

Ingeniería de tejido óseo en el complejo oro-dental y cráneo-maxilo-facial

Bone tissue engineering in the oro-dental and cranio-maxillo-facial complex

Ziyad S. Haidar^{1,2,3,4} Víctor Ravelo⁵ Sebastián E. Pérez¹

¹BioMAT'X I+D+I (HAiDAR LAB), Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

²Programa de Doctorado en BioMedicina, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

³Centro de Investigación e Innovación Biomédica (CiiB), Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

⁴Facultad de Odontología, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

⁵Grupo de Investigación de Pregrado en Odontología (GIPO), Universidad Autónoma de Chile, Temuco, Chile.

Correspondence

Prof. Dr. Ziyad S. Haidar
BioMAT'X R&D&I Research Group and Laboratory (HAiDAR LAB)
Centro de Investigación e Innovación Biomédica (CiiB)
Facultad de Medicina y Facultad de Odontología
Universidad de los Andes
Avenida Mons. Álvaro del Portillo 12.455 - Las Condes
Santiago
CHILE

E-mail: zhaidar@uandes.cl

Haidar ZS, Ravelo V, Pérez SE, Olate S. Ingeniería de tejido óseo en el complejo oro-dental y cráneo-maxilo-facial. *Craniofac Res.* 2022; 1(2):118-128.

RESUMEN: Según la Academia Estadounidense de Cirujanos Craneo-Maxilo-Faciales (AACMFS: American Academy of Cranio-Maxillo-Facial Surgeons, visitar: <https://aacmfs.org/>), la cirugía reconstructiva implica aquella cirugía que busca reconstruir, restaurar o devolver a la normalidad los tejidos duros y blandos de la región craneo-maxilo-facial que se han vuelto anormales, disfuncionales o deformado debido a un evento. Este evento puede ser provocado por un traumatismo, la resección de un tumor o el resultado de un proceso de enfermedad. La cirugía reconstructiva cráneo-maxilo-facial (incluida la buco-dental) devuelve casi a la normalidad aquellos tejidos y estructuras/partes corporales que antes estaban dentro del rango normal, antes del evento. Esto contrasta con la cirugía estética y cosmética, por ejemplo, que busca mejorar una apariencia facial o corporal ya normal (también realizada por algunos cirujanos cráneo-maxilo-faciales). Por lo tanto, la cirugía reconstructiva es una parte integral de la cirugía cráneo-maxilo-facial y abarca una amplia gama de procedimientos quirúrgicos intervencionistas. Aquí, para rehabilitar pacientes con defectos óseos de tamaño crítico, por ejemplo, se requieren reconstrucciones quirúrgicas. Sin embargo, las técnicas quirúrgicas no son suficientes. La reconstrucción ósea exitosa en la región oral y maxilo-facial, utilizando técnicas modernas de ingeniería de tejido óseo, es aplicable, pero requiere investigaciones futuras innovadoras que se centren en células, injertos, factores de crecimiento, vías de señalización y la mejora del defecto, así como la vascularización del injerto. Esta breve comunicación intenta proporcionar algunos conocimientos críticos, destacando los avances recientes, los desafíos y las oportunidades para la investigación, el desarrollo y la innovación en esta área impactante y en constante crecimiento (calidad de vida) con un enfoque en la ingeniería del tejido óseo cráneo-facial.

KEY WORDS: Células madres, ingeniería de tejidos, hidrogel, innovación, cirugía reconstructiva, PRP, L-PRF.

INTRODUCCIÓN

El hueso es un tejido altamente vascularizado con una propiedad intrínseca de auto-reparación, regeneración y remodelación. Tiene una excelente capacidad para curar lesiones traumáticas (por ejemplo, fracturas) sin formación de cicatrices. Sin embargo, todavía existen una serie de

escenarios clínicos en los que fallan sus capacidades de autor-reparación y regeneración. Solo en los EE. UU., más de medio millón de pacientes experimentan problemas debido a defectos óseos cada año, con un costo médico asociado con estos defectos de más de \$ 2.5 mil millones por

año y se espera que esta cifra se duplique en 2020. Aquí, los defectos óseos buco-dentales y cráneo-maxilo-faciales deben considerarse enfermedades causadas a menudo por deformidades congénitas, traumatismos, tumores, inflamación o enfermedad periodontal e incluyen principalmente defectos óseos alveolares, maxilares y mandibulares (Bangun *et al.*, 2021; Lin *et al.*, 2021). Un defecto de tamaño crítico se puede definir como el defecto que no sanará espontáneamente ni regenerará más del 10 % del hueso perdido durante la vida del paciente (Schmitz & Hollinger, 1986). Estos defectos óseos complejos también pueden deberse a causas sistémicas o locales. Asimismo, las condiciones sistémicas incluyen anomalías congénitas (Baxter & Shroff, 2011), enfermedades generales (Foster *et al.*, 2014) y medicamentos (Kuroshima *et al.*, 2019), mientras que las condiciones locales comprenden inflamación (Terashima & Takayanagi, 2019) o lesiones traumáticas, como accidentes (Chukwulebe & Hogrefe, 2019) o tratamientos dentales y quirúrgicos. Los tratamientos dentales, como la extracción de dientes (Araújo & Lindhe, 2005), y los tratamientos quirúrgicos, como la resección quirúrgica de neoplasias benignas o malignas (Rolski *et al.*, 2016), también pueden provocar defectos sustanciales en los huesos de la mandíbula. En resumen, el trasplante óseo, la tecnología de membranas de regeneración ósea guiada, la estimulación de la osteogénesis y la reparación protésica pueden considerarse como los principales métodos para la curación de defectos. Los procedimientos de injerto óseo se llevan a cabo para reconstruir, re-emplazar o aumentar un defecto óseo (Vorrasi & Kolokythas, 2017). En la clínica y en estos procedimientos quirúrgicos, los autoinjertos (hueso autólogo) todavía se consideran el “estándar de oro / Gold Standard” para el trasplante óseo debido a la combinación esencial de propiedades osteogénicas, osteo-inductoras y osteo-conductoras. Sin embargo, los autoinjertos tienen algunas desventajas, por ejemplo, morbilidad en el sitio donante y cantidad limitada de tejido de injerto. Además, el hueso autólogo no puede moldearse al azar, lo que afectará la recuperación y la apariencia de las funciones pronósticas. Además, la fuente es limitada y aún pueden ocurrir algunas complicaciones después del trasplante óseo autólogo. En algunos casos, los sustitutos óseos, como aloinjertos, xenoinjertos y aloplastos, se utilizan como alternativas para los injertos óseos autólogos, pero estos sustitutos óseos carecen de potencial osteogénico, osteo-inductivo y angiogénico

(Fernandez *et al.*, 2018). Recientemente, se han realizado muchos estudios relacionados con la curación de defectos óseos orales y maxilofaciales mediante el uso de tecnologías de ingeniería de tejidos óseos. Se estima que alrededor de 2,2 millones de procedimientos de injerto óseo se realizan anualmente en todo el mundo, con proyecciones de un aumento acumulado en los siguientes años.

