

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**DEPARTAMENTO DE ESPECIALIDADES CLÍNICAS
ODONTOLÓGICAS**

MÁSTER UNIVERSITARIO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID**

“Regeneración ósea de defectos severos mediante células madre mesenquimales sembradas en un biomaterial sintético en comparación con el injerto óseo autólogo: un ensayo clínico aleatorizado”

Alumno: Benjamín Ernesto Arellano Ibarra

Tutora: Dra. Nerea Sánchez Pérez

Madrid, junio 2024



MÁSTER EN: CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

COMPROMISO DEONTOLÓGICO PARA LA ELABORACIÓN, REDACCIÓN Y POSIBLE PUBLICACIÓN DEL TRABAJO DE FIN DE MÁSTER (TFM)

CENTRO: Periodoncia

ESTUDIANTE DE MÁSTER: Benjamín Arellano Ibarra

TUTOR/ES DEL TFM: Dra. Nerea Sánchez Pérez

TÍTULO DEL TFM:

Regeneración ósea de defectos severos mediante células madre mesenquimales sembradas en un biomaterial sintético en comparación con el injerto óseo autólogo: un ensayo clínico aleatorizado.

FECHA DE PRIMERA MATRÍCULA: 2023

FECHA DE SEGUNDA MATRÍCULA (en caso de producirse):

1. Objeto

El presente documento constituye un compromiso entre el estudiante matriculado en el Máster en CIENCIAS ODONTOLÓGICAS y su Tutor/es y en el que se fijan las funciones de supervisión del citado trabajo de fin de máster (TFM), los derechos y obligaciones del estudiante y de su/s profesor/es tutor/es del TFM y en donde se especifican el procedimiento de resolución de potenciales conflictos, así como los aspectos relativos a los derechos de propiedad intelectual o industrial que se puedan generar durante el desarrollo de su TFM.

2. Colaboración mutua

El/los tutor/es del TFM y el autor del mismo, en el ámbito de las funciones que a cada uno corresponden, se comprometen a establecer unas condiciones de colaboración que permitan la realización de este trabajo y, finalmente, su defensa de acuerdo con los procedimientos y los plazos que estén establecidos al respecto en la normativa vigente.



3. Normativa

Los firmantes del presente compromiso declaran conocer la normativa vigente reguladora para la realización y defensa de los TFM y aceptan las disposiciones contenidas en la misma.

4. Obligaciones del estudiante de Máster

- Elaborar, consensuado con el/los Tutor/es del TFM un cronograma detallado de trabajo que abarque el tiempo total de realización del mismo hasta su lectura.
- Informar regularmente al Tutor/es del TFM de la evolución de su trabajo, los problemas que se le planteen durante su desarrollo y los resultados obtenidos.
- Seguir las indicaciones que, sobre la realización y seguimiento de las actividades formativas y la labor de investigación, le hagan su tutor/es del TFM.
- Velar por el correcto uso de las instalaciones y materiales que se le faciliten por parte de la Universidad Complutense con el objeto de llevar a cabo su actividad de trabajo, estudio e investigación.

5. Obligaciones del tutor/es del TFM

- Supervisar las actividades formativas que desarrolle el estudiante; así como desempeñar todas las funciones que le sean propias, desde el momento de la aceptación de la tutorización hasta su defensa pública.
- Facilitar al estudiante la orientación y el asesoramiento que necesite.

6. Buenas prácticas

El estudiante y el tutor/es del TFM se comprometen a seguir, en todo momento, prácticas de trabajo seguras, conforme a la legislación actual, incluida la adopción de medidas necesarias en materia de salud, seguridad y prevención de riesgos laborales.

También se comprometen a evitar la copia total o parcial no autorizada de una obra ajena presentándola como propia tanto en el TFM como en las obras o los documentos literarios, científicos o artísticos que se generen como resultado del mismo. Para tal, el estudiante firmará la Declaración de No Plagio del ANEXO I, que será incluido como primera página de su TFM.

7. Procedimiento de resolución de conflictos académicos

En el caso de producirse algún conflicto derivado del incumplimiento de alguno de los extremos a los que se extiende el presente compromiso a lo largo del desarrollo de su TFM, incluyéndose la posibilidad de modificación del nombramiento del



tutor/es, la coordinación del máster buscará una solución consensuada que pueda ser aceptada por las partes en conflicto. En ningún caso el estudiante podrá cambiar de Tutor directamente sin informar a su antiguo Tutor y sin solicitarlo oficialmente a la Coordinación del Máster.

En el caso de que el conflicto persista se gestionará según lo previsto en el SGIC de la memoria verificada.

8. Confidencialidad

El estudiante que desarrolla un TFM dentro de un Grupo de Investigación de la Universidad Complutense, o en una investigación propia del Tutor, que tenga ya una trayectoria demostrada, o utilizando datos de una empresa/organismo o entidad ajenos a la Universidad Complutense de Madrid, se compromete a mantener en secreto todos los datos e informaciones de carácter confidencial que el Tutor/es del TFM o de cualquier otro miembro del equipo investigador en que esté integrado le proporcionen así como a emplear la información obtenida, exclusivamente, en la realización de su TFM.

Asimismo, el estudiante no revelará ni transferirá a terceros, ni siquiera en los casos de cambio en la tutela del TFM, información del trabajo, ni materiales producto de la investigación, propia o del grupo, en que haya participado sin haber obtenido, de forma expresa y por escrito, la autorización correspondiente del anterior Tutor del TFM.

9. Propiedad intelectual e industrial

Cuando la aportación pueda ser considerada original o sustancial el estudiante que ha elaborado el TFM será reconocido como cotitular de los derechos de propiedad intelectual o industrial que le pudieran corresponder de acuerdo con la legislación vigente.

10. Periodo de Vigencia

Este compromiso entrará en vigor en el momento de su firma y finalizará por alguno de los siguientes supuestos:

- Cuando el estudiante haya defendido su TFM.
- Cuando el estudiante sea dado de baja en el Máster en el que fue admitido.
- Cuando el estudiante haya presentado renuncia escrita a continuar su TFM.
- En caso de incumplimiento de alguna de las cláusulas previstas en el presente documento o en la normativa reguladora de los Estudios de Posgrado de la

Universidad Complutense.

La superación académica por parte del estudiante no supone la pérdida de los derechos y obligaciones intelectuales que marque la Ley de Propiedad Intelectual para ambas partes, por lo que mantendrá los derechos de propiedad intelectual sobre



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID. Facultad de Odontología

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

VISTO BUENO DEL TUTOR

MASTER OFICIAL EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

El profesor/a tutor

Nombre y apellidos:	Nerea Sánchez Pérez
---------------------	---------------------

del alumno/a

Nombre y apellidos	Benjamín Arellano Ibarra
--------------------	--------------------------

encuadrado en la línea de investigación

Ingeniería tisular en regeneración ósea y periodontal

DA EL VISTO BUENO

para que el Trabajo de Fin de Máster titulado

Regeneración ósea de defectos severos mediante células madre mesenquimales sembradas en un biomaterial sintético en comparación con el injerto óseo autólogo: un ensayo clínico aleatorizado.

sea admitido para su defensa ante Tribunal.

En Madrid , a 01 de julio de 2024 .

Fdo: el profesor/a

Firmado por SANCHEZ PEREZ SILVIA NEREA - ***1787** el día 28/06/2024 con un certificado emitido por AC FNMT Usuarios
--

El presente Visto Bueno se debe acompañar del Trabajo de Investigación en formato electrónico y tres copias en papel

Resumen

Antecedentes: El injerto óseo autólogo, a pesar de ser el estándar de oro para el aumento de la cresta ósea, conlleva alta morbilidad, tiene disponibilidad limitada y una tasa de reabsorción no predecible. La combinación de células madre mesenquimales (MSCs) sembradas en biomateriales puede ser una alternativa viable, ofreciendo menor morbilidad y mayor expansión mesio-distal y vestíbulo-lingual/palatina del injerto gracias a sus capacidades proliferativas y paracrinas.

Objetivos: El estudio tiene como objetivos evaluar el cambio lineal del ancho de la cresta ósea y la seguridad de un tratamiento basado en células mesenquimales autólogas de médula ósea (BMSCs) sembradas en un fosfato cálcico bifásico (MBCP+) y una membrana de PTFE reforzada, comparado con un tratamiento control que utiliza injerto óseo en bloque de rama mandibular, a los 6 meses tras la cirugía de aumento óseo. Además, se analizarán como variables secundarias la morbilidad postoperatoria, variables basadas en el paciente, cicatrización postoperatoria, longitud total del injerto en sentido mesio-distal (MD) y el coeficiente de estabilidad del implante.

Material y Método: En este ensayo clínico aleatorizado multicéntrico, se incluyeron 39 pacientes, 35 en otros centros y 4 en Máster de Periodoncia de la Universidad Complutense de Madrid. Tres fueron del grupo test y uno del grupo control, todos presentando crestas óseas de ≤ 4 mm de anchura y altura insuficiente para implantes dentales. Se realizó cirugía regenerativa ósea para aumentar horizontal y verticalmente la cresta antes de la colocación de implantes (5,5 meses después). Los eventos adversos, dolor, disconfort, satisfacción del paciente y cicatrización de tejidos blandos fueron registrados tras la cirugía de aumento y la colocación de implantes. La longitud de la zona injertada se midió mediante férula quirúrgica y calibre. Para el análisis de los datos se utilizó estadística descriptiva mediante el software SPSS versión 21.0.

Resultados: El cambio en el ancho de la cresta observado en el grupo control fue de 1.69 mm. En el grupo de prueba, el cambio medio fue de 2.14 mm (DS=2.26 mm). No se reportaron eventos adversos específicos en ninguno de los dos tratamientos. El dolor, la incomodidad y la cicatrización fueron similares entre las dos terapias. Todos los implantes

se colocaron exitosamente con un ISQ >60. El grupo tratado con células alcanzó una longitud de injerto mesio-distal significativamente mayor (23 mm; DS=4.76) en comparación con el injerto autólogo (20 mm), el cual requirió modificaciones en la posición del implante debido a la insuficiente extensión del injerto.

