ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Luis Alberto
Chauca Bajaña

Tesis doctoral

Regeneración Periodontal con células madre obtenidas de la pulpa dental (DPSC) y otros biomateriales

Santiago de Compostela, 2024

Programa de Doutoramento en Ciencias Odontolóxicas

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL DA USC

TESIS DOCTORAL

REGENERACIÓN PERIODONTAL CON CÉLULAS MADRE OBTENIDAS DE LA PULPA DENTAL (DPSC) Y OTROS BIOMATERIALES

Autor:
Luis Alberto Chauca Bajaña

Director:
Dr. Mario Pérez-Sayáns García

Codirector:
Dra. María Elena Padín Iruegas

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN CIENCIAS ODONTOLÓXICAS

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2024

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERES

REGENERACIÓN PERIODONTAL CON CÉLULAS MADRE OBTENIDAS DE LA PULPA DENTAL (DPSC) Y OTROS BIOMATERIALES

LUIS ALBERTO CHAUCA BAJAÑA:

Declara no tener ningún conflicto de interés en relación con esta tesis doctoral.

En Santiago de Compostela, 2024

Fdo. Luis Alberto Chauca Bajaña

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DEDICATORIA

A Dios por darme la sabiduría de seguir adelante preparándome académicamente.

A mis Padres, Ing. Jacqueline Bajaña y Sub-Oficial pasivo Henrry Chauca, mi hermana Ab. Melannie y mi Tio Demetrio por darme principios y valores desde muy niño.

A mi amada esposa MSc. Kerly Vera, por compartir conmigo cada instante en este proceso, por darme ánimos y fuerzas para seguir adelante y no darme por vencido, gracias por tu positivismo de siempre.

A mi hermano (+) Jairon, gracias, por tanto, te lo dedico con todo mi corazón y allá arriba te sientas orgulloso de mi.

A mis abuelitos (+) por haber estado conmigo en todo momento

Este éxito es el resultado del esfuerzo y el amor que cada miembro de mi familia ha dedicado a mi educación y crecimiento.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

AGRADECIMIENTOS

A mis profesores, el Dr. Mario Pérez-Sayáns García y la Dra. Elena Padin Iruegas, por compartir sus conocimientos, brindarme consejo, orientarme en todo momento y demostrarme una infinita paciencia. Gracias por guiarme en el fascinante mundo de la investigación. Su constante apoyo, experiencia y sabiduría han sido pilares esenciales para mi crecimiento académico y profesional, iluminando mi camino a lo largo de esta travesía.

A la Universidad de Santiago de Compostela, mi segunda casa durante estos años, le extiendo mi más sincero agradecimiento. Esta institución me ha brindado recursos académicos excepcionales, así como un entorno enriquecedor y colaborativo que ha impulsado mi crecimiento.

Al Dr. Byron Velásquez Ron, por guiarme en este proceso y brindarme su apoyo incondicional.

A mis Dres. Alba Pérez Jardón, Fábio França, Vito Carlo Alberto, Benjamín Martin Biedma, Elena Padín Iruegas gracias por brindarme sus conocimientos y consejos.

A todas las autoridades y miembros del Programa de Doctorado en Ciencias Odontológicas, les expreso mi gratitud por haber creado un entorno de aprendizaje enriquecedor y por su valiosa contribución a mi desarrollo académico-científico.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

RESUMEN

Introducción: La periodoncia se centra en la prevención y regeneración de los tejidos que sostienen las piezas dentales, pero a pesar de los avances en tratamientos convencionales, no se ha logrado una regeneración completa de los tejidos periodontales. La regeneración tisular mediante células madre, particularmente las obtenidas de la pulpa dental, representa una técnica prometedora debido a su capacidad de autorrenovación y diferenciación.

Objetivo: El objetivo principal de esta tesis es estudiar diferentes técnicas y materiales para la regeneración periodontal, centrándose en la evaluación de su eficacia y su potencial de aplicación en tratamientos clínicos. Los objetivos específicos incluyen comparar la eficacia de las células madre mesenquimales (MSCs) combinadas con materiales regenerativos frente a otros tratamientos, realizar un metaanálisis para evaluar la eficacia de diversos biomateriales en la regeneración ósea periodontal, y analizar los errores metodológicos en el cultivo de células madre de la pulpa dental y su impacto en la cantidad y calidad celular obtenida.

Materiales y Métodos: El primer estudio se basó en una revisión sistemática y metaanálisis sobre el uso de células madre mesenquimales en la regeneración ósea periodontal. La búsqueda bibliográfica se realizó mediante MESH, siguiendo las pautas PRISMA, y se incluyeron 18 estudios cualitativos y 5 estudios cuantitativos. Tres grupos fueron comparados: (1) MSCs combinadas con materiales regenerativos, (2) solo materiales regenerativos y (3) sin tratamiento.

En un segundo estudio, se realizó una revisión sistemática sobre el uso de plasma rico en fibrina (PRF) en la regeneración de defectos periodontales, incluyendo 32 estudios de 284 seleccionados. Las medidas incluyeron la reducción de profundidad de sondaje (PD), ganancia del nivel de inserción clínica (CAL) y el relleno óseo radiográfico (RBF).

El tercer estudio se realizó una revisión sistemática que incluyó 26 estudios que evaluaron la cobertura radicular y se incluyeron 14 artículos para el metaanálisis. Se analizaron tres grupos: el grupo 1 comparó la técnica de túnel (TT) con injerto de tejido

USC UNIVERSIDADE

conectivo (CTG) versus CAF (colgajo de avance coronal) con CTG; el grupo 2 examinó TT con CTG y/u otros biomateriales versus TT con CTG solo; el grupo 3 comparó TT con CAF, independientemente de los biomateriales complementarios.

El cuarto estudio abordó complicaciones metodológicas en el cultivo de células madre de la pulpa dental, utilizando una muestra de ocho terceros molares. Las células fueron procesadas y cultivadas en Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) bajo observación microscópica para evaluar el crecimiento y la adherencia celular.

Resultados: En el primer estudio, se encontró que el tamaño del efecto para la regeneración de cemento radicular en el Grupo 1 (MSCs) fue de 2,83 mm (IC 95%: 0,48-5,17 mm), con una alta heterogeneidad (I^2 = 92,33%, p < 0,0001), lo que indica variabilidad entre estudios. Para la formación de hueso, el tamaño del efecto fue menor (0,88 mm, IC 95%: -0,25-2,01 mm), y la heterogeneidad fue igualmente alta (I^2 = 80,46%, p = 0,0004).

En el segundo estudio, el uso de PRF combinado con desbridamiento con colgajo abierto (OFD) y otros tratamientos mostró una mejora significativa en PD y CAL. Sin embargo, algunas combinaciones como PRF con injerto óseo (BG) y PRF con metformina resultaron en una reducción del CAL.

El tercer estudio, se determinó que en el grupo 1, TT con CTG mostró una mayor cobertura radicular media (MRC) en comparación con la técnica CAF con CTG (−8,68; IC95% −17,19 a −0,17; p = 0,0457). En el grupo 2, la combinación de TT con CTG y/o biomateriales adicionales obtuvo una MRC (4,17; IC95% −17,91 a 26,26; p = 0,7110) y una cobertura radicular completa (CRC) (0,37; IC95% −1,14 a 1,89; p = 0,6269) comparables a la TT con CTG solo, con algunas variaciones en la ganancia de tejido queratinizado. En el grupo 3, se observó una posible MRC más alta para la TT frente a la CAF (5,73; IC95% −8,90 a 13,55; p = 0,685), aunque sin alcanzar significancia estadística.

El cuarto estudio reveló complicaciones en el cultivo de células madre, como la presencia de partículas no disueltas y contaminación bacteriana. La tinción de Gram mostró bacterias Gram+ en algunos grupos, lo que afectó negativamente el cultivo.

Conclusión: Esta investigación demuestra el potencial regenerativo de las células madre de la pulpa dental en la regeneración periodontal, aunque destaca los retos metodológicos en su cultivo. Los resultados muestran que las MSCs, cuando se combinan con materiales regenerativos, tienen un impacto positivo en la regeneración del cemento

radicular, aunque la heterogeneidad alta sugiere la necesidad de más estudios para optimizar los protocolos. El uso de PRF mostró ser efectivo en mejorar la regeneración de defectos periodontales, pero es esencial seleccionar cuidadosamente las combinaciones de tratamientos. La TT con CTG podría lograr una cobertura radicular superior en comparación con la técnica de CAF con CTG. No obstante, es fundamental considerar la elección del biomaterial en función de cada caso para optimizar los resultados. Finalmente, los problemas metodológicos en el cultivo de células madre subrayan la importancia de estandarizar los procedimientos para maximizar los resultados regenerativos en futuras investigaciones.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

RESUMO

Introdución: A periodoncia céntrase na prevención e rexeneración dos tecidos que sosteñen as pezas dentais, pero a pesar dos avances en tratamentos convencionais, non se logrou unha rexeneración completa dos tecidos periodontais. A rexeneración tisular mediante células nai, particularmente as obtidas da polpa dental, representa unha técnica prometedora debido á súa capacidade de autorrenovación e diferenciación.

Obxectivo: O obxectivo principal desta tese é estudar diferentes técnicas e materiais para a rexeneración periodontal, centrándose na avaliación da súa eficacia e do seu potencial de aplicación en tratamentos clínicos. Os obxectivos específicos inclúen comparar a eficacia das células nai mesenquimais (MSCs) combinadas con materiais rexenerativos fronte a outros tratamentos, realizar unha meta-análise para avaliar a eficacia de diversos biomateriais na rexeneración ósea periodontal, e analizar os erros metodolóxicos no cultivo de células nai da polpa dental e o seu impacto na cantidade e calidade celular obtida.

Materiais e Métodos: O primeiro estudo baseouse nunha revisión sistemática e meta-análise sobre o uso de células nai mesenquimais na rexeneración ósea periodontal. A busca bibliográfica realizouse mediante MESH, seguindo as pautas PRISMA, e incluíronse 18 estudos cualitativos e 5 estudos cuantitativos. Comparáronse tres grupos: (1) MSCs combinadas con materiais rexenerativos, (2) só materiais rexenerativos e (3) sen tratamento.

Nun segundo estudo, realizouse unha revisión sistemática sobre o uso de plasma rico en fibrina (PRF) na rexeneración de defectos periodontais, incluíndo 32 estudos de 284 seleccionados. As medidas incluíron a redución da profundidade de sondaxe (PD), ganancia do nivel de inserción clínica (CAL) e o recheo óseo radiográfico (RBF).

O terceiro estudo realizou unha revisión sistemática que incluíu 26 estudos que avaliaron a cobertura radicular e incluíronse 14 artigos para a meta-análise. Analizáronse tres grupos: o grupo 1 comparou a técnica de túnel (TT) con enxerto de tecido conxuntivo (CTG) fronte a CAF (colgajo de avance coronal) con CTG; o grupo 2 examinou TT con

USC UNIVERSIDADE

CTG e/ou outros biomateriais fronte a TT con CTG só; o grupo 3 comparou TT con CAF, independentemente dos biomateriais complementarios.

O cuarto estudo abordou complicacións metodolóxicas no cultivo de células nai da polpa dental, usando unha mostra de oito terceiros molares. As células foron procesadas e cultivadas en Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) baixo observación microscópica para avaliar o crecemento e a adhesión celular.

Resultados: No primeiro estudo, atopouse que o tamaño do efecto para a rexeneración de cemento radicular no Grupo 1 (MSCs) foi de 2,83 mm (IC 95%: 0,48-5,17 mm), cunha alta heteroxeneidade (I^2 = 92,33%, p < 0,0001), o que indica variabilidade entre estudos. Para a formación de óso, o tamaño do efecto foi menor (0,88 mm, IC 95%: -0,25-2,01 mm), e a heteroxeneidade foi igualmente alta (I^2 = 80,46%, p = 0,0004).

No segundo estudo, o uso de PRF combinado con desbridamento con colgajo aberto (OFD) e outros tratamentos mostrou unha mellora significativa en PD e CAL. Porén, algunhas combinacións como PRF con enxerto óseo (BG) e PRF con metformina resultaron nunha redución de CAL.

No terceiro estudo, determinouse que no grupo 1, TT con CTG mostrou unha maior cobertura radicular media (MRC) en comparación coa técnica CAF con CTG (−8,68; IC95% −17,19 a −0,17; p = 0,0457). No grupo 2, a combinación de TT con CTG e/ou biomateriais adicionais obtivo unha MRC (4,17; IC95% −17,91 a 26,26; p = 0,7110) e unha cobertura radicular completa (CRC) (0,37; IC95% −1,14 a 1,89; p = 0,6269) comparables a TT con CTG só, con algunhas variacións na ganancia de tecido queratinizado. No grupo 3, observouse unha posible MRC máis alta para a TT fronte a CAF (5,73; IC95% −8,90 a 13,55; p = 0,685), aínda que sen alcanzar significancia estatística.

O cuarto estudo revelou complicacións no cultivo de células nai, como a presenza de partículas non disoltas e contaminación bacteriana. A tinción de Gram mostrou bacterias Gram+ nalgúns grupos, o que afectou negativamente o cultivo.

Conclusión: Esta investigación demostra o potencial rexenerativo das células nai da polpa dental na rexeneración periodontal, aínda que destaca os retos metodolóxicos no seu cultivo. Os resultados mostran que as MSCs, cando se combinan con materiais rexenerativos, teñen un impacto positivo na rexeneración do cemento radicular, aínda que a alta heteroxeneidade suxire a necesidade de máis estudos para optimizar os protocolos. O

uso de PRF mostrou ser efectivo en mellorar a rexeneración de defectos periodontais, pero é esencial seleccionar con coidado as combinacións de tratamentos. A TT con CTG podería lograr unha cobertura radicular superior en comparación coa técnica de CAF con CTG. Non obstante, é fundamental considerar a elección do biomaterial en función de cada caso para optimizar os resultados. Finalmente, os problemas metodolóxicos no cultivo de células nai subliñan a importancia de estandarizar os procedementos para maximizar os resultados rexenerativos en futuras investigacións.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ABSTRACT

Introduction: Periodontics focuses on the prevention and regeneration of tissues that support dental structures. Despite advances in conventional treatments, complete regeneration of periodontal tissues has not yet been achieved. Tissue regeneration using stem cells, particularly those obtained from dental pulp, represents a promising technique due to their self-renewal and differentiation capacities.

Objective: The primary aim of this thesis is to study various techniques and materials for periodontal regeneration, with a focus on assessing their effectiveness and potential for application in clinical treatments. The specific objectives include comparing the efficacy of mesenchymal stem cells (MSCs) combined with regenerative materials against other treatments, conducting a meta-analysis to evaluate the effectiveness of different biomaterials in periodontal bone regeneration, and analyzing methodological errors in the cultivation of dental pulp stem cells and their impact on the quantity and quality of cells obtained.

Materials and Methods: The first study was based on a systematic review and meta-analysis on the use of mesenchymal stem cells in periodontal bone regeneration. A literature search was conducted using MESH terms, following PRISMA guidelines, and included 18 qualitative studies and 5 quantitative studies. Three groups were compared: (1) MSCs combined with regenerative materials, (2) regenerative materials alone, and (3) no treatment.

In a second study, a systematic review was conducted on the use of platelet-rich fibrin (PRF) in the regeneration of periodontal defects, including 32 studies out of 284 selected. The measures included probing depth (PD) reduction, clinical attachment level (CAL) gain, and radiographic bone fill (RBF).

The third study involved a systematic review that included 26 studies evaluating root coverage, with 14 articles included in the meta-analysis. Three groups were analyzed: group 1 compared the tunnel technique (TT) with connective tissue graft (CTG) versus coronally advanced flap (CAF) with CTG; group 2 examined TT with CTG and/or other

USC UNIVERSIDADE

biomaterials versus TT with CTG alone; group 3 compared TT with CAF, regardless of complementary biomaterials.

The fourth study addressed methodological complications in the cultivation of dental pulp stem cells, using a sample of eight third molars. The cells were processed and cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) under microscopic observation to evaluate cell growth and adhesion.

Results: In the first study, the effect size for root cementum regeneration in Group 1 (MSCs) was found to be 2.83 mm (95% CI: 0.48-5.17 mm), with high heterogeneity (I^2 = 92.33%, $p < 0.0001$), indicating variability among studies. For bone formation, the effect size was smaller (0.88 mm, 95% CI: -0.25-2.01 mm), and heterogeneity was also high (I^2 = 80.46%, $p = 0.0004$).

In the second study, the use of PRF combined with open flap debridement (OFD) and other treatments showed a significant improvement in PD and CAL. However, some combinations, such as PRF with bone graft (BG) and PRF with metformin, resulted in a reduction in CAL.

In the third study, it was determined that in group 1, TT with CTG showed greater mean root coverage (MRC) compared to the CAF technique with CTG (−8.68; 95% CI −17.19 to −0.17; p = 0.0457). In group 2, the combination of TT with CTG and/or additional biomaterials achieved an MRC (4.17; 95% CI −17.91 to 26.26; p = 0,7110) and complete root coverage (CRC) (0.37; 95% CI −1.14 to 1.89; p = 0,6269) comparable to TT with CTG alone, with some variations in keratinized tissue gain. In group 3, a possible higher MRC was observed for TT compared to CAF (5.73; 95% CI −8.90 to 13.55; p = 0,685), although without reaching statistical significance.

The fourth study revealed complications in stem cell culture, such as the presence of undissolved particles and bacterial contamination. Gram staining showed Gram-positive bacteria in some groups, which negatively impacted the culture.

Conclusion: This research demonstrates the regenerative potential of dental pulp stem cells in periodontal regeneration, although it highlights the methodological challenges in their culture. The results show that MSCs, when combined with regenerative materials, have a positive impact on root cementum regeneration, although the high heterogeneity suggests the need for further studies to optimize protocols. The use of PRF proved effective in enhancing the regeneration of periodontal defects, but careful selection of

treatment combinations is essential. TT with CTG could achieve superior root coverage compared to the CAF technique with CTG. Nonetheless, it is crucial to consider the choice of biomaterial based on each case to optimize outcomes. Finally, the methodological issues in stem cell culture underscore the importance of standardizing procedures to maximize regenerative outcomes in future research.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ABREVIATURAS

ABG:	Injerto óseo autólogo
ATV:	Atorvastatina
BG:	Injerto óseo
BMSC:	Células madre de la medula ósea
CAF:	Colgajo de avance coronal
CAL:	Nivel de inserción clínica
CM:	Células madre
CRC:	Cobertura radicular completa
CTG:	Injerto de tejido conectivo
DC:	Células dendríticas
DFDBA:	Aloinjerto óseo desmineralizado y liofilizado
DME:	Matriz derivada del esmalte
DMEM:	Medio Modificado de Eagle de Dulbecco
DPSC:	Células madre mesenquimales de la pulpa dental
EGF:	Factor de crecimiento epidermal
EP:	Epitelio
FBS:	Suero fetal bovino
GBR:	Regeneración ósea guiada
GMSCs:	Células madre procedentes del tejido gingival
GTR:	Regeneración tisular guiada
HA/TCP:	Hidroxiapatita y Fosfato Tricálcico
HGF:	Factor de crecimiento de hepatocitos
IC:	Intervalo de confianza
IGF-I:	Factor de crecimiento similar a la insulina I
ihPDLSC:	Células madre de ligamento periodontal inflamado humano
IL:	Interlucinas

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

KGF o FGF-7:	Factor de crecimiento de queratinocitos
LU:	Lumen
MF:	Metformina
MO:	Material Osteoconductor
MRC:	Cobertura radicular media
MSCs:	Células madre mesenquimales
NC:	Cresta neural
NMA:	Metaanálisis en red
OFD:	Colgajo abierto
OMLP-PCs:	Células madre procedentes de la lámina propia del a mucosa oral
OMMSCs:	Células madre procedentes de la médula ósea de mandíbula
PBS:	Solución Salina Amortiguadora de Fosfatos de Dulbecco
PD:	Profundidad de sondaje
PDL:	Ligamento periodontal humano
PDL-MSC:	Células madre mesenquimales del ligamento periodontal
PDLSCs:	Células madre procedentes del ligamento periodontal
PL-MSCs:	Células madre procedentes del tejido inflamatorio periapical
PRF:	Plasma rico en fibrina
PRP:	Plasma rico en plaquetas
RBF:	Relleno óseo radiográfico
RC:	Conducto radicular
RoB:	Evaluación del riesgo de sesgo
ROSU:	Rosuvastatina
SCAPs:	Células madre procedentes de la papila apical
SHED:	Células madre procedentes del folículo dental
SUCRA:	superficie bajo las curvas de clasificación acumulativa
SYRCLE:	Centro de Revisión Sistemática para la Experimentación con Animales de Laboratorio
TNF-α:	Factor de necrosis tumoral alfa
TT:	Técnica de túnel
VEGF:	Factor de crecimiento vascular endotelial

USC
DE COMPOSTELA

Índice General

DEDICATORIA 7

AGRADECIMIENTOS 9

RESUMEN 11

RESUMO 15

ABSTRACT 19

ABREVIATURAS 23

1. INTRODUCCIÓN 31

1.1 Enfermedad Periodontal 31

1.2 Células madre 31

1.3 Células madre mesenquimales 32

1.4 Tipos de células madre obtenidas de los tejidos orofaciales y dentales 33

1.5 Células madre mesenquimales de la pulpa dental (DPSC) 34

1.6 Células madre procedentes del ligamento periodontal (PDLSCs) 35

1.7 Células madre procedentes del folículo dental (SHED) 36

1.8 Células madre procedentes de la papila apical (SCAPs) 38

1.9 Células madre procedentes del tejido gingival (GMSCs) 39

1.10 Células madre procedentes del tejido inflamatorio periapical (PL-MSCs) 40

1.11 Células madre procedentes de la lámina propia del a mucosa oral (OMLP-PCs) 41

1.12 Células madre procedentes de la médula ósea de mandíbula (OMMSCs) 42

1.13 Células madre mesenquimales de la médula ósea (BMMSC) 44

1.14 Avances en la Regeneración Periodontal: Biomateriales y Terapias Innovadoras 44

1.15 Avances en la Regeneración de la Pulpa Dental: El Rol de las Células Madre 45

1.16 Histología Pulpar: Estructura y Función del Tejido Pulpar 47

1.17 Tipos de Patologías Pulpares 47

1.18 Injerto Óseo 50

1.19 Regeneración Tisular Guiada 51

2 JUSTIFICACIÓN 55

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS 59

3.1 Hipótesis 59

3.2 Objetivos..... 59

3.2.1 Objetivo general..... 59

3.2.2 Objetivos específicos 59

4. MATERIAL Y MÉTODOS.....63

4.1 Regeneracion periodontal con celulas madre mesenquimales..... 63

4.1.1 Protocolo y registro..... 63

4.1.2 Pregunta de investigación 63

4.1.3 Fuentes de información y estrategia de búsqueda..... 63

4.1.4 Criterio de elegibilidad..... 64

4.1.5 Proceso de selección de estudios y extracción de datos..... 64

4.1.6 Evaluación de la calidad y riesgo de sesgo. 65

4.1.7 Análisis estadístico..... 66

4.1.7.1 Análisis cualitativo 66

4.1.7.2 Metaanálisis 66

4.2 Regeneración Periodontal con Plasma Rico en Fibrina. 67

4.2.1 Protocolo y registro..... 67

4.2.2 Pregunta de investigación 67

4.2.3 Estrategia de búsqueda..... 67

4.2.4. Criterio de elegibilidad..... 68

4.2.4.1 Criterios de inclusión 68

4.2.4.2 Criterio de exclusión..... 68

4.2.4.3 Cribado de estudios y extracción de datos. 68

4.2.4.4 Evaluación del riesgo de sesgo (RoB) 68

4.2.5. Análisis estadístico..... 69

4.2.5.1 Análisis cualitativo 69

4.2.5.2 Metaanálisis 69

4.2.5.3 Metaanálisis en red 70

4.3 Recubrimiento radicular con técnica de Colgajo de avance coronal versus técnica de tunelización. 71

4.3.1 Protocolo y registro..... 71

4.3.2 Pregunta de investigación 71

4.3.3 Estrategia de búsqueda y cribado de bases de datos 71

4.3.4 Criterios de elegibilidad..... 72

4.3.5 Proceso de selección de estudios y extracción de datos..... 72

4.3.6 Evaluación de la calidad y del riesgo de sesgo 73

4.3.7 Análisis estadístico..... 73

4.4 Protocolo de Aislamiento de Células Madre Obtenidas de la Pulpa Dental. 74

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.4.1 Selección de la muestra 74
4.4.1.1 Descripción de la nomenclatura: 75
4.4.1.2 Recolección de la muestra 75
4.4.1.3 Preparación de la muestra 75
4.4.2 Medio de aislamiento inicial para células madre 76
4.4.3 Tratamientos aplicados 76
4.4.4 Caracterización de células madre 78

5. RESULTADOS 81

5.1 Regeneración Periodontal con células madre mesenquimales. 81
5.1.1 Selección de estudios 81
5.1.2 Riesgo de sesgo 82
5.1.3 Análisis Cualitativo: Características Clínicas y Regeneración Periodontal 83
5.1.4 Metaanálisis de la Regeneración de Cemento Radicular 85
5.1.5 Metaanálisis de hueso nuevo 86

5.2 Regeneración Periodontal con Plasma Rico en Fibrina. 88
5.2.1 Selección de estudios 88
5.2.1.1 Riesgo de sesgo 90
5.2.1.2 Metaanálisis 92
5.2.1.3 Metaanálisis en red 101

5.3 Técnicas de cobertura radicular: comparación entre colgajo de avance coronal y técnica de túnel 110
5.3.1 Características del estudio y tipo de intervención 111
5.3.2 Riesgo de sesgo 111
5.3.3 Metaanálisis 113
5.3.4 Grupo 1: Técnica de túnel con tejido conectivo vs. colgajo de avance coronal con tejido conectivo 114
5.3.5 Grupo 2: Técnica de túnel con conectivo y/o otros materiales vs. Técnica de túnel con conectivo 115
5.3.6 Grupo 3: Técnica de Túnel vs. Colgajo Coronal (Sin Considerar el Material Coadyuvante Utilizado) 116

5.4 Protocolo de Aislamiento de Células Madre Obtenidas de la Pulpa Dental. 117

6. DISCUSIÓN 125

6.1 Discusión de regeneración periodontal con células madre mesenquimales 125

6.2 Discusión de regeneración de defectos óseos periodontales con PRF. 128

6.3 Recubrimiento radicular con técnica de Colgajo de avance coronal versus Tunelización 131

6.4 Errores metodológicos en obtención de células madre de la pulpa dental 133

7. CONCLUSIÓN 141

USC DE COMPOSTELA

8. REFERENCIAS 145

9. ÍNDICE DE FIGURAS 183

10. ÍNDICE DE TABLAS 189

11. APÉNDICES 193

11.1 Artículo 1 193

11.2 Artículo 2 213

11.3 Artículo 3 237

12. ANEXOS 257

ANEXO 1. Dictámenes del comité de ética de la investigación 259

ANEXO 2. Autorizaciones 261

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1. INTRODUCCIÓN

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ENFERMEDAD PERIODONTAL

La enfermedad periodontal es una patología inflamatoria, crónica multifactorial, el principal factor etiológico es el biofilm, que contiene una matriz extracelular compuesta por carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y otras macromoléculas derivadas tanto de los microorganismos residentes en el biofilm como del huésped, que en conjunto con los factores locales y sistémicos ocasionan la destrucción de los tejidos de soporte del diente (encía, hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento radicular) [1] [2.] El problema que representa la pérdida ósea es la disminución de la función, salud y estética de los tejidos periodontales[3]. En la enfermedad periodontal unas de las principales características es la disminución de la altura del hueso alveolar, ocasionando muchas veces movilidad dentaria y con frecuencia perdida del diente si no es tratado a tiempo [4]. La regeneración ósea guiada es la formación de nuevo hueso en los defectos óseos, comprende el uso de membranas con funciones de barrera aptas para evitar la infiltración, en la zona de reparación, de componentes celulares (células epiteliales y conjuntivas) distintos a células osteopromotoras [5]. Unos de los objetivos de la terapia regenerativa es estimular las células somáticas para formar nuevamente los tejidos perdidos [6]. El descubrimiento de las células madre de la pulpa dental son un tipo de células que muestran potencial regenerativo del tejido periodontal.