Desafortunadamente, como se mencionó anteriormente, aún no se han desarrollado la técnica y el material ideales para la regeneración ósea. Sin embargo, los desarrollos recientes en la ingeniería de tejidos han dado lugar a nuevas y mejores opciones de tratamiento. En este documento, la ingeniería de tejidos todavía se puede considerar como una disciplina emergente que combina la ingeniería y las ciencias de la vida. Puede construir estructuras biológicas funcionales in vivo o in vitro para reemplazar tejidos u órganos nativos y minimizar la grave escasez de órganos de donantes durante la reconstrucción o el trasplante de tejidos y órganos. El trasplante de órganos ha logrado el éxito mediante el uso de corazón, hígado, riñón y otros órganos artificiales creados por ingeniería tisular, y la aparición de hueso diseñado por ingeniería tisular también proporciona un nuevo enfoque para la curación de defectos óseos humanos. En los últimos años, la tecnología de ingeniería de tejidos se ha convertido gradualmente en un método técnico importante para la investigación en odontología, y su aplicación en la investigación relacionada con la estomatología también ha obtenido logros impresionantes. De hecho, el hueso se regenera a través de eventos biológicos complejos y organizados de inducción y conducción ósea. Este proceso implica una serie de tipos de células (estromales mesenquimales) y vías de señalización molecular en una secuencia definida para maximizar la reparación y regeneración del tejido esquelético.

El principio básico de la ingeniería de tejidos es recolectar células relacionadas funcionalmente y plantarlas en un andamio natural o sintético con una determinada estructura espacial e inducir la proliferación celular mediante la influencia de factores de crecimiento, regenerando así tejidos u órganos. Este enfoque o estrategia puede denominarse ingeniería de tejido óseo celular. En este enfoque, se implanta un andamiaje con células madre/estromales mesenquimales (MSC) y/o células osteo-progenitoras de una fuente externa en el sitio del defecto óseo. Las células sembradas ex vivo en el andamio juegan un papel clave y orga-

nizan el mecanismo de formación de hueso en el sitio objetivo. Se han investigado múltiples técnicas, aplicando una variedad de fuentes de células madre y protocolos de procesamiento celular (Jazayeri *et al.*, 2017). Además, se utilizan diferentes tipos de andamios para transportar las células (Roseti *et al.*, 2017). El fundamento detrás de la aplicación de MSC y/o células osteo-progenitoras es su papel clave en la formación ósea. Los MSC derivados orales y dentales son abundantes para su uso acá.

Recuerde, la formación natural de hueso en el desarrollo pre-natal y pos-natal del área oral y maxilofacial se realiza intra-membranosamente (intra-membranous versus endocondral) mediante el reclutamiento de células mesenquimales de la médula ósea. Estas células experimentan diferenciación osteoblástica e inician la formación de hueso nuevo en el sitio del defecto. En otras palabras, este método tiene como objetivo inducir la regeneración ósea imitando los procesos biológicos que ocurren durante la embriogénesis (Langhans *et al.*, 2016; Perez *et al.*, 2018). El mecanismo por el cual las MSC promueven la regeneración ósea puede ser dirigido por el injerto de las células trasplantadas en el tejido recién regenerado, diferenciándose en osteoblastos que eventualmente secretarán osteoide e iniciarán la mineralización (Colter *et al.*, 2001; Andrades *et al.*, 2011; Kinoshita & Maeda, 2013). Además, las MSC pueden mejorar la regeneración ósea indirectamente por un efecto paracrino, es decir, la secreción de citoquinas y factores de crecimiento como el factor de necrosis transformante- α (TNF- α), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), la interleucina-1 (IL-1), e IL-6. Estos factores secretados, entre otros, pueden reclutar MSC residentes en el sitio regenerado (Gerstenfeld *et al.*, 2003; Kon *et al.*, 2011).

En la ingeniería de tejido óseo celular, las MSC se aplican utilizando dos enfoques diferentes. El primer enfoque es trasplantar directamente MSC y/o células osteo-progenitoras combinadas con un andamio (andamio externo) en el sitio del defecto óseo, que es una especie de ingeniería tisular *in situ* (Urban *et al.*, 2013; Meloni *et al.*, 2017). El hueso esponjoso particulado autógeno y la médula se utilizan como fuente de células osteo-progenitoras y MSC. En este enfoque, el andamio funciona como un marco (Yagihara *et al.*, 2013). El segundo enfoque es trasplantar MSC que están aisladas (generalmente del paciente), expandidas *ex vivo*, sembradas en andamios tri-dimensionales (3-D) adecuados (andamios internos) y proliferadas y/o pre-

diferenciadas en condiciones de cultivo controladas (Ohgushi *et al.*, 1996). Dicho injerto actúa como portador de las células y de la matriz, mientras que las células producen la matriz extra-celular necesaria para la formación ósea (spatio-temporal) (Janicki & Shmidmaier, 2011).

Un desafío importante en la ingeniería de tejidos óseos es la vascularización del injerto implantado. La supervivencia del injerto requiere una vascularización rápida y suficiente. Dado que la cantidad de oxígeno está limitada a una distancia de difusión de solo \sim 150-200 μ m desde un vaso sanguíneo de suministro, las células que se encuentran más allá de este límite fisiológico sufren hipoxia (Colton, 1995). En esta condición, las MSC no logran sobrevivir, ya que no son capaces de adaptar su consumo de glucosa y no poseen las reservas glucolíticas necesarias para mantener su metabolismo por más de 3 días (Moya *et al.*, 2018). Los nuevos conocimientos subrayan la importancia tanto del oxígeno como de los nutrientes necesarios para el metabolismo celular relacionado con la energía y, al final, la supervivencia celular. La regeneración de tejido de más de 200 μ m excede la capacidad de suministro de nutrientes y eliminación de desechos del tejido y, por lo tanto, requiere un suministro íntimo de redes vasculares (Colton, 1995). Por lo tanto, la neo-vascularización junto con un suministro eficiente de sangre son requisitos previos fundamentales, que deben ser considerados con énfasis para lograr una terapia eficaz.

