

## Estudio experimental sobre la regeneración ósea mandibular de la rata con diferentes biomateriales

*Experimental study in rats of mandibular bone regeneration with different biomaterials*

Se calcula que aproximadamente se realizan un millón anual de injertos óseos en Estados Unidos si sumamos los realizados por traumatólogos, neurocirujanos, cirujanos orales y maxilofaciales y odontólogos. Son innumerables los estudios publicados sobre la regeneración ósea en busca del sustituto ideal del hueso autólogo. Sin embargo, muchos de estos estudios repiten errores metodológicos, extraen conclusiones que no se ajustan al estudio y no en pocas ocasiones están contaminados por intereses comerciales. Así, respecto a un mismo biomaterial, se pueden encontrar resultados muy favorables o por el contrario claros fracasos en la regeneración. Por lo tanto el lector se pierde, es difícil distinguir lo veraz y lo científico de lo que no lo es y finalmente se impone el “yo lo hago así”, “yo lo utilizo y funciona”, etc. renunciando a concluir si un biomaterial realmente nos ayuda a la osificación.

Para no renunciar a ese objetivo hay que empezar por el principio, esto es, por los modelos de experimentación animal. Damos la bienvenida a este trabajo de los Dres. B. Peral Cagigal y L.M. Redondo González, por ser una investigación cuyo método se ajusta al rigor exigido en estos estudios. En primer lugar definen y demuestran en el modelo mandibular de rata adulta un defecto de tamaño crítico de espesor total, es decir un defecto incapaz de regenerar por sí mismo durante toda la vida del animal.<sup>1</sup> Esto es muy importante pues cualquier estudio en defectos no críticos no permite extraer conclusiones sobre el biomaterial utilizado. Además, es muy importante que no sólo estudien el relleno lineal del defecto sino también la regeneración tridimensional, es decir el volumen óseo conseguido, un parámetro mucho más exacto a la hora de asegurar que ha existido regeneración del hueso.<sup>2</sup>

Como definen Urist,<sup>3</sup> y Reddii,<sup>4</sup> un material es osteoinductor si es capaz de crear hueso donde en condiciones normales no existiría, esto se consigue por la conversión fenotípica de tejido conectivo en hueso normal. Es decir la formación heterotópica de hueso o hueso fuera del esqueleto (p.ej. las BMP's forman hueso en el espesor del músculo). Para poder definir un biomaterial como osteoinductor hay que probar esto en modelos animales. Por lo tanto no lo podríamos definir a partir de este estudio al ser este una localización ortotópica. De esta forma no compartimos la afirmación de los autores en la introducción sobre la membrana Lambone®, ya que afirman: “que presenta capacidad osteoinductiva y osteoconductiva”. También en la introducción se menciona la capacidad osteoinductiva del Collos®, capacidad que debería ser probada en un modelo experimental adecuado.

Además, la osteoinducción se caracteriza por existir nidos de osificación también en el centro del defecto ya que no depende tanto

*It is calculated that approximately one million bone grafts are made yearly in the United States, including bone grafts by traumatologists, neurosurgeons, maxillofacial surgeons, and odontologists. Innumerable studies have been published on bone regeneration in the course of searching for an ideal substitute for autologous bone. However, many studies repeat methodologic errors, draw conclusions that do not adhere strictly to the study findings, and, on a few occasions, are biased by commercial interests. The same biomaterial may have reports of very favorable results or clear regeneration failures. This is confusing for readers, who find it difficult to differentiate between valid and questionable scientific findings. Report often concluded finally with “I do it that way,” “I use it and it works,” and statements to the effect. No real conclusions are drawn about whether a given biomaterial improves ossification.*

*To avoid renouncing that goal, we have to begin at the beginning, with experimental animal models. We would like to welcome the study by doctors B. Peral Cagigal, L.M. Redondo González, as an investigation that provides the necessary rigor for scientific studies. In the first place, they defined and demonstrated in an adult rat mandibular model a critically sized through-and-through bone defect, i.e., a defect incapable of regenerating spontaneously in the course of the animal's life.<sup>1</sup> This is important because studies of non-critically sized defects do not allow us to draw conclusions about the biomaterial used. It also is very important not to study only linear filling of the defect but also three-dimensional regeneration, i.e., the bone volume obtained. This is a much more exact parameter for verifying that bone regeneration has occurred.<sup>2</sup>*