En la actualidad se estudian las células madre obtenidas de la pulpa dental como una nueva neurogénesis, ya que son similares a las células madre de la cresta neural y pueden diferenciarse en células neuronales y además poseen la capacidad de formar la capacidad de formar cartílago y hueso [7].

1.2 CÉLULAS MADRE

La medicina regenerativa es la disciplina médica que se ha basado fundamentalmente en los nuevos conocimientos sobre las células madre (CM) y en su capacidad de convertirse en células de diferentes tejidos[8]. Las células madre son células que tienen la

capacidad de generar uno o más tipos de células especializadas y de autorrenovarse, la multidiferenciación de las CM se da por una población celular con características morfológicas y funcionales estables dando como resultado células de reemplazo[9]. En el cuerpo humano existen un sin números de tipos de células madre, que se pueden clasificar de acuerdo a su potencial de diferenciación en Totipotentes, Pluripotentes, Multipotentes, Oligopotentes, Unipotentes[10] [11] [12]. Y de acuerdo con su origen (o según su estado evolutivo), hay dos tipos principales de CM: las embrionarias y las posnatales o adultas[13].

1.3 CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Las células madre mesenquimales son células indiferenciadas las cuales muestran un amplio potencial proliferativo, multipotencial, tropismo y funciones inmunosupresoras, como han sugerido varios estudios in vitro e in vivo[14]. Estas células presentan un aspecto fibroblástico que pueden multiplicarse y diferenciarse en tejido adiposo, condroblastos y osteoblasto entre otros[15]. La terapia con células madre mesenquimales ha demostrado asombrosas capacidades regenerativas en enfermedades orofaciales, neurológicas, corneales, cardiovasculares, hepáticas, diabéticas, renales, distrofias musculares y autoinmunes[16] [17]. Las MSC pueden ser aisladas de diversas fuentes, incluyendo médula ósea, sangre del cordón umbilical, tejido adiposo, páncreas, hígado, músculo esquelético, dermis y membrana sinovial, y existen fuentes alternativas, como el líquido amniótico y la gelatina de Wharton del cordón umbilical[18].

El Comité de Células Madre Tisulares y Mesenquimales de la Sociedad Internacional de Terapia Celular ha establecido criterios mínimos para definir las MSC humanas. Primero, las MSC deben adherirse a una placa Petri condiciones de cultivo estándar. Segundo, deben expresar los marcadores CD105, CD73 y CD90, y no deben expresar CD45, CD34, CD14 ó CD11b, CD79alfa o CD19, ni moléculas de superficie HLA-DR. Finalmente, deben ser capaces de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condroblastos in vitro[19]. (Figura 1)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

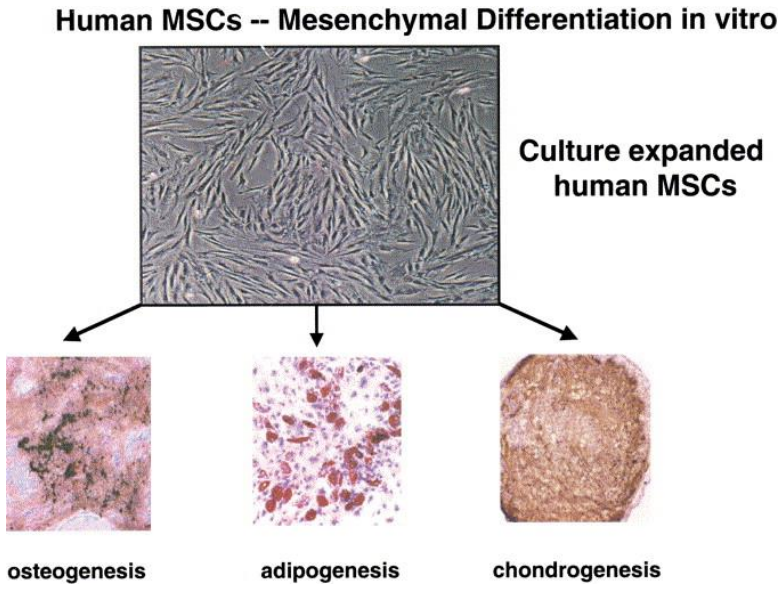


Figura 1. Diferenciación de Células Madre Mesenquimales Humanas. Imagen tomada de Deans, R J, and A B Moseley [20]. Copyright: 2000, Elsevier. Mesenchymal stem cells Biology and potential clinical uses. Experimental Hematology.

1.4 TIPOS DE CÉLULAS MADRE OBTENIDAS DE LOS TEJIDOS OROFACIALES Y DENTALES

En la cavidad bucal, las MSC se pueden encontrar en la pulpa dental (DPSC) [21], dientes primarios exfoliados (SHED)[22], ligamento periodontal (PDLSC)[23], papila apical (SCAP)[24], folículo dental (DFSC)[25], medula ósea de huesos orofaciales (BMSC)[26], células madre gingivales derivadas de la mesénquima (GMSC)[27], periostio (PSC)[28], glándulas salivales (SGSC)[29] y/o germen de diente permanente (TGPC)[30]. (Figura 2)

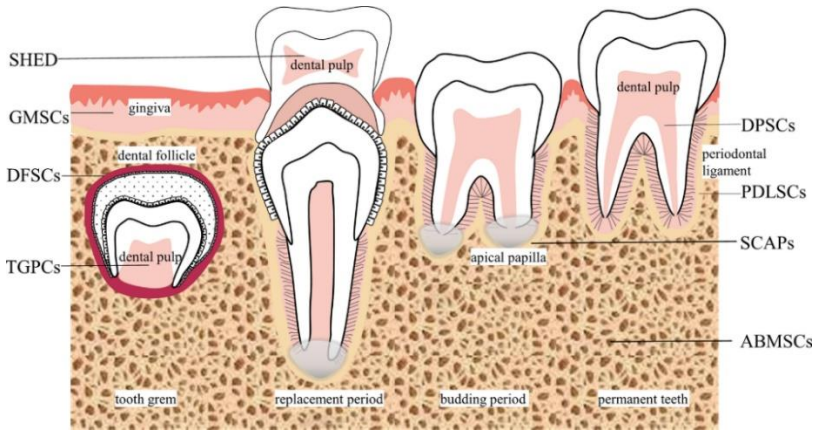


Figura 2. Tipos de células madre, imagen tomada de Jie Zhao et al [30]. Copyright © 2023, licencia Creative Commons CC BY. Oral cavity-derived stem cells and preclinical models of jaw-bone defects for bone tissue engineering. Stem Cell Research & Therapy.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.5 CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE LA PULPA DENTAL (DPSC)

Las DPSC se encuentran dentro del diente y están inmersas por una población celular heterogénea que incluye fibroblastos, células endoteliales, células perivasculares, células neurales, odonto-osteoprogenitores, y células inflamatorias e inmunitarias [31] [32]. El descubrimiento inicial de las DPSC se atribuye al trabajo innovador de Gronthos et al[33].Desde un punto de vista embriológico, estas células tienen su origen en la cresta neural, lo que implica que tienen un origen ectodérmico[34]. Además, han demostrado capacidad de adherencia plástica, lo que permite unirse firmemente al cultivo celular y propiedades clonogénicas que pueden generar colonias de células idénticas a partir de una sola célula[35].

La investigación ha evidenciado que la extracción de terceros molares es capaz de generar suficiente tejido pulpar dental para aislar DPSC de manera efectiva[36] [37]. En la literatura, se describen dos métodos fundamentales para aislar células madre del tejido pulpar dental: (a) el método de explante y (b) el método de digestión enzimática del tejido pulpar. El primer método consiste en la extracción quirúrgica del tejido pulpar y el cultivo de células a partir de fragmentos de tejido, mientras que el segundo método emplea colagenasa y dispasa para digerir la pulpa dental[38] [39] [40]. Posteriormente, las células se cultivan en placas de cultivo, permitiendo su proliferación. Durante este proceso, las DPSC son identificadas y caracterizadas mediante citometría de flujo, utilizando la tinción de marcadores específicos[41] [26].

Actualmente, existen varios protocolos para el aislamiento, expansión y mantenimiento de DPSC[42] [43] [44]. Suchánek et al. demostraron que las DPSC pueden realizar hasta 60 duplicaciones de población en un medio de cultivo diseñado para la médula ósea[45]. El Alami et al. describieron que las células cultivadas al 3% de O2 experimentan un nivel significativamente menor de estrés oxidativo en comparación con aquellas cultivadas al 21% de O2, lo que resulta en una mayor proliferación celular en condiciones de 3% de O2[46].

En los protocolos de cultivo de DPSC, se usa suero fetal bovino (FBS), cuya composición y porcentaje varía entre casas comerciales, dificultando la reproducibilidad de los experimentos. El uso de suplementos de origen no humano sigue siendo un tema de debate debido al riesgo de contaminación con patógenos humanos como virus, micoplasmas, priones u otros agentes tóxicos o inmunogénicos[47]. Actualmente, la abundancia de estudios científicos sobre DPSC ha complicado la estandarización de los

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

protocolos de aislamiento y la comparación de los resultados obtenidos en diferentes investigaciones[48]. Los marcadores celulares específicos que presentan son: CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD166, STRO-1 [49], siendo negativos para: CD14, CD34, CD45 y HLA-DR [50]. Las DPSC han sido sugeridas como una terapia prometedora para los defectos óseos en la ingeniería de tejidos[51 52].

1.6 CÉLULAS MADRE PROCEDENTES DEL LIGAMENTO PERIODONTAL (PDLSCS)

El ligamento periodontal humano (PDL) es un tejido blando diferenciado que une la raíz del diente con el hueso alveolar y contiene una variedad de células, como formadoras de fibras, células endoteliales, células epiteliales, osteoblastos, cementoblastos y restos celulares de Malassez [53 54]. Por lo tanto, las células del PDL tienen perfiles de expresión genética más similares a las células del folículo dental que a los osteoblastos y cementoblastos del hueso alveolar, indicando que el PDL está compuesto principalmente por células mesenquimales del folículo dental[55]. Seo et al. fueron los primeros en reportar la existencia de células madre mesenquimales en el tejido del PDL (PDL-MSC) [56].

Además, este tipo de células madre se pueden diferenciar en otros tipos de células como osteoblastos/cementoblastos, adipocitos, células osteogénicas, adipogénicas y condrogénicas, y recientemente se ha descubierto que también tienen potencial de diferenciación neurogénica y angiogénica[57 58]**.** Estudios realizados en perros Beagle con defectos óseos periodontales de una pared utilizando PDL-MSC determinaron que las láminas de PDLC son una herramienta prometedora para la regeneración periodontal[59]. Las fibras colágenas generadas in vivo en humanos se unieron con la nueva estructura de cemento imitando la unión fisiológica de las fibras de Sharpey sugiriendo, que las PDLSC podrían contener un subgrupo de células capaces de diferenciarse en cementoblastos/cementocitos y células formadoras de colágeno[60].

La investigación sugiere que el gen ADAM28 regula la proliferación y apoptosis de las PDLSCs durante la morfogénesis dentaria, presentando un potencial tratamiento para la hipoplasia congénita radicular, un desorden evolutivo sin cura actual[61]. El potencial osteogénico se ha demostrado por su capacidad para formar una matriz mineralizada con depósitos de calcio 14 días después de la exposición a medios inductores de diferenciación osteogénica[62]. Además, se verificó mediante experimentos in vitro que estas células expresan los marcadores CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD59, CD73, CD90, CD105,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

CD106, CD146 y CD166, y tienen la capacidad de diferenciarse en linajes odontoblástico, osteoblástico, adipogénico y condrogénico[57 63]. (Figura 3)

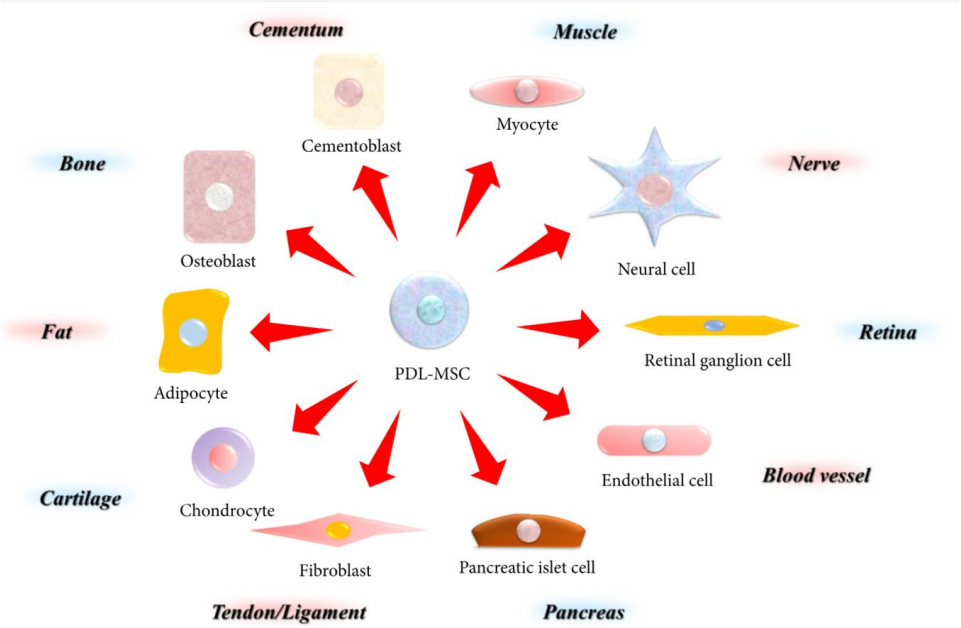


Figura 3. Multipotencia de las PDLSCs, imagen tomada de Atsushi Tomokiyo et al [58]. Copyright © 2018. Detection, Characterization, and Clinical Application of Mesenchymal Stem Cells in Periodontal Ligament Tissue. Stem Cells International.

1.7 CÉLULAS MADRE PROCEDENTES DEL FOLÍCULO DENTAL (SHED)

Las células madre de la pulpa dental de dientes deciduos exfoliados (SHED) son una población de células madre inmaduras y fácilmente accesibles, con capacidad para inducir células madre pluripotentes y diferenciarse en osteoblastos, hepatocitos, adipocitos, células neurales, condrocitos, miocitos, células de la piel y odontoblastos[64]. Las SHED es un grupo de células madre aisladas obtenidas de la pulpa dental residual de dientes temporales exfoliados[65].

En la actualidad, se ha planteado la notable capacidad de adaptación de las células madre posnatales, donde las células madre derivadas del sistema nervioso pueden participar en la producción de células sanguíneas y tejido muscular esquelético[66]. Las células aisladas de la pulpa dental humana son clonogénicas y tienen potencial de diferenciación multipotente, lo que sugiere que son SHED[67]. Estas células madres se consideran una valiosa fuente de células madre debido a su fácil obtención y su potencial en aplicaciones regenerativas[68].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Se está investigando la posibilidad de que las SHED desempeñen un papel crucial en la composición epitelial para la reparación o regeneración del diente, debido a que sus características morfológicas sugieren un fenotipo de células madre epiteliales, con potencial para expresar marcadores específicos de epitelio[69]. Se ha investigado el potencial de las SHED para diferenciarse en células angiogénicas, cuya capacidad inductora es crucial para la regeneración del tejido conjuntivo. La diferenciación de las SHED hacia células endoteliales requiere la presencia del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)[70]. La pulpa residual de los dientes deciduos exfoliados es una fuente confiable de SHED.

Hasta la fecha, no se ha demostrado la obtención de SHED a partir de animales en la investigación científica[26 71]. Se ha investigado la formación ósea inducida por SHED en experimentos in vivo, Seo et al. realizaron trasplantes de implantes SHED/HA-TCP en defectos de la calvaria de ratones inmunocomprometidos, encontrando que las SHED repararon los defectos con mayor rapidez y con una formación ósea significativa en comparación con el grupo control (trasplante de portador de HA/TCP sin SHED)[72]. Estas células expresan marcadores de superficie como CD13, CD29, CD44, CD56, CD73, CD90, CD105, CD146 y CD166, lo cual es característico de células mesenquimales[73]. Sin embargo, no expresan los marcadores de superficie CD14, CD34, CD45 ni HLA-DR, que son típicamente encontrados en células hematopoyéticas y células del sistema inmune, sugiriendo así un perfil inmunofenotípico que es consistente con células mesenquimales estromales[22 74] (Figura 4).

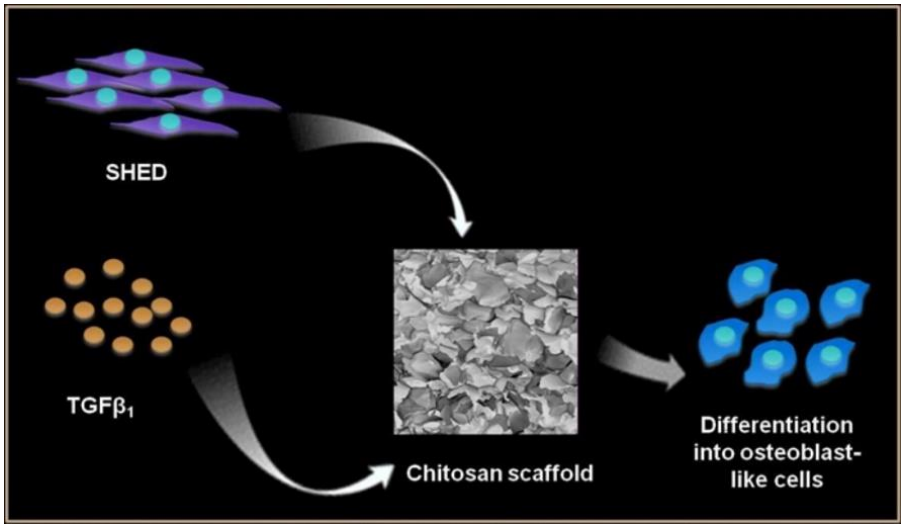


Figura 4. Diferenciación celular de la SHED, imagen tomada de Farea, Manal et al [75]. Copyright 2014. Synergistic effects of chitosan scaffold and TGFß1 on the proliferation and osteogenic differentiation of dental pulp stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth. Archives of Oral Biology.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.8 CÉLULAS MADRE PROCEDENTES DE LA PAPILA APICAL (SCAPS)

La papila apical de la raíz podría albergar una población de células madre o progenitoras[76]. Este tipo de células madre son altamente plásticas y tienen la capacidad de diferenciarse en odontoblastos, osteoblastos, adipocitos y condrocitos[77]. Y fueron identificadas por primera vez por Sonoyama et al [78]. Los SCAP muestran alta viabilidad y capacidad de diferenciación multipotente, incluyendo odontogénica, osteogénica, neurogénica y adipogénica[79]. Además, junto con las células madre del ligamento periodontal (PDLSC), los SCAP pueden regenerar una raíz biológica con ligamento periodontal in vivo[76] [80]. Además, muestra un mayor grado de proliferación y mineralización potencial que las DPSCs [81]. Este tipo de células madre tienen la capacidad de mostrar un marcador específico, el CD24, el cual no se encuentra presente en otras células madre[82]. Esto sugiere que las SCAPs podrían tener características únicas que las distinguen de otras poblaciones de células madre[83]. Y tienen una notable capacidad de proliferación y duplicación, así como una fuerte capacidad de regeneración, impulsada por la alta actividad de la telomerasa y una migración mejorada en comparación con las DPSCs, obtenidas y cultivadas bajo las mismas condiciones del mismo diente [84]. Se ha demostrado que estas células tienen un alto índice de regeneración de la pulpa, dentina, ligamento periodontal[85] [86], por otro lado, no se ha identificado la formación de hueso o cemento [87]. También se ha demostrado que la epigalocatequina-3-galato añadida en el medio de cultivo con las SCAPs obtuvo una elevada tasa de proliferación, incremento en la deposición mineral y actividad de la fosfatasa alcalina, además de una mayor expresión de marcadores odontogénicos y osteogénicos, como la sialoproteína ósea y el colágeno tipo 1[88]. Una característica notable de las SCAP es su capacidad para expresar múltiples marcadores neuronales incluso en ausencia de estimulación neurogénica, lo que sugiere un posible origen en la cresta neural[83] [84]. Como resultado, las SCAP podrían tener aplicaciones potenciales no solo en odontología, sino también en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas e isquémicas, así como en la investigación sobre diabetes y otras áreas de la medicina regenerativa[89]. Los resultados mostraron que las SCAP en el pase 1 expresaban diversos marcadores de superficie, como STRO-1, ALP, CD24, CD29, CD73, CD90, CD105, CD106, CD146 y CD166, y eran negativas para CD34, CD45, CD18 y CD150 [90] [88].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.9 CÉLULAS MADRE PROCEDENTES DEL TEJIDO GINGIVAL (GMSCS)

Este tejido oral distintivo alrededor del reborde alveolar y la región retromolar desempeña un papel crucial como barrera mucosa biológica [91]. Este tipo de células fueron aisladas del tejido gingival humano por primera vez por Zhang et al. [82]. El tejido conectivo de la encía se desarrolla tanto a partir de la cresta neural como del mesénquima, al igual que la mayoría de los tejidos craneofaciales [92 93]. (Figura 5)

La cresta neural (NC) se origina en el borde de la placa neural y está constituida por una población singular de células madre multipotentes que emergen durante el desarrollo embrionario de los vertebrados [94]. Una característica destacada de la encía es su notable capacidad para regenerarse y sanar heridas rápidamente, reconstituyendo la estructura del tejido con mínima formación de cicatrices, en contraste con la cicatrización comúnmente observada en la piel [95]. La mayor ventaja de utilizar tejido gingival es la capacidad de obtener una cantidad significativa de células madre sin la necesidad de extraer un diente de manera irreversible para acceder a su pulpa, ligamento periodontal o folículo dental [96].

Las células madre derivadas de la encía (GMSC) son fácilmente accesibles, poseen funciones inmunomoduladores y antiinflamatorias, y tienen la capacidad de diferenciarse en múltiples tipos celulares [97]. Estas células mostraron una mayor capacidad de proliferación o un menor tiempo de duplicación de la población en comparación con las MSC derivadas de la médula ósea (BMSC), según varias líneas de evidencia [98 99]. Y poseen menos potenciales osteogénicos que las PDLSC [100]. Se ha evidenciado que las células madre mesenquimales derivadas de tejidos gingivales (GMSC) tienen efectos inmunomoduladores potentes sobre las células del sistema inmunitario innato, especialmente sobre los macrófagos, las células dendríticas (DC) y los mastocitos [101].

Además, las GMSCs fueron identificadas como células que se adhieren a la placa del cultivo celular y presentan una morfología similar a la de los fibroblastos [102], y exhiben clonogenicidad, capacidad de autorrenovación y pueden diferenciarse en adipocitos, osteoblastos, condrocitos, células endoteliales y neurales[103]. Estas células madre expresaron los siguientes marcadores asociados a MSC: CD166, CD146, CD106, CD105, CD90, CD73, CD44 y CD29, pero no expresaron CD117, CD45 o CD34 [104].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

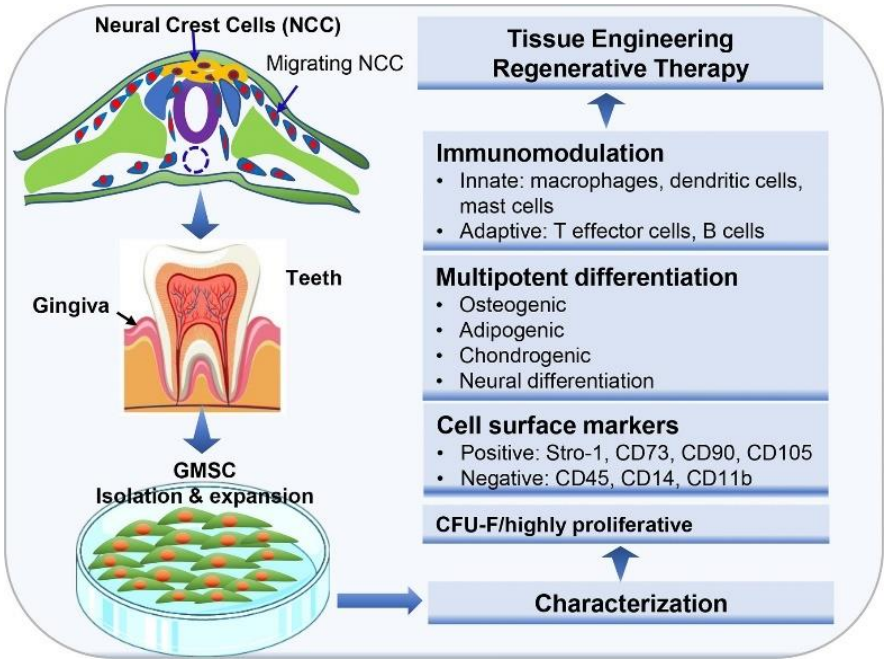


Figura 5 Aislamiento y caracterización de células madre mesenquimales derivadas de tejidos gingivales de origen de la cresta neural. Imagen tomada de Kim D et al [97]. Copyright © 2021, Licencia de Atribución Creative Commons (CC BY) Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells: Potential Application in Tissue Engineering and Regenerative Medicine - A Comprehensive Review. Frontiers in Immunology.

1.10 CÉLULAS MADRE PROCEDENTES DEL TEJIDO INFLAMATORIO PERIAPICAL (PL-MSCS)

La pulpa dental, cuando se expone a microorganismos y sus productos debido a caries, fracturas o tratamientos dentales, provoca una respuesta inflamatoria en esa área [105]. (Figura 6) Lo cual conlleva a periodontitis apical, que es consecuencia de una infección dentro del diente y ocurre como una respuesta defensiva del cuerpo ante los microorganismos que se propagan desde el sistema de conductos radiculares [106]. La composición celular de las lesiones periapicales humanas incluye linfocitos T, B y "nulos", células plasmáticas, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares y mastocitos[107]. Además, presentan una mayor expresión de moléculas de adhesión, factores quimiotácticos y liberación de citoquinas T helper (Th)1 y Th17, incluyendo las interleucinas (IL)-1 y IL-6, y el factor de necrosis tumoral (TNF)-α [108 109].

Estudios han descrito la presencia de MSCs en tejidos pulpares inflamados[110]. Encontrando que las MSCs de los tejidos dentales patológicos poseen muchas similitudes con las MSCs de tejidos sanos[111]. En la actualidad se ha descrito que las células madre de ligamento periodontal inflamado humano (ihPDLSC) se aislaron exitosamente del tejido inflamado del ligamento periodontal y mantuvieron su capacidad de regenerar el cemento y

los tejidos relacionados con el PDL[112]. Además, este tipo de células poseen características antiinflamatorias e inmunomoduladores[113], Estas células tienen la capacidad de transformarse en adipocitos, osteoblastos y condrocitos en condiciones de laboratorio [114].

Además, se ha comprobado que, al ser implantadas en ratas inmunodeprimidas, pueden generar tejido mineralizado [113]. Los resultados mostraron que las PL-MSCs expresaban diversos marcadores de superficie, como STRO-1, CD90, CD105 y CD146, y eran negativas para CD45, CD19 y CD14 [110 111 115 116].