Estudios en Ingeniería de Tejido Óseo en el Complejo Craneo-Maxilo-Facial

La reconstrucción de los defectos óseos (especialmente los defectos óseos de tamaño crítico) es difícil porque la supervivencia y el crecimiento del hueso requieren que los vasos sanguíneos internos y circundantes proporcionen oxígeno y nutrientes. Por lo tanto, la vascularización del hueso obtenido por ingeniería tisular es muy importante durante la reparación de defectos óseos orales y maxilofaciales. Shlund *et al.* (2019) reconstruyó con éxito grandes defectos mandibulares postraumáticos mediante el uso de aloinjertos humerales frescos congelados sembrados con aspirado de médula ósea autóloga y los vascularizó con un colgajo radial del antebrazo (Shlund *et al.*, 2019). Se puede afirmar que existen cuatro métodos principales para reconstruir el suministro de sangre de los huesos mediante ingeniería tisular: (1) usar factores de crecimiento para promover la

formación de nuevos vasos sanguíneos (Omorphos *et al.*, 2021); (2) cultivar células endoteliales vasculares como células semilla con el armazón para formar una unidad compleja y luego implantarlas in vivo para promover la angiogénesis (Hancock *et al.*, 2021); (3) combinar tecnología de micro-cirugía con ingeniería de tejido óseo para promover la formación de vasos sanguíneos (Vidal *et al.*, 2020); y (4) usar tecnología de ingeniería genética para promover la formación de vasos sanguíneos (Est-Witte *et al.*, 2020). Seleccionar el hueso de ingeniería tisular apropiado y construir un buen sistema de suministro de sangre acelerará la curación de los defectos óseos de tamaño crítico. Por ejemplo, Redondo *et al.* (2018) inoculó células madre mesenquimales de hueso alveolar en andamios BioMax preparados a partir de suero autólogo y trató defectos óseos quirúrgicos maxilares en condiciones GMP. Los resultados mostraron que los andamios de suero reticulado BioMax que contenían MSC osteogénicas diferenciadas obtuvieron un buen efecto durante la reparación de defectos maxilares. Luego, Zhang *et al.* (2020) construyó huesos de ingeniería tisular mediante el uso de moldes de impresión 3-D y sinterización a alta temperatura y produjo andamios de hidroxiapatita nanoporosa que pueden reparar de manera convincente defectos óseos in situ en perros experimentales. En otra manifestación, Khodakaram-Tafti *et al.* (2018) compararon los efectos de los andamios de pegamento de fibrina y los injertos óseos autólogos durante la curación de defectos mandibulares de conejo y encontraron que tienen efectos osteogénicos similares, por lo que el pegamento de fibrina puede ser un buen sustituto del injerto óseo y puede usarse para reconstruir defectos óseos maxilo-faciales. Recientemente, Soltani *et al.* (2020) creó un defecto maxilar para simular un modelo de hendidura alveolar humana. Un lado del defecto se rellenó con armazones de hidroxiapatita/b-fosfato tricálcico que contenían células madre mesenquimales del tejido adiposo subcutáneo de perros, y el otro lado se rellenó con injertos óseos autólogos extraídos de la tibia. Los resultados mostraron que ambos injertos tuvieron buenos efectos en la formación de hueso, por lo que la ingeniería de tejidos se puede utilizar como método alternativo para reconstruir defectos óseos (Soltani *et al.*, 2020). Se cree que con el apoyo de células osteogénicas, injertos y factores de crecimiento, se desarrollará cada vez más tejido óseo y los defectos óseos orales y maxilofaciales se repararán fácilmente; con alto cuidado.

Limitaciones y Oportunidades para la I+D+i

Como se mencionó anteriormente, los elementos básicos de la tecnología de ingeniería de tejidos son las células, los andamios y los factores de crecimiento. Los estudios relevantes actuales obtuvieron resultados de reconstrucción satisfactorios, sin embargo, aún existen algunas desventajas u obstáculos que limitan el desarrollo de la ingeniería de tejidos en la clínica. Si los investigadores, médicos y cirujanos pueden, juntos, comprender correctamente estas limitaciones de la ingeniería de tejidos, cerrando la brecha, en un enfoque multi-disciplinario, contribuirá a una mayor innovación, traducción y aplicación de los productos y será útil para resolver problemas durante la cicatrización de los tejidos defectuosos.

En la actualidad, las células utilizadas para la investigación de ingeniería de tejidos incluyen principalmente células xenogénicas, células alogénicas y células autólogas. Las células xenogénicas se extraen de tejidos corporales no humanos y pueden derivarse de animales como cerdos y perros, lo que significa que el uso de células xenogénicas puede provocar un rechazo inmunitario. Aunque algunos investigadores han superado este rechazo inmunológico (Mohiuddin *et al.*, 2014; Iwase *et al.*, 2015), la seguridad y los efectos terapéuticos a largo plazo de las células xenogénicas aún deben verificarse (Sun *et al.*, 2019). En comparación con las células xenogénicas, las células alogénicas pueden superar mejor el rechazo inmunitario (Goyer *et al.*, 2019), pero pueden tener otras desventajas. En los últimos años, la investigación sobre células alogénicas se ha centrado principalmente en células madre embrionarias humanas derivadas de (a) embriones abortados de forma natural o artificial y (b) embriones fertilizados in vitro. Sin embargo, la aplicación de embriones humanos se considera extremadamente cruel, inmoral e ilegal (no ético) en muchos países. Las células autólogas se toman de sus propios tejidos y tienen el potencial de regenerar varios tejidos y órganos. Las células autólogas, a diferencia de las células xenogénicas y alogénicas, no causarán rechazo inmunológico y no tendrán problemas éticos, pero su aplicación está restringida por su fuente limitada y los traumas causados durante la re-colección de células.

