovariectomized rats (OVX). *Int. J. Morphol.*, 40(3):832-838, 2022.

SUMMARY: The aim of the present study was to establish the influence of different materials on the process of bone regeneration in post-extraction sockets of ovariectomized (OVX) adult female rats. For this, 40 Sprague Dawley rats were used, divided into an experimental group (OVX) (n=20) and a control group (without ovariectomy) (n=20). All rats in the experimental group underwent bilateral ovariectomy to simulate a state of estrogen deficiency osteoporosis. After 12 weeks post OVX, rats from both groups were divided into 4 subgroups, in which the upper right first molar of each rat was extracted. Subsequently, the therapies performed in the post-extraction sockets were A: (N=5) Unfilled alveolus to be used as a negative control. B: (N=5) Biphasic graft application (HA+BTCP). C: (N=5) PRF application. D: Application of a combination of biphasic graft + PRF. After three weeks, the animals were euthanized, and the samples were obtained for the respective analyses. All animals survived to the end of the study without any postoperative complications. The quantitative results of the interradicular bone area of the upper second molar showed significant differences between the control group and the OVX group. While no differences were observed in the histological description or in the quantitative analysis of collagen fibers type I and III. It is possible to conclude that the model of osteoporosis induced by estrogen deficiency would modify the bone microarchitecture of the Maxilla. However, new studies are necessary to continue with the study of biomaterials for bone regeneration in models of induced osteoporosis.

KEY WORDS: Osteoporosis, Bone Graft, Ovariectomy.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bacevic, M.; Brkovic, B.; Lambert, F.; Djukic, L.; Petrovic, N. & Roganovic, J. Leukocyte- and platelet-rich fibrin as graft material improves microRNA-21 expression and decreases oxidative stress in the calvarial defects of diabetic rabbits. *Arch. Oral Biol.*, 102:231-7, 2019.
- Bahammam, M. A. Effectiveness of bovine-derived xenograft versus bioactive glass with periodontally accelerated osteogenic orthodontics in adults: a randomized, controlled clinical trial. *BMC Oral Health*, 16:126, 2016.
- Chen, C. H.; Wang, L.; Serdar Tulu, U.; Arioka, M.; Moghim, M. M.; Salmon, B.; Chen, C. T.; Hoffmann, W.; Gilgenbach, J.; Brunski, J. B. & Helms, J. A. An osteopenic/osteoporotic phenotype delays alveolar bone repair. *Bone*, 112:212-9, 2018.
- Darabi, F.; Aghaei, M.; Movahedian, A.; Pourmoghadas, A. & Sarrafzadegan, N. The role of serum levels of microRNA-21 and matrix metalloproteinase-9 in patients with acute coronary syndrome. *Mol. Cell Biochem.*, 422:51-60, 2016.
- Deluiz, D.; Oliveira, L.; Fletcher, P.; Pires, F. R.; Nunes, M. A. & Tinoco, E. M. Fresh-Frozen Bone Allografts in Maxillary Alveolar Augmentation: Analysis of Complications, Adverse Outcomes, and Implant Survival. *J. Periodontol.*, 87:1261-7, 2016.
- Dohan, D. M.; Choukroun, J.; Diss, A.; Dohan, S. L.; Dohan, A. J.; Mouhyi, J. & Gogly, B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 101:e37-44, 2006a.
- Dohan, D. M.; Choukroun, J.; Diss, A.; Dohan, S. L.; Dohan, A. J.; Mouhyi, J. & Gogly, B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 101:e45-50, 2006b.
- Egashira, Y.; Atsuta, I.; Narimatsu, I.; Zhang, X.; Takahashi, R.; Koyano, K. & Ayukawa, Y. Effect of carbonate apatite as a bone substitute on oral mucosal healing in a rat extraction socket: in vitro and in vivo analyses using carbonate apatite. *Int. J. Implant Dent.*, 8:11, 2022.
- Kangwannarongkul, T.; Subbalekha, K.; Vivatbutsi, P. & Suwanwela, J. Gene Expression and Microcomputed Tomography Analysis of Grafted Bone Using Deproteinized Bovine Bone and Freeze-Dried Human Bone. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 33:541-48, 2018.
- Klibanski, A.; Adams-Campbell, L.; Bassford, T. L.; Blair, S. N.; Boden, S. D.; Dickersin, K.; Gifford, D. R.; Glasse, L.; Goldring, S. R. & Hruska, K. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *J. Am. Med. Assoc.*, 285:785-95, 2001.
- Parra, M.; Haidar, Z. S.; & Olate, S. Utilización de PRF Asociado a Materiales de Relleno Sintéticos (HA y b-TCP) en Reconstrucciones Óseas. *Av. Odontoestomat.*, 34(2):79-86, 2018.
- Parra, M.; Romero, I. & Olate, S. Análisis descriptivo de un modelo de osteoporosis inducida en ratas (*Rattus norvegicus*). *Int. J. Morphol.*, 39(1):282-6, 2021.
- Restoy-Lozano, A.; Dominguez-Mompell, J. L.; Infante-Cossio, P.; Lara-Chao, J.; Espin-Galvez, F. & Lopez-Pizarro, V. Reconstruction of mandibular vertical defects for dental implants with autogenous bone block grafts using a tunnel approach: clinical study of 50 cases. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 44:1416-22, 2015.
- Sheikh, Z.; Najeeb, S.; Khurshid, Z.; Verma, V.; Rashid, H. & Glogauer, M. Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. *Materials (Basel)*, 8:5744-94, 2015.
- Shi, H.; Zhao, Z.; Jiang, W.; Zhu, P.; Zhou, N. & Huang, X. A Review Into the Insights of the Role of Endothelial Progenitor Cells on Bone Biology. *Front. Cell Dev. Biol.*, 10:878697, 2022.

Dirección de Correspondencia:

Prof. Sergio Olate
Universidad de La Frontera
Claro Solar 115
Temuco
CHILE

E-mail: sergio.olate@ufrontera.cl