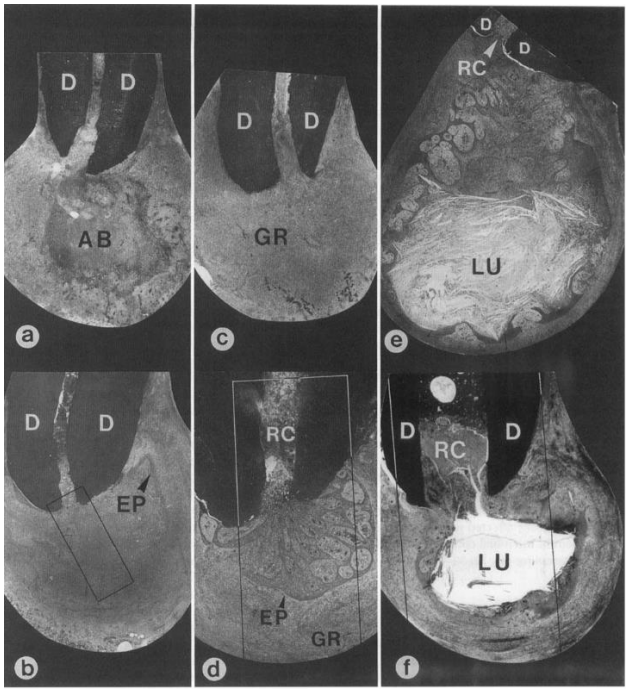


Figura 6: Tipos de lesiones de periodontitis apical. Histopatológicamente, las lesiones de periodontitis apical pueden clasificarse en absceso (AB; a, b), granuloma (GR; c, d) y quiste (e, f). Dependiendo de la presencia o ausencia de epitelio (EP), los dos primeros se subdividen en lesiones epitelizadas (b, d) y no epitelizadas (a, c). Los quistes pueden diferenciarse en quistes periapicales verdaderos (e) con un lumen (LU) completamente cerrado y quistes periapicales de bolsillo (f) con cavidades (LU) abiertas al conducto radicular (RC). Las áreas delimitadas en b, d y f están ampliadas en la Fig. 7a, 11b y 12b respectivamente. D, dentina. Ampliación: a-c, e: x15; d: x23; f: x2. Imagen tomada de Nair, P N R [105]. Copyright Clearance Center. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. Periodontology 2000

1.11 CÉLULAS MADRE PROCEDENTES DE LA LÁMINA PROPIA DEL A MUCOSA ORAL (OMLP-PCS)

La cicatrización de heridas en la mucosa oral se distingue por una menor inflamación, una reepitelización rápida y respuestas específicas de los fibroblastos[117]. Los fibroblastos de la mucosa oral (OMF) tienen una notablemente mayor capacidad para proliferar, migrar y repoblar heridas, debido a su mayor longevidad proliferativa [118]. Se ha

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

descrito células progenitoras en la capa basal del epitelio de la mucosa oral llamadas OMLO-PCs [119]. Estas células proviene de un tejido singular ubicado alrededor de los puentes alveolares y la región retromolar, conocido por funcionar como una barrera biológica de mucosa [120]. Se obtienen a partir de biopsias de la mucosa bucal mediante un proceso de adhesión diferencial a la fibronectina[121].

Las OMLO-PCs se diferencian en condrocitos, osteoblastos, células del endodermo y células neurales (neuronas y células de Schwann) [122]. Además de su plasticidad, las OMLP-PC muestran fuertes propiedades inmunosupresoras, inhibiendo la proliferación de linfocitos de manera independiente de la dosis y el contacto directo, lo que sugiere que los factores secretados juegan un papel crucial en su mecanismo de acción[123]. La comparación entre las células progenitoras de la lámina propia de la mucosa oral y las poblaciones de células madre en la dermis de la piel sugiere la presencia de una importante capacidad regenerativa en la OMLP [124].

Los estudios destacan la producción elevada de factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) por parte de los fibroblastos de la mucosa oral, lo que subraya la relevancia de estas células en la promoción del proceso de cicatrización y regeneración tisular [125]. Se ha comprobado que este factor de crecimiento incrementa el desplazamiento y diferenciación de varios tipos de células madre, como las hematopoyéticas [126]. Estas células madre expresaron los siguientes marcadores asociados a MSC: CD44+CD90+CD105+CD166+ positivas y CD34−CD45− negativas[127].

1.12 CÉLULAS MADRE PROCEDENTES DE LA MÉDULA ÓSEA DE MANDÍBULA (OMMSCS)

Las células madre mesenquimales que se encuentran en la médula ósea tienen un alto potencial de diferenciación[128]. Esto significa que pueden convertirse en varias formas de células especializadas, lo que las hace muy valiosas para la investigación médica y la terapia celular, ya que podrían ser utilizadas para regenerar tejidos óseos, cartilaginosos y grasos[129]. Los dientes y los huesos de la mandíbula se desarrollan a partir de células específicas llamadas células de la cresta neural craneal, que tienen la capacidad de migrar y contribuir a la formación de estas estructuras esqueléticas en la región orofacial[130]. La cresta neural, presente en los vertebrados, es una fuente de células con la capacidad de transformarse en diversos tipos celulares (pluripotentes) [131].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Estas células se desarrollan a partir de las estructuras llamadas crestas laterales de la placa neural durante las primeras etapas de la formación del embrión[132]. Las células de la cresta neural son cruciales para el desarrollo de varias estructuras y tejidos en el organismo [133]. Se ha demostrado que las células madre mesenquimales (MSC) humanas obtenidas de la médula ósea orofacial tienen características diferentes de las MSC humanas obtenidas de la médula ósea de huesos largos (BMMSC) en cuanto a sus capacidades de diferenciación [134]. Las OMSCs no expresaron marcadores hematopoyéticos (CD14, CD34 y CD45), pero fueron positivas para los marcadores asociados a MSC (CD73, CD105, CD106, SSEA-4 y Octámero-4) [135].

Las OMSC expresan marcadores de células madre embrionarias como SSEA-4 y Oct-4 en niveles más altos que las BMMSC[136]. Estos marcadores son típicos de células madre en etapas tempranas de desarrollo, sugiriendo que las OMSC podrían contener una subpoblación más primitiva de células madre mesenquimales comparadas con las BMMSC, con posibles implicaciones importantes para la investigación y aplicaciones terapéuticas[137]. Las OMMSCs de ratón demostraron una capacidad superior en diferenciación osteogénica, con niveles más altos de marcadores osteoblásticos, y una capacidad similar a las BMMSCs en diferenciación adipogénica y condrogénica [135]. (Figura 7)

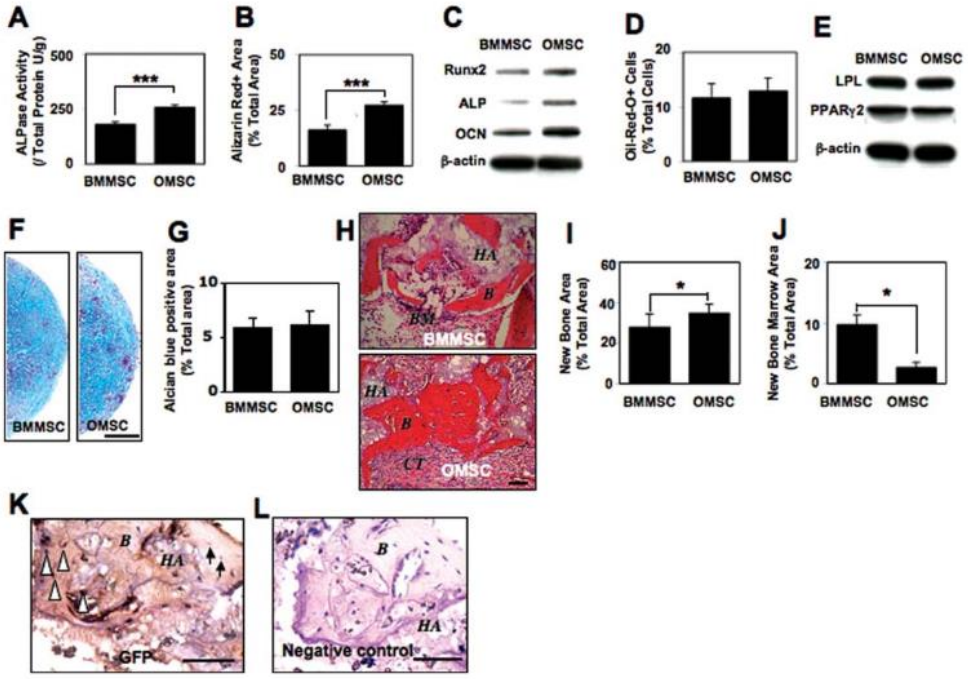


Figura 7: Capacidad de diferenciación multi-linaje de OMSCs de ratón. Imagen tomada de Yamaza et al [135]. Copyright Clearance Center 2011. Mouse Mandible Contains Distinctive Mesenchymal Stem Cells. Journal of Dental Research.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.13 CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES DE LA MÉDULA ÓSEA (BMMSC)

Las BMMSC son células madre multipotentes que se encuentran en el organismo después del nacimiento[138]. Estas células tienen la capacidad de transformarse en varios tipos de células especializadas, incluyendo osteoblastos (células formadoras de hueso), condrocitos (células del cartílago), adipocitos (células grasa), cardiomiocitos (células del músculo cardíaco) y mioblastos (células precursoras del músculo esquelético)[139]. Es conocido que los osteoblastos generan nueva matriz ósea con el propósito de equilibrar la resorción ósea que realizan los osteoclastos durante el proceso de remodelación ósea, lo que es fundamental para mantener la homeostasis del sistema hueso/médula[140].

La médula ósea alberga al menos dos tipos distintos de células madre con la capacidad de convertirse en varios tipos de células, desempeñando un papel crucial en la reparación de tejidos. Estas son las células madre hematopoyéticas (HSC) y las células madre mesenquimales (MSC)[141]. Friedenstein fue el pionero en aislar células madre mesenquimales de la médula ósea (BMSC) y demostró su capacidad para formar tejido óseo, basándose en su característica de adherirse al medio de cultivo [142]. Este tipo de células madre se han aislado de diversos huesos, como el ilion, el fémur, la tibia y la columna vertebral[143]. Se ha reportado que la interacción entre las células madre mesenquimales de médula ósea (BMMSC) y los osteoblastos con las HSC juega un papel crucial en la regulación del sistema inmunológico[144]. Estas células expresan los marcadores CD166, CD146, CD105, CD90, CD73, CD71, CD44, CD29 y CD13, pero no presentan los marcadores CD45, CD34, CD31, CD19, CD14 o CD11b[145 134].

1.14 AVANCES EN LA REGENERACIÓN PERIODONTAL: BIOMATERIALES Y TERAPIAS INNOVADORAS

La periodontitis es una enfermedad crónica caracterizada por la inflamación y destrucción de los tejidos de soporte del diente, que, si no se trata a tiempo, puede llevar a la pérdida prematura de los dientes[146]. La progresión de la periodontitis causa daños significativos en los tejidos periodontales, sin embargo, la utilización de biomateriales, agentes biológicos y terapias con células madre, junto con la regeneración tisular guiada (GTR), puede facilitar la recuperación de los tejidos periodontales saludables una vez controlada la inflamación local[147].

Diversas técnicas quirúrgicas han sido empleadas para abordar esta condición, incluyendo la implantación de injertos óseos y/o sustitutos óseos, la desmineralización de la superficie de la raíz, factores de crecimiento y diferenciación, proteínas de la matriz del

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

esmalte, y combinaciones de estos métodos [148]. Durante los tratamientos de GTR o regeneración ósea guiada (GBR), se coloca una membrana de barrera entre el tejido blando y el área del defecto periodontal[149].

Varios estudios han demostrado resultados positivos sobre la manipulación adecuada, la biocompatibilidad de estas membranas, así como sus características clave de rendimiento, tales como el bloqueo celular y la creación de espacio[150]. Otra alternativa muy eficaz para la regeneración periodontal es el injerto de (MSC[151]. Las MSC juegan un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis del periodonto y se consideran progenitoras osteogénicas cuando se encuentran en la médula ósea, el periostio, LPD e incluso la encía[152]. Además, se ha sugerido que las MSC exógenas o alogénicas podrían tener una alta probabilidad de éxito en la regeneración del tejido periodontal en pacientes mayores[153].

Tanto los estudios histológicos como clínicos han demostrado que la regeneración periodontal es efectiva para tratar defectos de furcación de Clase II en el maxilar, tanto en las zonas faciales e interproximales, como en la mandíbula, en las áreas faciales y linguales[154]. Estas innovaciones en las técnicas y materiales utilizados en la regeneración periodontal ofrecen una perspectiva prometedora para el tratamiento de la periodontitis, mejorando significativamente la calidad de vida de los pacientes afectados[155].

1.15 Avances en la Regeneración de la Pulpa Dental: El Rol de las Células Madre

Los tratamientos convencionales para la pulpa dental, generalmente, implican la eliminación del tejido enfermo y su posterior reemplazo con biomateriales[16]. Sin embargo, la regeneración parcial o, total, de la pulpa se está explorando como una alternativa emergente, especialmente en dientes jóvenes[156]. Las DPSCs han surgido como elementos clave en la regeneración tisular[157]. Estas células, aisladas de dientes permanentes o deciduos, son altamente clonogénicas y tienen la capacidad de diferenciarse en varios tipos celulares, además de mostrar propiedades neurovasculares[40].

La pulpa dental, fundamental para la función dental, exhibe una gran diversidad biológica y microambientes con propiedades mecánicas que varían considerablemente[158]. Las DPSCs, siendo células mesenquimales con capacidad de diferenciación múltiple derivadas de la pulpa dental, son cruciales en la investigación de la regeneración biológica[159]. La pulpa dental se considera una fuente valiosa de células madre, obtenidas de manera no invasiva tras la extracción dental o la caída de dientes deciduos, lo que ha incrementado el interés en estandarizar los procedimientos para su obtención y optimizar su uso clínico en medicina regenerativa [160]. Figura 8

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

El efecto del medio condicionado de células madre de la pulpa dental humana en la respuesta del tejido pulpar a la terapia pulpar vital ha sido objeto de estudio. En estos estudios, se utilizó medio condicionado obtenido al incubar células madre de la pulpa dental humana con medio de cultivo fresco[161]. Además, los fibroblastos de la pulpa dental humana, bajo la influencia del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), pueden modular la respuesta inflamatoria y la diferenciación de células inmunes, subrayando su papel en la interacción entre la pulpa dental y el sistema inmunitario durante procesos inflamatorios[162].

Las DPSCs ofrecen un gran potencial de diferenciación múltiple y capacidad proliferativa. La regeneración pulpar basada en DPSCs es un área de investigación prometedora en la terapia clínica. Estudios recientes han demostrado la generación de estructuras similares a la pulpa dental mediante el trasplante de DPSCs o la inducción de homing de DPSCs endógenas[163].

La investigación sobre las células del folículo dental humano ha destacado su potencial como progenitoras del periodonto, no solo en odontología sino también en medicina regenerativa[164]. Las células progenitoras/células madre del folículo dental son células mesenquimales dentales ubicadas en el folículo dental, derivadas de la cresta neural y con capacidad multipotencial de diferenciación[165]. Estos avances en la biología y la aplicación de células madre dentales ofrecen nuevas perspectivas para el tratamiento regenerativo de la pulpa dental, mejorando significativamente las posibilidades de preservación y funcionalidad dental en diversas patologías[60].

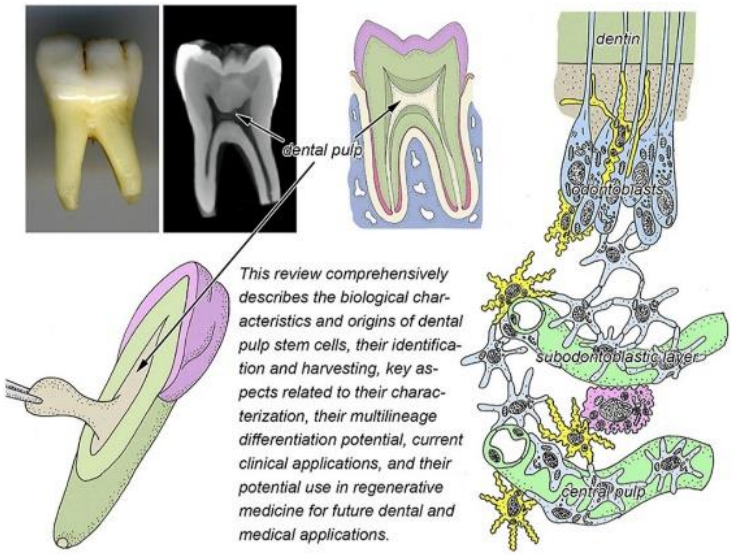


Figura 8: Células madre de la pulpa dental. Imagen tomada de Imagen tomada de Honda, Masaki, and Hayato Ohshima[166]. Copyright Clearance Center 2022. Biological characteristics of dental pulp stem cells and their potential use in regenerative Medicine. Journal of Oral Biosciences

USC DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

1.16 HISTOLOGÍA PULPAR: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL TEJIDO PULPAR

La histología pulpar es el estudio microscópico del tejido pulpar, que constituye el núcleo vital de un diente[167]. La pulpa dental se encuentra en el centro del diente, rodeada por dentina y protegida por esmalte en la corona y cemento en la raíz[168]. Este tejido conectivo altamente vascularizado, está compuesto por múltiples tipos de células, incluidos odontoblastos y células progenitoras indiferenciadas[169].

La pulpa dental se divide en varias zonas, cada una con un repertorio celular y un rol específico. La capa externa de odontoblastos es crucial para la producción de la matriz de dentina y su posterior calcificación[170]. La dentina y el tejido pulpar pueden dañarse por diversas causas, siendo la caries dental una de las más comunes a nivel mundial[171]. Ante estas lesiones, la pulpa dental pasa por etapas de reparación y regeneración, procesos que se llevan a cabo principalmente gracias a vías de señalización molecular, cascadas inflamatorias y efectos inmunomoduladores[172].

El término "pulpitis" se utiliza clásicamente para describir la respuesta inflamatoria de la pulpa dental ante agresiones como caries, traumatismos, desgaste excesivo, enfermedad periodontal o procedimientos de tratamiento[173]. La pulpa dental desempeña un papel protector contra invasores externos como bacterias o irritantes, mediante la contención de diversas sustancias antibacterianas, hormonas y células inmunes, evitando así la acumulación de bacterias o sustancias exógenas en su interior [174]. En los últimos años, las células madre han despertado un gran interés tanto en el ámbito clínico como en el de la investigación[175 176 177].

La comprensión detallada de la histología pulpar y las capacidades regenerativas de las DPSCs ofrece nuevas perspectivas en el tratamiento de patologías dentales, mejorando significativamente las estrategias de reparación y regeneración del tejido pulpar[178].

1.17 TIPOS DE PATOLOGÍAS PULPARES

Las patologías pulpares y periapicales son diagnósticos comunes que frecuentemente causan dolor o incomodidad en los pacientes[179]. La pulpitis, en particular, presenta una prevalencia promedio del 55% entre las patologías reportadas en la atención de salud oral[180]. Las caries dentales profundas y los traumatismos dentales en la dentición primaria y permanente inmadura, son frecuentes en odontología pediátrica, presentando desafíos significativos en la evaluación del estado pulpar y la elección del tratamiento adecuado[181].

USC DE COMPOSTELA

La pulpa dental, situada en el centro del diente, es esencial para el correcto funcionamiento del diente durante toda su vida útil. Junto con otras células dentales, crea un ambiente heterogéneo que mantiene la homeostasis en el diente y en los tejidos circundantes[182]. La pulpa, que se estrecha hacia el ápice, contiene una red vascular y nerviosa, y está anclada por una forma especial de sindesmosis (gonfosis), esta estructura de soporte dental incluye la membrana periodontal, el cemento, la pared alveolar y la encía (gingiva)[183].

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo especializado, densamente inervado y vascularizado, encerrado en un entorno rígido compuesto por dentina, esmalte y cemento, los cuales proporcionan soporte mecánico y protección contra el ambiente microbiano de la cavidad bucal[184]. La pulpotomía sigue siendo el tratamiento más aceptado para dientes primarios con pulpitis reversible desde su introducción en el siglo XX[185]. Los odontoblastos, principales células funcionales en la reparación del tejido pulpar, están dispuestos a lo largo de la interfaz dentina-pulpa y conectados entre sí a través de uniones estrechas, formando así la primera línea de defensa contra estímulos externos[186].

El autotrasplante dental y el tratamiento de endodoncia regenerativo son tratamientos odontológicos basados en la biología, destinados principalmente a niños, para la pérdida de tejido dental[187]. La pulpa dental, atrapada dentro del "nicho sellado" de la cámara pulpar, es de particular interés en medicina regenerativa debido a su accesibilidad y capacidad de diferenciación[170]. El objetivo principal de la terapia pulpar vital es preservar la vitalidad del tejido pulpar, incluso cuando está expuesto debido a invasión bacteriana, preparación mecánica iatrogénica o traumatismo[188].

Las patologías pulpares abarcan una variedad de condiciones que afectan la pulpa dental, el tejido blando dentro de los dientes que contiene nervios, vasos sanguíneos y tejido conectivo. Estas condiciones pueden surgir por diversas causas y presentan características distintivas que guían su tratamiento adecuado en odontología[189]. Entre las principales patologías se incluyen en la Tabla 1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 1. Clasificación de las patologías pulpares y periapicales según la Asociación Americana de Endodoncia. (190)

Pulpar	Características clínicas	Características radiográficas
NECROSIS PULPAR	• Diagnóstico clínico que indica muerte pulpar. • Usualmente no responde a las pruebas sensibilidad (-) puede dar falsos (+) en dientes multirradiculares donde no hay necrosis total de todos los conductos, por fibras nerviosas remanentes en apical y estimulación de fibras del periodonto a la prueba eléctrica. • Cambio de color coronal que puede ser de matiz pardo, verdoso o gris. • Presenta pérdida de la translucidez y la opacidad se extiende a la corona. • Puede presentar movilidad y dolor a la percusión • Puede encontrarse el conducto abierto a la cavidad oral.	Ligero ensanchamiento del espacio del espacio del ligamento Periodontal. • Radiolúcidez de la corona compatible con caries. • Radiopacidad compatible con restauraciones profundas
PREVIAMENTE TRATADO	• Diagnóstico clínico indicando que el diente ha sido endodónticamente tratado.	• No existen cambios en los tejidos de soporte circundante. • Conducto radicular obturado en calidad y longitud en diferentes materiales.
PREVIAMENTE INICIADO	• Diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido previamente iniciado como una pulpectomía o pulpotomía.	• No existen cambios en los tejidos de soporte.
TEJIDOS APICALES SANOS	• Periodonto perirradicular sano. • Negativo a palpación y percusión.	• Espacio del ligamento periodontal uniforme. • Lamina dura intacta.
PERIODONTITIS APICAL SINTOMÁTICA	• Dolor espontáneo o severo • Dolor localizado persistente y continuo. • Dolor tan severo que puede interrumpir actividades cotidianas. • Dolor a la percusión y palpación. • Sensación de presión en la zona apical del diente	• Se puede o no observar cambios en los tejidos de soporte circundante • Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal. • Puede o no estar asociada a radio lucidez apical.
PERIODONTITIS APICAL ASINTOMÁTICA	• Generalmente asintomática o asociada a molestia leve. • Tejidos circundantes dentro de parámetros normales. • Respuesta positiva a percusión. • Sensibilidad a la palpación, si existe compromiso de la tabla ósea vestibular. • Pruebas de sensibilidad y eléctricas negativas.	• Zona radiolúcida apical de origen pulpar.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Pulpar	Características clínicas	Características radiográficas
ABSCESO APICAL AGUDO	• Proceso infeccioso por una necrosis pulpar. • De comienzo rápido. • Dolor espontaneo, dolor a la presión, percusión y palpación. • Exudado purulento. • Inflamación intra o extraoral. • Dolor localizado y persistente. • Dolor constante y/o pulsátil. • Dolor a la presión (sensación de diente extruido) • Dolor localizado o difuso de tejidos blandos intraorales. • Movilidad aumentada. • Dolor a la percusión. • Malestar general.	• Puede o no revelar cambios en el tejido circundante periapical. • Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal o una zona de reabsorción ósea apical, asociada a una periodontitis apical asintomática.
ABSCESO APICAL CRÓNICO	• Proceso infeccioso por una necrosis pulpar caracterizado por un comienzo gradual. • Ligera sensibilidad. • Presencia de fistula. • Asintomática. • Pruebas de sensibilidad negativas.	• Zona radiolúcida apical. •Se debe realizar una fistulografía con cono de gutapercha.
OSTEITIS CONDENSANTE	• Proceso inflamatorio crónico de baja intensidad. • Puede o no responder a pruebas de sensibilidad. • Puede o no ser sensible a palpación y/ o percusión.	•Presencia de una zona radiopaca apical difusa concéntrica alrededor del tercio apical radicular. •Se observa presencia del espacio del ligamento periodontal.

1.18 INJERTO ÓSEO

Los injertos óseos se consideran fundamentales para estimular la formación de hueso y la regeneración del tejido periodontal[191]. Los tratamientos más comúnmente utilizados incluyen injertos autógenos provenientes de sitios donantes intraorales, aloinjertos, xenoinjertos y sustitutos óseos aloplásticos[192]. Procedimientos quirúrgicos tradicionales, como el desbridamiento mediante colgajo abierto, proporcionan un acceso crítico para evaluar y limpiar las superficies radiculares, además de permitir la creación de una estructura periodontal mejorada[193].

Los injertos autógenos, al igual que los aloinjertos, pueden obtenerse tanto de fuentes intraorales como extraorales, y pueden consistir en hueso esponjoso, hueso cortical o combinaciones de ambos[194]. Diversos estudios indican que el relleno óseo promedio es de aproximadamente 3 mm, o alrededor del 60% del defecto tratado[195]. Estos injertos óseos no solo mejoran el nivel de hueso y reducen la pérdida de hueso crestal, sino que también

aumentan el nivel de inserción clínica y disminuyen la profundidad de sondaje en comparación con los procedimientos de desbridamiento mediante colgajo abierto[196].

Cuando se combinan los injertos óseos con membranas de barrera, se observa un incremento en el nivel de inserción clínica y una reducción adicional en la profundidad de sondaje en comparación con el uso de injertos solos[197]. Productos biológicos, como el derivado de la matriz del esmalte y el factor de crecimiento humano recombinante derivado de plaquetas, combinado con β-fosfato tricálcico, suelen mostrar resultados comparables al uso de aloinjerto óseo desmineralizado liofilizado y técnicas de regeneración tisular guiada (GTR), siendo más efectivos que el desbridamiento con colgajo abierto para mejorar los resultados clínicos en el tratamiento de defectos óseos[198].

Estudios han demostrado que el uso de aloinjerto óseo desmineralizado y liofilizado (DFDBA) puede garantizar la creación de un nuevo aparato de inserción en defectos intraóseos[199]. En contraste, el desbridamiento con colgajo abierto (OFD) principalmente resulta en una reparación periodontal caracterizada por la formación de una unión epitelial larga [200].

1.19 Regeneración Tisular Guiada

La regeneración tisular guiada (RTG) tiene como objetivo principal la reproducción o reconstrucción de estructuras periodontales perdidas o dañadas, promoviendo su fijación mediante respuestas tisulares específicas[201]. Esta técnica, aunque prometedora, requiere mayor investigación interdisciplinaria para mitigar riesgos potenciales y ofrecer mayor seguridad a los pacientes durante la terapia ortodóncica[202].

La regeneración periodontal exitosa depende de la formación de un nuevo sello epitelial, la deposición de nuevo cemento de fibras extrínsecas acelulares y la inserción funcional de fibras de tejido conectivo en la superficie radicular, restaurando así la altura del hueso alveolar[203]. El concepto de RTG describe procedimientos dirigidos a recuperar la inserción periodontal perdida a través de respuestas tisulares específicas[204].

Los materiales de injerto óseo actúan como andamios estructurales y matrices para la unión y proliferación de osteoblastos, contribuyendo a la efectividad de estos procedimientos clínicos[191]. La recesión gingival se define como el desplazamiento apical de los tejidos periodontales marginales hasta la unión cemento-esmalte[205].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La RTG se centra en la observación de que solo el ligamento periodontal, y no el tejido conectivo gingival ni el hueso, contiene células capaces de formar nuevo cemento en la superficie radicular y establecer nuevas fibras de unión entre el cemento y el hueso[206]. La evidencia científica actual resalta la importancia de factores biológicos y clínicos como la provisión de espacio, la estabilidad de la herida y la cicatrización por intención primaria para lograr la regeneración periodontal[200]. Se ha demostrado que el uso de membranas de barrera de colágeno puede promover cierto grado de regeneración periodontal, aunque la regeneración completa no se ha reportado comúnmente[207].

Los factores de crecimiento son moléculas polipeptídicas naturales que regulan funciones celulares cruciales como la unión celular, la supervivencia, la proliferación, la quimiotaxis y la diferenciación celular, esenciales para el desarrollo, maduración, mantenimiento y reparación de los tejidos bucales[208]. Estas moléculas juegan un papel fundamental en la creación de un ambiente extracelular propicio para el crecimiento y la regeneración de los tejidos periodontales[209].

Los avances en cirugía han permitido tratamientos personalizados mínimamente invasivos, con altas tasas de éxito clínico, facilitando así la regeneración de tejidos[210]. Los factores de crecimiento disponibles para uso clínico, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas, han sido sometidos a rigurosos ensayos clínicos para cumplir con las normativas de la Administración de Alimentos y Medicamentos[211]. Estos factores son liberados por las plaquetas activadas dentro del coágulo de fibrina, facilitando la cicatrización y regeneración tisular en el sitio de intervención[212].