Conclusiones: El aumento óseo de defectos severos de cresta alveolar mediante células mesenquimales autólogas sembradas en un material aloplástico proporciona beneficios en comparación con los injertos óseos autólogos en términos de anchura de la cresta ósea, dimensión mesio-distal del injerto, estabilidad del implante y menor morbilidad postoperatoria del sitio donante. Estas técnicas representan una alternativa eficaz y menos invasiva para la regeneración ósea en la práctica clínica.

Palabras clave: Ingeniería de tejidos óseos, Fosfato de calcio bifásico, Implantes dentales, Aumento de la cresta alveolar, Células madre mesenquimales, Regeneración ósea.

Abstract

Background: Autologous bone grafting, despite being the gold standard for alveolar ridge augmentation, involves high morbidity, has limited availability, and an unpredictable resorption rate. The combination of mesenchymal stem cells (MSCs) seeded on biomaterials may be a viable alternative, offering lower morbidity and greater mesio-distal and buccal-lingual/palatal graft expansion due to their proliferative and paracrine capabilities.

Objectives: The study aims to evaluate the linear change in the width of the bone crest and the safety of a treatment based on autologous bone marrow mesenchymal cells (BMSCs) seeded in a biphasic calcium phosphate (MBCP+) and a reinforced PTFE membrane, compared to a control treatment using block bone graft from the mandibular branch, 6 months after bone augmentation surgery. Secondary variables such as postoperative morbidity, patient-based variables, postoperative healing, total graft length in mesio-distal (MD) direction, and implant stability quotient will also be analyzed.

Material and Methods: In this multicenter randomized clinical trial, 39 patients were included, 35 treated at other centers and 4 at the Master of Periodontology of the Complutense University of Madrid. Of these, three were in the test group and one in the control group, all presenting bone crests ≤ 4 mm in width and insufficient height for dental implants. Bone regenerative surgery was performed to augment the crest horizontally and vertically before implant placement (5.5 months later). Adverse events, pain, discomfort, patient satisfaction, and soft tissue healing were recorded after the augmentation surgery and implant placement. The length of the grafted anál was measured using a surgical stent and caliper. Descriptive statistics using SPSS software análisis 21.0 were employed for data análisis.

Results: The change in crest width observed in the control group was 1.69 mm. In the test group, the mean change was 2.14 mm (SD=2.26 mm). No specific adverse events were reported in either treatment. Pain, discomfort, and healing were similar between the two therapies. All implants were successfully placed with an ISQ >60 . The group treated with cells achieved a significantly greater mesio-distal graft length (23 mm; SD=4.76) compared

to the autologous graft (20 mm), which required modifications in the implant position due to insufficient graft extension.

Conclusions: The bone augmentation of severe alveolar ridge defects using autologous mesenchymal cells seeded on an alloplastic material provides benefits compared to autologous bone grafts in terms of ridge width, mesio-distal graft dimension, implant stability, and lower postoperative morbidity at the donor site. These techniques represent an effective and less invasive alternative for bone regeneration in clinical practice.

Keywords: Bone tissue engineering, Biphasic calcium phosphate, Dental implants, Alveolar ridge augmentation, Mesenchymal stem cells, Bone regeneration.

Abreviaturas

BCP- Fosfato de calcio bifásico

BMPs- Proteínas morfogenéticas óseas

CBCT- tomografía computarizada de haz cónico

ePTFE- Politetrafluoroetileno expandido

FGF-2- El factor de crecimiento de fibroblastos 2

MSCs- Células madre mesenquimales autólogas

PDGFs- Factor de crecimiento derivado de plaquetas

β-TCP- Beta-fosfato tricálcico

CEIC- Comité ético de investigación clínica

AEMS- Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios

μCT- Microtomografía computarizada

SRμCT- Microtomografía computarizada de radiación sincrotrón

HA- Hidroxiapatita

HAS- Albúmina sérica humana

Figuras

Figura 1. Biomateriales. A y B. Combinación de MSCs / MBCP+. C. Mezcla transcurrida 1 hora. D. Membrana PTFE reforzada	11
Figura 2. Pacientes tratados con células (MSCs) o injerto autólogo. A y B Cirugía de aumento. C Cicatrización a 1 mes. D Reentrada a 5,5 meses.	14
Figura 3. Escala EVA del dolor en visitas.	14
Figura 4. Longitud media de injerto mesio-distal (T_lenght_V3).....	15
Figura 5. ISQ el día de la colocación del implante.....	16

Tablas

Tabla 1. Línea base y datos de pacientes	12
Tabla 2. Cambio lineal de ancho de cresta a 2mm de borde coronal observado en CBCT.	13

Apéndices

Apéndice 1. Diagrama de flujo Agenda protocolizada.....	23
Apéndice 2. Criterios de inclusión de protocolo original del estudio.	24
Apéndice 3. Criterios de exclusión del protocolo original.	25

Tabla de contenido

RESUMEN	I
ABSTRACT	III
ABREVIATURAS	V
FIGURAS	VI
TABLAS	VI
APÉNDICES	VI
INTRODUCCIÓN	1
HIPÓTESIS	3
MATERIALES Y MÉTODOS	4
DISEÑO DEL ESTUDIO	4
APROBACIONES ÉTICAS	4
PACIENTES	5
<i> Criterios de inclusión</i>	5
<i> Criterios de exclusión</i>	5
PROCEDIMIENTO RADIOLÓGICO.....	6
RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES	6
<i> Aspiración de médula ósea</i>	6
<i> Aislamiento y cultivo de MSCs</i>	7
ALEATORIZACIÓN, OCULTACIÓN DE LA ASIGNACIÓN Y CEGAMIENTO	8
INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA	8
VARIABLE RESPUESTA PRINCIPAL.....	9
VARIABLES RESPUESTA SECUNDARIAS	9
<i> Variables de seguridad, cicatrización y morbilidad</i>	9
<i> Eficacia del tratamiento y formación de nuevo hueso:</i>	9
<i> Destino de las MSCs transplantadas</i>	10
<i> Satisfacción del paciente</i>	10
ANÁLISIS DE DATOS.....	10
RESULTADOS	11
DISCUSIÓN	16
CONCLUSIÓN	19
BIBLIOGRAFÍA	20
APÉNDICE	23

Introducción

El éxito de una prótesis implanto-soportada, tanto funcional como estéticamente, depende de la colocación precisa de los implantes, que a su vez depende de la disponibilidad de hueso suficiente (Chiapasco y Casentini 2018). En los casos donde ha ocurrido una reabsorción ósea significativa, la viabilidad de tales prótesis se basa en la reconstrucción previa del hueso del maxilar edéntulo, una situación común entre muchos candidatos a implantes (Tan et al. 2012).

En el ámbito maxilofacial, la reconstrucción a menudo es necesaria debido a anomalías congénitas, traumas severos o resecciones oncológicas (Hall et al. 1991). Después de la pérdida de dientes, el maxilar y la mandíbula frecuentemente exhiben defectos que llevan a la atrofia del tejido alveolar y a la reducción dimensional. Clínicamente, esto resulta en un volumen óseo inadecuado para la colocación de implantes dentales, presentando un desafío que las técnicas quirúrgicas convencionales tratan de superar (Nkenke y Neukam 2014).

Aunque los injertos óseos autólogos brindan los mejores resultados en la reconstrucción ósea y son reconocidos como el estándar de oro, presentan varios inconvenientes (Stumbras et al. 2019). La necesidad de un segundo sitio quirúrgico, la disponibilidad limitada de hueso, el aumento de la duración de la cirugía y la potencial morbilidad y daño nervioso en el área donante son desventajas significativas (Gjerde et al. 2020; Elnayef et al. 2018; Georgeanu et al. 2023). Además, la tasa de reabsorción del hueso autólogo es impredecible, lo que lleva a resultados clínicos variables (Felice et al. 2009; Swan y Goodacre 2006; Amini, Laurencin y Nukavarapu 2012). Tales factores contribuyen invariablemente al aumento de los costes de tratamiento y al malestar del paciente (Hämmerle, Jung y Feloutzis 2002).

Se han desarrollado varios enfoques quirúrgicos para aumentar la cresta alveolar (Sheikh, Sima y Glogauer 2015; Bell et al. 2002). Dadas las limitaciones del injerto autólogo, se han propuesto alternativas como sustitutos óseos—de origen animal, humano o sintético— (Zimmermann y Moghaddam 2011). Mientras que los sustitutos óseos son efectivos para defectos pequeños, su eficacia disminuye en defectos más grandes (Jensen, Jensen y

Worsaae 2016; Hernigou 2015). En consecuencia, existe una demanda clínica no satisfecha de intervenciones seguras y eficaces que no incurran en morbilidad del sitio donante (Tang et al. 2016; Calori et al. 2011).

Dentro de estas alternativas, entre los biomateriales, las cerámicas sintéticas de fosfato de calcio son muy valoradas por su composición similar al hueso y se utilizan extensamente en reparaciones maxilofaciales y dentales (Hornez et al. 2007). Estos materiales, que son seguros en términos de transmisión de patógenos, exhiben bioactividad y propiedades osteoconductoras y están comúnmente compuestos de hidroxiapatita, beta-fosfato tricálcico (β -TCP) o una combinación de ambos (Véron et al. 1995; Hornez et al. 2007). Cuando se utilizan solos, estas matrices carecen de propiedades osteoinductivas y osteogénicas y solo sirven para guiar el crecimiento del tejido óseo (Sheikh, Sima y Glogauer 2015; Homma, Zimmermann y Hernigou 2013). Para mejorar la formación de nuevo hueso, se han asociado factores de crecimiento (FGF-2, PDGFs) o factores diferenciadores (BMPs) y más recientemente células madre a estas matrices (Mebarki et al. 2017).