Por otro lado, y como se resumió anteriormente, los biomateriales naturales, los materiales de polímeros sintéticos o los andamios de hidrogel también tienen algunas li-

mitaciones. Debido a que la mayoría de los biomateriales naturales se derivan de animales y tienen una buena biocompatibilidad durante los experimentos *in vivo* e *in vitro*, el sistema inmunitario aún los juzga como cuerpos extraños no autólogos y los etiqueta y eventualmente pueden inducir respuestas inmunogénicas graves después de un uso a largo plazo (Gilmartin *et al.*, 2013). Además, también debemos prestar atención a la inestabilidad de estos biomateriales y la variabilidad de las estructuras moleculares entre diferentes lotes (Ige *et al.*, 2012). Los materiales poliméricos sintéticos generalmente exhiben poca afinidad celular en estudios previos (Zhao *et al.*, 2016). La principal desventaja de los andamios electro-spun es la complejidad del electro-spinning y la falta de un control definido, por lo que se necesitan datos más confiables de experimentos con animales para respaldar futuras aplicaciones prácticas (McClellan *et al.*, 2016). Rasperini *et al.* (2015) informó el primer caso humano en el que se utilizó un andamio de polímero bio-reabsorbible impreso en 3-D para tratar un defecto óseo periodontal; sin embargo, el andamio se expuso a los trece meses y se retiró a los catorce meses debido a una dehiscencia más grande y al fracaso de la cicatrización de la herida.

Cómo controlar la tasa de degradación de los andamios para que coincida con la velocidad de curación del defecto y cómo preparar injertos en capas que puedan guiar la regeneración tisular coordinada pueden ser las principales direcciones de los enfoques de mejora en el futuro. La nano-bio-tecnología y los sistemas de administración controlada de fármacos también pueden ayudar. Construir un complejo de ingeniería de tejidos rico en células vivas *in vitro* y luego implantarlo *in vivo* es el principal proceso de trasplante de tejidos u órganos modificados. Sin embargo, también tiene algunos riesgos potenciales para los receptores de tejidos u órganos implantados. Al cultivar el complejo diseñado *in vitro*, es necesario agregar suero bovino fetal, estreptomycin u otras sustancias que puedan promover el crecimiento celular, pero la mayoría de las sustancias no se derivan de los humanos, por lo que el complejo diseñado puede causar reacciones alérgicas después de la implantación *in vivo*. Por otro lado, los materiales poliméricos absorbibles y algunos otros tipos de materiales se seleccionan a menudo como materiales de injerto para soportar las células de siembra. Aunque la mayoría de estos materiales no muestran efectos tóxicos, la seguridad

a largo plazo y el rechazo inmunológico de estos materiales siguen siendo preocupaciones importantes para la aplicación clínica. Por ejemplo, las personas prefieren usar hueso alogénico como material de andamiaje, pero todavía tiene poca antigenicidad incluso cuando se trata a temperaturas extremadamente bajas. Por lo tanto, debemos considerar más a fondo la seguridad y la validez de los tejidos, modificados antes de que se apliquen en la clínica.

El arte y la ciencia de la reconstrucción oro-dental y cráneo-maxilo-facial también es de gran interés para los cirujanos orales y maxilofaciales contemporáneos; en busca de mejores estrategias de bioingeniería y biomateriales: un impulsor central para la investigación bio-dental, hoy. Entre ellos, los Concentrados de Plaquetas, extractos autólogos de sangre obtenidos por centrifugación de muestras de sangre entera, han ido cobrando especial interés. Aquí, el procedimiento de preparación permite la recolección y concentración de plaquetas y otros constituyentes terapéuticos de la sangre (fibrinógeno/fibrina, factores de crecimiento, leucocitos y células circulantes), en preparaciones clínicamente utilizables (adyuvantes quirúrgicos), que pueden mejorar, acelerar y promover la cicatrización y regeneración de heridas de tejidos (duros y blandos) (Dohan *et al.*, 2006a; Dohan *et al.*, 2009; Del Corso *et al.*, 2012). Sin embargo, y a pesar de las observaciones positivas clínicamente, hasta la fecha, su efectividad general sigue siendo objeto de debate. Esto se debe principalmente a: resultados clínicos mixtos/variables, literatura limitada de alta calidad basada en evidencia y caracterización deficiente de los productos finales (y protocolos de preparación) utilizados en los estudios. Básicamente, se pueden clasificar 4 sub-familias diferentes de concentrados de plaquetas, según sobre la variabilidad en el contenido biológico (fibrina y células), propiedades (gelificación) y posibles aplicaciones: plasma rico en plaquetas puro (P-PRP), plasma rico en plaquetas y leucocitos (L-PRP), fibrina rica en plaquetas pura (P-PRF) y fibrina rica en plaquetas y leucocitos (L-PRF) (Zumarán *et al.*, 2018). Hoy en día, se puede afirmar con seguridad que, en cirugía oral y maxilo-facial, la sub-familia L-PRF (Dohan *et al.*, 2006b; Bielecki *et al.*, 2012; Simonpieri *et al.*, 2012) está recibiendo la mayor atención, principalmente debido a la simplicidad, la facilidad de uso y la rentabilidad, en comparación con los demás PRPs.

Por ejemplo, en nuestro propio estudio observacional prospectivo piloto (Muñoz *et al.*, 2016) con una cohorte de

11 pacientes (con consentimiento informado firmado) que recibieron un procedimiento PAOO modificado de Wilcko (Periodontally Accelerated Osteogenic Orthodontics (Fig. 1): un procedimiento quirúrgico novedoso que permite movimiento dental más rápido mediante la combinación de fuerzas de ortodoncia con corticotomía e injerto de placas de hueso alveolar) técnica con L-PRF (incorporado al injerto y como membrana de cobertura) con lo cual se evidenció una cicatrización acelerada de la herida sin signos de infección ni reacciones adversas. Una vez concluida la cirugía, se monitoreó por 10 días el post-operatorio de los pacientes con el fin de registrar, posibles signos y síntomas del dolor, inflamación o infección, mientras que el tratamiento de ortodoncia general y la estabilidad posterior al tratamiento se siguieron hasta 2 años. En nuestros datos

análisis, se encontró que el dolor posquirúrgico era "leve" (45,5%) o "moderado" (54,5%); la inflamación posquirúrgica inmediata se registró como "leve" (89,9%) o "moderada" (9,1%); y la resolución se marcó para comenzar el día 4, donde la mayoría de los pacientes experimentaron inflamación "leve/mild" o "nula/no inflamación" (72,7 y 9,1%, respectivamente). Notablemente, resolución completa se logró en todos los pacientes el día 8, se calculó el tiempo promedio de tratamiento de ortodoncia a los 9,3 meses y todos los casos se mantuvieron estables en todo momento. Por lo tanto, concluimos que combinar L-PRF con injertos óseos tradicionales (tapón o bloque L-PRF) acelera la cicatrización de heridas y reduce el dolor pos-quirúrgico, la inflamación y la infección sin interferir con el movimiento dental y/o la estabilidad pos-ortodóncica, durante un perio-