Entre los factores de crecimiento que controlan la homeostasis del epitelio, se destacan el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF o FGF-7) y el factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I)[213]. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) mejora el crecimiento y la permeabilidad de los vasos sanguíneos, aunque se requiere más investigación sobre sus concentraciones en la encía normal y enferma[214].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2. JUSTIFICACIÓN

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2 JUSTIFICACIÓN

En periodoncia, se busca lograr objetivos como la prevención y la regeneración de los tejidos que soportan las piezas dentarias. Los tratamientos convencionales no han logrado la regeneración completa de los tejidos periodontales, por esta razón el presente estudio tratara del beneficio de las células madre obtenidas de la pulpa dental. La regeneración tisular con células madre es una de las técnicas quirúrgicas más prometedoras para cualquier tejido perdido en el cuerpo humano. Las DPSC es de suma importancia, ya que estas células tienen la capacidad de autorrenovación alta. En la actualidad se puede aislar células madre de diferentes partes del cuerpo: medula ósea, sangre periférica, musculo esquelético, hígado, páncreas, epitelio de la piel, de la pulpa dental, corazón etc. La investigación sobre DPSC se ha convertido en un campo de gran interés debido a su prometedor potencial en tratamientos regenerativos y terapias dentales avanzadas. Estas células tienen la capacidad única de transformarse en diferentes tipos celulares, lo que las hace valiosas para la reparación de tejidos dentales. Un recurso particularmente valioso para obtener estas células es el tejido pulpar de los terceros molares, a menudo extraídos durante procedimientos dentales rutinarios. Sin embargo, a pesar de los avances, existen varios desafíos metodológicos en la obtención de DPSC que pueden afectar significativamente la calidad y la funcionalidad de las células obtenidas. Errores en el aislamiento, condiciones de cultivo inadecuadas, y la falta de estandarización en los procedimientos son problemas comunes que pueden comprometer la viabilidad de las células y su eficacia en aplicaciones clínicas.

Este estudio aborda también diversas estrategias para la regeneración periodontal mediante tres metaanálisis. El primero examina la combinación de MSCs con biomateriales regenerativos, mostrando efectos positivos en la regeneración del hueso alveolar. El segundo metaanálisis analiza el uso de PRF para la regeneración de defectos periodontales, destacando mejoras significativas en la profundidad de sondaje y el nivel de inserción clínica cuando se combina con desbridamiento de colgajo abierto. Sin embargo, algunas combinaciones de PRF con otros materiales no mostraron los mismos resultados, lo que resalta la importancia de seleccionar adecuadamente los complementos en cada tratamiento.

USC UNIVERSIDADE

El tercer metaanálisis compara dos técnicas de recubrimiento radicular: CAF y la TT. Los resultados sugieren que la técnica de túnel, especialmente cuando se combina con CTG, ofrece una mejor cobertura radicular que el colgajo de avance coronal. Sin embargo, este resultado depende del tipo de biomaterial utilizado, lo que subraya la necesidad de adaptar el tratamiento a las características específicas de cada caso para maximizar los resultados.

Por último, este estudio resalta los retos metodológicos en el cultivo de células madre de la pulpa dental, señalando problemas como la contaminación bacteriana y la presencia de impurezas que pueden afectar la calidad y viabilidad de las células. Estos hallazgos resaltan la necesidad urgente de desarrollar protocolos estandarizados para mejorar la eficacia de las DPSC en aplicaciones regenerativas, optimizando su uso en terapias periodontales avanzadas.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

3.1 HIPÓTESIS

Los errores metodológicos en la extracción de células madre de la pulpa dental, así como en la manipulación del medio de cultivo, afectan significativamente a la cantidad y calidad de las células obtenidas.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo general

- Estudiar diferentes técnicas y materiales para la regeneración periodontal, enfocándose en la evaluación de su eficacia y potencial de aplicación en tratamientos clínicos.

3.2.2 Objetivos específicos

1. Comparar la eficacia de las MSCs combinadas con materiales regenerativos frente a la utilización de materiales regenerativos solos en la regeneración de defectos óseos periodontales mediante un metaanálisis.
2. Evaluar la eficacia del PRF en la regeneración de defectos óseos periodontales, comparándola con otros materiales regenerativos y técnicas, utilizando un metaanálisis en red.
3. Comparar la cobertura radicular mediante la técnica de colgajo de avance coronal y la técnica de túnel, a través de una revisión sistemática y metaanálisis.
4. Analizar las complicaciones y errores metodológicos en el proceso de cultivo de células madre de la pulpa dental, evaluando factores que impacten en la cantidad y calidad celular obtenida.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4. MATERIAL Y MÉTODOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se describen detalladamente los materiales y métodos utilizados en los tres artículos que son utilizados para realizar esta Tesis Doctoral.

4.1 REGENERACION PERIODONTAL CON CELULAS MADRE MESENQUIMALES

Artículo 1. Regeneration of periodontal bone defects with mesenchymal stem cells in animal models. Systematic review and meta-analysis

4.1.1 Protocolo y registro

Se diseñó un protocolo de estudio específico para el proceso de búsqueda y recuperación de datos, que cumplió con las pautas PRISMA[215]. El protocolo fue registrado en PROSPERO con la referencia ID CDR42021247462 para minimizar el riesgo de sesgo y mejorar la transparencia, precisión e integridad.

4.1.2 Pregunta de investigación

La revisión fue diseñada para responder a esta pregunta PICO: ¿Es la regeneración periodontal con MSC más efectiva que otras técnicas? P: Se evaluaron artículos con estudios de defectos periodontales en animales; I: Intervención, regeneraciones periodontales realizadas con diferentes MSC, solas o en combinación con otros biomateriales; C: Comparación de los diferentes resultados de regeneración del tejido periodontal de soporte con diferentes materiales regenerativos; O: Observación, se comparó la cantidad de regeneración periodontal, medida histológicamente como hueso nuevo, cemento y ligamento periodontal en el defecto periodontal.

4.1.3 Fuentes de información y estrategia de búsqueda.

La búsqueda se realizó mediante el programa Rayyan QCRI (Qatar Computing Research Institute (Data Analytics), Doha, Qatarcon). Siguiendo los requisitos de PRISMA,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

los términos MESH utilizados fueron: “Mesenchymal Stem Cells”, “Periodontal Attachment Loss”, “Periodontal Atrophy”, “Alveolar Bone Loss” and “Guided Tissue Regeneration, Periodontal”. Para fines de verificación, también se incluyeron otras palabras clave (pluripotent stem cells, adult stem cells, hematopoietic stem cells, bone marrow stem cells (BMSCs), mesenchymal stem cell transplantation, furcation defect, bone regeneration) al realizar búsquedas en MEDLINE a través de PubMed, EMBASE a través de OVID. , Web of Science, Scopus, Cochrane Library, Clinical Trials, las cinco bases de datos bibliográficas regionales de la OMS (AIM, LILACS, IMEMR, IMSEAR, WPRIM) y el Conference Proceedings Citation Index. También se verificaron exhaustivamente todos los artículos potencialmente relevantes que cualquiera de los autores conocía, así como las listas de referencias de los artículos recuperados. Este proceso se complementó con una búsqueda manual (revistas revisadas por pares con contenido relacionado).

4.1.4 Criterio de elegibilidad

Todas las referencias identificadas de bases de datos computarizadas se recuperaron manualmente y los artículos se incluyeron, si cumplían con los siguientes criterios de inclusión: (1) Estudios sobre regeneración de defectos óseos con MSC (tipo/origen) en animales sin condiciones sistémicas ni modificación genética. (2) Estudios en perros, conejos, ratas y cerdos (en los estudios no se consideraron el sexo ni la edad de los animales). (3) Estudios de modelos animales preclínicos controlados, en los que se utilizaron MSC localmente para corregir defectos periodontales en los primeros seis meses con una única evaluación a las 2—4—6—8 semanas. (4) Datos sobre regeneración periodontal (cemento, hueso y ligamento periodontal). (5) Estudios publicados en idioma inglés.

Se consideraron los siguientes criterios de exclusión: (1) Estudios en humanos. (2) Regeneración del hueso alveolar únicamente con biomateriales. (3) Estudios que no incluyeron un grupo control, o estudios en los que no fue posible comparar los resultados de regeneración debido a la ausencia de datos sobre ganancia/pérdida de regeneración periodontal. (4) Casos clínicos. (5) Estudios para los que faltaron mediciones y datos de desviación estándar. (6) Revisiones, revisiones sistemáticas y metaanálisis.

4.1.5 Proceso de selección de estudios y extracción de datos.

Dos investigadores (LC y MPS) recuperaron los datos utilizando una hoja de extracción hecha a medida. Cualquier discrepancia que surgiera entre los dos investigadores fue resuelta por un tercer investigador (BVR) que estaba cegado a la hipótesis del estudio. Se registraron los siguientes datos: primer autor, país, tipo de estudio,

tipo de animal, número de animales, número total de defectos, tipo de condición de control (incluido el grupo con otros tipos de materiales regenerativos), número de defectos en el grupo de control, tipo de MSC, número de defectos en el grupo de MSC y procedimiento de evaluación de la regeneración periodontal.

Primero se leyeron el título y los resúmenes de todos los registros potenciales y se utilizó un protocolo de texto completo para determinar la inclusión de cualquier texto con datos insuficientes. Posteriormente, todos los artículos elegibles fueron examinados en texto completo, y si algún dato considerado esencial para la revisión faltaba o no estaba claro, se intentó contactar al autor correspondiente del estudio para resolver o aclarar el problema.

4.1.6 Evaluación de la calidad y riesgo de sesgo.

El riesgo de sesgo se evaluó según el Centro de Revisión Sistemática para la Experimentación con Animales de Laboratorio (SYRCLE)[216]. Se realizó una evaluación general del riesgo de sesgo para cada estudio incluido, asignando las siguientes calificaciones de sesgo: Alto, Incierto y Bajo. Se evaluaron los siguientes elementos para detectar sesgos: selección, desempeño, detección, deserción, notificación, entre otros. Estos elementos se evaluaron mediante la herramienta Cochrane RoB. La herramienta de riesgo de sesgo de SYRCLE para estudios en animales incluye los siguientes aspectos: (1) Generación de secuencia: se evaluó teniendo en cuenta si se indujeron o no defectos periodontales. (2) Ocultamiento de la asignación: los resultados de la aleatorización se verificaron mediante la evaluación de las características iniciales en los grupos de prueba y control. (3) Datos de resultados incompletos: se verificó la inclusión de todos los datos, incluidos los tipos de animales (perros beagle, ratas, mini pigs, conejos), el número de animales, los tipos de defectos periodontales (defectos óseos periodontales, defectos de furcación tipo II y III), tipos de MSC, grupo o grupos control con otros materiales y evaluación de la regeneración periodontal (ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar). (4) Informe selectivo de resultados: los protocolos del estudio y los resultados del grupo se evaluaron con otros materiales y otras fuentes de sesgo. (5) Informe selectivo de resultados: Los grupos de MSC se contrastaron con sus respectivos grupos de control para evaluar varias variables: si había un mayor número de animales en los grupos de MSC o en los grupos que recibieron materiales regenerativos, si los animales habían sido tratados con medicamentos adicionales, el número de cirugías realizadas, y si todos los animales de cada estudio recibieron un tratamiento y cuidado uniforme, o si se realizaron ajustes basados en los diferentes tipos de animales (como perros beagle, mini pigs, ratas y conejos) y los distintos tipos de defectos periodontales.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.1.7 Análisis estadístico

4.1.7.1 Análisis cualitativo

El análisis cualitativo describió los aspectos generales de los artículos que cumplieron con los criterios de inclusión. Se realizó una revisión sistemática de los artículos incluidos, describiendo las características previamente definidas, y distinguiendo entre los tres grupos de estudio: (1) el primer grupo de MSC solas o asociadas con otro tipo de materiales regenerativos. (2) el segundo grupo de otros materiales regenerativos. (3) el tercer grupo no se usó material regenerativo. En cada grupo se evaluó la regeneración periodontal (hueso alveolar, ligamento periodontal y cemento alveolar).

4.1.7.2 Metaanálisis

El metaanálisis se utilizó bajo el siguiente proceso sistemático: (1) Definición de variables experimentales. (2) Identificación del tratamiento y control. (3) Determinar el tamaño del efecto y su desviación estándar. (4) Especificación del modelo según el tipo de características: cualitativas o cuantitativas. (5) Selección del modelo de efectos fijos o aleatorios. 6) Validación de modelos y análisis de heterogeneidad. (7) Representaciones gráficas (Forest Plot y Funnel Plot). (8) Interpretación de los resultados. Este proceso fue validado a través de los siguientes supuestos: (1) Variable de regeneración tisular medida en mm y (2) Modificación del algoritmo de tamaño del efecto, considerando una comparación de medias entre tratamientos con distribución muestral t de Student.

Con respecto al método utilizado para el metaanálisis, se determinó el tamaño del efecto para cada uno de los cinco estudios incluidos. Se obtuvo una alta variabilidad dado que en el proceso de cálculo del tamaño del efecto no se utilizó el control, y en cambio se realizó comparación entre los Grupos 1 y 2. Este cambio metodológico se justificó por la medida en que los artículos revisados no contenían un análisis adecuado del tratamiento de control, y por la falta de literatura extensa disponible para garantizar las propiedades probabilísticas de la distribución muestral del tamaño del efecto estadístico. Esto se ajustó tanto para el Cemento Nuevo como para el Hueso Nuevo. El proceso de cálculo se realizó a través del software R, utilizando los siguientes paquetes estadísticos: "meta" y "metasens" [217].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2 REGENERACIÓN PERIODONTAL CON PLASMA RICO EN FIBRINA.

Artículo 2. Regeneration of periodontal intrabony defects using platelet-rich fibrin (PRF): a systematic review and network meta-analysis.

4.2.1 Protocolo y registro

Se accedió originalmente a la base de datos Prospero en mayo de 2023 y se envió y registró con éxito el protocolo para esta revisión sistemática y metaanálisis: CRD42023431418. Se siguieron las directrices de los elementos de informes preferidos para revisiones sistemáticas y metaanálisis (PRISMA) [215]. (Figura 10)

4.2.2 Pregunta de investigación

"¿La regeneración de defectos periodontales intraóseos con PRF es más efectiva que otras técnicas?" (P: Se evaluaron artículos con estudios de defectos intraóseos periodontales en humanos; I: Intervención, regeneración de defectos intraóseos periodontales realizada con PRF, solo o en combinación con otros biomateriales; C: Comparación de los diferentes resultados de regeneración del tejido periodontal de soporte con diferentes materiales regenerativos; O: Observación, se comparó la cantidad de regeneración periodontal, medida por la profundidad de sondaje, el nivel de inserción clínica y el hueso alveolar en el defecto periodontal).

4.2.3 Estrategia de búsqueda

Se utilizó el programa Rayyan QCRI (Qatar Computing Research Institute, Doha, Qatar) para identificar los artículos elegibles. La estrategia de búsqueda incluyó el rastreo de diferentes bases de datos, como MEDLINE a través de PubMed, EMBASE a través de OVID, Web of Science, Scopus, Cochrane Library, Clinical Trials, las cinco bases de datos bibliográficas regionales de la OMS (AIM, LILACS, IMEMR, IMSEAR, WPRIM), e índice de citas de actas de conferencias. Se estableció y ajustó una combinación de palabras clave y términos para cada base de datos. El modelo simple de palabras clave utilizado fue: "Platelet-rich fibrin", "Platelet-rich plasma", "Periodontal attachment loss", "Alveolar bone loss", "Guided tissue regeneration", "PRF", "Periodontal bone defects", "Furcation defects"; AND/OR" tambien se incluyeron en la búsqueda. Este proceso se complementó con una búsqueda manual (revistas revisadas por pares con contenido relacionado).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

4.2.4. Criterio de elegibilidad

4.2.4.1 Criterios de inclusión

1. Estudios sobre la regeneración de defectos óseos con PRF en humanos; 2. Estudios de ensayos clínicos aleatorios con PRF solo o con otros biomateriales regenerativos utilizados localmente para corregir defectos periodontales; 3. Datos de regeneración, profundidad del sondeo, nivel de inserción clínica y hueso alveolar; 4. Estudios publicados en inglés.

4.2.4.2 Criterio de exclusión

1. Estudios que incluyan pacientes con diabetes; 2. Estudios que incluyan pacientes con osteoporosis; 3. Estudios con pacientes con modificaciones genéticas; 4. Estudios preclínicos in vitro o en animales; 5. Regeneración periodontal sin utilizar PRF; 6. Estudios que no sean ensayos clínicos aleatorizados; 7. Estudios de casos clínicos, de cohortes y retrospectivos; 8. Estudios en los que faltaban mediciones y datos de desviación estándar; 9. Revisiones, revisiones sistemáticas y metaanálisis.

4.2.4.3 Cribado de estudios y extracción de datos.

Tres investigadores (LC, KS y MPS) crearon y completaron de forma independiente una hoja de extracción ¨*ad hoc*¨ utilizando una hoja de datos personalizada. Las dudas que existían fueron resueltas por tres investigadores (BVR, CCC y REV) que desconocían la hipótesis del estudio. Se registraron los siguientes datos: primer autor, año, diseño del estudio, tipo de estudio, número de personas, sexo, edad media, tipos de defectos, grupos de intervención, grupo control, fumadores, conclusiones, diferencia de medias (DM) en la profundidad de sondaje, nivel de inserción clínica, hueso alveolar, sistema de giro, volumen de sangre extraída y parámetros de giro.

4.2.4.4 Evaluación del riesgo de sesgo (RoB)

Dos autores (MS, VM) evaluaron de forma independiente los informes incluidos, utilizando todos los ítems de la lista de verificación de las escalas respectivas. La herramienta Cochrane de riesgo de sesgo para ensayos controlados aleatorios se utilizó para evaluar los ensayos controlados aleatorios[218].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

El RoB se clasificó como "alto", "poco claro" y "bajo". Estos estudios fueron analizados en cinco dominios: 1. Generación de secuencia: Se evaluó teniendo en cuenta si había o no defectos intraóseos periodontales; 2. Ocultamiento: Se verificaron las características iniciales en los grupos de prueba y control; 3. Datos incompletos: se observó la inclusión de todos los datos, número de pacientes, número de defectos intraóseos periodontales, grupo de control, grupo de intervención, pacientes sin enfermedad sistémica, datos de profundidad de sondaje, nivel de inserción clínica y hueso alveolar; 4. Informe selectivo de resultados: los protocolos de estudio y los resultados de los grupos se evaluaron únicamente con PRF u otros materiales regenerativos y otras fuentes de sesgo; 5. Informe selectivo de los resultados: Se compararon los grupos de intervención con PRF en defectos intraóseos periodontales con el grupo control, para observar si había pacientes con medicación adicional, diferentes tratamientos de defectos intraóseos, el número de intervenciones realizadas y si alguna persona recibido la misma atención o no.

4.2.5. Análisis estadístico

4.2.5.1 Análisis cualitativo

Se realizó una revisión sistemática de todos los artículos incluidos, determinando las características previamente definidas en los criterios de inclusión. Se establecieron dos grupos de estudios: 1. El primer grupo de defectos intraóseos periodontales con PRF solo o mezclado con otro tipo de materiales regenerativos; 2. El segundo grupo solo otros materiales regenerativos o sin añadir ningún material regenerativo.

En cada grupo se evaluaron la ganancia de profundidad de sondaje, el nivel de inserción clínica y la regeneración del hueso periodontal.

4.2.5.2 Metaanálisis

Para realizar el metaanálisis, los estudios se agruparon según sus características y resultados obtenidos, extrayendo el nombre, tamaño de la muestra, media y desviación estándar de los grupos de tratamiento y control, segmentados por PD, CAL y relleno óseo radiográfico (RBF). criterios. Con todos los datos ordenados y clasificados se utilizó el software estadístico IBM SPSS versión 29, la sección de Metaanálisis con resultados continuos, donde se utilizó la d de Cohen para el tamaño del efecto con el modelo de efectos aleatorios, con un intervalo de confianza del 95%, con un estimador de máxima verosimilitud restringido (REML), que agrega gráficos de diagrama de bosque con tamaño

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

del efecto, error estándar, límites de intervalo de confianza, valor P, ponderación, incluida la línea de referencia para el tamaño del efecto general y el tamaño del efecto nulo, así como el gráfico de embudo que muestra el error estándar y el tamaño del efecto. Según los resultados, valores de $p < 0,05$ se consideran estadísticamente significativos, según el I2 las pruebas con valores < 25% se clasificaron como de baja heterogeneidad, mientras que valores de 25 y < 50% se clasifican como moderados, pero > 50% son considerados estadísticamente significativos. considera una alta heterogeneidad.

4.2.5.3 Metaanálisis en red

Para evaluar los efectos de diversos biomateriales comerciales y no comerciales, incluida información sobre materiales de injerto que no se han comparado directamente antes, se llevó a cabo un metaanálisis en red basado en brazos. El metaanálisis en red (NMA) es una expansión del metaanálisis por pares tradicional y se puede utilizar para comparar muchos tratamientos distintos. Con este método, es posible sintetizar una gran cantidad de datos, estimar la eficacia relativa y clasificar las intervenciones en función de su eficacia. Los resultados del proceso de extracción de datos se combinaron posteriormente (comando de configuración de red) para adaptarlos al software STATA. La similitud, la transitividad y la coherencia se probaron como supuestos relevantes para el metaanálisis de redes[219]. Mediante el análisis demográfico, de intervención, comparación y resultado, se evaluó subjetivamente la similitud de los estudios incluidos[220].

Al examinar estadísticamente la coherencia de los resultados de las comparaciones directas e indirectas, se evaluó aún más la transitividad[221]. En consecuencia, se realizaron gráficos de intervalos predictivos y gráficos de geometría de red. Utilizamos el gráfico de geometría de la red para visualizar la red de los distintos grupos e investigar las conexiones entre ellos. Los grupos están representados por los nodos y las comparaciones directas entre grupos se muestran por los bordes. Se utilizó la superficie bajo las curvas de clasificación acumulativa (SUCRA) para determinar la clasificación relativa de los grupos utilizando la probabilidad. Para establecer una jerarquía de las intervenciones, SUCRA, una transformación sencilla del rango medio tiene en cuenta tanto la ubicación como la variación de los efectos relativos del tratamiento. El rango del tratamiento mejora al aumentar los valores de SUCRA. Para la prueba de hipótesis, se consideró significativo un valor p bilateral de 0,05. Se utilizaron estudios clínicos para extrapolar datos sobre la diferencia de medias, la desviación estándar y el tamaño total de la muestra para cada grupo de intervención. Tres NMA diferentes incluyeron PD, CAL y RBF, y los efectos

medios relativos y las proyecciones para cada comparación se muestran en el diagrama de bosque de efectos resumidos estimados, que incluye intervalos de confianza e intervalos predictivos. NMA se realizó utilizando comandos de red meta en el software STATA sugerido por Chaimani et al. [222 223 224 225].

4.3 RECUBRIMIENTO RADICULAR CON TÉCNICA DE COLGAJO DE AVANCE CORONAL VERSUS TÉCNICA DE TUNELIZACIÓN.

Artículo 3: Root Coverage Techniques: Coronally Advancement Flap vs. Tunnel Technique: A Systematic Review and Meta-Analysis

4.3.1 Protocolo y registro

Se elaboró un protocolo específico para guiar los procedimientos de búsqueda y restauración, asegurando el cumplimiento de las pautas PRISMA[223]. Este protocolo fue registrado en PROSPERO bajo el ID de referencia CRD42023425664.

4.3.2 Pregunta de investigación

La pregunta PICO planteada fue: ¿es el cubrimiento radicular más efectivo utilizando TT en comparación con CAF? Los elementos de la pregunta fueron los siguientes:

- P (pacientes): personas con recesión gingival de tipo I, II o III según la clasificación de Miller, o bien RT1, RT2 o RT3 [226], ya sea en lesiones únicas o múltiples.
- I (intervención): tratamiento de todas las recesiones gingivales con TT.
- C (comparación): comparación entre los resultados obtenidos con TT y CAF.
- (resultado): efectividad del cubrimiento radicular.

4.3.3 Estrategia de búsqueda y cribado de bases de datos

LCB y BVR llevaron a cabo una búsqueda bibliográfica de los últimos 10 años (hasta diciembre de 2022) en diversas bases de datos, incluyendo PubMed, Embase, Web of

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Science, Cochrane, Scopus y fuentes de literatura gris. Además, se revisaron publicaciones relevantes, como el Journal of Periodontology.

Para maximizar la sensibilidad de las búsquedas, se emplearon tanto términos libres como de tesauro. El algoritmo utilizado fue “Root coverage” AND (“coronary advanced flap” OR “tunnel”), adaptado a la sintaxis de cada base de datos. Los artículos duplicados se eliminaron manualmente luego de una primera depuración automática mediante el software de referencia EndNote (versión X9.3.2, Clarivate Analytics, Philadelphia, PA, EE. UU.).

4.3.4 Criterios de elegibilidad

Criterios de inclusión

Todas las referencias identificadas en las bases de datos fueron revisadas manualmente por LCB y BVR. Los artículos se incluyeron si cumplían con los siguientes criterios: (1) evaluación de la cobertura radicular; (2) ensayos clínicos aleatorizados; (3) estudios de casos y controles con al menos 10 pacientes que presentaran recesiones gingivales simples o múltiples; (4) estudios publicados en los últimos 10 años; y (5) un seguimiento mínimo de 6 y 12 meses.

Criterios de exclusión

Se excluyeron los artículos en los siguientes casos: (1) si el tratamiento con TT incluía incisiones verticales o en las papilas; (2) si el estudio contaba con menos de 10 pacientes; (3) si no se empleaba colgajo avanzado coronalmente; y (4) informes de casos.

4.3.5 Proceso de selección de estudios y extracción de datos

Tres investigadores (LCB, APJ y MPS) recopilaron los datos en una hoja de extracción personalizada. Cualquier desacuerdo entre ellos se resolvió con la ayuda de un cuarto investigador (BVR), quien no conocía la hipótesis del estudio para asegurar imparcialidad.

Durante la revisión, se analizaron los títulos y resúmenes de todos los registros encontrados, y los textos con información insuficiente fueron discutidos en equipo para decidir sobre su inclusión. Para los artículos elegibles, se realizó una revisión exhaustiva del texto completo, y en caso de faltar datos importantes para la revisión sistemática y el metaanálisis, se intentó contactar al autor correspondiente para obtener aclaraciones o información adicional.

Los datos extraídos incluyeron información sobre el autor, año de publicación, país, diseño del estudio, estado periodontal y hábitos de los pacientes, tipo y localización de la recesión, técnica quirúrgica utilizada, uso de tejido conectivo u otros biomateriales, descripción completa del tratamiento, número de pacientes, número de recesiones, seguimiento en meses y variables de resultado, tales como cobertura radicular media (MRC), cobertura radicular completa (CRC), ganancia de tejido queratinizado (KTG) y puntuación estética de cobertura radicular (RCES).

4.3.6 Evaluación de la calidad y del riesgo de sesgo

El riesgo de sesgo fue evaluado utilizando la herramienta Cochrane para el análisis de riesgo de sesgo en ensayos controlados aleatorios (ECA) [218].

4.3.7 Análisis estadístico

Se calcularon las diferencias de medias ponderadas (DMP) junto con las desviaciones estándar (DE) agrupadas. La contribución de cada estudio fue ponderada de acuerdo con su peso, y se utilizó un modelo de efectos aleatorios, asumiendo heterogeneidad entre los estudios. Para resumir las diferencias en ambos grupos, se generaron diagramas de bosque.

Para analizar la heterogeneidad estadística, se calcularon los parámetros de la prueba Q de Cochran (χ^2) y el índice I^2 de Higgins. Una $p < 0,1$ en la prueba Q de Cochran fue considerada significativa, indicando heterogeneidad evidente. El índice I^2, que cuantifica el porcentaje de heterogeneidad, se interpretó como bajo (25%), moderado (50%) o alto (75%)[227].

El sesgo de publicación se evaluó visualmente con gráficos de embudo y mediante la prueba de Egger et al., donde un valor de $p < 0,1$ fue considerado significativo[228]. Para todos los análisis estadísticos, se utilizó el software R Metafor (v.4.2.1; https://www.r-project.org, consultado el 15 de junio de 2023). El nivel de significancia se estableció en $p < 0,05$.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.4 PROTOCOLO DE AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE OBTENIDAS DE LA PULPA DENTAL.