En este contexto, la búsqueda de estrategias alternativas ha llevado a varios grupos de investigación a explorar enfoques de ingeniería tisular que combinan sustitutos óseos con células madre mesenquimales autólogas (MSCs) (Kuriakose, Shnayder y DeLacure 2003). Las MSCs, células no hematopoyéticas de origen mesodérmico, tienen la capacidad de autorrenovarse y diferenciarse en múltiples linajes (Dominici et al. 2006; Le et al. 2017). La médula ósea ha sido una fuente principal de MSCs durante más de cuatro décadas, con MSCs expandidas *ex vivo* que muestran una robusta autorrenovación, altas tasas de proliferación y habilidades de diferenciación en varios linajes estromales (García-Gómez et al. 2010; Santamaría et al. 2017). Además, las MSCs tienen efectos paracrinos, secretando moléculas bioactivas que modulan las respuestas inmunitarias y promueven la regeneración (Wang et al. 2014).

Estudios recientes han demostrado que las cerámicas de fosfato de calcio bifásico (BCP) con una composición de 20% HA y 80% (β -TCP), son adecuadas para el cultivo de MSCs *in vitro* y promueven la formación ósea *in vivo* (Gjerde et al. 2018; Brennan et al. 2014). Debido a su estructura micro y macro-porosa, facilita la infiltración de fluidos biológicos,

células y tejido. La bioactividad de BCP se debe a la solubilidad de sus fases cristalinas constituyentes, con el β -TCP disolviéndose en fluidos biológicos y promoviendo la deposición de cristales de apatita en la hidroxiapatita (HA), que es menos soluble (Arinzeh et al. 2005). Esta apatita biológica forma un sustrato para los osteoblastos, fomentando el crecimiento del hueso mediante osteoconducción. La reabsorción de las biocerámicas BCP es un proceso relativamente lento, con el material siendo reemplazado por hueso maduro en un periodo de seis meses a dos años, variando según el sitio de implantación y las características del material.

El objetivo principal de este ensayo clínico controlado aleatorizado es comparar dos estrategias de aumento óseo para la región posterior del maxilar y la mandíbula: una que emplea MSCs autólogas con un injerto óseo sintético (BCP) (grupo test) y otra que utiliza el “gold estándar”, el injerto óseo autólogo en bloque aislado de la rama mandibular (grupo control) en términos de cambio lineal en la anchura de la cresta ósea 2 mm por debajo del punto más coronal de dicha cresta , medido mediante imágenes de tomografía computarizada de haz cónico (CBCT) desde el inicio hasta 5 meses después de la cirugía regenerativa, inmediatamente antes de la colocación del implante. Como variables secundarias, se evaluará 1) la seguridad de las intervenciones analizando los efectos adversos, 2) cicatrización a los 15 y 30 días después de la cirugía, 3) morbilidad postoperatoria a los 15, 30, 180, 260 y 300 días después de la cirugía , 4) otras variables basadas en el paciente como la satisfacción con el tratamiento, 5) longitud mesio-distal del injerto y 6) la posibilidad de colocar el implante en el área regenerada.

Hipótesis

La hipótesis nula es que no se identificarían diferencias entre el grupo test frente al bloque autólogo en términos de anchura de la cresta ósea entre la visita inicial y la visita realizada 5 meses tras la cirugía de aumento.

Con respecto a las variables secundarias, la hipótesis nula es que no se identificarían diferencias entre el grupo test frente al bloque autólogo en términos de la seguridad de las

intervenciones, cicatrización, morbilidad postoperatoria, posibilidad de colocar el implante y longitud mesio-distal del injerto.

Materiales y Métodos

Diseño del Estudio

Este estudio fue diseñado como un ensayo clínico controlado aleatorizado multicéntrico de fase III con dos grupos para evaluar la eficacia de una combinación de células madre mesenquimales autólogas obtenidas de la médula ósea de la cresta ilíaca posterior implantadas en un biomaterial sintético de fosfato de calcio bifásico y cubiertas con una membrana no reabsorbible (ePTFE reforzada con titanio) (grupo test) en comparación con el injerto óseo autólogo en bloque recolectado del área de la rama mandibular posterior (control). Se llevó a cabo la regeneración ósea en la zona posterior de los maxilares antes de la colocación de implantes dentales con un seguimiento de 21 meses.

Los pacientes que necesitaran reconstrucción ósea de crestas edéntulas residuales tanto en la mandíbula como en el maxilar debido a defectos óseos con pérdida vertical del volumen alveolar y/o crestas en forma de cuchillo (\leq de 4 mm) que no pudieran proporcionar estabilidad primaria adecuada para la colocación de implantes dentales fueron incluidos en este ensayo clínico.

Se siguió una agenda protocolizada que contenía la información de cada visita y los procedimientos a realizar (Apéndice 1.)

Aprobaciones éticas

Este estudio se ajustó a la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) Noruego y la Agencia Noruega del medicamento, al tratarse el grupo test de un medicamento de terapia celular (N°EUDRA 2018-001227-39). Asimismo, para el centro de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid, se obtuvo la aprobación por parte del CEIC del Hospital Clínico San Carlos de Madrid en diciembre de 2019 y de la Agencia Española de medicamentos y productos

sanitarios (AEMS) con fecha en enero de 2020. El registro se realizó en con clinicaltrials.gov con número NCT04297813 y fue financiado por la convocatoria Horizonte Europa H2020.

Pacientes

Se incluyó a 39 pacientes en el estudio, tanto hombres como mujeres de 18 años o más, a quienes se les ofreció reconstrucción ósea antes de la colocación del implante en uno de los departamentos clínicos participantes en el estudio previo a exámenes clínicos y radiológicos (CBCT).

Para ser elegibles, los pacientes debían cumplir los siguientes criterios de inclusión/exclusión:

Criterios de inclusión

- Pacientes que presentaran una indicación subjetiva para una prótesis fija implanto-soportada en la región posterior mandibular o maxilar (es decir, distal al canino).
- Pérdida ósea lateral extensa de la cresta alveolar edéntula.
- Anchura de la cresta alveolar edéntula ≤ 4 mm con o sin pérdida ósea vertical
- Edéntulos durante más de 6 meses en la región que requiere reconstrucción.
- Al menos un diente faltante que debe ser reemplazado en el área edéntula.
- Ausencia de signos clínicos de infección en la región que requiere reconstrucción.
- Ausencia de cualquier patología oral mayor.
- Edad de 18 años o más.
- En buen estado de salud.
- No fumadores
- Ausencia de enfermedades infecciosas en análisis de sangre

Criterios de exclusión

- Evidencia de infección por VIH, hepatitis B o C, o cualquier enfermedad contagiosa (específicamente, serológicamente negativos para anti-VIH 1-2 Ab, anti-HCV Ab,

HBsAg, anti-HBc sifilis, y negativos (no detectados por PCR) en NAT VIH, NAT HCV o NAT HBV).

- Mujeres embarazadas o lactantes.
- Infecciones no tratadas.
- Historia de malignidad.

Los sujetos que participaron en este estudio aseguraron no haber participado simultáneamente en otro ensayo a menos que fuera estrictamente observacional o retrospectivo. No se programó un período de exclusión al final del estudio. Los criterios de inclusión y exclusión detallados se encuentran en el apéndice 2.

Procedimiento radiológico

Los pacientes fueron seleccionados utilizando CBCT para identificar la pérdida ósea detrás de los dientes caninos del maxilar y la mandíbula, lo que requirió un injerto óseo para la colocación del implante. El CBCT se realizó en el momento de la cirugía de aumento óseo y nuevamente después de un período de cicatrización de 5 meses. Al final de este período, la evaluación radiológica y clínica determinaron la idoneidad para la colocación de dos o más implantes dentales. Seguimientos posteriores que incluyeron radiografías periapicales y evaluaciones clínicas continuaron hasta 20 meses después del procedimiento de injerto para monitorear los resultados a largo plazo del tratamiento.

Recolección y preparación de células madre mesenquimales

Aspiración de médula ósea

La aspiración de médula ósea para la producción de células madre mesenquimales (MSCs) se realizó siguiendo el protocolo publicado en Gjerde et al. en 2018. Se administró al paciente analgésico oral (paracetamol 1g + codeína 60mg x 2 veces al día). Se realizó sedación intravenosa de los pacientes y tras anestesia local (lidocaína al 2%) y una incisión mínima en el área cutánea de la cresta ilíaca superior posterior, mediante un trócar, se recogieron 30 ml de médula ósea empleando 2 a 3 puntos de punción y jeringas previamente heparinizadas. El dolor, el sangrado y los hematomas posteriores al

procedimiento se manejaron aplicando un vendaje compresivo y haciendo que el paciente descansara sobre su espalda durante una hora. Las jeringas que contenían el material recogido se enviaron dentro de las 24 horas siguientes a un centro acreditado de terapia celular con acreditación de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) (Unidad de Ingeniería y Thérapie Cellulaire, Créteil Cedex, Francia) utilizando un servicio de mensajería especializado (caja isotérmica a temperatura de 4-10 grados centígrados, con condiciones de temperatura monitorizadas desde el envío hasta la recepción en el centro de terapia celular).