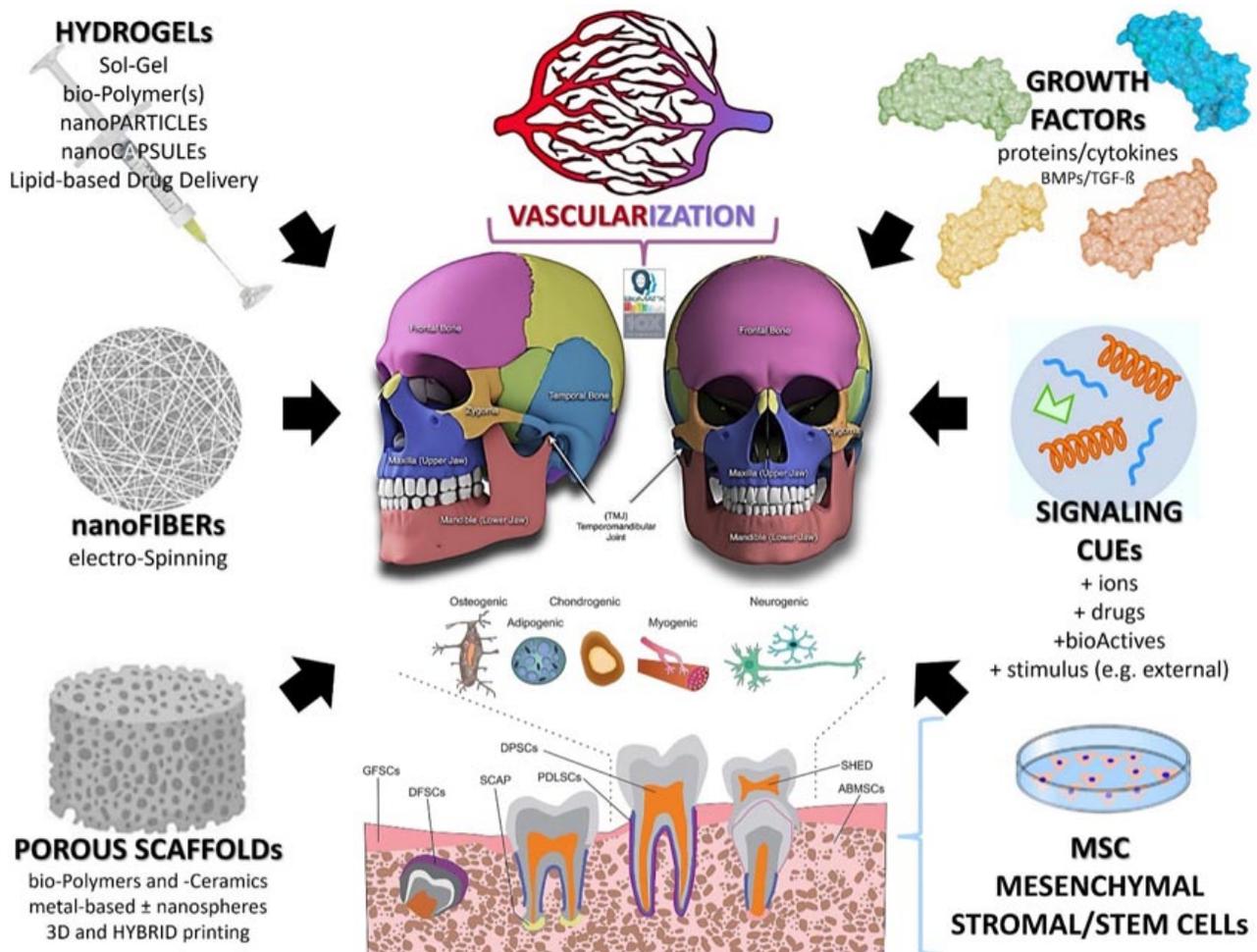


Fig. 1. Procedimiento quirúrgico con técnica L-PRF para movimientos dentales rápidos mediante corticotomía e injerto de placas de hueso alveolar.

do de observación prolongado de 2 años; de este modo aliviando la necesidad de analgésicos comunes y medicamentos anti-inflamatorios (Muñoz *et al.*, 2016).

En una revisión reciente (Damsaz *et al.*, 2020) basada en la evidencia sobre la eficacia clínica de la fibrina rica en plaquetas y leucocitos, particularmente en los procedimientos de elevación del piso del seno maxilar, injerto y aumento quirúrgico, notamos que cientos de proteínas endógenas afectan el/los proceso(s) de reparación de tejido(s), incluyendo la angiogénesis, la quimiotaxis y la proliferación de célula, sin ningún agente exógeno que gobierne efectivamente todos estos procesos. Concentrados de Plaquetas, en general y Los PRF, en concreto, como herramienta biomédica y biológica, pretenden estimular cuantitativa y cualitativamente la regeneración de tejidos a través de la aplicación/utilización de dichas proteínas autólogas y enriquecimiento in situ con factores de crecimiento. Así, hasta ahora, la liberación equilibrada y gradual de tales factores de crecimiento bioactivos y las citoquinas juegan un papel crítico en la eficacia clínica y tiempo de reparación del tejido (velocidad). Encontramos que la aplicación de preparacio-

nes de PRF y sus sub-productos en combinación con materiales de injerto óseo no demostró ni una ventaja ni una desventaja, claramente; concluyendo que el uso del hueso injertos sigue siendo mucho más predecible que el uso de L-PRF solo, en particular. La combinación de ambos "biomateriales", sin embargo, podría avanzar o acelerar la curación y el tiempo de inserción de implantes dentales (Fig. 2). Por lo tanto, en la elevación de seno y el tratamiento de la membrana de Schneider, la formación de restos óseos maduros es poco concluyente. Bajo este contexto, se esperan con ansias más estudios utilizando protocolos estandarizados para probar los beneficios o efectos perjudiciales de los PRF, en general, y de los L-PRF, en particular; especialmente en su potencial regenerador de tejidos pertenecientes a la promoción de la angiogénesis, la mejora de la proliferación celular, estimulación de la migración celular y secreción autocrina/paracrina de factores de crecimiento, así como para llegar a un consenso o conclusión y determinación distinta del efecto de los leucocitos (y su inclusión) sobre la inflamación o edema y el dolor (Muñoz *et al.*, 2016; Zumarán *et al.*, 2018; Damsaz *et al.*, 2020).