Artículo 4. Methodological stumbles in the culture of stem cells from the dental pulp.

4.4.1 Selección de la muestra

Se recolectaron terceros molares: n=4 incluidos (Grupo 1), n=3 semi-incluidos (Grupo 2) y n=1 con pericoronitis (Grupo 3) de diferentes edades y géneros (19-21 años) que no presentaban ningún tipo de patología sistémica en una clínica privada (pacientes ASA I)[229] . Se explicaron los objetivos del estudio a los pacientes involucrados y firmaron formularios de consentimiento. El estudio se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética de Santiago-Lugo (CEI-SL) (código de protocolo 2023/484).

Criterios de inclusión:

- Pacientes mayores de 18 años
- Pacientes sistémicamente sanos
- 3eros molares recolectados en el instante de la cirugía
- 3ros molares incluidos que no recibieron odontosección

Criterios de exclusión:

- Pacientes menores de 18 años
- Pacientes con enfermedades sistémicas
- También es importante que el paciente no refiera consumo de alcohol, drogas y/o cigarrillo.
- 3eros molares que recibieron odontosección
- 3eros molares que no fueron hidratados después de la extracción.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.4.1.1 Descripción de la nomenclatura:

Grupo 1: Pulpa extraída de terceros molares incluidos

- Grupo 1A: Células y partículas suspendidas
- Grupo 1B: Células y partículas adheridas

Grupo 2: Pulpa extraída de terceros molares semi-incluidos

- Grupo 2A: Células y partículas suspendidas
  - Grupo 2A-1: Células y partículas suspendidas
  - Grupo 2A-2: Células y partículas adheridas
- Grupo 2B: Células y partículas adheridas

Grupo 3: Pulpa extraída de terceros molares con pericoronitis

4.4.1.2 Recolección de la muestra

Después de la extracción quirúrgica de los terceros molares, estos fueron introducidos en tubos cónicos de 50 ml, donde se preparó el medio de transporte, compuesto por 3 ml de Tripsina-EDTA (Sigma-Aldrich, Madrid, España, Ref. T3924), 3 ml de Penicilina-Estreptomicina (Sigma-Aldrich, Madrid, España, Ref.: P0781) y 15 ml de Solución Salina Amortiguadora de Fosfatos de Dulbecco - PBS D8537 (Sigma-Aldrich, Madrid, España, Ref.: P0781).

4.4.1.3 Preparación de la muestra

La disección del molar se llevó a cabo en una cabina de seguridad biológica de clase II tipo A2 (Thermo Scientific), utilizando un motor eléctrico de maratón (modelo Handy 702) y un disco de borde de diamante en un mandril. Todos los instrumentos fueron esterilizados antes de obtener la muestra. Se hizo una sección longitudinal bajo refrigeración con agua destilada estéril a 4ºC, dosificada constantemente con jeringas hipodérmicas; se usó un disco y un mandril estéril individual para cada molar durante las disecciones. Se comenzó a formar un canal superficial mediante un corte en dirección ocluso-proximal o bucal, dependiendo de la morfología de cada molar, a una velocidad de 20 rpm con presión intermitente bajo irrigación constante.

USC UNIVERSIDADE

Después de profundizar 1 mm en dicho surco, se disminuyó la velocidad del motor a 15 rpm, con cortes intermitentes y presión hasta profundizar aproximadamente 1 mm adicional. El surco se irrigó abundantemente con la solución de enfriamiento con el propósito de limpiar o eliminar restos de la capa de desecho acumulada en el surco como resultado del corte con el disco y, con una espátula de cemento o elevador recto fino (2mm 301), se generó fuerza de palanca, introduciendo dichos instrumentos a través del canal tallado. Luego, el tejido pulpar fue removido con una cureta estéril a una placa de Petri donde se realizaron varios cortes con tijeras. Se prepararon tres tubos cónicos de 50 ml con 15 ml de Medio Modificado de Eagle de Dulbecco - glucosa baja (DMEM) de Sigma Aldrich para colocar las pulpas dentales de los 3 grupos. Fueron centrifugados a 1800 rpm durante 5 minutos a 4 grados y se eliminó el sobrenadante. Sumergimos ese pellet en colagenasa de clostridium histolyticum C0130 de Sigma Aldrich 6 mg mezclada con Solución Salina Amortiguadora de Fosfatos de Dulbecco (PBS D8537) de sigma aldrich 6 ml en un baño de agua y agitación a 37 grados cubiertos durante 45 minutos. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante, y el pellet celular fue resuspendido en Medio Modificado de Eagle de Dulbecco con baja glucosa (DMEM) (Sigma-Aldrich, Ref.: D6046), manteniendo la temperatura a 37°C. La suspensión fue filtrada secuencialmente a través de filtros estériles de 100 µm y 35 µm (CS10 Cell Strainers, Falcon). Finalmente, se centrifugó la muestra a 1800 rpm durante 10 minutos a 4°C. Se eliminó el sobrenadante, se colocó Solución Salina Amortiguadora de Fosfatos de Dulbecco (PBS D8537) y se centrifugó a 2000 rpm a 4 grados durante 5 minutos.

4.4.2 Medio de aislamiento inicial para células madre

Medio Modificado de Eagle de Dulbecco - glucosa baja (Sigma-Aldrich, Ref.: D6046), 10% Suero Fetal Bovino (Sigma-Aldrich, Ref.: F244), 50 ug/ml gelatina porcina (Sigma Aldrich, Ref.: G1890), 2mM L-Glutatión reducido (Sigma-Aldrich, Ref.: G6013), 10 mg/L Penicilina-Estreptomicina (Sigma-Aldrich, Ref.: P0781), 2.5 ug/ml Anfotericina-B (Sigma-Aldrich, Ref.: A2942).

4.4.3 Tratamientos aplicados

Las actividades y tratamientos aplicados a cada grupo se definieron durante el ensayo basado en las observaciones obtenidas bajo el microscopio según el siguiente calendario (Tabla 2):

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Día 3:

- Grupos 1 y 2: Se realizó un lavado con PBS y se aumentó la concentración del antibiótico y antifúngico en un 5% en el medio que ya estaba en el frasco de cultivo celular, T-25 (Sarstedt, Nümbrecht, Alemania).
- Grupo 3: Se realizó un lavado con PBS, se cambió el medio; el medio utilizado fue el medio de aislamiento inicial y un aumento del 20% en el suero fetal bovino.

Día 5:

- Grupo 1: Del frasco T25, se transfirieron 10 ml a un tubo cónico estéril, se centrifugó a 500 g durante 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y se añadieron 5 ml del medio de aislamiento inicial previamente filtrado con un filtro de jeringa de 0.22 um al tubo cónico y se ajustó el pH a 7. El contenido del tubo se homogeneizó mediante pipeteo y los 5 ml se transfirieron posteriormente a un flask de una placa estéril de la marca Costar (6-well Cell Culture Cluster Flat Bottom).
- Grupo 2: Del frasco T25 que contenía 10 ml de medio con células, se transfirieron 7 ml a un tubo cónico, seguido de centrifugación a 500 g x 5 min, se eliminó el sobrenadante, y se añadieron 5 ml del medio de aislamiento inicial previamente filtrado con un filtro de jeringa de 0.22 um al tubo cónico y se ajustó el pH a 7. El contenido del tubo se homogeneizó mediante pipeteo y los 5 ml se transfirieron posteriormente a un pozo de una placa estéril de 6 pocillos. Este pozo se etiquetó como “Grupo 2A” y los 3 ml restantes del frasco T25 se transfirieron directamente a un nuevo pozo de la placa. Este pozo se etiquetó como “Grupo 2B.”
- Grupo 3: No se realizaron cambios.

Día 15:

- Grupo 1: Las células y partículas no adheridas contenidas en el medio de este pozo se transfirieron a un tubo cónico, se centrifugó a 500 g x 5 min, se eliminó el sobrenadante, se añadió el nuevo medio de aislamiento filtrado y se ajustó el pH a 7, se transfirió a un pozo de una nueva placa de 6 pocillos. Este pozo se etiquetó como “Grupo 1A.” Por otro lado, se añadieron 5 ml del medio de aislamiento inicial a las células y partículas adheridas a la superficie del pozo, se raspó el fondo del pozo con un raspador de células y se transfirió a un nuevo pozo. Este nuevo pozo se etiquetó como “Grupo 1B.”

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

- Grupo 2A: Las células y partículas no adheridas contenidas en el medio de este pozo se transfirieron a un tubo cónico, se centrifugó a 500 g x 5 min, se eliminó el sobrenadante, se añadió el nuevo medio de aislamiento filtrado y se ajustó el pH a 7, se transfirió a un pozo de una nueva placa de 6 pocillos. Este pozo se etiquetó como "Grupo 2A-1." Por otro lado, se añadieron 5 ml del medio de aislamiento inicial a las células y partículas adheridas a la superficie del pozo, se raspó el fondo del pozo con un raspador de células y se transfirió a un nuevo pozo. Este nuevo pozo se etiquetó como "Grupo 2A-2."
- Grupo 2B y Grupo 3: No se realizaron intervenciones en estos grupos.

Día 20:

Se tomaron alícuotas de los grupos: Grupo 1A, Grupo 1B, Grupo 2A-1 y Grupo 2A-2, y se realizó tinción de Gram para evaluar la presencia de contaminación bacteriana. Además, se realizó la tinción con Trypan Blue para evaluar la viabilidad celular.

Table 2. Tratamientos aplicados

<table>
<tr><th>Día</th><th>Grupo 1</th><th colspan="2">Grupo 2</th><th>Grupo 3</th></tr>
<tr><td>3</td><td colspan="2">Lavado con PBS, aumento del 5% en la concentración del antibiótico y antifúngico</td><td colspan="2">Lavado con PBS, cambio de ambiente, aumento del 20% en el suero fetal bovino.</td></tr>
<tr><td rowspan="2">8</td><td rowspan="2">Transferir 10 ml a un tubo cónico, centrifugar y trasladar a un placo estéril</td><td colspan="2">Transferir 7 ml a un tubo cónico, centrifugar, cambiar de ambiente y trasladar a una placa estéril etiquetado como "Grupo 2 nuevo". Transferir 3 ml a una nueva placa etiquetada como "Grupo 2 antiguo".</td><td rowspan="2">No cambios</td></tr>
<tr><td>Grupo 2 nuevo</td><td>Grupo 2 viejo</td></tr>
<tr><td>15</td><td>Transferir células y partículas no adherentes a una nueva placa etiquetado como "Grupo 1-móvil". Transferir células y partículas adherentes a una nueva placa etiquetado como "Grupo 1-fijo</td><td>Transferir células y partículas no adherentes a un nuevo plato etiquetado como "Grupo 2 nuevo-móvil". Transferir células y partículas adherentes a una nueva placa etiquetado como "Grupo 2 nuevo-fijo".</td><td colspan="2">No cambios</td></tr>
<tr><td>20</td><td colspan="4">Tinción de Gram para evaluar la contaminación bacteriana. Tinción con Azul de Tripano para evaluar la viabilidad celular.</td></tr>
</table>

4.4.4 Caracterización de células madre

Se utilizó un microscopio invertido Olympus y se realizaron observaciones con la lente de 40X.

5. RESULTADOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

5. RESULTADOS

5.1 REGENERACIÓN PERIODONTAL CON CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES.

5.1.1 Selección de estudios

A través de la búsqueda antes mencionada se identificaron 111 artículos, cuyos resúmenes fueron revisados en busca de contenido relevante para el tema en estudio, siendo excluidos 93 de los artículos por este motivo. Tras realizar el análisis crítico de los estudios, 18 estudios de diferentes áreas geográficas cumplieron los criterios de inclusión. Estos 18 artículos se incluyeron para el análisis cualitativo y 5 de dichos artículos se incluyeron para el metaanálisis (Figura 9).

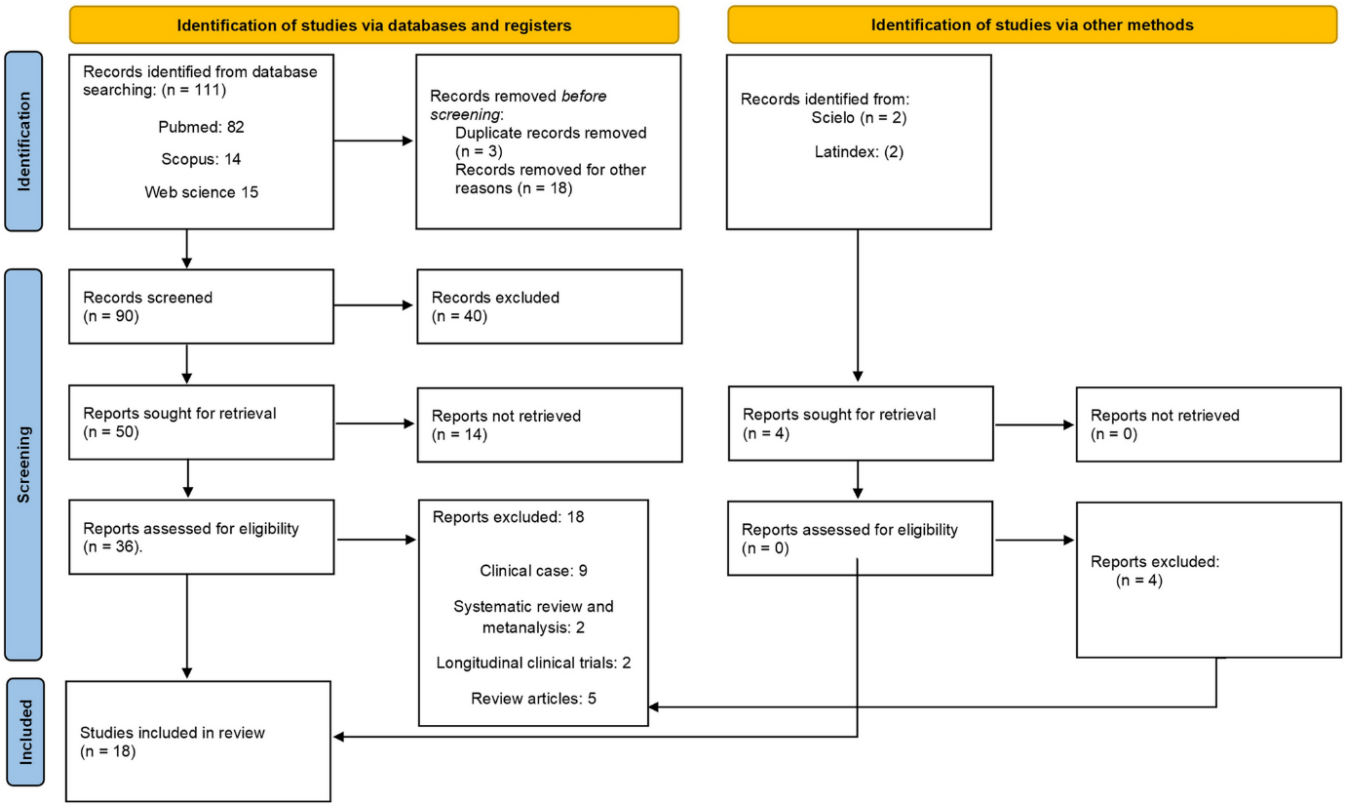


Figura 9. Diagrama de flujo PRISMA. Síntesis del análisis bibliográfico

5.1.2 Riesgo de sesgo

Se evaluaron un total de 20 artículos utilizando la herramienta SYRCLE RoB [216]. La evaluación consideró varios dominios de riesgo de sesgo, incluyendo la generación de secuencia, el ocultamiento de la asignación, los datos de resultados incompletos y las fuentes de sesgo. Cada estudio fue analizado de manera exhaustiva para identificar cualquier posible sesgo que pudiera influir en los resultados y la interpretación de los datos.

La evaluación con la herramienta SYRCLE RoB determinó que todos los estudios tenían un bajo riesgo de sesgo [59, 230-246]

Los resultados específicos para cada dominio de sesgo son los siguientes:

- **Generación de secuencia:** Todos los estudios implementaron métodos adecuados para la generación aleatoria de la secuencia, asegurando que no hubiera influencia en la asignación de los sujetos a los diferentes grupos experimentales.

- **Ocultamiento de la asignación**: Se garantizó que la asignación a los grupos experimentales fue realizada sin conocimiento previo de los investigadores, lo cual minimiza el riesgo de sesgo de selección.

- **Datos de resultados incompletos:** Los estudios proporcionaron datos completos de los resultados, y las pérdidas de seguimiento fueron adecuadamente reportadas y justificadas, reduciendo así el sesgo de desgaste.

- **Fuentes de sesgo:** No se identificaron otras fuentes significativas de sesgo que pudieran afectar la validez de los resultados.

Los datos detallados y los resultados individuales para cada estudio se presentan en la Tabla 3.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 3. Herramienta Rob de SYRCLE para cada estudio experimental con animales (n =18).

Estudio	Sesgo de Selección		Sesgo de Deserción	Sesgo de Reporte	Otros Sesgos
	Generación de Secuencia	Ocultación de La Asignación	Datos Incompletos de Resultados	Reporte Selectivo	Otras Fuentes de Sesgo
Vanessa Hui-Ying Chung et al [230]	Yes	Si	No	Poco claro	No
Yuka Tsumanuma et al [59]	Poco claro	Si	No	Poco claro	No
K. M. Fawzy El-Sayed et al [231]	Si	Si	No	Poco claro	No
J Han et al [232]	Si	Si	No	Poco claro	No
Duan et al [233]	Si	Si	No	Poco claro	No
Suaid et al [234]	Si	Si	No	Poco claro	No
Nuñez et al [235]	Si	Si	No	Poco claro	No
Simsek et al. [236]	Si	Si	No	Poco claro	No
Suaid et al [237]	Si	Si	No	Poco claro	No
Zhou et al. [238]	Si	Si	No	Poco claro	No
Khorsand et al [239]	Si	Si	No	Poco claro	No
Tobita et al. [240]	Si	Si	No	Poco claro	No
Yu et al [241]	Si	Si	No	Poco claro	No
Iwasaki et al [242]	Si	Si	No	Poco claro	No
Cai et al.2015 [243]	Si	Si	No	Poco claro	No
Nagahara et al. 2015 [244]	Si	Si	No	Poco claro	No
Paknejad et al 2015 [245]	Si	Si	No	Poco claro	No
Zhang et al 2017 [246]	Si	Si	No	Poco claro	No
positive (buen) indicador	Poco claro	negativo (malo) indicator			

5.1.3 Análisis Cualitativo: Características Clínicas y Regeneración Periodontal

Este análisis cualitativo examina las características clínicas y los efectos de diferentes materiales regenerativos, incluidos las MSC y otros materiales, en la regeneración periodontal. La regeneración periodontal se evaluó en términos de ganancia de hueso alveolar, ligamento periodontal y tejido de cemento alveolar.

Los estudios se dividieron en dos grupos principales: Primer Grupo (MSC solas o mezcladas con otros materiales regenerativos), este grupo incluyó una variedad de materiales regenerativos combinados con MSC. Las MSC fueron obtenidas de diferentes fuentes como la pulpa dental, el ligamento periodontal, el margen gingival, la médula ósea y las células alveolares periósticas. Segundo Grupo (Otros materiales regenerativos): Este grupo incluyó productos regenerativos sin la combinación de MSC.

Materiales Regenerativos Utilizados:

Primer Grupo (MSC y Materiales Regenerativos Combinados):

- **Ácido Poliglicólico y Hueso Bovino:** Estos materiales mostraron una buena integración con MSC, promoviendo la formación de hueso alveolar y ligamento periodontal.
- **Esponja de Gelatina y Seda Recubierta de Apatita:** Resultaron eficaces en la regeneración de tejido periodontal, proporcionando una matriz adecuada para la proliferación celular.
- **Hueso Cortical Autógeno y PRP:** Este tipo de combinación obtuvo una significancia la regeneración de tejido periodontal debido a las propiedades osteogénicas y la liberación gradual de factores de crecimiento.
- **Ácido Poliglicólico/Carbonato de Trimetileno, Beta-Fosfato Tricálcico, Hidroxiapatita y Colágeno Biomimético:** Estos materiales, combinados con MSC, mostraron una regeneración periodontal eficiente, con una notable ganancia en el hueso alveolar y la formación de nuevo tejido de ligamento periodontal.
- **Segundo Grupo (Otros Materiales Regenerativos):**
- **Hueso Bovino y Adenovirus:** Aunque estos materiales no se combinaron con MSC, mostraron una capacidad regenerativa considerable en términos de formación de hueso alveolar.
- **Fosfato Beta-Tricálcico y PRP:** Utilizados como materiales individuales, estos mostraron mejoras moderadas en la regeneración periodontal.
- **Ácido Poliglicólico/Carbonato de Trimetileno y Osteoprotegerina:** Resultaron en una regeneración periodontal adecuada, aunque menos efectiva en comparación con las combinaciones de MSC.

En el análisis cualitativo se consideraron 18 artículos, algunos de los cuales contenían resultados expresados en porcentajes, milímetros y milímetros cuadrados. El 67% de los estudios se realizaron en perros Beagle, el 22% en ratas y el 11% en mini pigs. En los grupos de estudio, las células madre más relevantes fueron las obtenidas del ligamento periodontal (PDLMSC) y las células madre de médula ósea (BM-MSC) mezcladas con hueso bovino o plasma rico en plaquetas. En cuanto a los defectos óseos, el tipo de célula madre más

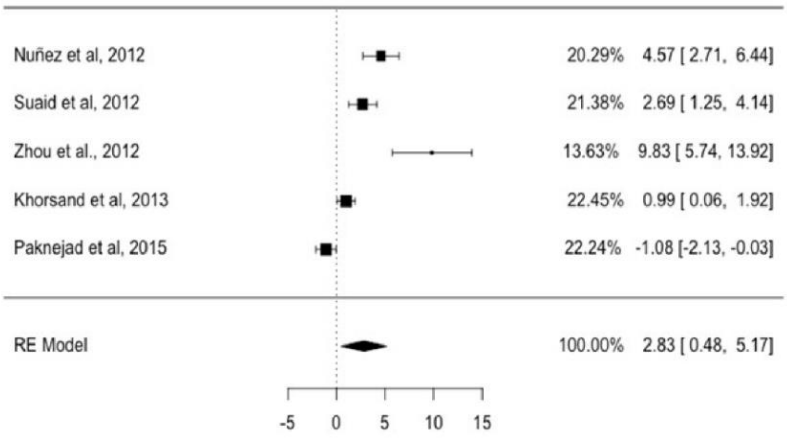
utilizado fue PDLMSC con hueso bovino y en defectos de furcación tipo II y III se utilizó BM-MSC con plasma rico en plaquetas.

Las combinaciones de MSC con otros materiales regenerativos proporcionan una mayor eficiencia en la regeneración periodontal en comparación con el uso de materiales regenerativos solos. Los resultados destacan la importancia de las MSC en la promoción de la formación de hueso alveolar, ligamento periodontal y tejido de cemento alveolar, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones clínicas en la regeneración periodontal.

5.1.4 Metaanálisis de la Regeneración de Cemento Radicular

Los resultados obtenidos respecto a la regeneración del cemento radicular al comparar el tamaño del efecto entre el Grupo 1-Grupo 2, siendo el Grupo 1 células madre y el Grupo 2 otros materiales regenerativos, muestra que el Grupo 1 presentó mayor regeneración de tejido periodontal que el Grupo 2. De hecho, los resultados iniciales mostraron que, entre los estudios revisados, el tamaño del efecto tuvo un promedio de 3,4005 mm de tejido con una desviación estándar de 1,2634. Esto significa que el tamaño medio del efecto expresa explícitamente el valor más alto del Grupo 1 respecto al Grupo 2 con características de homogeneidad experimental en cada uno de los experimentos debido al coeficiente de variación no mayor a uno, | CV |< 1.

Considerando el ajuste a un modelo de efectos aleatorios, la varianza combinada, $\tau 2$ fue de 6,1573 con un porcentaje de heterogeneidad total $I2$ entre estudios del 92,33% (Figura 10).



Tau2 (cantidad estimada de heterogeneidad total): 6.1573 (EE=5.6008)
Tau (raíz cuadrada del valor estimado de tau2): 2.4814
I2 (variabilidad total / variabilidad de muestreo): 92.33%
H2 (variabilidad total / variabilidad de muestreo): 13.03
Prueba de heterogeneidad:
Q(gl=4) = 52.1251, valor p < ,0001

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 10. Forest plot y datos del metaanálisis para la regeneración en cemento nuevo.

A un nivel de significancia de 0,05 no hubo evidencia estadística para confirmar que el efecto entre tratamientos sea igual. Hubo alta variabilidad entre los resultados obtenidos al comparar ambos tratamientos Q = 52.1251 (p < 0,0001), por lo que hubo gran influencia de al menos una experimentación (células madre). El gráfico de embudo, el gráfico de influencia y el gráfico de bosque muestran las diferencias significativas entre los experimentos, diferencias que se atribuyen al estudio de Zhou et al. 2012 que tiene una participación del estudio del 13,63%, y un tamaño del efecto promedio estimado con un nivel de confianza de 0,95 (95%) de entre 5,74 y 13,92 (Figura 11).

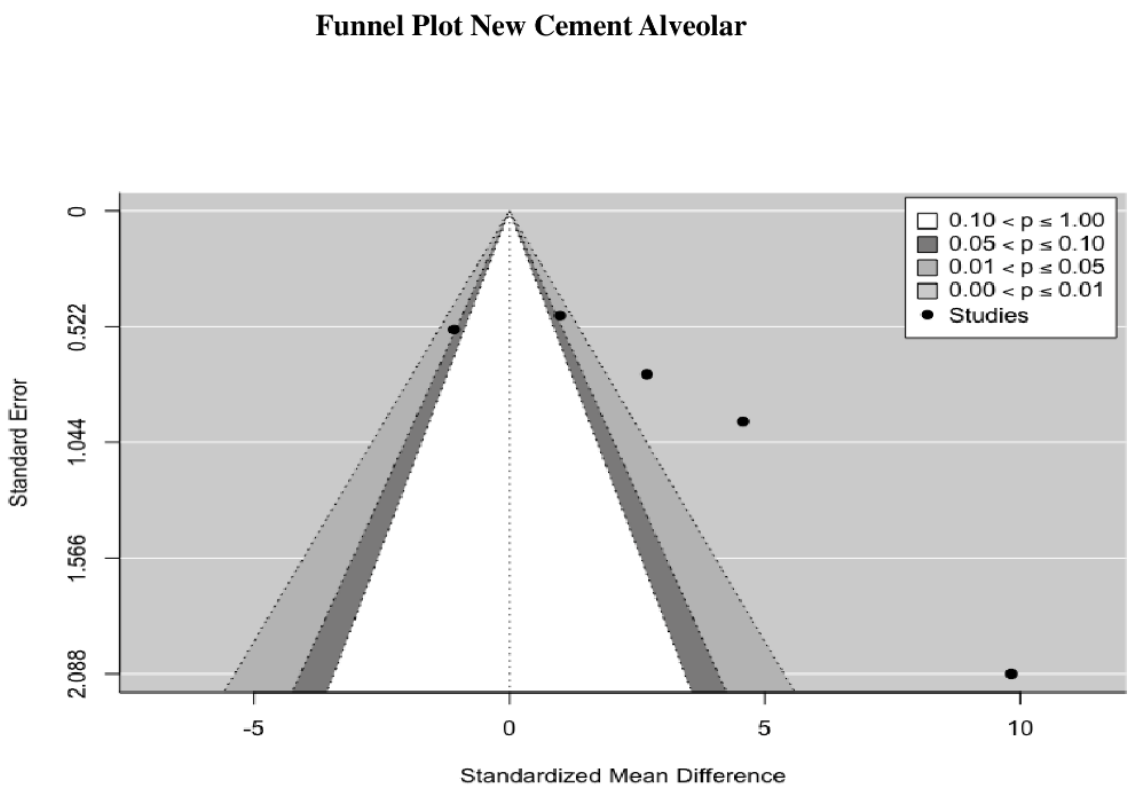


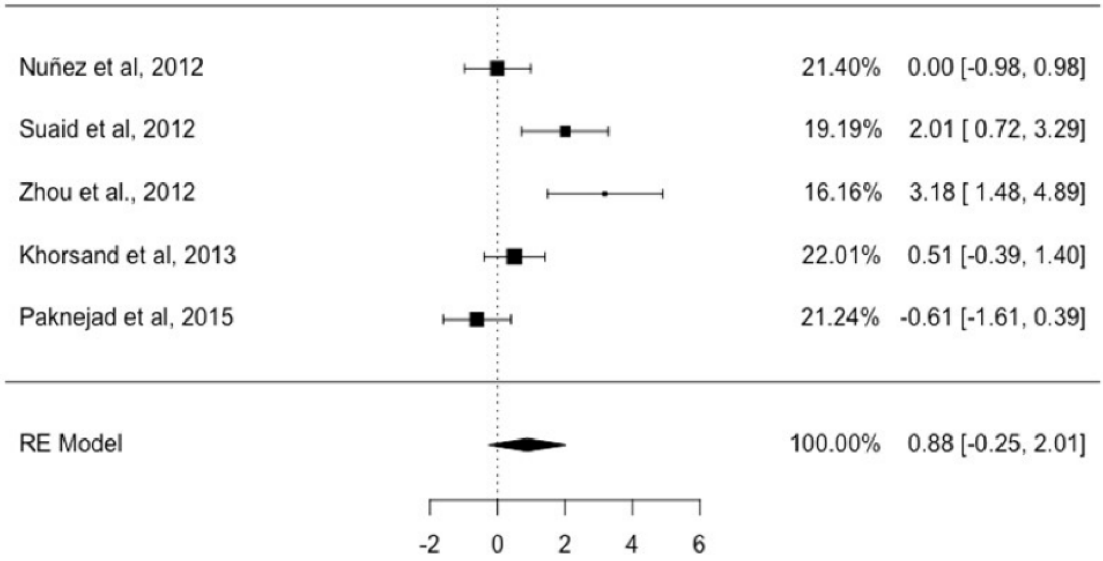
Figura 11: Gráfico en embudo para la regeneración en cemento nuevo.