Aislamiento y cultivo de MSCs

Una vez recibida la muestra de médula ósea, se llevaron a cabo pruebas bacteriológicas (cultivo de una pequeña muestra de médula ósea en frascos aeróbicos y anaeróbicos), PCR cuantitativa (qPCR) para micoplasma, y pruebas de virología. A partir de la muestra de médula ósea de 30 ml, se aislaron y expandieron las MSCs en un medio libre de proteínas animales durante 15 días (Cellstack, Corning- Arizona). Se evaluó el potencial de las MSCs para formar colonias utilizando condiciones de cultivo específicas determinadas por la medición de la tasa de unidades formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F). La calidad de las MSCs se verificó con citometría de flujo mostrando marcadores positivos para CD90, CD73, CD105, y negativos para CD14 y CD45, con una tasa de viabilidad del 90%. Una vez alcanzada la concentración de 20×10^6 células/ml en cultivo, estas se prepararon en una solución salina que contenía 4-5% de albúmina sérica humana (HAS) bajo una campana de flujo laminar en una sala blanca ISO7 y se envasaron en jeringas estériles de 20 ml., equipadas con cierres de Luer (Omnifix 20 ml Luer Lock Solo). Estas células se enviaron desde la Unidad de Terapia Celular de Créteil y se entregaron en la Facultad de Odontología de la UCM dentro de las 24 horas posteriores al acondicionamiento.

Aleatorización, ocultación de la asignación y cegamiento

Los pacientes incluidos fueron asignados aleatoriamente a uno de los dos grupos de tratamiento A (test) o B (control). Un programa de aleatorización independiente generó por asignó de forma aleatoria una distribución equilibrada de los grupos de tratamiento. Al haberse realizado la extracción de médula no es posible mantener el cegamiento del paciente, así como del operador, ya que el procedimiento implica conocer las diferencias entre los grupos. El investigador a cargo del análisis de datos fue ajeno al tratamiento, por lo que se considera este ensayo clínico a un ciego.

Intervención quirúrgica

En el grupo control, los bloques de hueso autógeno se recolectaron de la rama de la mandíbula posterior utilizando técnicas quirúrgicas orales estándar. Los bloques se moldearon, perforaron y aseguraron con tornillos de osteosíntesis (Straumann, Suiza) con el objetivo de lograr un volumen similar al que tendría en la boca de un paciente sano. En el grupo experimental, la mezcla del biomaterial y las MSCs se realizó en una proporción de 1:1, es decir, 5 cm³ de MBCP+ (Biomatlante, Francia) se mezcló con 5 ml de suspensión de MSCs (dando así una dosis total de 100×10^6 MSCs) y se incubaron durante un tiempo de contacto de 60 min en el quirófano previa colocación.

En los pacientes asignados al grupo test, tras la elevación del colgajo y el manejo de tejidos blandos para la liberación del colgajo, se colocarán mini tornillos tipo “tenting poles” para favorecer el mantenimiento del espacio por parte de la membrana. Se colocará el biomaterial mezclado con las células y a continuación, una membrana no reabsorbible de politetrafluoroetileno expandido reforzada con titanio (PTFE, Cytoplast, Technomedic, Asker, Noruega), que se fijará con chinchetas (Straumann, Suiza). Los bordes de la membrana se meterán cuidadosamente debajo del colgajo y cubrirán todo el biomaterial, protegiendo así el sitio de aumento.

Variable respuesta principal

El estudio comparó el cambio lineal en la anchura de la cresta ósea, medido 2 mm por debajo del punto más coronal de dicha cresta, entre el grupo test y el grupo control. Las mediciones se realizaron mediante CBCT desde el inicio hasta 5 meses después de la cirugía regenerativa.

Variabes respuesta secundarias

Variables de seguridad, cicatrización y morbilidad

El estudio evaluó los efectos adversos (AEs) y la cicatrización del tejido blando cicatrización (con/sin incidentes), dehiscencia de la herida (si/no), exposición de la membrana en grupo test (si/no), inflamación (si/no), signos de infección (si/no), a las 2 y 4 semanas y 5 meses.

Además, también se analizó la morbilidad asociada con ambos procedimientos en términos de cantidad de medicación antiinflamatoria postoperatoria y el grado de dolor, ambos reportados por el paciente usando una escala visual analógica (EVA) (1-10).

Eficacia del tratamiento y formación de nuevo hueso:

El estudio evaluará si es posible insertar un implante en el área reconstruida 5 meses después del procedimiento de injerto. Esta decisión se tomará en base al examen radiológico del volumen óseo y la calidad ósea mediante imágenes CBCT 3D capturadas inmediatamente antes de la colocación del implante, 5-6 meses después de la cirugía regenerativa.

Además, se medirán los cambios clínicos en el ancho del hueso alveolar entre la línea de base medida con un calibre durante la primera cirugía, inmediatamente antes de aplicar las intervenciones de prueba o control y la segunda cirugía (inmediatamente antes de colocar los implantes dentales).

En segundo lugar, se demostrará la actividad promotora del hueso de las intervenciones evaluando las biopsias óseas centrales obtenidas durante el procedimiento de reentrada y

fresado previo al implante dental mediante microtomografía computarizada (μ CT), microtomografía computarizada de radiación sincrotrón (SR μ CT) e histología.

Asimismo, se ha evaluado la necesidad de aumento óseo secundario alrededor de los implantes dentales colocados en la posición protéticamente correcta. Estabilidad del implante en el momento de la instalación del implante, en la segunda fase de implantes, en la carga y 12 meses después de la carga (usando los cocientes de estabilidad del implante por radiofrecuencia Osstell®).

Destino de las MSCs trasplantadas

El destino de las MSCs trasplantadas se evaluará mediante tecnología de biopsia líquida en la visita inicial y 2 semanas después de la cirugía de aumento óseo mediante la recolección de 30 ml de muestras de sangre periférica y plasma/suero.

Satisfacción del paciente

La satisfacción del paciente incluyendo la intervención quirúrgica y el resultado protésico se evaluará mediante resultados informados por el paciente (PROMs) utilizando un cuestionario estructurado con escalas Likert. Finalmente, el impacto de los tratamientos test y control en la calidad de vida general del paciente (QoL) se evaluará con el uso de herramientas validadas: Calidad de Vida Relacionada con la Salud (HRQoL) y Calidad de Vida Relacionada con la Salud Oral (OHRQoL).

Análisis de datos

El análisis de datos realizado en la facultad de odontología de la Universidad Complutense de Madrid comprende los de los cuatro pacientes incluidos en este centro. Se realizó estadística descriptiva para variables cuantitativas en términos de medias y desviación y para las variables cualitativas en términos de frecuencia y porcentaje.

Resultados

Aunque este es un estudio multicéntrico con tamaño muestral de 39 pacientes, solo se presentan los resultados de los datos obtenidos en la Universidad Complutense de Madrid. Se incluyeron 4 pacientes de los cuales 3 pertenecían al grupo test (Combinación de MSCs/MBCP+ y membrana de PTFE reforzada) y 1 al grupo control (injerto autólogo en bloque). La mezcla de las células y el biomaterial fue llevada a cabo por el cirujano en condiciones asépticas en el quirófano (Fig. 1A, B). Las células fueron sembradas a los gránulos de MBCP+ y mantenidas en contacto por al menos 1 hora. (Fig. 1C). La membrana reforzada no reabsorbible se cortó para adaptarla a la zona a regenerar (Fig. 1D).

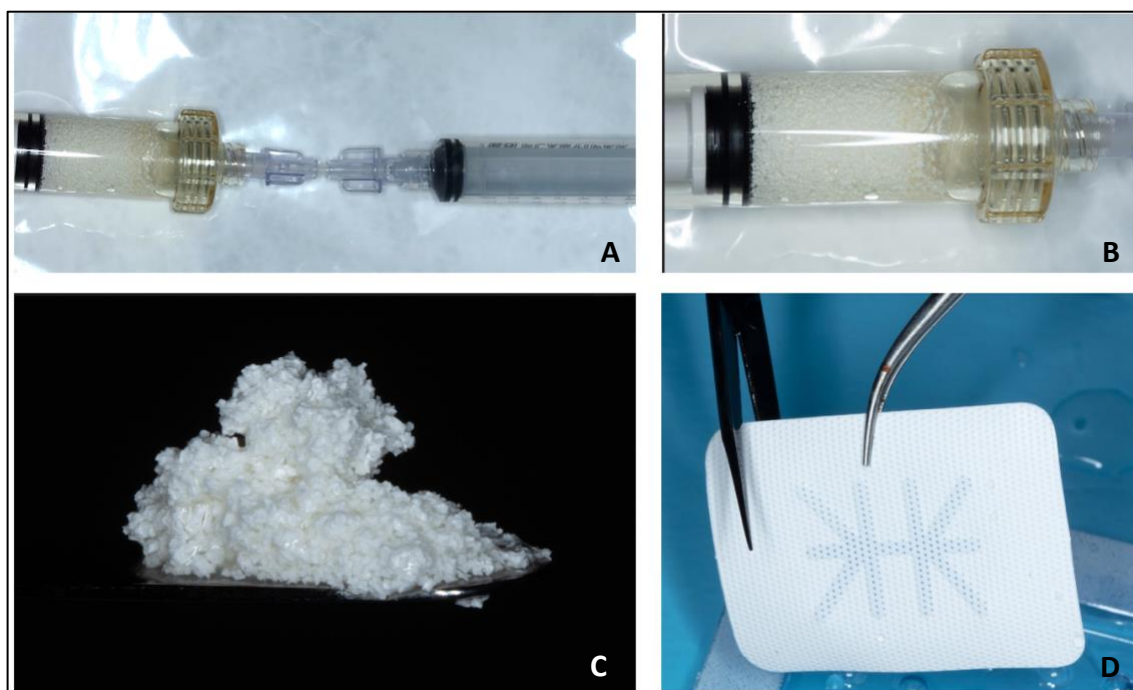


Figura 1. Biomateriales. A y B. Combinación de MSCs / MBCP+. C. Mezcla transcurrida 1 hora. D. Membrana PTFE reforzada

Entre Septiembre de 2020 y febrero de 2022, se incluyeron 4 pacientes (3 mujeres, asignadas al grupo test y 1 varón, asignado al grupo control) de entre 50 y 67 años (media de 60 años). Para los 4 pacientes, las expansiones celulares cumplieron los criterios de liberación y las células pudieron ser entregadas al Departamento de Especialidades Clínicas

odontológicas de la Universidad Complutense de Madrid. En la vista basal, se observa que el índice de placa en boca completa se encontró entre el 5 y el 20%, y las dimensiones vestibulo-linguales de tejido queratinizado, entre 2 y 4 mm (Tabla 1).