Fig. 2. Múltiples usos de L-PRF en la práctica clínica como métodos de regeneración de tejidos. A: Aplicación de L-PRF para cicatrización y neoformación de tejidos óseos pos exodoncia. B: Aplicación de L-PRF para defectos intra óseos periodontales. C: Aplicación de membranas de L-PRF bajo colgajos coronales. D: Aplicación de L-PRF para instalación de implantes dentales.

CONCLUSIÓN

La regeneración tisular y la reconstrucción anatómica en defectos del complejo oro-maxilo-facial han sido siempre un tema crítico y controvertido. Tanto la calidad como la cantidad de los tejidos regenerados son importantes considerar, esto sumado a la estética y funcionalidad (tisular). Prácticamente, el cirujano se encuentra ante una amplia gama de técnicas regenerativas y materiales a elegir de ¿Cómo se puede seleccionar la estrategia y el procedimiento "ideal" o "más adecuado" para un resultado clínico óptimo? ¿Estudios basados en evidencia? ¿Nivel de "Evidencia"? En resumen, la ingeniería de tejidos tiene amplias perspectivas en la cirugía buco-dental y cráneo-maxilo-facial y proporciona una dirección valiosa para futuras investigaciones sobre pérdida de dientes, defectos periodontales, implantes dentales, defectos del paladar hendido, defectos de la piel o mucosas orales y maxilo-faciales, y los diversos tipos y complejidades de los defectos óseos. Se cree que, con la exploración profunda de la ingeniería de tejidos, se descubrirán y aplicarán células de semilla ideales, mejores materiales de injerto, y factores de crecimiento en el manejo clínico efectivo de enfermedades orales y dentales como en la cirugía reconstructiva del complejo / región cráneo-maxilo-facial, en el futuro.

El L-PRF antes mencionado, en esta perspectiva, debe considerarse como una preparación de "tejido vivo" para la regeneración (natural) tisular guiada y no simplemente un adyuvante quirúrgico "rico en factores de crecimiento". Sin embargo, es seguro decir que este sigue siendo un territorio inexplorado en la investigación de biomateriales dentales (bioingeniería dental), en general. Nuestro grupo está investigando actualmente el potencial de incorporar células mesenquimales de origen oral, células madre o nanopartículas incrustadas de factor de crecimiento dentro del L-PRF, como "súper" o "inteligentes" bioinjertos (-scaffolds), para impulsar aún más, con previsibilidad, la formación ósea, la cicatrización de los tejidos blandos, el tiempo de tratamiento y la estabilidad posquirúrgica, en procedimientos quirúrgicos oro-maxilo-faciales avanzados como la PAOO. Nuestra investigación se extiende para investigar el potencial de L-PRF en la reducción de la necesidad de medicamentos recetados después de procedimientos quirúrgicos invasivos de la extracción del

tercer molar y la resección de quistes. Finalmente, estamos trabajando intensamente en la caracterización de las variaciones reológicas y biológicas de L-PRF, además de asociarse con enfermeras, médicos y dentistas para estandarizar el protocolo de preparación, para uso en otras indicaciones terapéuticas.

CONFLICTO DE INTERÉS

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con proyectos financiados por el Laboratorio de Biomateriales, Farmacéuticos y Bioingeniería de Tejidos Cráneo Máxilo-Facial (HAiDAR R&D&I LAB/BioMAT'X), miembro del CiiB (Centro de Investigación e Innovación Biomédica) de la Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de los Andes, Santiago de Chile, a través de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo, Chile (ANID-NAM) y la Academia Nacional de Medicina, USA con el proyecto numero #NAM2110022, CORFO Crea y Valida I+D+i Proyecto #21CVC2-183649 y el Concurso FONDEF IDEA DE I+D, FONDEF/ SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN APLICADA/ANID 2022, Proyecto # ID22110215.

HAIDAR ZS, RAVELO V, PÉREZ SE, OLATE S. Bone tissue engineering in the oro-dental and cranio-maxillo-facial complex. *Craniofac Res.* 2022; 1(2):118-128.

ABSTRACT: According to the American Academy of Cranio-Maxillo-Facial Surgeons (AACMFS: American Academy of Cranio-Maxillo-Facial Surgeons, visit: <https://aacmfs.org/>), reconstructive surgery implies surgery that seeks to rebuild, restore, or return to normality the hard and soft tissues of the cranio-maxillo-facial region that have become abnormal, dysfunctional or deformed due to an event. This event may be caused by trauma, tumor resection, or the result of a disease process. Cranio-maxillo-facial reconstructive surgery (including oral and dental) returns almost to normal those tissues and structures/body parts that were previously within the normal range, before the event. This contrasts with aesthetic and cosmetic surgery, for example, which seeks to improve an already normal facial or body appearance (also performed by some cranio-maxillo-facial surgeons). Therefore, reconstructive surgery is an integral part of

cranio-maxillo-facial surgery and encompasses a wide range of interventional surgical procedures. Here, to rehabilitate patients with bone defects of critical size, for example, surgical reconstructions are required. However, surgical techniques are not enough. Successful bone reconstruction in the oral and maxillofacial region, using modern bone tissue engineering techniques, is applicable but requires innovative future research focusing on cells, grafts, growth factors, signaling pathways, and defect improvement, as well as the vascularization of the graft. This brief communication attempts to provide some critical insights, highlighting recent advances, challenges and opportunities for research, development and innovation in this ever-growing and impactful area (quality of life) with a focus on system engineering. craniofacial bone tissue.