5.1.5 Metaanálisis de hueso nuevo

De acuerdo con los resultados obtenidos al comparar la regeneración del hueso alveolar, el tamaño del efecto entre el Grupo 1 y el Grupo 2, siendo el Grupo 1 células madre y el Grupo 2 otros materiales regenerativos, se evidenció que el Grupo 1 presentó mayor regeneración de tejido periodontal que Grupo 2. En efecto, los resultados mostraron que entre los estudios revisados el tamaño del efecto tuvo un promedio de 1,2717 mm de tejido, con una desviación estándar de 0,3806. Esto significa por tanto que el tamaño medio del efecto expresa explícitamente el valor más alto del Grupo 1 respecto al Grupo 2,

con características de homogeneidad experimental en cada uno de los experimentos resultantes de un coeficiente de variación, no mayor que uno, | CV |< 1.

Luego de calcular el tamaño del efecto en cada uno de los 5 estudios, se determinó una alta variabilidad en cada uno de los experimentos (Grupo con células madre y grupo con otros materiales), un promedio de 1.2717 ± 0.3806 mm con características de homogeneidad experimental en cada uno de los experimentos debido a un coeficiente de variación no superior a uno, | cv |< 1. Considerando el ajuste a un modelo de efectos aleatorios, la varianza combinada fue 1.3108, con un porcentaje de heterogeneidad total entre estudios del 80,46% (Figura 12).



Tau2 (cantidad estimada de heterogeneidad total): 1.3108 (EE=1.2021)
Tau (raíz cuadrada del valor estimado de tau2): 1.1449
I2 (variabilidad total / variabilidad de muestreo): 80.46%
H2 (variabilidad total / variabilidad de muestreo): 5.12
Prueba de heterogeneidad:
Q(gl=4) = 20.4717, valor p < 0,0004

Figura 12. Forest plot y datos del metaanálisis para la regeneración en hueso alveolar

A un nivel de significancia de 0,05 no hubo evidencia estadística que sugiera que el efecto entre los tratamientos sea igual. Por lo tanto, hubo una alta variabilidad entre los resultados obtenidos al comparar ambos tratamientos. Q = 20,4717 (p < 0,0004). El gráfico en embudo, el gráfico de influencia y el gráfico de bosque muestran que hubo diferencias significativas entre los experimentos, y estas diferencias se atribuyeron al estudio de Zhou et al. 2012 que tiene una participación del estudio del 16,16% y un tamaño del efecto

USC
FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA DE COMPOSTELA

promedio estimado con un nivel de confianza de 0,95 (95%) de entre 1,48 y 4,89 (Figura 13).

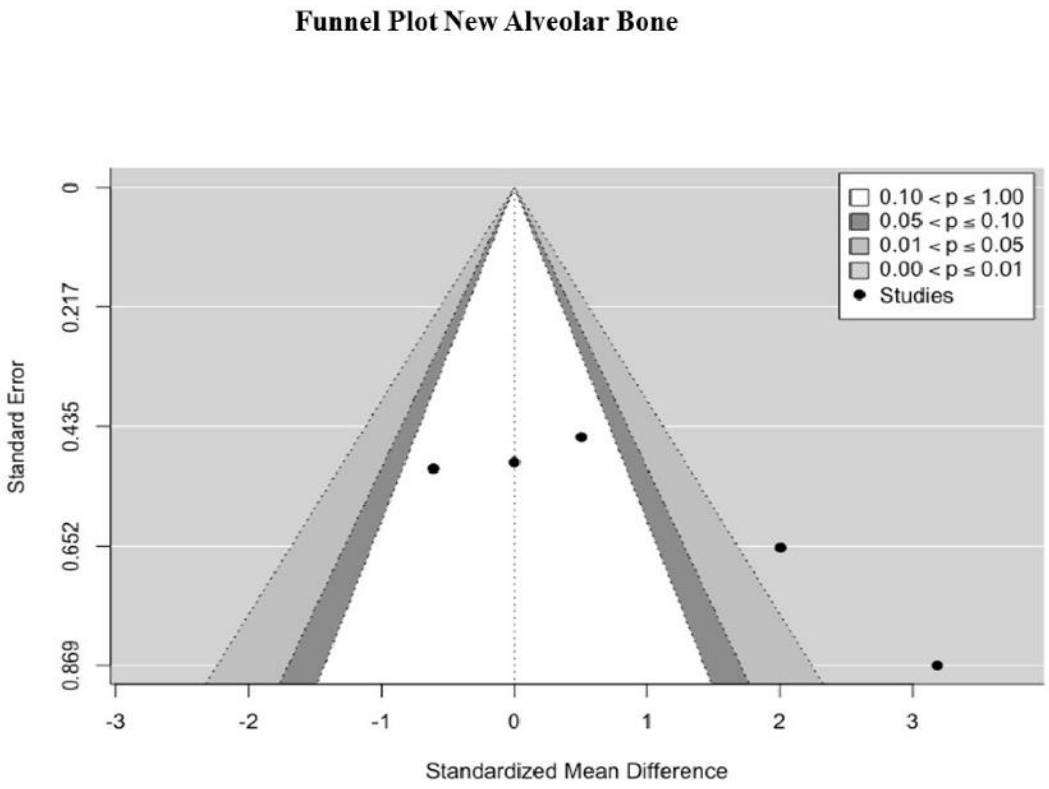


Figura 13. Gráfico en embudo para la regeneración en hueso alveolar.

5.2 REGENERACIÓN PERIODONTAL CON PLASMA RICO EN FIBRINA.

5.2.1 Selección de estudios

Los resultados de la búsqueda se basan en las directrices PRISMA.[223] Se identificaron 284 artículos cuyos resúmenes fueron revisados por contenido relevante al tema en estudio, de los cuales se excluyeron 252 estudios. Una vez completado el análisis crítico, 32 artículos de un ensayo clínico aleatorizado cumplieron los criterios de inclusión para la regeneración de defectos intraóseos periodontales con PRF solo o con otro biomaterial regenerativo. (Figura 14)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

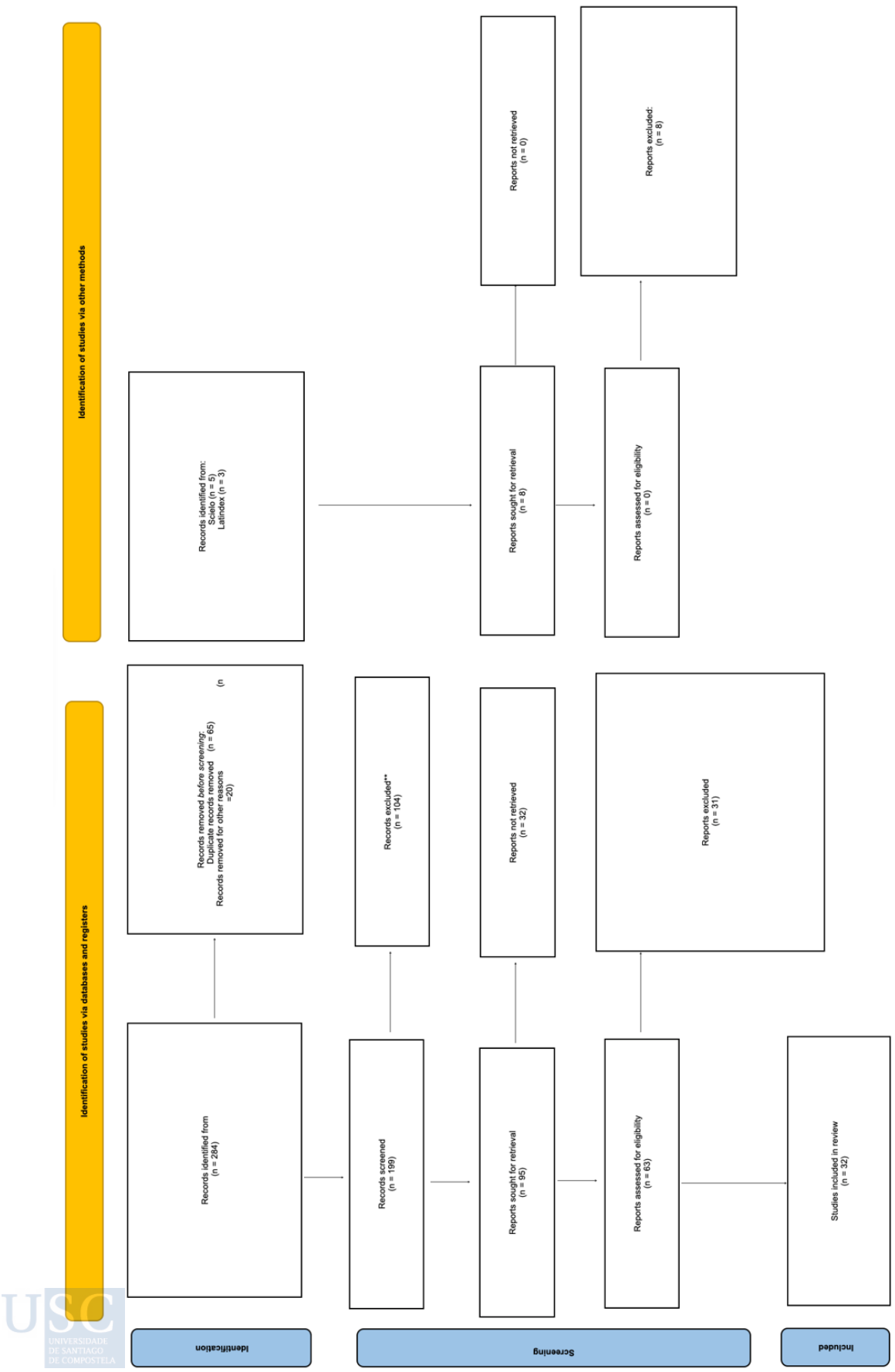


Figura 14. Diagrama de flujo PRISMA. Síntesis del análisis bibliográfico

Los 32 estudios incluidos en la revisión presentaron datos valiosos sobre la efectividad de PRF en la regeneración de defectos intraóseos periodontales. A continuación, se mencionan algunas observaciones clave de estos estudios:

- **Eficacia de PRF solo:** Varios estudios [247-254] demostraron que el uso de PRF solo puede promover la regeneración ósea en defectos periodontales, mejorando la densidad ósea y reduciendo la profundidad de sondaje.

- **PRF combinado con otros biomateriales**: La combinación de PRF con otros biomateriales regenerativos, como el hueso de aloinjerto o sustitutos óseos sintéticos, mostró resultados superiores en comparación con el uso de PRF solo. Estos estudios [255-278] indicaron una mayor formación de hueso nuevo y una mejor integración del injerto.

El análisis de los 32 estudios incluidos en esta revisión sistemática proporciona evidencia sólida de que el PRF, tanto solo como en combinación con otros biomateriales, es eficaz para la regeneración de defectos intraóseos periodontales. Los resultados sugieren que la combinación de PRF con otros biomateriales puede ofrecer beneficios adicionales en términos de formación ósea y estabilidad a largo plazo.

5.2.1.1 Riesgo de sesgo

Los artículos seleccionados se evaluaron utilizando la herramienta Cochrane de Evaluación del Riesgo de Sesgo (RoB) para ECA, obteniendo que todos los estudios tenían un bajo riesgo de sesgo (RoB), esto implica que los resultados de estos estudios son confiables. [220] Tabla 4

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 4. Herramienta Cochrane de riesgo de sesgo para ensayos controlados aleatorios

Estudio	Sesgo de Selección		Sesgo de Desempeño	Sesgo de Detección	Sesgo de Atrición	Sesgo de Reporte	Otros Sesgos
Autor	Generación de Secuencia	Ocultación de la Asignación	Ciego de Participantes y Personal	Ciego de Evaluadores de Resultados	Datos Incompletos de resultados	Reporte Selectivo de Resultados	Otras Fuentes de Sesgo
Sharma and Pradeep 2011 [247]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Thorat et al 2011 [248]	Si	Poco claro	Poco claro	Si	No	No	No
Rosamma et al. 2014 [249]	Si	Poco claro	Poco claro	Si	No	No	No
Ajwani et al. 2015 [250]	Si	Poco claro	Poco claro	Si	No	No	No
Bajaj et al. 2017 [251]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Patel et al. 2017 [252]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Pradeep et al. 2017 [253]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Thorat et al. 2017 [254]	Si	Poco claro	Poco claro	Si	No	No	No
Mathur et al. 2015 [255]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Sha et al. 2015 [256]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Chadwick et al. 2016 [257]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Galav et al. 2016 [258]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Yajamanya et al. 2017 [259]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Bansal and Bharti 2013 [260]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Elgendy and Abo Shady 2015 [261]	Si	Si	Si	Si	Poco claro	No	No
Agarwal et al. 2016 [262]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Naqvi et al. 2017 [263]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Sezgin et al. 2017 [264]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Liu et al. 2021 [265]	Si	Poco claro	Si	Si	Poco claro	No	No
Paolantonio et al. 2020 [266]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Bodhare et al. 2019 [267]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Pham 2021 [268]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Ustaoğlu et al. 2020 [269]	Si	Poco claro	Poco claro	Si	No	No	No
Panda et al. 2016 [270]	Si	Yes	Si	Si	No	No	No
Pradeep et al. 2012 [271]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Gupta et al. 2014 [272]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
CsifóNagy 2021 [273]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Aydemir Turkal et al. [274]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Pradeep et al. 2015 [275]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
Kanoriya et al. 2016 [276]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Martinde et al. 2016 [277]	Si	Si	Si	Si	No	No	No
Pradeep et al. 2016 [278]	Si	Poco claro	Si	Si	No	No	No
		Positivo (bueno) indicator		Poco claro		Negativo (malo) indicator	

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

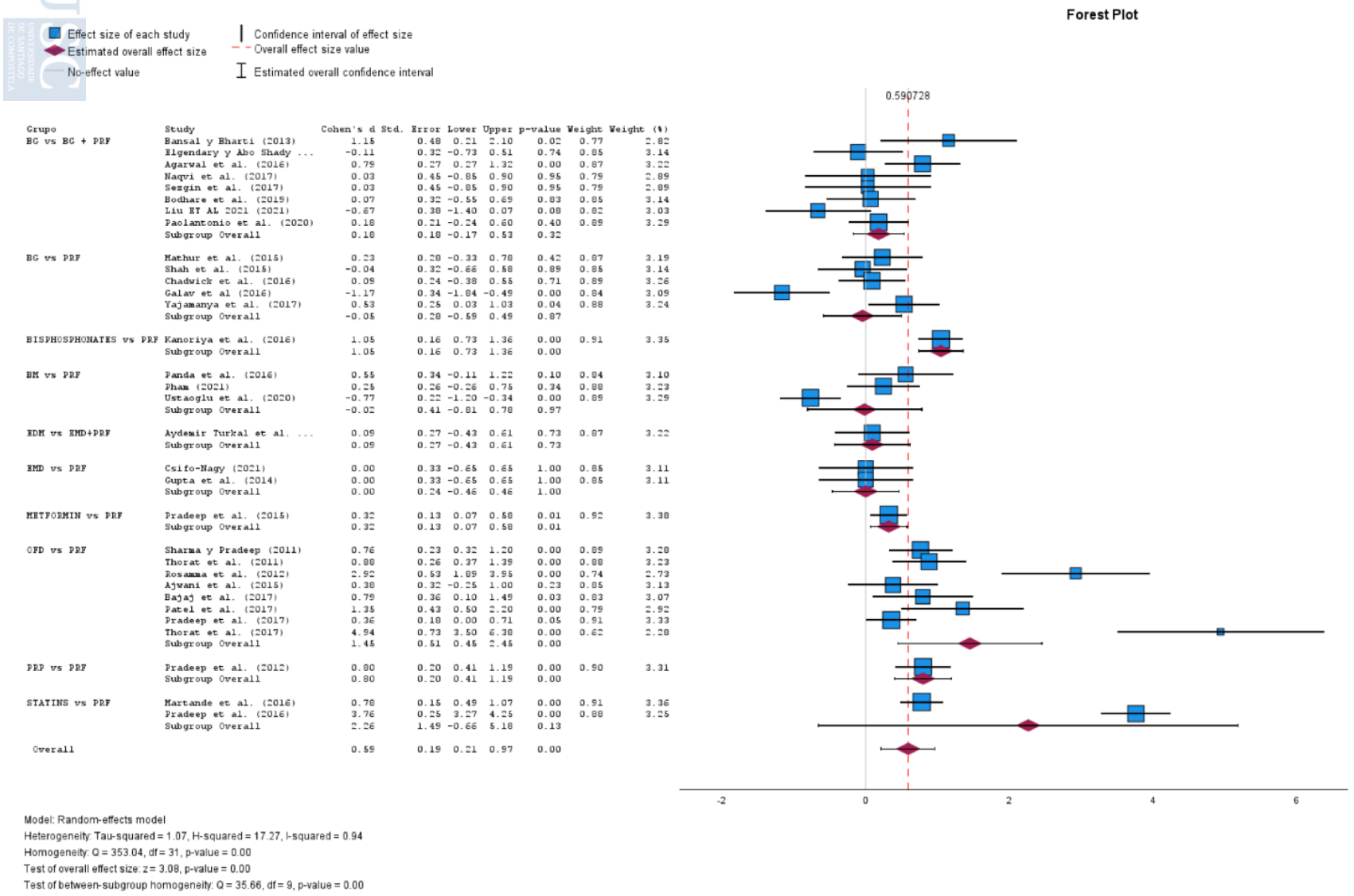
5.2.1.2 Metaanálisis

Profundidad de sondaje

El tamaño del efecto general obtenido fue de 0.59 con un intervalo de confianza (IC) del 95% que varía entre 0.21 y 0.97. Un valor de p de 0,00 indica que los resultados son estadísticamente significativos. Este tamaño del efecto sugiere una mejora moderada en la reducción de la profundidad de sondaje gracias al tratamiento aplicado, lo cual es clínicamente relevante para la regeneración periodontal.

Un valor de I-cuadrado de 0.94 (94%) indica una alta heterogeneidad entre los estudios. Esto significa que la variabilidad en los resultados no se debe solo al azar, sino que puede haber diferencias sustanciales en los diseños de estudio, las poblaciones estudiadas, o las intervenciones aplicadas. (Figura 15)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



Grupo	Study	Cohen's d	Std. Error	Lower	Upper	p-value	Weight	Weight (%)
BG vs BG + PRF	Bansal y Bharti (2013)	1.15	0.48	0.21	2.10	0.02	0.77	2.82
	Elgendary y Abo Shady ...	-0.11	0.32	-0.73	0.51	0.74	0.85	3.14
	Agarwal et al. (2016)	0.79	0.27	0.27	1.32	0.00	0.87	3.22
	Naqvi et al. (2017)	0.03	0.45	-0.85	0.90	0.95	0.79	2.89
	Sezgin et al. (2017)	0.03	0.45	-0.85	0.90	0.95	0.79	2.89
	Bodhare et al. (2019)	0.07	0.32	-0.55	0.69	0.83	0.85	3.14
	Liu ET AL 2021 (2021)	-0.67	0.38	-1.40	0.07	0.08	0.82	3.03
	Paolantonio et al. (2020)	0.18	0.21	-0.24	0.60	0.40	0.89	3.29
	Subgroup Overall	0.18	0.18	-0.17	0.53	0.32		
BG vs PRF	Mathur et al. (2015)	0.23	0.28	-0.33	0.78	0.42	0.87	3.19
	Shah et al. (2015)	-0.04	0.32	-0.66	0.58	0.89	0.85	3.14
	Chadwick et al. (2016)	0.09	0.24	-0.38	0.55	0.71	0.89	3.26
	Galav et al (2016)	-1.17	0.34	-1.84	-0.49	0.00	0.84	3.09
	Yajamanya et al. (2017)	0.53	0.25	0.03	1.03	0.04	0.88	3.24
	Subgroup Overall	-0.05	0.28	-0.59	0.49	0.87		
BISPHOSPHONATES vs PRF	Kanoriya et al. (2016)	1.05	0.16	0.73	1.36	0.00	0.91	3.35
	Subgroup Overall	1.05	0.16	0.73	1.36	0.00		
BM vs PRF	Panda et al. (2016)	0.55	0.34	-0.11	1.22	0.10	0.84	3.10
	Pham (2021)	0.25	0.26	-0.26	0.75	0.34	0.88	3.23
	Ustaoglu et al. (2020)	-0.77	0.22	-1.20	-0.34	0.00	0.89	3.29
	Subgroup Overall	-0.02	0.41	-0.81	0.78	0.97		
EDM vs EMD+PRF	Aydemir Turkal et al. ...	0.09	0.27	-0.43	0.61	0.73	0.87	3.22
	Subgroup Overall	0.09	0.27	-0.43	0.61	0.73		
EMD vs PRF	Csifo-Nagy (2021)	0.00	0.33	-0.65	0.65	1.00	0.85	3.11
	Gupta et al. (2014)	0.00	0.33	-0.65	0.65	1.00	0.85	3.11
	Subgroup Overall	0.00	0.24	-0.46	0.46	1.00		
METFORMIN vs PRF	Pradeep et al. (2015)	0.32	0.13	0.07	0.58	0.01	0.92	3.38
	Subgroup Overall	0.32	0.13	0.07	0.58	0.01		
OPD vs PRF	Sharma y Pradeep (2011)	0.76	0.23	0.32	1.20	0.00	0.89	3.28
	Thorat et al. (2011)	0.88	0.26	0.37	1.39	0.00	0.88	3.23
	Rosamma et al. (2012)	2.92	0.53	1.89	3.95	0.00	0.74	2.73
	Ajwani et al. (2015)	0.38	0.32	-0.25	1.00	0.23	0.85	3.13
	Bajaj et al. (2017)	0.79	0.36	0.10	1.49	0.03	0.83	3.07
	Patel et al. (2017)	1.35	0.43	0.50	2.20	0.00	0.79	2.92
	Pradeep et al. (2017)	0.36	0.18	0.00	0.71	0.05	0.91	3.33
	Thorat et al. (2017)	4.94	0.73	3.50	6.38	0.00	0.62	2.28
	Subgroup Overall	1.45	0.51	0.45	2.45	0.00		
PRP vs PRF	Pradeep et al. (2012)	0.80	0.20	0.41	1.19	0.00	0.90	3.31
	Subgroup Overall	0.80	0.20	0.41	1.19	0.00		
STATINS vs PRF	Martande et al. (2016)	0.78	0.15	0.49	1.07	0.00	0.91	3.36
	Pradeep et al. (2016)	3.76	0.25	3.27	4.25	0.00	0.88	3.25
	Subgroup Overall	2.26	1.49	-0.66	5.18	0.13		
Overall		0.59	0.19	0.21	0.97	0.00		

Model: Random-effects model
Heterogeneity: Tau-squared = 1.07, H-squared = 17.27, I-squared = 0.94
Homogeneity: Q = 353.04, df = 31, p-value = 0.00
Test of overall effect size: z = 3.08, p-value = 0.00
Test of between-subgroup homogeneity: Q = 35.66, df = 9, p-value = 0.00

Figura 15. Gráfico de bosque para análisis de PD

El valor de z en la prueba de tamaño del efecto global fue de 3.08. Este valor, que también es significativo, refuerza la robustez del tamaño del efecto general obtenido, indicando que la intervención tiene un impacto positivo en la reducción de la profundidad de sondaje.

El Funnel Plot también nos proporciona un rico análisis basado en el error estándar, es decir, los estudios fuera del embudo tienen sesgo de publicación, mientras que los estudios dentro y más cercanos al vértice tienen mayor calidad metodológica. (Figura 16)

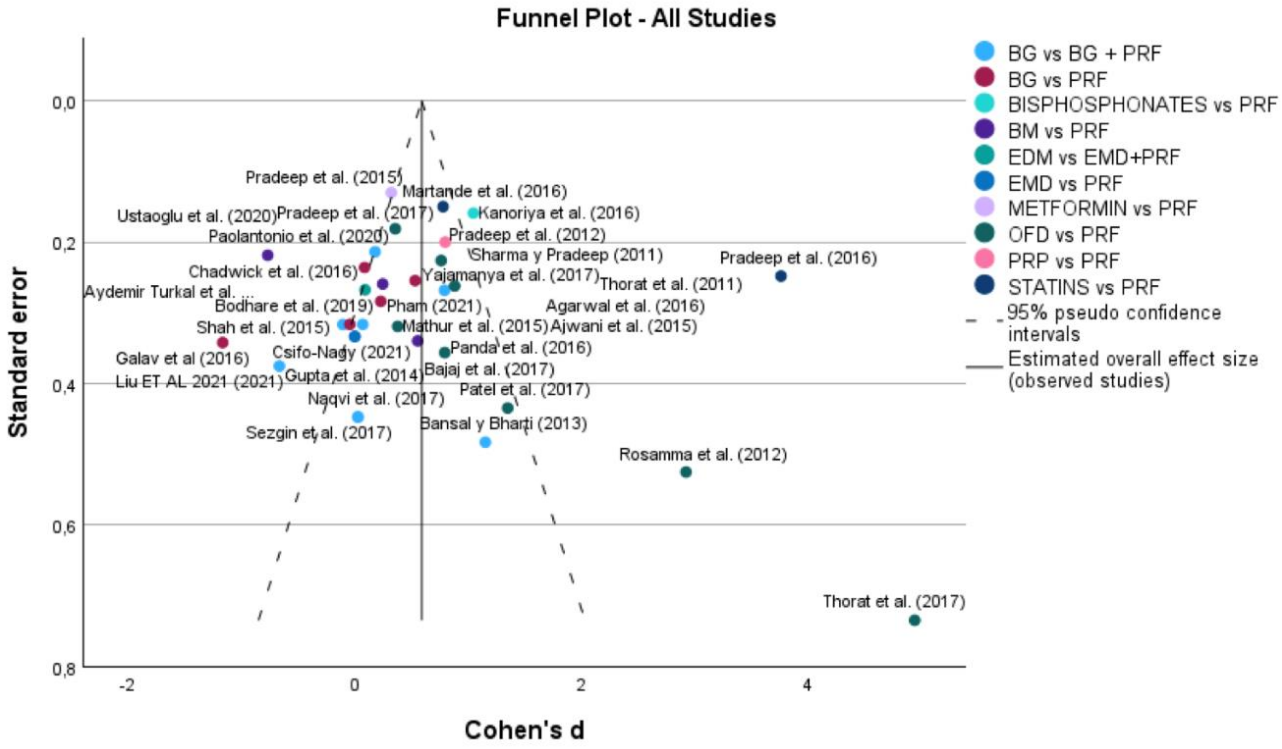


Figura 16. Gráfico de embudo para análisis de grupos de PD.