Tabla 1. Línea base y datos de pacientes

N	Grupo 1(Test) 0 (Control)	Edad	Genero	Indice de placa (O'leary %)	Encia Queratinizada mm.
1	1	67	F	12	4
2	1	50	F	12	4
3	1	63	F	5	2
4	0	60	M	20	3

Con respecto a la variable principal, en el CBCT Pre-operatorio, el grupo control, que consta de un único paciente, mostró un ancho de cresta ósea de 5.39mm. En el grupo test, compuesto por tres pacientes, la media fue ligeramente superior (5.66mm. DS=1,73mm.). La medida del ancho a 2mm de la cresta post-operatoria a 5 meses aumentó a 7.08 mm en el grupo control en el grupo test (7.81mm. DS= 1,94mm.), con resultados similares entre los grupos.

Al analizar el cambio en el ancho de la cresta ósea: El cambio observado en el grupo control fue de 1.69 mm. En el grupo test, el cambio medio fue de (2.14 mm. DS= 2,26mm.) La diferencia en los cambios del ancho de la cresta ósea entre los grupos, aunque modesta, favorece al grupo test, que mostró un incremento promedio mayor post-operatoria comparado con el grupo control.

Tabla 2. Cambio lineal de ancho de cresta a 2mm de borde coronal observado en CBCT.

Grupo		N	Media (mm.)	Desviación estándar (mm.)	Error estándar (mm.)
CBCT PRE	control	1	5,39		
	test	3	5,66	1,73	1,00
CBCT post	control	1	7,08		
	test	3	7,81	1,94	1,12
Cambio_ancho	control	1	1,69		
	test	3	2,14	2,26	1,30

Todos los pacientes tuvieron una cicatrización sin incidencias en el área aumentada, sin ninguna infección local. Los eventos adversos con ambas terapias fueron leves, fundamentalmente alteraciones temporales en la sensibilidad. La Figura 2 muestra la intervención quirúrgica en los 4 pacientes, la cicatrización a las 4 semanas, y la re-entrada a los 5,5 meses.

El dolor, disconfort y la cicatrización postoperatoria fueron similares entre las dos terapias. Los valores medios de dolor-EVA en el grupo test fueron de 5.5 (DS=0.7) mientras que en el paciente control fue de 6 . Los resultados muestran una variabilidad en los niveles de dolor en el tiempo reportados en los dos grupos. En general, el grupo de tratamiento (Group 1) presentó niveles de dolor ligeramente más altos en algunas visitas, pero la mayoría de los pacientes reportaron un nivel bajo de dolor en las visitas posteriores. El paciente asignado al grupo control (Group 0) reportó niveles de dolor bajos. Al final del periodo de seguimiento la escala de dolor fue similar para los dos grupos. (Fig. 3).

El grupo tratado con células alcanzó una longitud media de injerto mesio-distal mayor (26mm; DS=5,65) en comparación con el injerto autólogo (20mm) (Fig. 4). Estos hallazgos sugieren que el tratamiento con células podría estar influenciando positivamente la estabilidad y el tamaño del injerto.

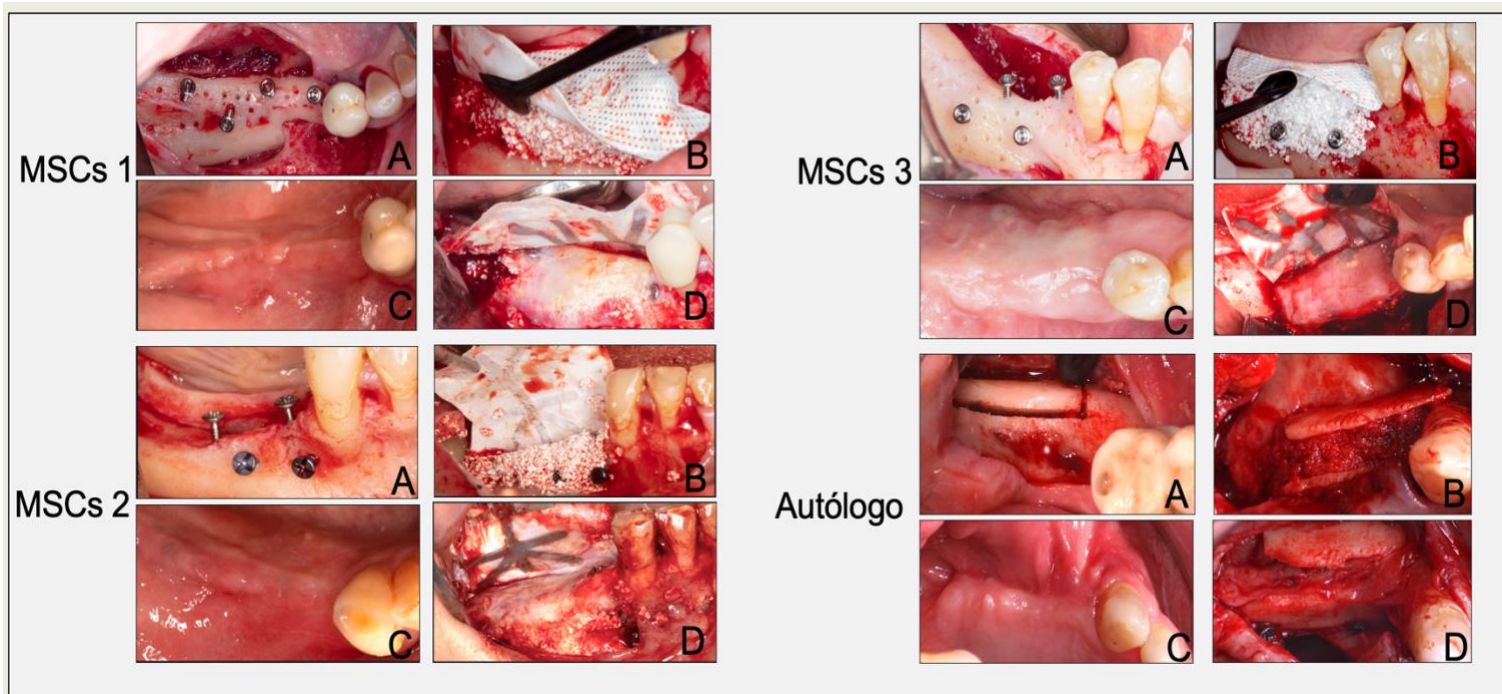


Figura 2. Pacientes tratados con células (MSCs) o injerto autólogo. **A y B** Cirugía de aumento. **C** Cicatrización a 1 mes. **D** Reentrada a 5,5 meses.

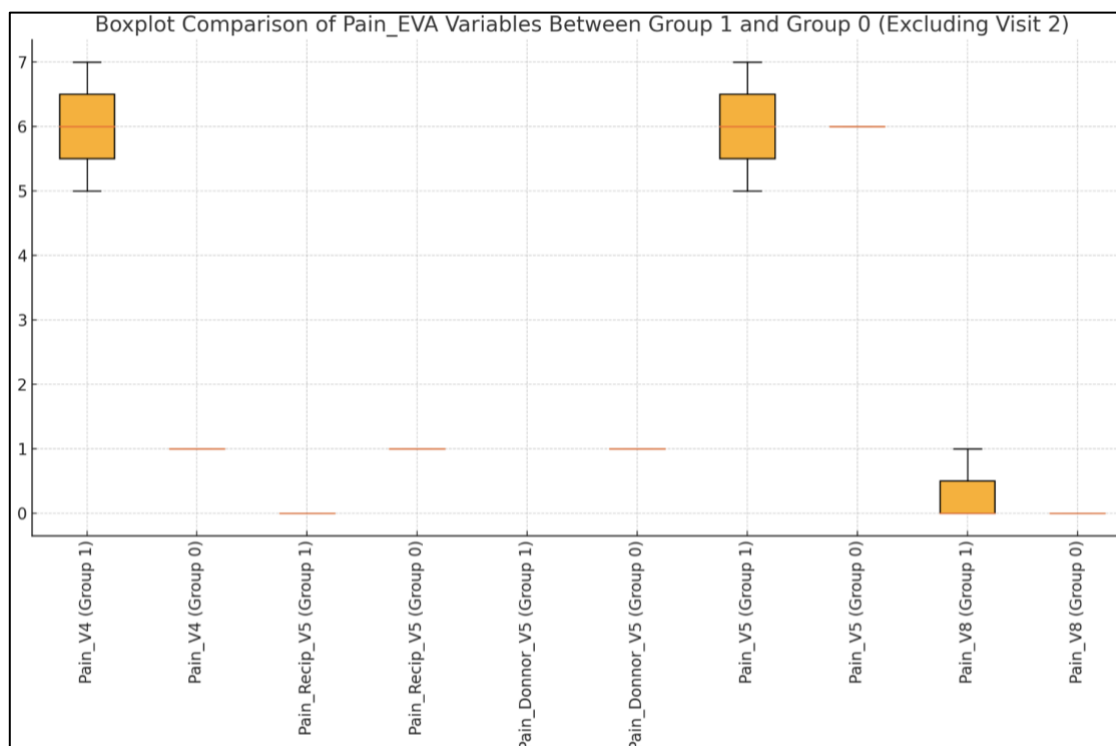


Figura 3. Escala EVA del dolor en visitas.

Pain_V4: Dolor medido en la visita 4.

Pain_Recip_V5: Dolor del sitio receptor medido en la visita 5.

Pain_Donnor_V5: Dolor del sitio donante medido en la visita 5.

Pain_V5: Dolor general medido en la visita 5.

Pain_V8: Dolor medido en la visita 8.