*As defined by Urist<sup>3</sup> and Reddii,<sup>4</sup> a material is an osteoinductor if it can generate bone in locations where it would not exist in normal conditions; bone is obtained by phenotypic conversion of connective tissue into normal bone. This refers to heterotopic bone formation, or bone outside the skeleton (e.g., BMPs form bone in the midst of muscle). In order to define a biomaterial as osteoinductive, this property has to be demonstrated in animal models. Therefore, osteoinduction cannot be defined by this study because bone regeneration is in an orthotopic location. Consequently, we do not share the authors' claim, in the introduction of Lambone® membrane, that: “This membrane has osteoinductive and osteoconductive capacity.” The osteoinductive*

de la regeneración a partir de las paredes del defecto. Se puede comprobar en las preparaciones histológicas de los autores que la reosificación del defecto se produce partiendo de los límites óseos del defecto hacia el centro del mismo, por lo tanto estaríamos hablando de propiedades osteoconductoras exclusivamente.<sup>5</sup>

Respecto al colágeno tipo I, es de los dos biomateriales estudiados el que presenta mejor resultado osteoconductor, con osificación completa del defecto a las seis semanas desde los bordes del defecto tanto radiológica como histológicamente suponiendo una ventaja clara respecto al grupo control o de sólo membrana.

Una conclusión importante es que el vidrio bioactivo puede incluso suponer un obstáculo para la osificación si comparamos el hueso encontrado en el grupo de sólo membrana con el grupo de membrana y vidrio bioactivo. Llama la atención que el mecanismo conocido de reemplazo de los vidrios bioactivos es la disolución con ausencia de reacción de cuerpo extraño, es decir es un reemplazo pasivo no mediado por macrófagos ni polimorfonucleares. Sin embargo, los autores demuestran "una intensa celularidad inflamatoria" de tipo cuerpo extraño.

Nos parecen muy claras las conclusiones de los autores para este modelo concreto de defecto crítico circular de espesor total: la mejor regeneración se consigue con la utilización de colágeno tipo I y membrana, seguido por la utilización exclusiva de membranas. El uso de vidrio con membrana enlentecerá el proceso de reosificación sin aportar el biomaterial ninguna ventaja añadida sino más bien impidiéndola en la primeras etapas. Como afirman Schenk y Buser,<sup>6</sup> las ventajas de colocar una membrana en estos defectos son: prevenir el colapso del espacio donde se va a producir la regeneración, mantener un coágulo sanguíneo que permita la migración de células osteogénicas y proteger la aparición de una delicada red neovasos en su interior y finalmente excluir de la zona a células no osteocompetentes que intentarían crear una cicatriz fibrosa en la zona.

Estas conclusiones no deben ser traducidas de forma automática al uso clínico, sobre todo cuando hablamos de osteoconducción y no de osteoinducción. El metabolismo óseo y el reemplazo o la regeneración de los modelos experimentales murinos nada tienen que ver con el comportamiento del hueso humano.

En los estudios de biología molecular en cáncer muchos de los tratamientos que son un éxito en ratones fracasan al trasladarlos a la especie humana. De igual manera es importante en regeneración ósea buscar modelos experimentales animales con un metabolismo óseo más parecido al humano, mamíferos como los monos o en nuestro medio, p.ej., el cerdo o el perro. Así por ejemplo la FDA requiere antes de aceptar un ensayo clínico contra la osteoporosis demostrar la eficacia de ese agente en un modelo experimental en animal pequeño y en otro de tamaño y peso grande, con remodelación cortical demostrada.<sup>7</sup> Se sabe que el hueso más similar en composición al humano es el canino y el que más difiere es el de la rata. Sin embargo, en medidas de densidad ósea y comportamiento mecánico el hueso humano no se asemeja al de ningún animal y quizá esto explica porque la incidencia de fracturas es mucho mayor en la especie humana que en los animales. No existe por tanto el modelo animal ideal. Esta aceptado que la experimentación en rata es un buen método de screening preliminar, pero luego debe completarse con otras especies.<sup>8</sup>

*capacity of Colloss® mentioned in the introduction also has to be proven in a suitable experimental model.*