KEY WORDS: Stem cells, tissue engineering, scaffold, hydrogel, innovation, reconstructive surgery, PRP, L-PRF.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrades JA, Santamaría JA, Nimni ME, Becerra J. Selection and amplification of a bone marrow cell population and its induction to the chondro-osteogenic lineage by rhOP-1: an in vitro and in vivo study. *Int J Dev Biol.* 2011; 45(4):689-93.
- Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(2):212-6. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00642.x>
- Bangun K, Sukasah CL, Dilogo IH, Indrani DJ, Siregar NC, Pandelaki J, Iskandriati D, Kekalih A, Halim J. Bone growth capacity of human umbilical cord mesenchymal stem cells and BMP-2 seeded into hydroxyapatite/chitosan/gelatin scaffold in alveolar cleft defects: An Experimental Study in Goat. *Cleft Palate Craniofac J.* 2021; 58(6):707-17. <https://doi.org/10.1177/1055665620962360>
- Baxter DJ, Shroff MM. Developmental maxillofacial anomalies. *Semin Ultrasound CT MR.* 2011; 32(6):555-68. <https://doi.org/10.1053/j.sult.2011.06.004>
- Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM, Everts PA, Wiczkowski A. The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13(7):1153-62. <https://doi.org/10.2174/138920112800624373>
- Chukwulebe S, Hogrefe C. The diagnosis and management of facial bone fractures. *Emerg Med Clin North Am.* 2019; 37(1):137-51. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2018.09.012>
- Colter DC, Sekiya I, Prockop DJ. Identification of a subpopulation of rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98(14):7841-5. <https://doi.org/10.1073/pnas.141221698>
- Colton C. Implantable biohybrid artificial organs. *Cell Transplant.* 1995; 4(4):415-21. [https://doi.org/10.1016/0963-6897\(95\)00025-s](https://doi.org/10.1016/0963-6897(95)00025-s)
- Damsaz M, Castagnoli CZ, Eshghpour M, Alamdari DH, Alamdari AH, Noujeim ZEF, Haidar ZS. Evidence-based clinical efficacy of leukocyte and platelet-rich fibrin in maxillary sinus floor lift, graft and surgical augmentation procedures. *Front Surg.* 2020; 7:537138. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2020.537138>
- Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 1: Periodontal and dentoalveolar surgery. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13(7):1207-30. <https://doi.org/10.2174/138920112800624391>
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, 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.* 2006a; 101(3):e45-50. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006b; 101(3):e51-5. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.010>
- Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009; 27(3):158-67. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>
- Est-Witte SE, Farris AL, Tzeng SY, Hutton DL, Gong DH, Calabresi KG, Grayson WL, Green JJ. Non-viral gene delivery of HIF-1 α promotes angiogenesis in human adipose-derived stem cells. *Acta Biomater.* 2020; 113:279-88. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.042>
- Fernandez de Grado G, Keller L, Idoux-Gillet Y, Wagner Q, Musset AM, Benkirane-Jessel N, Bornert F, Offner D. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. *J Tissue Eng.* 2018; 9:2041731418776819. <https://doi.org/10.1177/2041731418776819>
- Foster BL, Ramnitz MS, Gafni RI, Burke AB, Boyce AM, Lee JS, Wright JT, Akintoye SO, Somerman MJ, Collins MT. Rare bone diseases and their dental, oral, and craniofacial manifestations. *J Dent Res.* 2014; 93(7 Suppl):7S-19S. <https://doi.org/10.1177/0022034514529150>
- Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem.* 2003; 88(5):873-84. <https://doi.org/10.1002/jcb.10435>
- Gilmartin DJ, Alexaline MM, Thrasivoulou C, Phillips ARJ, Jayasinghe SN, Becker DL. Integration of scaffolds into full-thickness skin wounds: the connexin response. *Adv Healthc Mater.* 2013; 2(8):1151-9. <https://doi.org/10.1002/adhm.201200357>
- Goyer B, Larouche D, Kim DH, Veillette N, Pruneau V, Bernier V, Auger FA, Germain L. Immune tolerance of tissue-engineered skin produced with allogeneic or xenogeneic fibroblasts and syngeneic keratinocytes grafted on mice. *Acta Biomater.* 2019; 90(1):192-12. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.04.010>
- Hancock PC, Koduru SV, Sun M, Ravnic DJ. Induction of scaffold angiogenesis by recipient vasculature precision micropuncture. *Microvasc Res.* 2021; 134:104121. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.104121>
- Ige OO, Umoru LE, Aribo S. Natural products: a minefield of biomaterials. *ISRN Mater Sci.* 2012; 2012(2):1-20. <https://doi.org/10.5402/2012/983062>
- Iwase H, Liu H, Wijkstrom M, Zhou H, Singh J, Hara H, Ezzelarab M, Long C, Klein E, Wagner R, Phelps C, Ayares D, Shapiro R, Humar A, Cooper DK. Pig kidney graft survival in a baboon