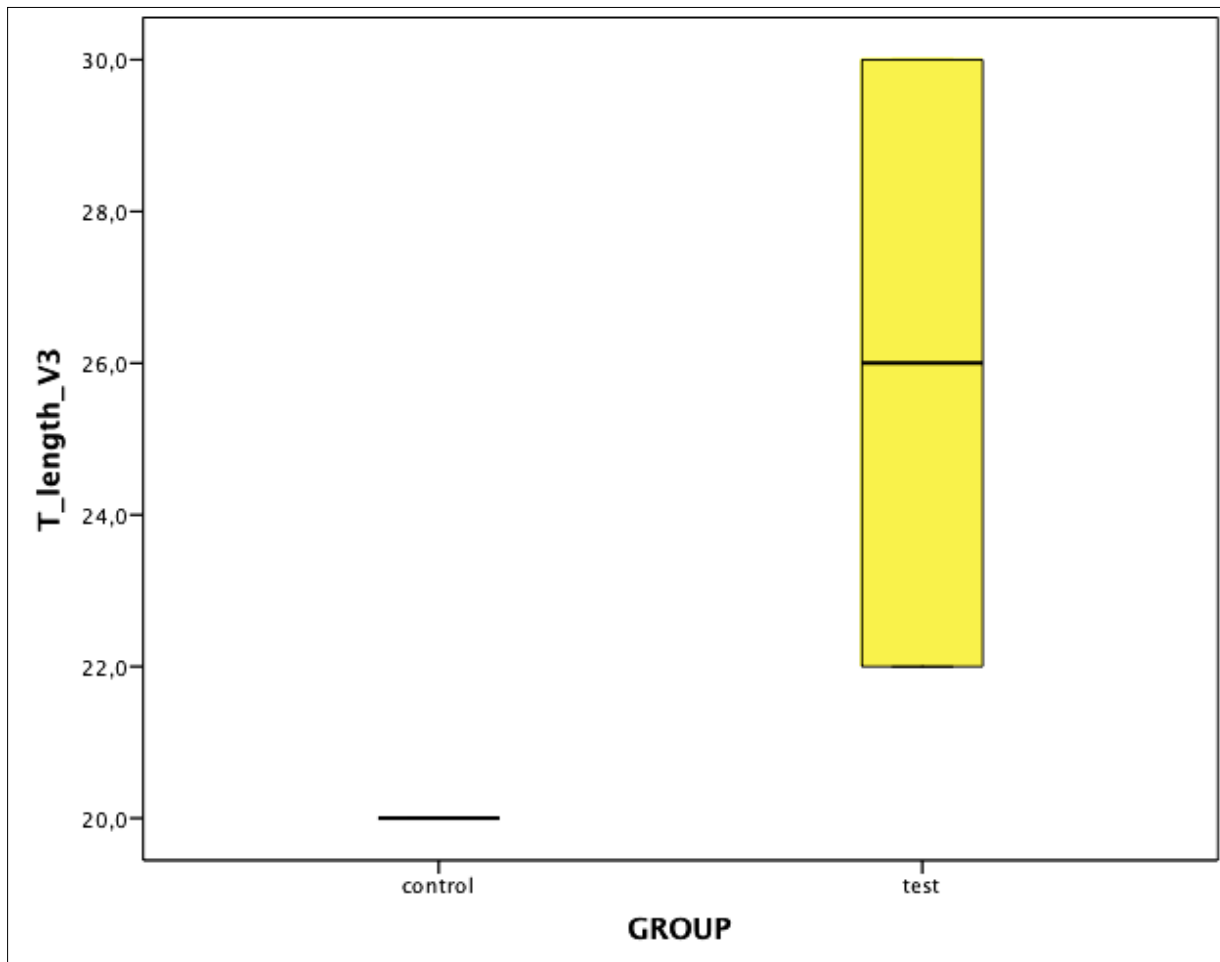


Figura 4. Longitud media de injerto mesio-distal (T_lenght_V3)

El ISQ el día de la inserción del implante para el grupo test fue (70; DS=18,3) y del control (49). Los resultados muestran que el grupo de tratamiento (Group 1) exhibe valores de ISQ más altos en todas las direcciones y zonas del implante, resultando en una mayor estabilidad del implante en comparación con el grupo control (Group 0).

Esto sugiere que el tratamiento aplicado en el grupo 1 puede ser más efectivo en mejorar la estabilidad del implante (Fig. 5)

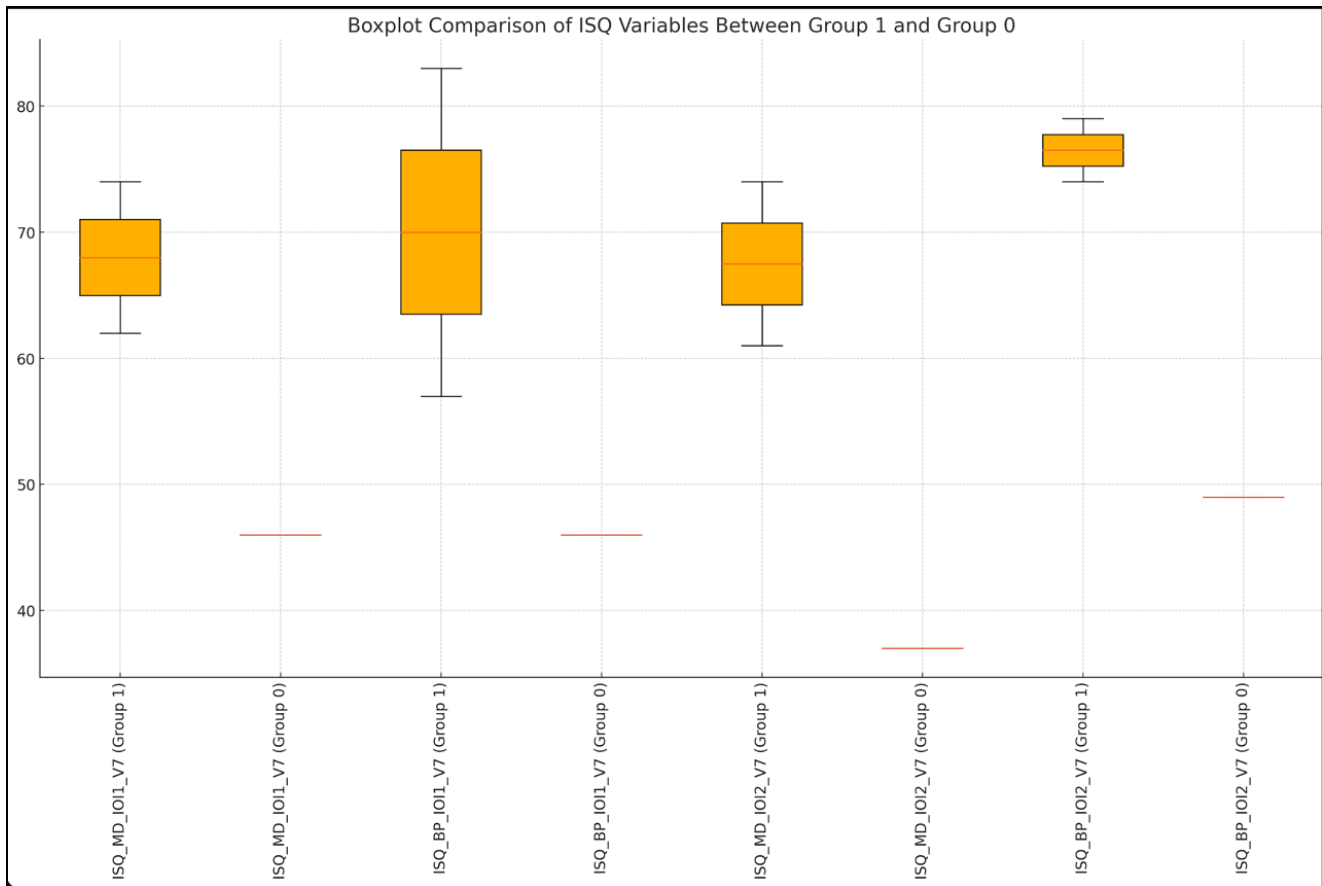


Figura 5. ISQ el día de la colocación del implante.

ISQ_MD_IOI1_V7: ISQ mesio-distal de la zona del implante 1.
ISQ_BP_IOI1_V7: ISQ buco-palatino de la zona del implante 1.
ISQ_MD_IOI2_V7: ISQ mesio-distal de la zona del implante 2.
ISQ_BP_IOI2_V7: ISQ buco-palatino de la zona del implante 2.

Discusión

El estudio comparativo evaluó dos estrategias de aumento óseo en la región posterior del maxilar y la mandíbula: una utilizando células madre mesenquimales autólogas (MSCs) combinadas con un injerto óseo sintético (fosfato de calcio bifásico, BCP) y otra empleando injertos óseos autólogos. En base a la limitada muestra evaluada de entre los pacientes del estudio, los resultados sugieren que el tratamiento con MSCs y BCP además de ser seguro, podría mejorar la anchura de la cresta ósea, la estabilidad del implante y el tamaño mesio-distal del injerto en comparación con el grupo control. Con respecto a la intensidad de dolor, los el grupo test pareciera generar más dolor al inicio del tratamiento pero al finalizar el periodo de seguimiento los valores de EVA fueron similares al grupo control.

En el presente estudio, la medición volumétrica en las imágenes de CBCT se utilizó como protocolo visual para evaluar el resultado del injerto y la posibilidad de colocación de implantes. Los cambios volumétricos en el hueso se evaluaron antes de la cirugía y cinco meses después de la regeneración ósea. Este estudio demuestra que el ancho de la cresta a 2 mm del borde de esta, aumenta con el tratamiento con células, lo que permitió la colocación de implantes en todos los pacientes.