*Osteoinduction, moreover, is characterized by the presence of ossification foci in the center of the defect, not by bone regeneration from the walls of the defect. The histologic preparations of the authors indicate that reossification of the defect took place starting from the limits of the bone defect and progressing toward the center of the defect. Consequently, only osteoconductive properties are involved.<sup>5</sup>*

*With respect to collagen type I, it is one of the two biomaterials studied that had the best osteoconductive result. Complete ossification of the defect from the margins of the defect was evident at six weeks, both radiologically and histologically. This indicates a clear advantage of this group over the control group or the membrane alone group.*

*An important conclusion reported here is that bioactive glass could be an obstacle for ossification if we compare the bone found in the membrane alone group with the membrane plus bioactive glass group. It is noteworthy that the known mechanism of replacement of bioactive glass is dissolution in the absence of a foreign body reaction of strange body. This means that replacement is mediated passively by macrophages or polymorphonuclear cells. However, the authors found "intense foreign-body inflammatory cellularity."*

*The authors' conclusions with regard to this specific model of through-and-through circular critical defect are clear: the best regeneration was achieved using collagen type I and membrane, and the next best was obtained with membranes alone. The use of glass with a membrane slowed the reossification process. In this case, the biomaterial did not provide any added advantage and, in fact, impeded reossification in the first stages. As Schenk and Buser<sup>6</sup> state, the advantages of covering defects with a membrane is: to prevent the collapse of the space where regeneration will occur, maintain a blood clot in place, which allows the migration of osteogenic cells and protects the delicate network of new vessels that develop inside the clot. Finally, a membrane keeps out nonosteocompetent cells that would try to create a fibrous scar in the area.*

*These conclusions do not translate automatically into clinical use, particularly when referring to osteoconduction rather than osteoinduction. Bone metabolism and bone replacement or regeneration in murine experimental models have little to do with human bone behavior.*

*In molecular biology studies in cancer, many treatments that are successful in mice fail when tested in humans. It is important in bone regeneration studies to seek experimental models animals that have a bone metabolism similar to humans, such as mammals like monkeys or, in our setting, pigs or dogs. The FDA, for example, requires demonstrating the effectiveness of an agent in a small-animal experimental model and then in a larger and heavier animal with demonstrated cortical remodeling before osteoporosis agents are accepted for clinical trial.<sup>7</sup> It is known that the bone that*

Finalmente me gustaría felicitar a los autores por el trabajo, el rigor y las interesantes conclusiones obtenidas.

## Bibliografía

1. Anderson ML, Dhert W, De Bruijn JD, Dalmeijer RA, et al. Critical size defect in the goats os ilium. *Clin Orthop Rel Res* 1999;364:231-9.
2. Gosain AK, Song L, y cols. Osteogenesis in cranial defects: reassessment of the concept of critical size defect and the expression of TGF-B isoforms. *Plast Reconstr Surg* 2000;106:360-371.
3. Urist M. Bone: formation by osteoinduction 1965;150:893-9.
4. Redii AH, Hugins CB. Biomechanical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescents rats. *Proc Natl Acad Sci. EE.UU.* 1972;69:1601-5.
5. Glowacki J. A review of osteoinductive testing methods and sterilization processes for demineralized bone. *Cell and Tissue Banking* 2005;6:3-12.
6. Schenk R, Buser D, Hardwick R, Dahlin C. Healing Pattern of Bone Regeneration in Membrane-Protected Defects: A Histologic Study in the Canine Mandible. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1994;13:9-29.
7. Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ. 1995 FDA guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone* 17:125S-133S.
8. Aerssens J, Boonen S, Lowet G, Dequeker J. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. *Endocrinology* 1998;139:663-70.

### Santiago Ochandiano Caicoya

Médico Adjunto. Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial.  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España

*has the composition most similar to human bone is canine bone; rat bone is the bone least similar to human bone. However, human bone really does not resemble any other animal in measurements of bone density and mechanical behavior. This may explain why humans have a much higher incidence of fractures than animals. Therefore, no ideal animal model of bone exists. While it is accepted that experimentation in rats is a good method for preliminary screening, studies must be completed in other species.<sup>8</sup>*

*Finally, I would like to congratulate the authors for their work, scientific rigor, and the interesting conclusions obtained.*