El grupo STATISTS vs. PRF tiene el mayor tamaño de muestra, aunque no presenta significancia estadística entre los grupos de estudio. Sin embargo, se puede señalar que los grupos Bifosfonatos vs. PRF, OFD vs. PRF y PRF vs. PRF mostraron significancia estadística con un valor $p < 0,05$. Estos resultados se reflejan claramente en los intervalos de confianza del 95% (IC95%) y la posición del diamante en el diagrama forestal para cada grupo de estudio.

Aunque el grupo de BG vs. BG + PRF no muestra significancia, estudios específicos como los de Bansal y Bharti [260], Agarwal et al.[262] y Kanoriya et al. [276] presentan factores de riesgo estadísticamente significativos. En contraste, Ustaoglu et al. [269] son significativos como factor protector. Martande et al. [277] y Pradeep et al.[278] destacan como factores de riesgo

para el potencial regenerativo del PRF en defectos óseos periodontales. Galav et al. [258] y Yajamanya et al.[259] son altamente significativos con un riesgo protector para el uso de ABG o PRF como reconstructores de estructuras periodontales, además de ser significativos con un factor de riesgo para los resultados radiográficos con PerioGlas y PRF. El estudio de Pradeep et al. [275] es significativo con un factor de riesgo para el grupo PRF + MF1%. Los estudios de Sharma y Pradeep [247], Thorat et al.[254], Rosamma et al. [249], Bajaj et al. [251], Patel et al.[252] y Pradeep et al.[278] son altamente significativos en términos de riesgo de control. Además, el estudio de Pradeep et al. [271] es estadísticamente significativo para el control del riesgo en la reducción de la profundidad de sondaje (PD) y la ganancia de nivel de inserción clínica (CAL) y relleno óseo.

Grupo de Nivel de inserción clínica

El modelo de efectos aleatorios Forest Plot, que considera todos los grupos, arrojó un tamaño del efecto general de 0.67 con un intervalo de confianza (IC) del 95% entre 0.31 y 1.03. Un valor de p de 0.00 indica que los resultados son estadísticamente significativos. Este tamaño del efecto sugiere una mejora moderada en la reducción de la profundidad de sondaje gracias al tratamiento aplicado, lo cual es clínicamente relevante para la regeneración periodontal. (figura 17).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

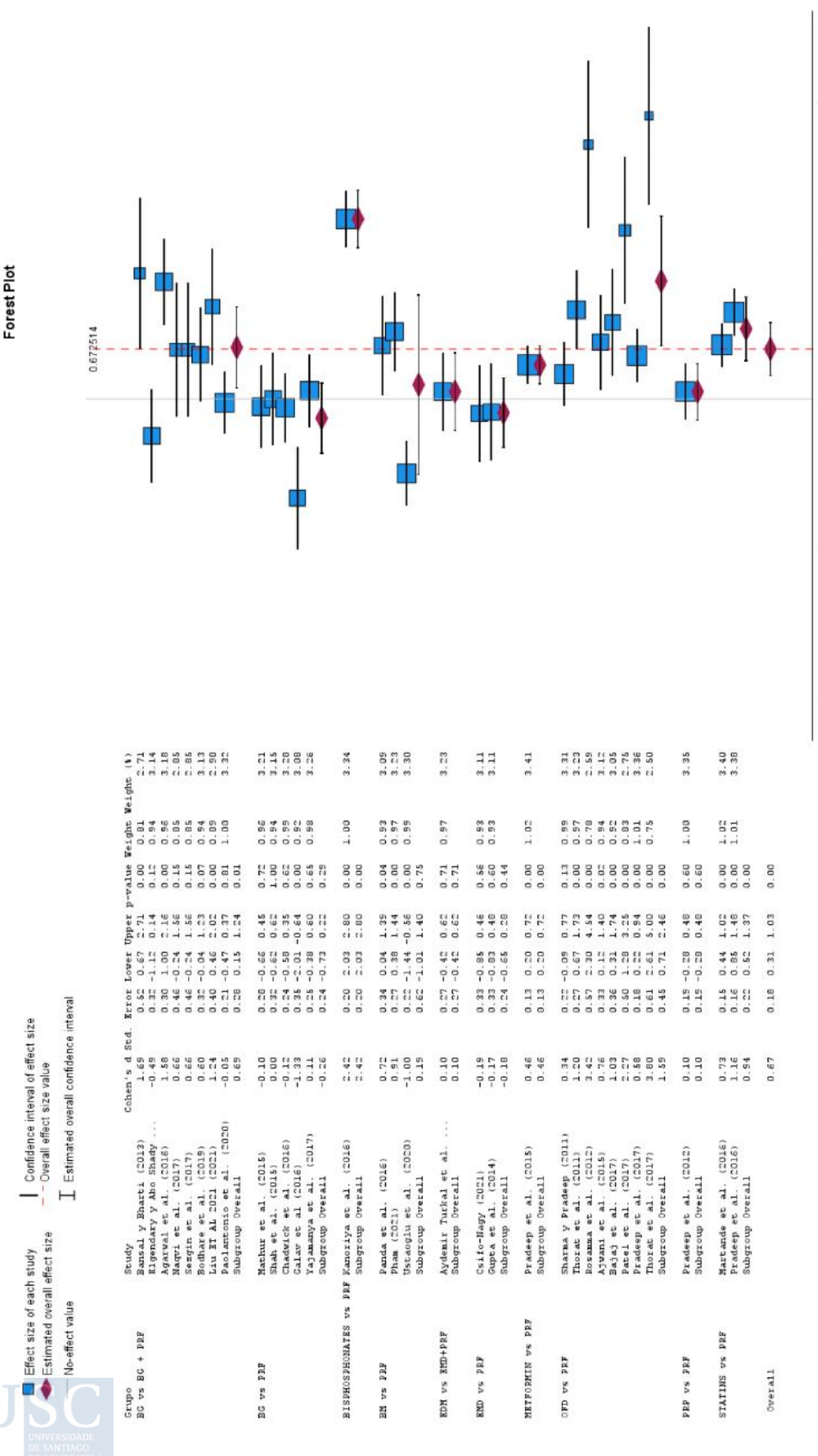


Figura 17. Gráfico de bosque para análisis de grupos CAL

La heterogeneidad, medida por el valor de I-cuadrado (I^2), fue de 94%, indicando una alta variabilidad entre los estudios. Esto sugiere que la variabilidad en los resultados no se debe solo al azar, sino que puede haber diferencias sustanciales en los diseños de estudio, las poblaciones estudiadas o las intervenciones aplicadas. La heterogeneidad se cuantificó con Tau-cuadrado (τ^2) de 0.96 y H-cuadrado (H^2) de 15.55.

El valor de z en la prueba de tamaño del efecto general fue de 3.68, lo que también es significativo y refuerza la robustez del tamaño del efecto general obtenido, indicando que la intervención tiene un impacto positivo en la reducción de la profundidad de sondaje.

El análisis del Funnel Plot proporciona una visión adicional basada en el error estándar. Los estudios que se encuentran fuera del embudo muestran indicios de sesgo de publicación, mientras que aquellos dentro y más cercanos al vértice tienen una mayor calidad metodológica. Los estudios de Pradeep et al. [275] [278] y Martande et al. [277] demostraron una mayor precisión en su metodología de publicación, basada en una confiabilidad del 95%. (figura 18).

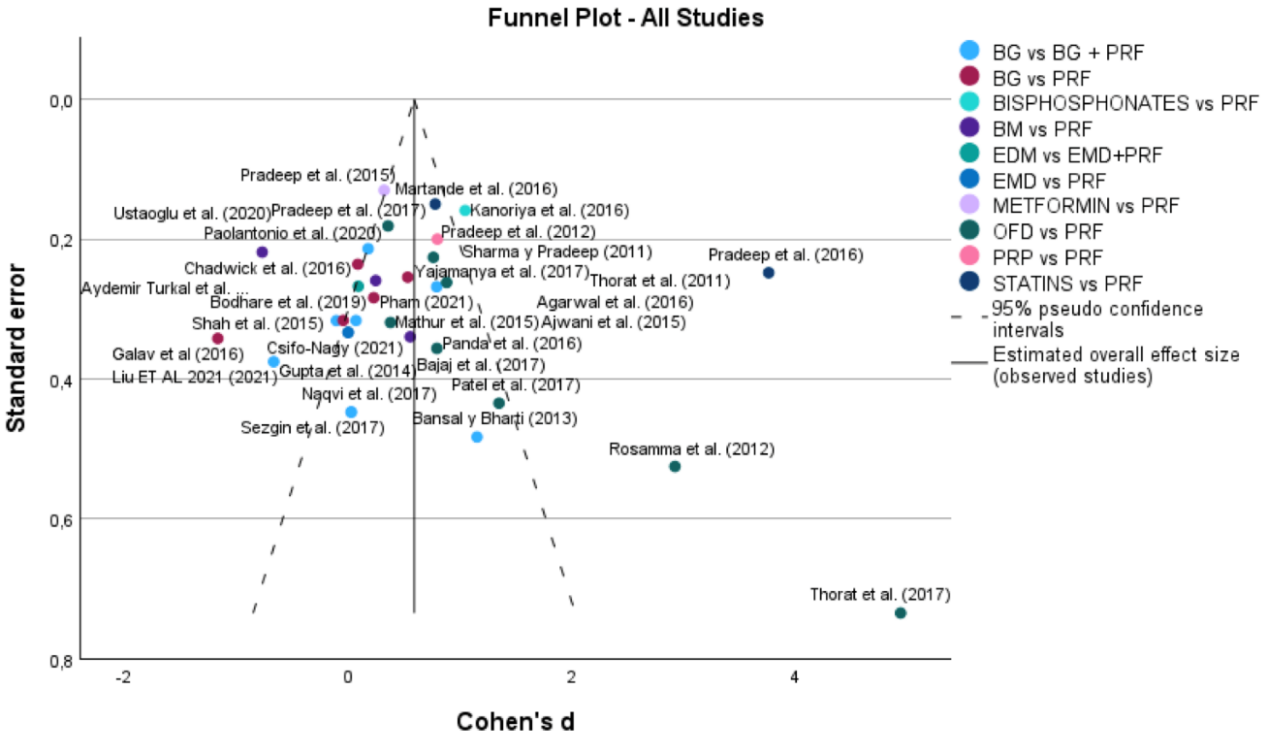


Figura 18. Gráfico de embudo para análisis de grupos CAL

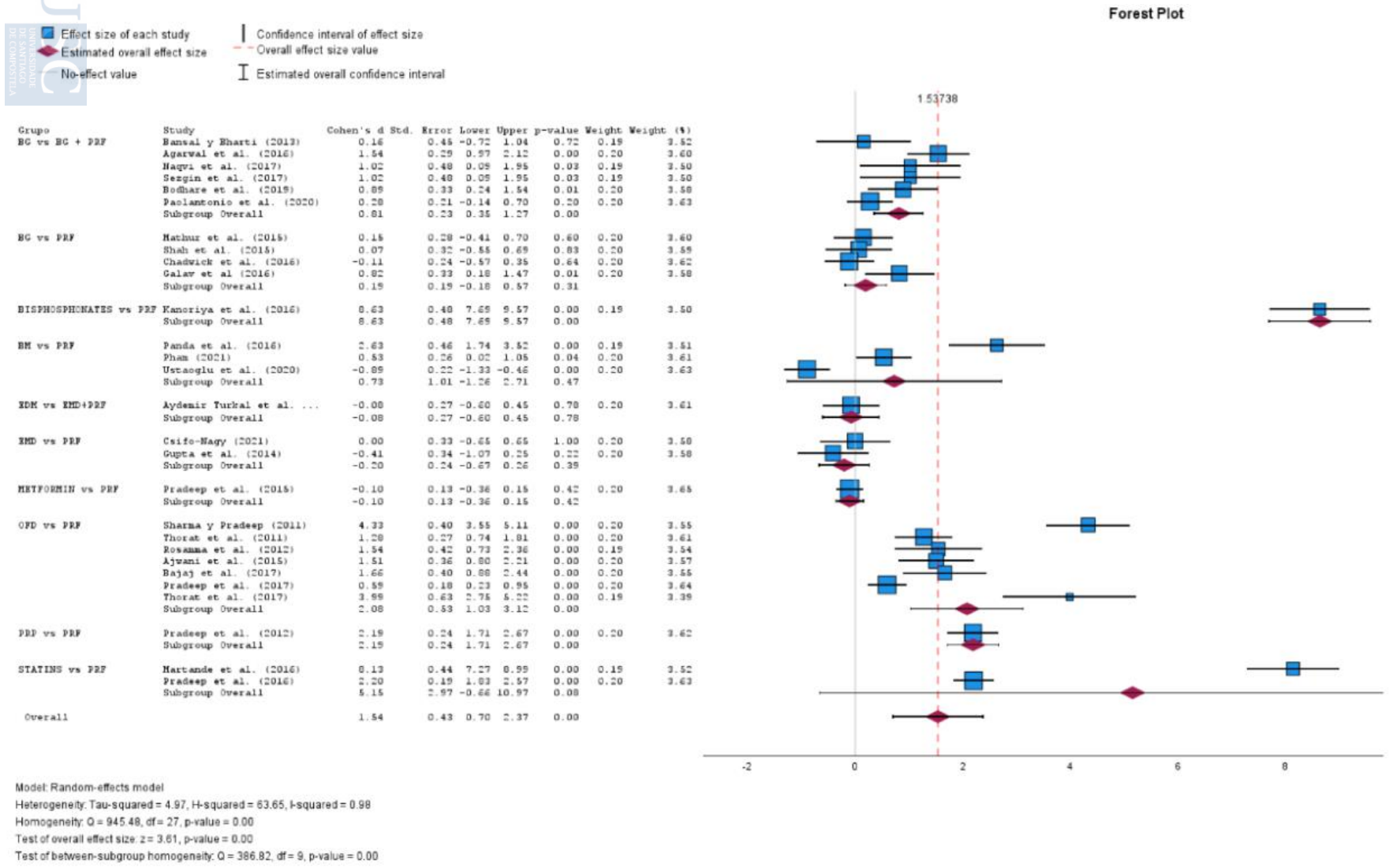
Los resultados de los grupos de estudios indican que, según la Significancia Bilateral, aquellos con valores menores a 0,05 son estadísticamente significativos. En este contexto, los grupos Bifosfonatos vs. PRF, Estatinas vs. PRF, Metformina vs. PRF, y OFD vs. PRF, así como todos los estudios en su conjunto, resultaron significativos al utilizar CAL.

Grupo de relleno óseo

El modelo Forest Plot de efectos aleatorios, que considera todos los grupos, arrojó un tamaño del efecto general de 1.54 con un intervalo de confianza (IC) del 95% entre 0.70 y 2.37. Un valor de p de 0,00 indica que los resultados son estadísticamente significativos. Este tamaño del efecto sugiere una mejora significativa en la regeneración ósea gracias al tratamiento aplicado, lo cual es clínicamente relevante para la regeneración periodontal.

La heterogeneidad, medida por el valor de I-cuadrado (I^2), fue de 98%, indicando una altísima variabilidad entre los estudios. Esto sugiere que la variabilidad en los resultados no se debe solo al azar, sino que puede haber diferencias sustanciales en los diseños de estudio, las poblaciones estudiadas o las intervenciones aplicadas. La heterogeneidad se cuantificó con Tau-cuadrado (τ^2) de 4.97 y H-cuadrado (H^2) de 63.65. (figura 19)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



Grupo	Study	Cohen's d	Std. Error	Lower	Upper	p-value	Weight	Weight (%)
BG vs BG + PRF	Bansal y Bharti (2013)	0.16	0.45	-0.72	1.04	0.72	0.19	3.52
	Agarwal et al. (2016)	1.54	0.29	0.97	2.12	0.00	0.20	3.60
	Naqvi et al. (2017)	1.02	0.48	0.09	1.95	0.03	0.19	3.50
	Sezgin et al. (2017)	1.02	0.48	0.09	1.95	0.03	0.19	3.50
	Bodhare et al. (2018)	0.89	0.33	0.24	1.54	0.01	0.20	3.58
	Paolantonio et al. (2020)	0.28	0.21	-0.14	0.70	0.20	0.20	3.63
	Subgroup Overall	0.81	0.23	0.35	1.27	0.00		
BG vs PRF	Mathur et al. (2015)	0.15	0.28	-0.41	0.70	0.60	0.20	3.60
	Shah et al. (2015)	0.07	0.32	-0.55	0.69	0.83	0.20	3.59
	Chadwick et al. (2016)	-0.11	0.24	-0.57	0.35	0.64	0.20	3.62
	Galav et al (2016)	0.82	0.33	0.18	1.47	0.01	0.20	3.58
	Subgroup Overall	0.19	0.19	-0.18	0.57	0.31		
BISPHOSPHONATES vs PRF	Kanoriya et al. (2016)	8.63	0.48	7.69	9.57	0.00	0.19	3.50
	Subgroup Overall	8.63	0.48	7.69	9.57	0.00		
BM vs PRF	Panda et al. (2016)	2.63	0.46	1.74	3.52	0.00	0.19	3.51
	Pham (2021)	0.53	0.26	0.02	1.05	0.04	0.20	3.61
	Ustaoglu et al. (2020)	-0.09	0.22	-1.33	-0.46	0.00	0.20	3.63
	Subgroup Overall	0.73	1.01	-1.26	2.71	0.47		
EDM vs EMD+PRF	Aydemir Turkal et al. ...	-0.08	0.27	-0.60	0.45	0.78	0.20	3.61
	Subgroup Overall	-0.08	0.27	-0.60	0.45	0.78		
EMD vs PRF	Csifo-Nagy (2021)	0.00	0.33	-0.65	0.65	1.00	0.20	3.58
	Gupta et al. (2014)	-0.41	0.34	-1.07	0.25	0.22	0.20	3.58
	Subgroup Overall	-0.20	0.24	-0.67	0.26	0.39		
METFORMIN vs PRF	Pradeep et al. (2015)	-0.10	0.13	-0.36	0.15	0.42	0.20	3.65
	Subgroup Overall	-0.10	0.13	-0.36	0.15	0.42		
OFD vs PRF	Sharma y Pradeep (2011)	4.33	0.40	3.55	5.11	0.00	0.20	3.55
	Thorat et al. (2011)	1.28	0.27	0.74	1.81	0.00	0.20	3.61
	Rosamma et al. (2012)	1.54	0.42	0.73	2.36	0.00	0.19	3.54
	Ajwani et al. (2015)	1.51	0.36	0.80	2.21	0.00	0.20	3.57
	Bajaj et al. (2017)	1.66	0.40	0.88	2.44	0.00	0.20	3.55
	Pradeep et al. (2017)	0.59	0.18	0.23	0.95	0.00	0.20	3.64
	Thorat et al. (2017)	3.99	0.63	2.75	5.22	0.00	0.19	3.39
	Subgroup Overall	2.08	0.53	1.03	3.12	0.00		
PRP vs PRF	Pradeep et al. (2012)	2.19	0.24	1.71	2.67	0.00	0.20	3.62
	Subgroup Overall	2.19	0.24	1.71	2.67	0.00		
STATINS vs PRF	Martande et al. (2016)	8.13	0.44	7.27	8.99	0.00	0.19	3.52
	Pradeep et al. (2016)	2.20	0.19	1.83	2.57	0.00	0.20	3.63
	Subgroup Overall	5.15	2.97	-0.66	10.97	0.08		
Overall		1.54	0.43	0.70	2.37	0.00		

Model: Random-effects model
Heterogeneity: Tau-squared = 4.97, H-squared = 63.65, I-squared = 0.98
Homogeneity: Q = 945.48, df = 27, p-value = 0.00
Test of overall effect size: z = 3.61, p-value = 0.00
Test of between-subgroup homogeneity: Q = 386.82, df = 9, p-value = 0.00

Figura 19. Gráfico de bosque para el análisis del grupo óseo

El valor de z en la prueba de tamaño del efecto global fue de 3.61, lo que también es significativo y refuerza la robustez del tamaño del efecto general obtenido, indicando que la intervención tiene un impacto positivo en la regeneración ósea.

El análisis del Funnel Plot proporciona una visión adicional basada en el error estándar. Los estudios de Thorat et al. [254] y Agarwal et al. [262] mostraron una mayor precisión en un IC del 95% en comparación con estudios como los de Pradeep et al. [275], lo que indica una mejor calidad metodológica y menor sesgo en los resultados. (figura 20)

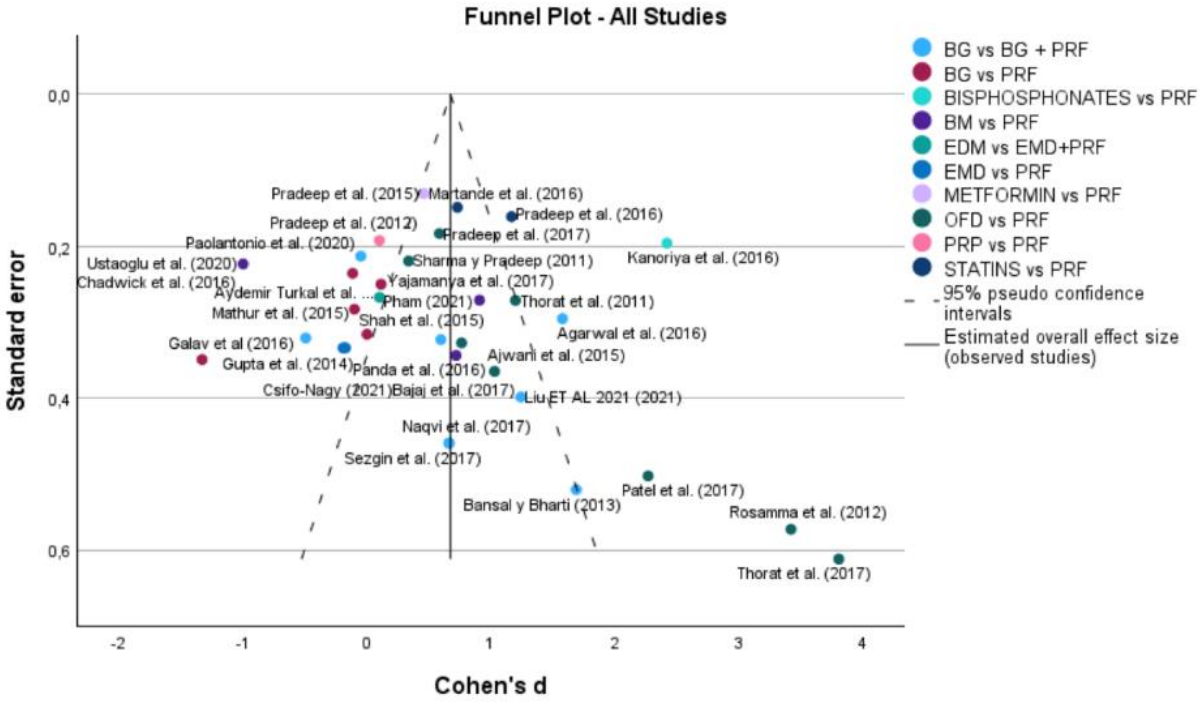


Figura 20. Gráfico de embudo para el análisis del grupo óseo

Los grupos de estudio resultaron estadísticamente significativos debido a un valor de p menor a 0,05, particularmente en las comparaciones BG vs. BG + PRF, Bifosfonatos vs. PRF, OFD vs. PRF y PRP vs. PRF. A nivel global, todos los resultados de los grupos de estudio mostraron significancia con un valor Z de 3,605 y un tamaño del efecto de 1,537.

Al analizar el gráfico Forest Plot, se observa que el resultado global es relativamente heterogéneo con un tamaño del efecto de 1,537 y un riesgo total. Sin embargo, al desglosar los grupos de estudio, aunque los resultados globales no fueron significativos, estudios específicos sí mostraron significación estadística debido a las características de los resultados obtenidos. En el grupo BG vs. BG + PRF, la significancia se observó en los estudios de Agarwal et al. [262], Naqvi et al.[263], Sezgin et al. [264] y Bodhare et al. [267].

Para el grupo BM vs. PRF, los estudios de Panda et al. [270] y Pham [268] fueron significativos en términos de riesgo de control, mientras que el estudio de Ustaoglu et al. [269] fue significativo con un riesgo protector. En el grupo Estatinas vs. PRF, los estudios de Martande et al.[277] y Pradeep et al. [278] resultaron significativos para el control del riesgo. En el grupo Bone vs. PRF, el estudio de Galav et al. [258] mostró significancia con un error estándar de 0,33. En el grupo de estudios OFD vs. PRF, los estudios de Sharma y Pradeep (247), Thorat et al. [254], Rosamma et al. [249], Ajwani et al. [250], Bajaj et al. [251], Pradeep et al. [278] y Thorat et al.[254] fueron significativos en términos de riesgo de control. En el grupo PRP vs. PRF, el estudio de Pradeep et al. [264] fue significativo con un riesgo de control y un error estándar de 0,24.

5.2.1.3 Metaanálisis en red

Grupo Profundidad de sondaje

Se consideraron treinta y dos estudios para el análisis de red (NMA) de la profundidad de sondaje (PD). El gráfico de geometría de la red representa las comparaciones directas e indirectas entre los tratamientos. PRF fue el grupo de tratamiento más representativo, seguido de coágulos sanguíneos y relleno óseo. Este análisis es crucial para identificar la efectividad relativa de los diferentes tratamientos en la reducción de la profundidad de sondaje y la regeneración ósea. La inconsistencia general resultó en ausencia a nivel global (valor p = 0,558) y local (valor p que oscila entre 0,139 y 0,997). La visualización de la inconsistencia se calculó en el diagrama de bosque de la red, en el que los tamaños del efecto por estudio se representaron gráficamente (figura 21)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

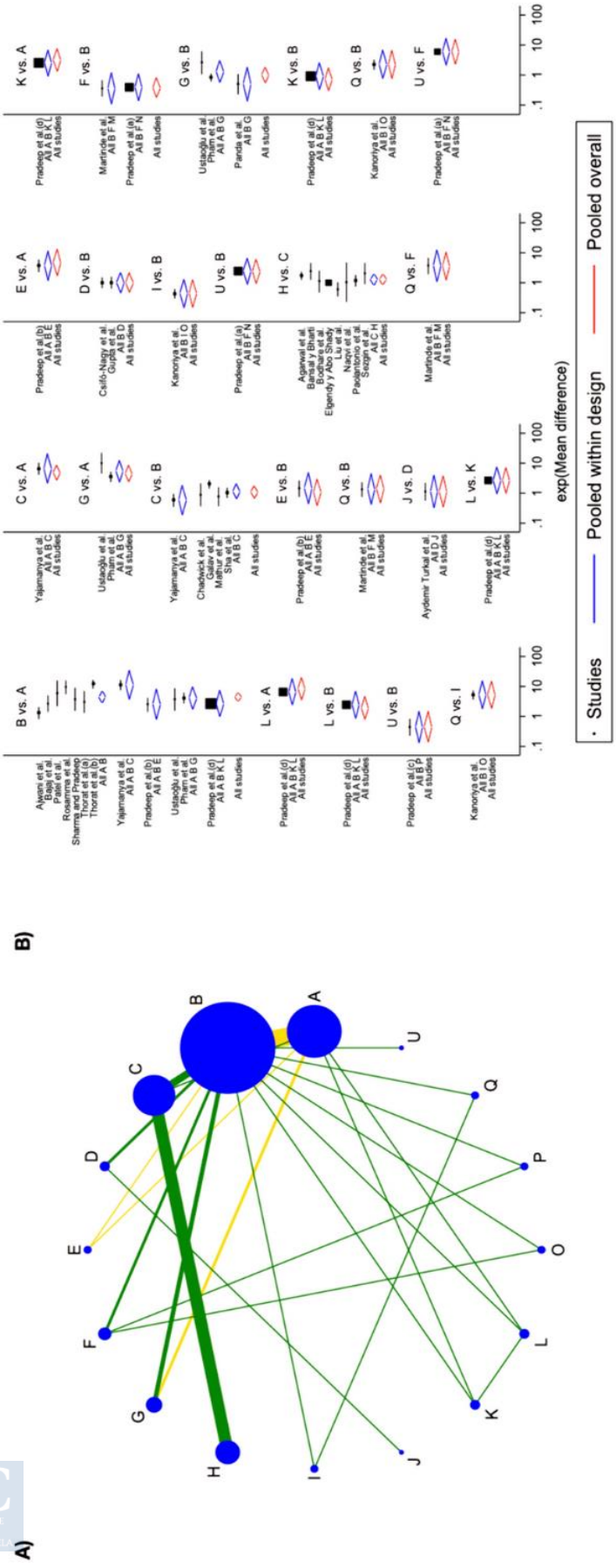


Figura 21. Gráfico de geometría de red para análisis de grupos de PD y Gráfico de bosque de red para análisis de grupos de PD. A La mayoría de las comparaciones tuvieron un riesgo de sesgo bajo; sin embargo, la principal, PRF versus coágulos sanguíneos presentó un sesgo moderado; B La inconsistencia general resultó en ausencia a nivel global (valor p = 0,558) y local (valor p entre 0,139 y 0,997. Las letras corresponden a: A = ROSU1,2% + PRF; B = BF1% + PRF; C = MF1% + PRF; D = Relleno óseo + PRF; E = 1,2% ATV + PRF; F = EMD + PRF; H = PRF + HA; J = BM; L = MF1%; O = PRP; P = BF; Q = ATV; U = Coágulo de sangre: PRF: Fibrina rica en plaquetas; HA: Hidroxiapatita; Membrana de barrera; plasma rico en plaquetas; BF: relleno óseo; MF: metformina; ROSU = rosuvastina = ATV: atorvastatina

De las quince intervenciones analizadas, tres (ATV, BF y PRP) no mostraron una mejora significativa en la EP, con un valor de $p > 0.05$. Estas intervenciones contribuyeron mínimamente a la geometría general de la red y se basaron en pocos estudios. De las doce intervenciones restantes, siete mostraron intervalos predictivos cortos que no cruzaron la línea de efecto nulo. Esto sugiere que estas intervenciones podrían seguir mostrando resultados positivos en estudios futuros y deberían considerarse efectivas para mejorar la EP en comparación con los coágulos sanguíneos solos.