En un estudio clínico realizado por Gjerde et al. en 2018, se obtuvieron resultados favorables para el tratamiento con células, con una ganancia media de ancho crestal a 2 mm del borde de 4,05 mm, en contraste con este estudio, donde el cambio de ancho fue de 2,14 mm. La ganancia media superior en ancho crestal en el grupo test podría explicarse por el uso de una membrana no reabsorbible, tornillos a manera de "tenting pole" e incluso el injerto de origen sintético con mayor tiempo de reabsorción, lo que proporciona ventajas en el mantenimiento del espacio frente al grupo control autólogo en su totalidad.

Esta heterogeneidad de resultados se puede apreciar en estudios como el de Palkovics y cols., quien presentó una ganancia de $5,75 \pm 0,88$ mm en defectos óseos horizontales utilizando la técnica "tenting pole" junto con xenoinjerto y membranas no reabsorbibles con refuerzo de titanio. Por otro lado, la ganancia registrada por Sijia Yang y cols. fue de $2,97 \pm 0,09$ mm, usando también "tenting pole" y xenoinjerto, pero con membranas de colágeno reabsorbibles. La variación entre los resultados de los estudios puede deberse al uso de diferentes injertos y membranas además de la habilidad del operador.

En relación con la dimensión del Injerto en sentido Mesio-Distal, el estudio muestra que el grupo tratado con MSCs alcanzó una longitud media de injerto mesio-distal mayor en comparación con el grupo de injerto autólogo. Esto es consistente con los hallazgos de otros estudios que han demostrado la efectividad de las MSCs combinadas con biomateriales sintéticos para la regeneración ósea. Felice et al. en 2009, compararon injertos óseos inlay versus onlay y encontraron que las técnicas de injerto de bloque autólogo resultan en una regeneración ósea consistente y predecible pero limitada al tamaño del bloque. Arinze et al. en 2005, encontró que las cerámicas de fosfato de calcio bifásico (BCP) son óptimas para la diferenciación osteogénica de MSCs, promoviendo una rápida

formación ósea in vivo y una degradación uniforme del material. La amplia disponibilidad de biomaterial sintético en comparación con un sitio donante intraoral podría explicar la ventaja del grupo de células al permitir tratar defectos más extensos en longitud.

Los valores de ISQ fueron más altos en el grupo de tratamiento en comparación con el grupo control, lo que indica una mayor estabilidad del implante en el grupo tratado con MSCs y BCP. Gjerde et al. (2018) evaluaron la estabilidad del implante en sitios injertados usando MSCs combinadas con un injerto óseo sintético BCP, demostrando un aumento gradual del ISQ en el grupo experimental en cada visita.

Según Sim CPC y Lang NP (2010) , los valores de ISQ por encima de 55 pueden considerarse como representativos de una estabilidad clínicamente relevante. Estos valores se ven influidos predominantemente por la estructura ósea y, en menor medida, por la longitud del implante. A lo largo del proceso de curación, se observaron aumentos continuos en los valores de ISQ, especialmente en implantes más cortos y en sitios con estructuras óseas de tipos III y IV. Aunque no se pudo definir un valor predictivo de ISQ por encima del cual se pueda garantizar la estabilidad del implante, los resultados sugieren que una mayor estabilidad está asociada con una mejor calidad ósea y la técnica quirúrgica. Sheikh et al. (2015) revisaron los materiales y técnicas utilizadas para la regeneración ósea, mencionando que las proteínas óseas podrían contribuir al grado de mineralización, grosor del hueso y resistencia biomecánica. Este estudio pretende agregar características de osteoinducción y osteogénesis al combinar sustitutos sintéticos con MSCs. Como resultado, se sugiere que las mejoras en la estabilidad del implante en el grupo tratado con células madre pueden deberse al mayor contacto del implante con el material sintético más mineralizado y a mejores propiedades biomecánicas que las del injerto autólogo; además de la variabilidad de la estructura ósea y la longitud de los implantes.

El dolor postoperatorio, medido mediante la escala visual analógica (EVA), fue similar entre ambos grupos, aunque el grupo de prueba reportó niveles ligeramente más altos en algunas visitas. Sin embargo, en la visita final, el valor EVA fue similar entre los dos grupos. La satisfacción del paciente y la calidad de vida fueron significativamente mejores en el grupo de prueba, lo que sugiere un impacto positivo del uso de MSCs y BCP.

Gjerde et al. (2020) evaluaron la satisfacción y la calidad de vida de los pacientes después de la reconstrucción alveolar avanzada con injertos óseos autólogos derivados de la cresta ilíaca. Encontraron que, aunque los pacientes experimentaban dolor postoperatorio, la mayoría reportó una mejora significativa en la función oral y la calidad de vida. El estudio también destacó la importancia de los Patient-Reported Outcome Measures (PROMs) y el requerimiento de recursos sustanciales, incluidas hospitalizaciones y bajas por enfermedad. En contraste con nuestro estudio, los pacientes tratados con MSCs y BCP experimentaron un menor dolor postoperatorio, una mejora en la calidad de vida y la función oral, además de una reducción en la necesidad de recursos adicionales asociados con el proceso de extracción de médula ósea.

Estos resultados destacan la importancia de continuar investigando y desarrollando tratamientos basados en MSCs y biomateriales sintéticos para mejorar los resultados clínicos y la experiencia del paciente en la regeneración ósea.

Conclusión

Teniendo en cuenta el limitado número de pacientes de la muestra cuyos datos se presentan en este trabajo, la combinación de MSCs procedentes de médula ósea autóloga y biomateriales sintéticos (BCP) podría proporcionar beneficios en comparación con los injertos óseos autólogos en términos de anchura de cresta ósea, dimensión mesio-distal del injerto, estabilidad del implante y menor morbilidad postoperatoria del sitio donante. Estos hallazgos sugieren que las estrategias de ingeniería de tejidos utilizando MSCs podrían ofrecer una alternativa eficaz y menos invasiva para la regeneración ósea en la práctica clínica.

Bibliografía

- Amini, Ami R., Cato T. Laurencin, and Syam P. Nukavarapu. 2012. "Bone Tissue Engineering: Recent Advances and Challenges." *Critical Reviews™ in Biomedical Engineering* 40 (5): 363–408. <https://doi.org/10.1615/CritRevBiomedEng.v40.i5.10>.
- Calori, G M, E Mazza, M Colombo, and C Ripamonti. 2011. "The Use of Bone-Graft Substitutes in Large Bone Defects: Any Specific Needs?" *Injury* 42 Suppl 2 (September): S56-63. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.06.011>.
- Chiapasco, Matteo, and Paolo Casentini. 2018. "Horizontal Bone-augmentation Procedures in Implant Dentistry: Prosthetically Guided Regeneration." *Periodontology 2000* 77 (1): 213–40. <https://doi.org/10.1111/prd.12219>.
- Dominici, M, K Le Blanc, I Mueller, I Slaper-Cortenbach, Fc Marini, Ds Krause, Rj Deans, A Keating, Dj Prockop, and Em Horwitz. 2006. "Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement." *Cytotherapy* 8 (4): 315–17. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>.
- Elnayef, Basel, Cristina Porta, Fernando del Amo, Lorenzo Mordini, Jordi Gargallo-Albiol, and Federico Hernández-Alfaro. 2018. "The Fate of Lateral Ridge Augmentation: A Systematic Review and Meta-Analysis." *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 33 (3): 622–35. <https://doi.org/10.11607/jomi.6290>.
- Fekete, Natalie, Markus T Rojewski, Daniel Fürst, Ludwika Kreja, Anita Ignatius, Julia Dausend, and Hubert Schrezenmeier. 2012. "GMP-Compliant Isolation and Large-Scale Expansion of Bone Marrow-Derived MSC." *PloS One* 7 (8): e43255. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043255>.
- Felice, Pietro, Roberto Pistilli, Giuseppe Lizio, Gerardo Pellegrino, Alessandro Nisii, and Claudio Marchetti. 2009. "Inlay versus Onlay Iliac Bone Grafting in Atrophic Posterior Mandible: A Prospective Controlled Clinical Trial for the Comparison of Two Techniques." *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 11 Suppl 1 (October): e69-82. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2009.00212.x>.
- García-Gómez, Ignacio, Gema Elvira, Agustín G Zapata, María L Lamana, Manuel Ramírez, Javier García Castro, Mariano García Arranz, Angeles Vicente, Juan Bueren, and Damián García-Olmo. 2010. "Mesenchymal Stem Cells: Biological Properties and Clinical Applications." *Expert Opinion on Biological Therapy* 10 (10): 1453–68. <https://doi.org/10.1517/14712598.2010.519333>.
- Georgeanu, Vlad Al, Oana Gingu, Iulian V. Antoniac, and Horia O. Manolea. 2023. "Current Options and Future Perspectives on Bone Graft and Biomaterials Substitutes for Bone Repair, from Clinical Needs to Advanced Biomaterials Research." *Applied Sciences (Switzerland)*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/app13148471>.
- Gjerde, Cecilie G., Siddharth Shanbhag, Evelyn Neppelberg, Kamal Mustafa, and Harald Gjengedal. 2020. "Patient Experience Following Iliac Crest-Derived Alveolar Bone Grafting and Implant Placement." *International Journal of Implant Dentistry* 6 (1). <https://doi.org/10.1186/s40729-019-0200-8>.
- Hämmerle, Christoph H. F., Ronald E. Jung, and Andreas Feloutzis. 2002. "A Systematic Review of the Survival of Implants in Bone Sites Augmented with Barrier Membranes (Guided