- for 136 days: longest life-supporting organ graft survival to date. *Xenotransplantation.* 2015; 22(4):302-9. <https://doi.org/10.1111/xen.12174>
- Janicki P, Schmidmaier G. What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells. *Injury.* 2011; 42 Suppl 2:S77-S81. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.06.014>
- Jazayeri HE, Tahriri M, Razavi M, Khoshroo K, Fahimipour F, Dashtimoghadam E, Almeida L, Tayebi L. A current overview of materials and strategies for potential use in maxillofacial tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017; 70(Pt 1):913-29. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.08.055>
- Kinoshita Y, Maeda H. Recent developments of functional scaffolds for craniomaxillofacial bone tissue engineering applications. *ScientificWorldJournal.* 2013; 2013:863157. <https://doi.org/10.1155/2013/863157>
- Khodakaram-Tafti A, Mehrabani D, Shaterzadeh-Yazdi H, Zamiri B, Omid M. Tissue engineering in maxillary bone defects. *World J Plast Surg.* 2018; 7(1):3-11.
- Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2001; 16(6):1004-14. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2001.16.6.1004>
- Kuroshima S, Sasaki M, Sawase T. Medication-related osteonecrosis of the jaw: A literature review. *J Oral Biosci.* 2019; 61(2):99-104. <https://doi.org/10.1016/j.job.2019.03.005>
- Langhans MT, Yu S, Tuan RS. Stem cells in skeletal tissue engineering: technologies and models. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2016; 11(6):453-74. <https://doi.org/10.2174/1574888x10666151001115248>
- Lin CH, Kudva A. Simultaneous reconstruction of mandibular and maxillary defects using the single free fibular osseocutaneous flap: case series and review of the literature. *Ann Plast Surg.* 2021; 86(4):428-33. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000002436>
- McClellan P, Landis WJ. Recent applications of coaxial and emulsion electrospinning methods in the field of tissue engineering. *Biores Open Access.* 2016; 5(1):212-27. <https://doi.org/10.1089/biores.2016.0022>
- Meloni SM, Jovanovic SA, Urban I, Canullo L, Pisano M, Tallarico M. Horizontal ridge augmentation using GBR with a native collagen membrane and 1:1 ratio of particulated xenograft and autologous bone: A 1-year prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2017; 19(1):38-45. <https://doi.org/10.1111/cid.12429>
- Mohiuddin MM, Singh AK, Corcoran PC, Hoyt RF, Thomas ML 3rd, Lewis BG, Eckhaus M, Reimann KA, Klymiuk N, Wolf E, Ayares D, Horvath KA. One-year heterotopic cardiac xenograft survival in a pig to baboon model. *Am J Transplant.* 2014; 14(2):488-9. <https://doi.org/10.1111/ajt.12562>
- Moya A, Paquet J, Deschepper M, Larochette N, Oudina K, Denoed C, Bensidhoum M, Logeart-Avramoglou D, Petite H. Human mesenchymal stem cell failure to adapt to glucose shortage and rapidly use intracellular energy reserves through glycolysis explains poor cell survival after implantation. *Stem Cells.* 2018; 36(3):363-76. <https://doi.org/10.1002/stem.2763>
- Muñoz F, Jiménez C, Espinoza D, Vervelle A, Beugnet J, Haidar Z. Use of leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) in periodontally accelerated osteogenic orthodontics (PAOO): Clinical effects on edema and pain. *J Clin Exp Dent.* 2016; 8(2):e119-24. <https://doi.org/10.4317/jced.52760>
- Ohgushi H, Dohi Y, Yoshikawa T, et al. Osteogenic differentiation of cultured marrow stromal stem cells on the surface of bioactive glass ceramics. *J Biomed Mater Res.* 1996; 32(3):341-8. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199611\)32:3<341::AID-JBMB>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199611)32:3<341::AID-JBMB>3.0.CO;2-S)
- Omorphos NP, Gao C, Tan SS, Sangha MS. Understanding angiogenesis and the role of angiogenic growth factors in the vascularisation of engineered tissues. *Mol Biol Rep.* 2021; 48(1):941-50. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-06108-9>
- Perez JR, Kouroupis D, Li DJ, Best TM, Kaplan L, Correa D. Tissue engineering and cell-based therapies for fractures and bone defects. *Front Bioeng Biotechnol.* 2018; 6:105. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00105>
- Rasperini G, Pilipchuk SP, Flanagan CL, Park CH, Pagni G, Hollister SJ, Giannobile WV. 3D-printed bioresorbable scaffold for periodontal repair. *J Dent Res.* 2015; 94(9 Suppl):153S-7S. <https://doi.org/10.1177/0022034515588303>
- Redondo LM, García V, Peral B, Verrier A, Becerra J, Sánchez A, García-Sancho J. Repair of maxillary cystic bone defects with mesenchymal stem cells seeded on a cross-linked serum scaffold. *J Craniomaxillofac Surg.* 2018; 46(2):222-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.11.004>
- Rolski D, Kostrzewa-Janicka J, Zawadzki P, Z'ycin'ska K, Mierzwin'ska-Nastalska E. The Management of Patients after Surgical Treatment of Maxillofacial Tumors. *Biomed Res Int.* 2016; 2016:4045329. <https://doi.org/10.1155/2016/4045329>
- Roseti L, Parisi V, Petretta M, Cavallo C, Desando G, Bartolotti I, Grigolo B. Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State of the art and new perspectives. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017; 78:1246-62. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.017>
- Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res.* 1986; (205):299-308.
- Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13(7):1231-56. <https://doi.org/10.2174/138920112800624472>
- Shahnaseri S, Sheikhi M, Hashemibeni B, Mousavi SA, Soltani P. Comparison of autogenous bone graft and tissue-engineered bone graft in alveolar cleft defects in canine animal models using digital radiography. *Indian J Dent Res.* 2020; 31(1):118-23. https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR_156_18
- Schlund M, Nicot R, Depeyre A, Alkasbi J, Ferri J. Reconstruction of a large posttraumatic mandibular defect using bone tissue engineering with fresh-frozen humeral allograft seeded with autologous bone marrow aspirate and vascularized with a radial forearm flap. *J Craniofac Surg.* 2019; 30(7):2085-7. <https://doi.org/10.1097/SCS.0000000000005980>
- Sun X, Liu C, Shi Y, Li C, Sun L, Hou L, Wang X. The assessment of xenogeneic bone immunotoxicity and risk management study. *Biomed Eng Online.* 2019; 18(1):108. <https://doi.org/10.1186/s12938-019-0729-z>
- Terashima A, Takayanagi H. The role of bone cells in immune regulation during the course of infection. *Semin Immunopathol.* 2019; 41(5):619-7. <https://doi.org/10.1007/s00281-019-00755-2>
- Urban IA, Nagursky H, Lozada JL, Nagy K. Horizontal ridge augmentation with a collagen membrane and a combination of particulated autogenous bone and anorganic bovine bone-derived mineral: a prospective case series in 25 patients. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2013; 33(3): 299-8. <https://doi.org/10.11607/prd.1407>
- Vidal L, Brennan MÁ, Krissian, S, De Lima J, Hoornaert A, Rosset P, Fellah BH, Layrolle P. In situ production of pre-vascularized

- synthetic bone grafts for regenerating critical-sized defects in rabbits. *Acta Biomater.* 2020; 114:384-94. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.07.030>
- Vorrasi JS, Kolokythas A. Controversies in traditional oral and maxillofacial reconstruction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2017; 29(4):401-12. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2017.06.003>
- Yagihara K, Okabe S, Ishii J, Amagasa T, Yamashiro M, Yamaguchi S, Yokoya S, Yamazaki T, Kinoshita Y. Mandibular reconstruction using a poly(l-lactide) mesh combined with autogenous particulate cancellous bone and marrow: a prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2013; 42(8):962-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.03.010>
- Zhang L, Tang J, Sun L, Zheng T, Pu X, Chen Y, Yang K. Three-dimensional printed tissue engineered bone for canine mandibular defects. *Genes Dis.* 2019; 7(1):138-49. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.003>
- Zhao W, Li J, Jin K, Liu W, Qiu X, Li C. Fabrication of functional PLGA-based electrospun scaffolds and their applications in biomedical engineering. *Materials Science and Engineering: C.* 2016; 59(Complete):1181-94. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.11.026>
- Zumarán CC, Parra MV, Olate SA, Fernández EG, Muñoz FT, Haidar ZS. The 3 R's for Platelet-Rich Fibrin: A "super" tri-dimensional biomaterial for contemporary naturally-guided oro-maxillo-facial soft and hard tissue repair, reconstruction and regeneration. *Materials (Basel).* 2018; 11(8):1293. <https://doi.org/10.3390/ma11081293>