- Bone Regeneration) in Partially Edentulous Patients.” *Journal of Clinical Periodontology* 29 (s3): 226–31. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.29.s3.14.x>.
- Hernigou, Philippe. 2015. “Bone Transplantation and Tissue Engineering. Part II: Bone Graft and Osteogenesis in the Seventeenth, Eighteenth and Nineteenth Centuries (Duhamel, Haller, Ollier and MacEwen).” *International Orthopaedics* 39 (1): 193–204. <https://doi.org/10.1007/s00264-014-2578-5>.
- Homma, Y., G. Zimmermann, and P. Hernigou. 2013. “Cellular Therapies for the Treatment of Non-Union: The Past, Present and Future.” *Injury* 44 (January): S46–49. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(13\)70011-1](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(13)70011-1).
- Hornez, J.-C., F. Chai, F. Monchau, N. Blanchemain, M. Descamps, and H.F. Hildebrand. 2007. “Biological and Physico-Chemical Assessment of Hydroxyapatite (HA) with Different Porosity.” *Biomolecular Engineering* 24 (5): 505–9. <https://doi.org/10.1016/j.bioeng.2007.08.015>.
- Jensen, Anders Torp, Simon Storgård Jensen, and Nils Worsaae. 2016. “Complications Related to Bone Augmentation Procedures of Localized Defects in the Alveolar Ridge. A Retrospective Clinical Study.” *Oral and Maxillofacial Surgery*. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10006-016-0551-8>.
- Kuriakose, M. Abraham, Yelizaveta Shnayder, and Mark D. DeLacure. 2003. “Reconstruction of Segmental Mandibular Defects by Distraction Osteogenesis for Mandibular Reconstruction.” *Head & Neck* 25 (10): 816–24. <https://doi.org/10.1002/hed.10294>.
- Mankani, Mahesh H., Sergei A. Kuznetsov, and Pamela Gehron Robey. 2007. “Formation of Hematopoietic Territories and Bone by Transplanted Human Bone Marrow Stromal Cells Requires a Critical Cell Density.” *Experimental Hematology* 35 (6): 995–1004. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2007.01.051>.
- Mebarki, Miryam, Laura Coquelin, Pierre Layrolle, Séverine Battaglia, Marine Tossou, Philippe Hernigou, Hélène Rouard, and Nathalie Chevallier. 2017. “Enhanced Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cell Adhesion on Scaffolds Promotes Cell Survival and Bone Formation.” *Acta Biomaterialia* 59 (September): 94–107. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.06.018>.
- Palkovics D, Bolya-Orosz F, Pintér C, Molnár B, Windisch P. Reconstruction of vertical alveolar ridge deficiencies utilizing a high-density polytetrafluoroethylene membrane /Clinical Impact of FLAP dehiscence on treatment Outcomes: Case Series/. BMC Oral Health [Internet]. 15 de noviembre de 2022;22(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02513-7>
- Santamaría, Silvia, Nerea Sanchez, Mariano Sanz, and Jose A. Garcia-Sanz. 2017. “Comparison of Periodontal Ligament and Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Therapies.” *Clinical Oral Investigations* 21 (4): 1095–1102. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1867-3>.
- Sheikh, Zeeshan, Corneliu Sima, and Michael Glogauer. 2015. “Bone Replacement Materials and Techniques Used for Achieving Vertical Alveolar Bone Augmentation.” *Materials* 8 (6): 2953–93. <https://doi.org/10.3390/ma8062953>.
- Sim CPC, Lang NP. Factors influencing resonance frequency analysis assessed by Osstellmentor during implant tissue integration. I. Instrument positioning, bone structure, implant length. Clin. Oral Impl. Res. 21, 2010; 598–604. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01878.x

- Stumbras, Arturas, Martynas Mantas Krukis, Gintaras Januzis, and Gintaras Juodzbaly. 2019. "Regenerative Bone Potential after Sinus Floor Elevation Using Various Bone Graft Materials: A Systematic Review." *Quintessence International (Berlin, Germany : 1985)* 50 (7): 548–58. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a42482>.
- Swan, M.C., and T.E.E. Goodacre. 2006. "Morbidity at the Iliac Crest Donor Site Following Bone Grafting of the Cleft Alveolus." *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 44 (2): 129–33. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2005.04.015>.
- Tan, Wah Lay, Terry L. T. Wong, May C. M. Wong, and Niklaus P. Lang. 2012. "A Systematic Review of Post-extractonal Alveolar Hard and Soft Tissue Dimensional Changes in Humans." *Clinical Oral Implants Research* 23 (s5): 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x>.
- Tang, Daniel, Rahul S Tare, Liang-Yo Yang, David F Williams, Keng-Liang Ou, and Richard O C Oreffo. 2016. "Biofabrication of Bone Tissue: Approaches, Challenges and Translation for Bone Regeneration." *Biomaterials* 83 (March): 363–82. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.01.024>.
- Véron, C, M Chanavaz, J Ferri, M Donazzan, and H F Hildebrand. 1995. "[A Panorama of Current Materials for Osseous Application in Maxillofacial Surgery and Oral Implantology]." *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale* 96 (4): 274–81.
- Wang, Ying, Xiaodong Chen, Wei Cao, and Yufang Shi. 2014. "Plasticity of Mesenchymal Stem Cells in Immunomodulation: Pathological and Therapeutic Implications." *Nature Immunology* 15 (11): 1009–16. <https://doi.org/10.1038/ni.3002>.
- Yang S, Wang S, Shen X, Xu Y, Chen C, He F. Radiographic Evaluation of the tenting screw technique in horizontal alveolar bone augmentation: a Retrospective study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* [Internet]. 2 de mayo de 2023;25(3):564-74. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/cid.13213>

Apéndice

	Screening	Randomization	Treatment and follow-up, ATMP group subjects									End of study
	-27 ±2		-15 ±2	0	14 ±2	30 ±7	159 ±15	165 ±14	180 ±15	270 ±15	300 ±15	630 ±15
Months after start of treatment					1	5	5,5	6	9	10	21	
	V1		V2a	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
Informed consent ¹	X*											
INC/EXC	X*											
Randomization		X*										
Demographics ²	x											
Medical and dental history ³	x											
Clinical examination	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Clinical photographs	x			x	x	x		x	x	x	x	x
Impression dental arches	x						X			x		
QoL assessment (OHIP-14)	x				x							x
VAS				x ⁴	x	x			x	x	x	
CBCT scan	x				x		x					
Blood sampling ⁵	x				x							
Liquid biopsy ⁶	x				x							
Bone marrow aspiration			x									
Ridge width measurement ⁷				x				x				
Grafting procedure (surgery)				x								
Drug accountability/ Investigational device log				x								
Suture removal					x				x			
Soft tissue healing					x	x						
Oral hygiene instructions					x							
Bone core biopsy retrieval and implant placement								x				
Implants Ostell measurements ⁸								x		x	x	x
Radiography ⁹	x								x		x	x
Prosthetic restoration											x	
Concomitant medication	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
AE-reporting	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Apéndice 1. Diagrama de flujo Agenda protocolizada.

Inclusion Criteria

- Written informed consent
- Patient should be able to understand and complete the informed consent
- Age 18 years or older
- Insufficient bone ridge width (\leq than 4 mm) and or height at the recipient site for titanium dental implant placement
- Patient should be eligible for bone marrow harvest and bone transplant
- Healthy oral mucosa, at least 2 mm keratinized mucosa
- Female candidates of child bearing potential (WOCBP) -as defined by CTFG ²- must be referred to their physician for a pregnancy test ^{1,2} before inclusion in the study. The pregnancy tests should be prescribed by the investigation center and be at the expense of the project. In case of a negative pregnancy test their physician will be asked to prescribe one of the highly effective birth control methods recommended by CTFG ² which includes:
 1. Combined estrogen and progestogen containing contraceptives that are associated with inhibition of ovulation (oral, intravaginal or transdermal).
 2. Progestogen-only hormonal contraceptives associated with inhibition of ovulation (oral, injectable or implantable).
 3. Intrauterine devices.
 4. Intrauterine hormone-releasing system.
 5. Bilateral tubal occlusion.
- The WOCBP candidates will only be included in the study if the pregnancy tests are negative. These patients must continue using the contraceptives until the placement of dental implants (5 months after bone augmentation procedure considering that pregnancy is not considered as a contraindication for normal dental implant).
- Female candidates that have entered menopause for less than 12 months must also be referred to confirm post-menopausal state by testing the level of follicle stimulating hormone (FSH).

Apéndice 2. *Criterios de inclusión de protocolo original del estudio.*

Exclusion Criteria

- General contraindications for dental and/or surgical treatments
- Contraindications for both bone marrow harvesting and bone grafts:
 - General:
 - Patients with severe bone marrow diseases such as leukemias, lymphomas, and myelodysplastic syndromes.
 - Patients with severe respiratory disease, chronic respiratory failure, medical history of generalized allergic manifestation.
 - Patients with a history of severe osteoporosis.
 - Patients suffering from any serious coagulation disorders that could require substitution therapy.
 - Patients receiving anticoagulant treatment should be adjusted in collaboration with the treating physician.
 - Patients with total hip prosthesis
 - Local:
 - Patients with active infection at the harvest site
 - Patients with previous pathology or trauma at the harvest site
- History of any malignant diseases
- Concurrent or previous radiotherapy of head and neck region
- History of contagious diseases (HIV, HTLV and/or syphilis seropositivity, hepatitis B or C infection)
- Uncontrolled diabetes mellitus, e.g. patients with diabetes not regulated with medications or diet. This will be verified based on patient's history and concurrent HbA1c levels (HbA1c > 53 mmol/mol).
- Inflammatory and autoimmune disease of the oral cavity.
- Concurrent or previous immunosuppressant, bisphosphonate or high dose corticosteroid therapy.
- Patients with a history of drug addiction.
- Patients with known hypersensitivity against paracetamol, codein or xylocaine.
- Thin keratinized mucosa (< 1mm)
- Current smokers and those who have quitted smoking in the last 4 weeks (there is evidence that nicotine and cotinine levels disappear after 4 weeks of non-smoking).
- Pregnant or lactating women.
- Participation in an investigational device, drug or biologics study within the last 24 weeks prior to the study start

Apéndice 3. Criterios de exclusión del protocolo original.