El análisis comparativo reveló que PRF fue superior a ATV, BF, PRP y MF1%, aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística. La DME (Matriz derivada del esmalte), la MO (Material Osteoconductor) y el relleno óseo mostraron mejoras en la PD similares a las obtenidas con PRF.

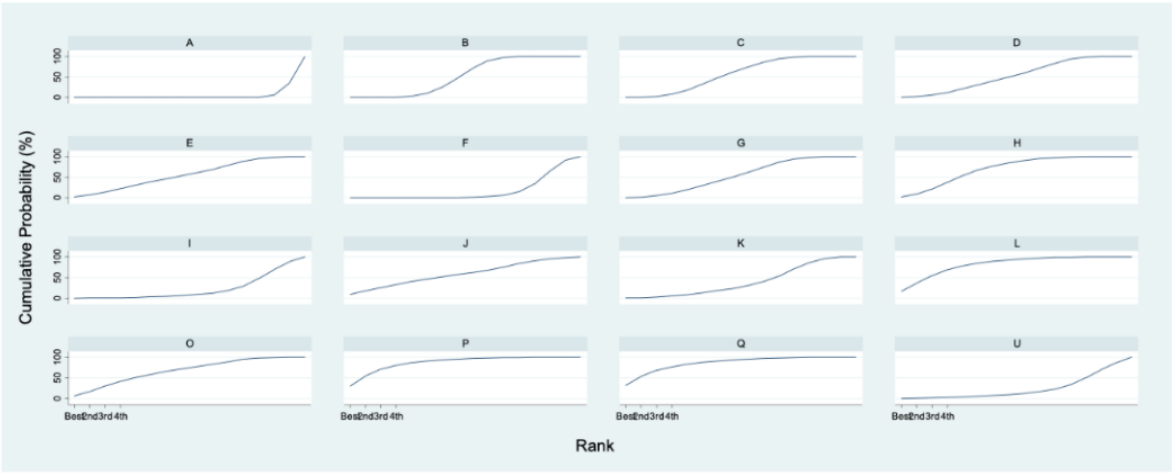
Una combinación de relleno óseo y PRF produjo mejores resultados en comparación con el uso de relleno óseo o PRF solos, aunque estos resultados no fueron estadísticamente significativos y presentaron intervalos predictivos amplios, lo que podría llevar a resultados nulos en futuros ensayos clínicos.

La combinación de PRF con ATV, BF, MF o rosuvastatina (ROSU) generó un mayor tamaño del efecto en comparación con PRF solo. Sin embargo, la adición de HA y EMD no produjo mejoras significativas, aunque estas comparaciones tampoco alcanzaron significación estadística.

Análisis de SUCRA

Al analizar las puntuaciones de SUCRA, se encontró que los seis tratamientos mejor clasificados incluían combinaciones de PRF con otros medicamentos. El PRF solo mostró un valor SUCRA de 49.3, representando casi el 50% de los casos con resultados exitosos en términos de reducción de la PD. El relleno óseo registró un valor SUCRA de 54.7, mientras que la combinación de PRF y relleno óseo elevó el resultado exitoso a 68.7. (figura 22)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



Treatment	SUCRA	MeanRank
1.2%ROSU+PRF	86.7	3
BF1%+PRF	84.3	3.4
MF1%+PRF	81.1	3.8
Bone_fill+PRF	68.7	5.7
1.2%ATV+PRF	66.2	6.1
EMD+PRF	58.3	7.3
Bone_fill	54.7	7.8
PRF+HA	54.7	7.8
EMD	51.4	8.3
BM	51.4	8.3
PRF	49.3	8.6
MF1%	36.1	10.6
PRP	20.3	13
BF	19.4	13.1
ATV	14.6	13.8
BloodClot	2.8	15.6

Figura 22. Valores detallados de SUCRA y el rango medio

Grupo de Nivel de inserción clínica

El análisis de los treinta y dos estudios para CAL utilizando el modelo de geometría de la red demuestra que PRF es una intervención destacada y posiblemente superior en comparación con coágulos sanguíneos y relleno óseo. La inconsistencia general resultó en ausencia a nivel global (valor p = 0,567) y local (valor p que oscila entre 0,102 y 0,996). La visualización de la inconsistencia se calculó en el diagrama de bosque de la red, en el que los tamaños del efecto por estudio se representaron gráficamente. (Figura 23)

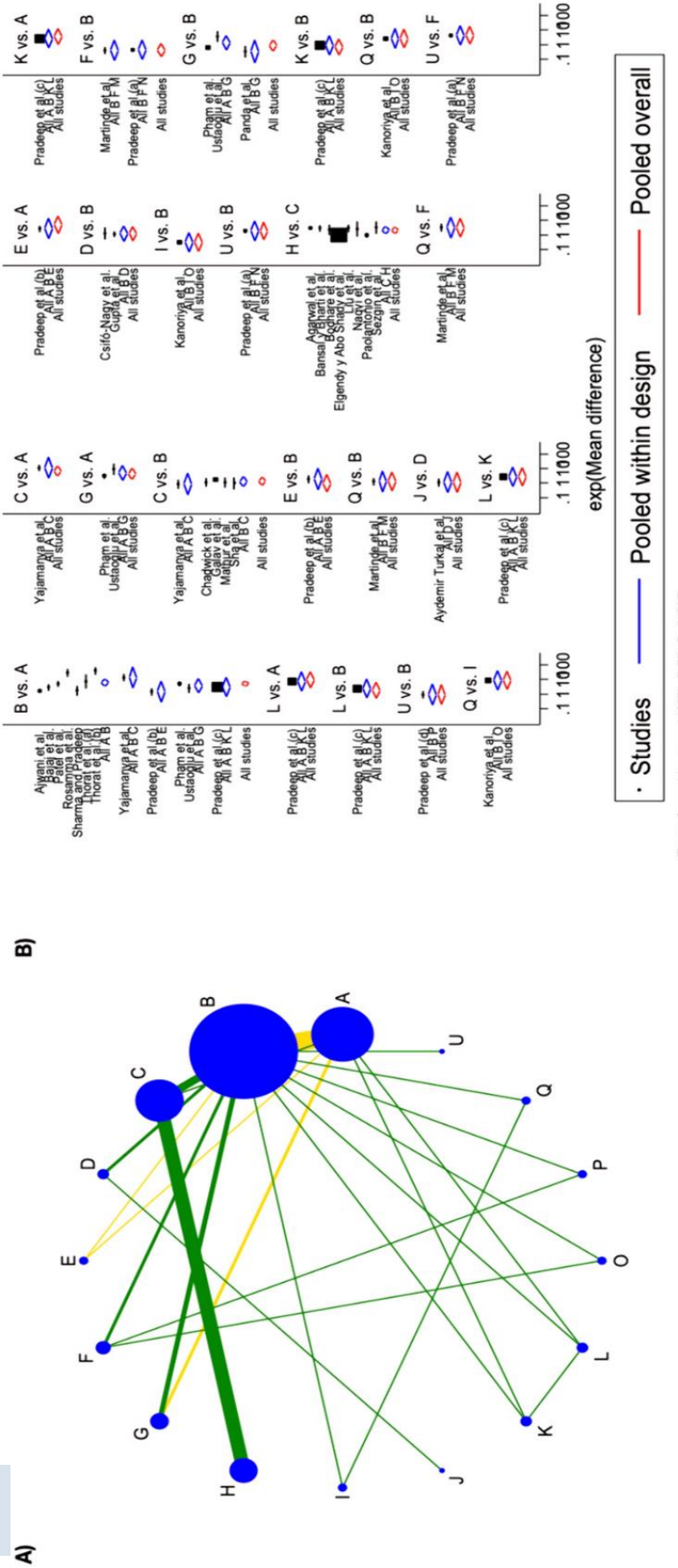


Figura 23. Gráfico de geometría de red para análisis de grupos CAL y Gráfico de bosque de red para análisis de grupos CAL. A La mayoría de las comparaciones tuvieron un riesgo de sesgo bajo; sin embargo, la principal, PRF versus coágulos sanguíneos presentó un sesgo moderado; B La inconsistencia general resultó en ausencia a nivel global (valor p = 0,567) y local (valor p entre 0,102 y 0,996. Las letras corresponden a: A = Relleno óseo + PRF; B = BF1% + PRF; C = MF1 % + PRF; D = 1,2%ROSU + PRF; E = EMD + PRF; F = 1,2%ATV + PRF; = BM; O = MF1%; P = ATV; Q = BF; U = Coágulo de sangre: PRF: Fibrina rica en plaquetas; BM: Membrana de barrera; Plasma rico en plaquetas; BF: relleno óseo; MF: metformina; ROSU = rosuvastina = atorvastatina.

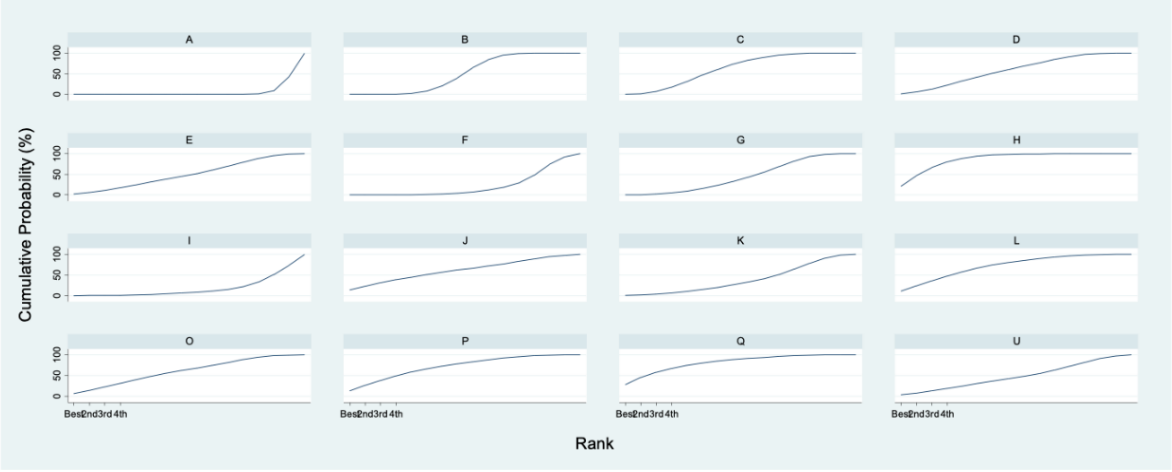
Para la evaluación detallada de las intervenciones en la ganancia de nivel de inserción clínica (CAL), se consideraron quince tratamientos diferentes. Entre estos, cinco tratamientos no mostraron mejoras estadísticamente significativas en CAL (BF, ATV, MF1%, PRP y EMD + PRF), con un valor de $p > 0,05$. Además, estos tratamientos contribuyeron mínimamente a la geometría general de la red debido al bajo número de estudios incluidos que evaluaron su eficacia.

Al considerar los intervalos predictivos, se observó que solo una combinación de hueso y PRF demostró intervalos cortos que no cruzaban el efecto nulo de la línea vertical, sugiriendo un potencial significativo para futuros estudios. Esta combinación se destacó como una medida eficaz para mejorar CAL en comparación con coágulos sanguíneos solos.

Cuando se evaluó qué intervención podría ser más efectiva, la combinación de hueso y PRF mostró resultados estadísticamente superiores en comparación con hueso o PRF solos, así como frente a ATV y BF. Aunque no alcanzó significancia estadística, esta combinación mantuvo una recuperación de CAL notable incluso en comparación con otras combinaciones de PRF con ATV, EMD, MF y ROSU.

Al observar las puntuaciones SUCRA, que clasifican la efectividad de los tratamientos, la combinación de hueso y PRF destacó como el tratamiento mejor clasificado, con un SUCRA de 86,3. Esto indica una alta probabilidad de éxito en la reducción de CAL. En comparación, el PRF solo obtuvo un SUCRA de 47,2, destacándose como una opción efectiva pero menos que la combinación con hueso. El relleno óseo también mostró una clasificación favorable con un SUCRA de 59,8, respaldando su utilidad en la mejora del CAL. (figura 24)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



Treatment	SUCRA	MeanRank
Bone_fill+PRF	86.3	3.1
BF1%+PRF	79.5	4.1
MF1%+PRF	70.5	5.4
1.2%ROSU+PRF	70.2	5.5
EMD+PRF	61.3	6.8
1.2%ATV+PRF	59.9	7
Bone_fill	59.8	7
EMD	56.8	7.5
PRF+HA	48.9	8.7
PRF	47.2	8.9
PRP	44.9	9.3
BM	41.7	9.8
MF1%	35	10.8
ATV	19.5	13.1
BF	14.8	13.8
BloodClot	3.6	15.5

Figura 24. Valores detallados de SUCRA y el rango medio

Grupo de Relleno óseo

Se consideraron veintiocho estudios para regeneración de defectos óseos periodontales y se representaron comparaciones directas e indirectas en el gráfico de geometría de la red. La variabilidad general fue significativa a nivel global (p = 0,006). A nivel más detallado, se observó inconsistencia local únicamente en las comparaciones entre coágulos sanguíneos y relleno óseo, así como entre PRF y relleno óseo, con valores de p de 0,012 y 0,033 respectivamente. Para visualizar esta inconsistencia, se empleó un diagrama de bosque de la red, donde se representaron gráficamente los tamaños del efecto de cada estudio. (Figura 25) PRF fue el grupo de tratamiento más representativo, seguido de coágulos sanguíneos y relleno óseo.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

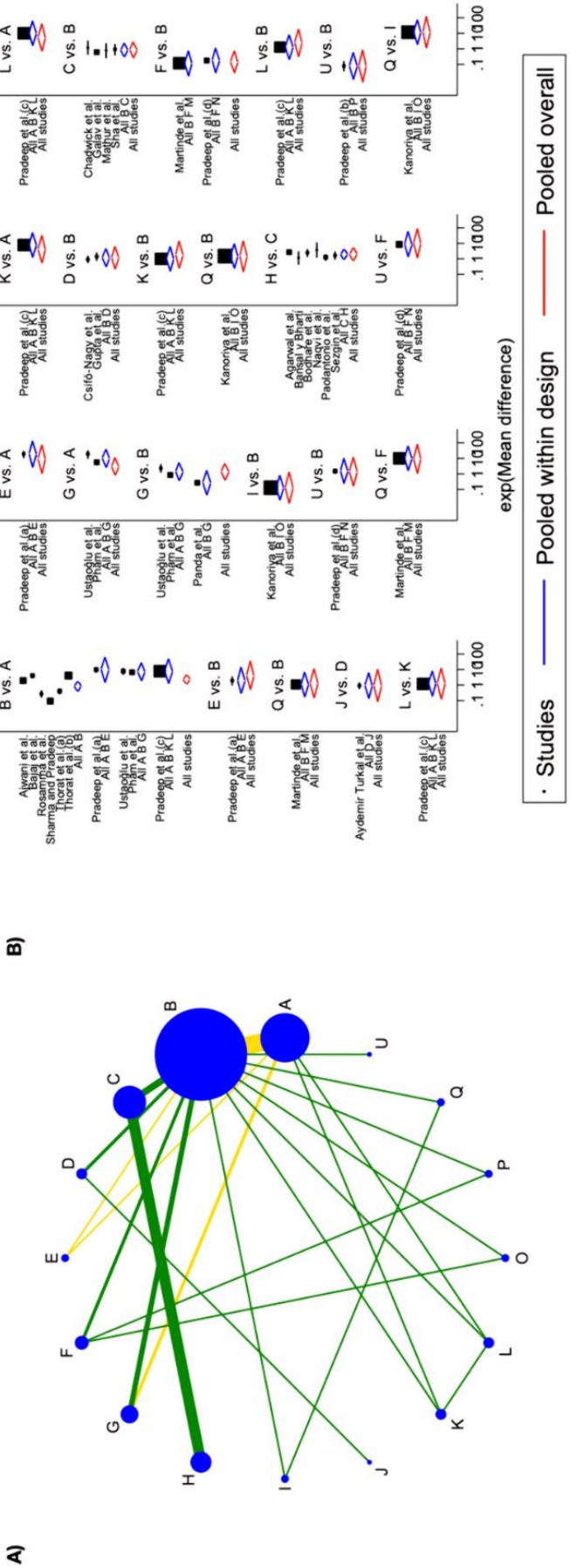


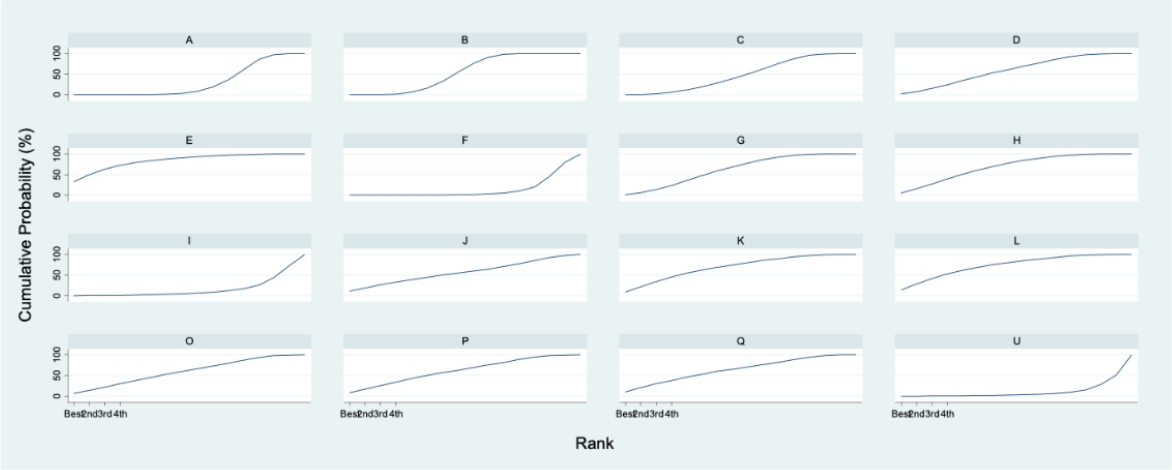
Figura 25. Gráfico de geometría de red para análisis de grupo RBF y Gráfico de bosque de red para análisis de grupo RBF. A La mayoría de las comparaciones tuvieron un riesgo de sesgo bajo; sin embargo, la principal, PRF versus coágulos sanguíneos presentó un sesgo moderado; (B) La inconsistencia general resultó en el presente a nivel global (valor de p = 0,006), mientras que, a nivel local, solo los coágulos de sangre versus BM y PRF versus BM produjeron inconsistencia local (valores de p 0,012 y 0,033 respectivamente). Las letras corresponden a: A = PRF + HA; B = MF1% + PRF; C = Relleno óseo + PRF; D = MF1%; E = BF1%PRF; F = MO; G = 1,2%ATV + PRF; I = DME; J = DME + PRF; K = PRF; L = Relleno óseo; O = Coágulo de sangre; P = BF; Q = ATV; U = PRP. La sigla corresponde a: PRF: Fibrina Rica en Plaquetas; HA: Hidroxiapatita; BM: Membrana Barrera; EMD: Derivado de la Matriz del Esmalte; PRP: Plasma Rico en Plaquetas; BF: Relleno Óseo; MF: metformina; ROSU = Rosuvastina; ATV = Atorvastatina

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Todos los demás tratamientos se caracterizaron por una mejora del relleno óseo en comparación con los coágulos sanguíneos; sin embargo, dados los grandes intervalos predictivos, estas intervenciones podrían conducir a resultados fallidos en ensayos futuros. Sólo PRF y PRF combinados con HA condujeron a mejoras estadísticamente significativas en RBF ya que su intervalo de confianza no cruzó la línea de efecto nulo. PRF + HA produjo el RBF más alto y fue estadísticamente significativo en comparación con PRP, BF, ATV y coágulos sanguíneos. Todas las demás intervenciones demostraron un FSR más bajo; sin embargo, en comparación con PRF + HA, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Al visualizar los resultados basados en las puntuaciones de SUCRA, el tratamiento mejor clasificado resultó en una combinación de PRF y HA, con una clasificación media de 3,5 entre todas las intervenciones y un valor de SUCRA de 83,7. Es interesante destacar que MF y PRF + MF resultaron en las mejores segunda y cuarta intervenciones. En este caso, una combinación de hueso con PRF condujo a resultados de primer nivel, como la tercera mejor intervención.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



Treatment	SUCRA	MeanRank
PRF+HA	83.7	3.5
MF1%+PRF	72.2	5.2
Bone_fill+PRF	67.6	5.9
MF1%	67.3	5.9
BF1%+PRF	60.9	6.9
BM	60.7	6.9
1.2%ROSU+PRF	59.4	7.1
1.2%ATV+PRF	58.6	7.2
EMD	57.5	7.4
EMD+PRF	56.4	7.5
PRF	51	8.4
Bone_fill	45.4	9.2
BloodClot	27.2	11.9
BF	12.9	14.1
ATV	11.6	14.3
PRP	7.7	14.8

Figura 26. Valores detallados de SUCRA y el rango medio

5.3 TÉCNICAS DE COBERTURA RADICULAR: COMPARACIÓN ENTRE COLGAJO DE AVANCE CORONAL Y TÉCNICA DE TÚNEL

Las búsquedas realizadas de acuerdo con las directrices PRISMA se muestran en la Figura 27. En total, se identificaron 172 artículos, de los cuales 145 fueron excluidos. Finalmente, se incluyeron 26 estudios para el análisis cualitativo y 14 para el análisis cuantitativo. El nivel de acuerdo entre los revisores fue de 0,91 en la escala k, lo cual se considera un nivel de concordancia casi perfecto.

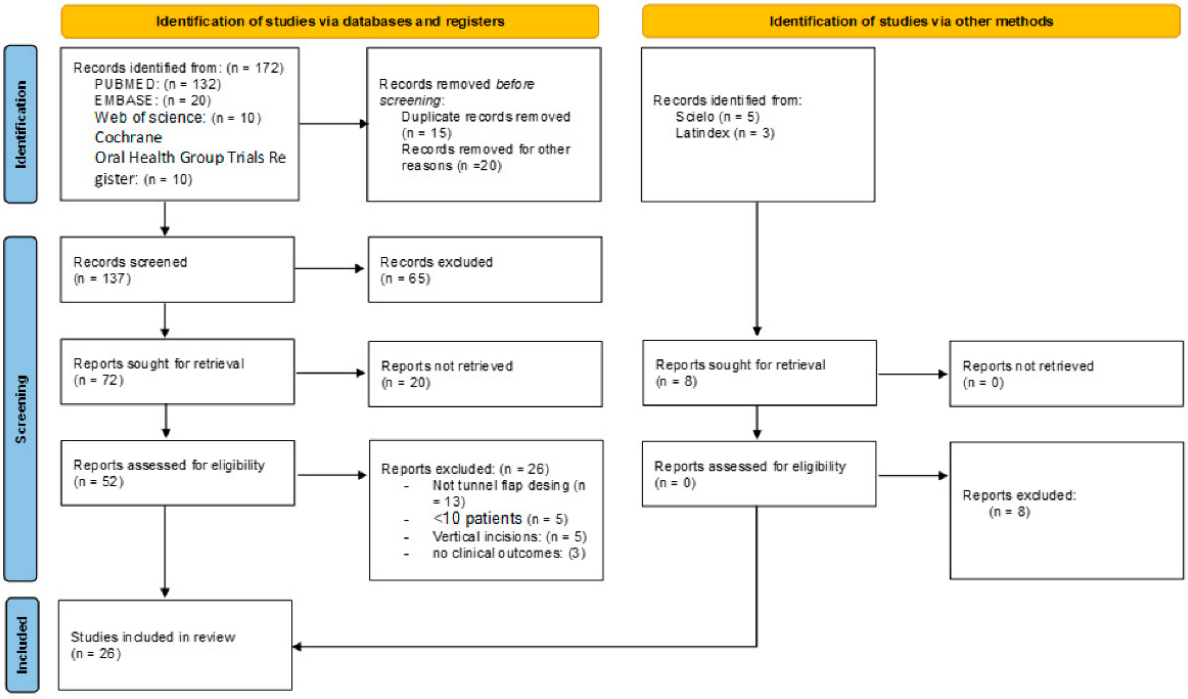


Figura 27. Diagrama de flujo de estudios seleccionados.

5.3.1 Características del estudio y tipo de intervención

De los 26 artículos incluidos, el 69% correspondía a ensayos controlados aleatorios [279 - 296], y el 31% a series de casos [297 . 304]. En total, participaron 612 pacientes, y se analizaron 1,708 recesiones gingivales.

Las intervenciones incluyeron una variedad de enfoques, con comparaciones como TT + CTG frente a CAF + CTG [279], TT + matriz dérmica acelular (ADM) [282], TT + CTG en comparación con CAF + EMD [289], y TT + CTG frente a TT + matriz de colágeno xenogénico (XCM) [280 284].

5.3.2 Riesgo de sesgo

El riesgo de sesgo se evaluó utilizando la herramienta de riesgo de sesgo de Cochrane. La mayoría de los estudios mostraron un riesgo de sesgo bajo o incierto en varias áreas, lo que sugiere que la calidad metodológica de los estudios incluidos es generalmente buena, como se detalla en la Tabla 5.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla 5 Riesgo de sesgo Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones.

Study	Selection bias		Performance bias	Detection bias	Attrition bias	Reporting bias	Other bias
AUTHOR	Random sequence generation	Allocation concealment	Blinding of participants and personnel	Blinding of outcome assessment	Incomplete outcome data	Selective reporting	Other sources of bias
Aroca et al., 2013 [281]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No
Bherwani et al., 2014 [284]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No
Zuhr et al., 2014 [283]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Ozenci et al., 2015 [282]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Bakhishov H et al., 2021 [279]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Azaripour et al., 2016 [285]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Bednarz et al., 2016 [286]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Cieslik-Wegemund et al.,2016 [287]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Santamaria et al., 2017 [280]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Dragana Rakasevi et al., 2020 [288]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Górski B et al., 2020 [289]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Tavelli L et al., 2019 [290]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Korkmaz B et al., 2020 [291]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Zuhr O et al., 2020 [292]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Uzun BC et al., 2018 [293]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No
Stähli A et al., 2020 [294]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No
Parween S et al., 2020 [295]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Zuhr O, et al., 2021 [296]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No

Positive (good) indicator | Unclear | Negative (bad) indicator

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.3.3 Metaanálisis

Se llevó a cabo un análisis de subgrupos debido a la variabilidad en las intervenciones. Se establecieron tres grupos de comparación:

- Grupo 1: TT con CTG frente a CAF con CTG.
- Grupo 2: TT con CTG y otros biomateriales frente a TT con CTG.
- Grupo 3: TT frente a CAF, independientemente del tipo de biomaterial utilizado.

Los resultados del metaanálisis y el grado de heterogeneidad se presentan en la Tabla 6

Tabla 6. Resultados del metaanálisis para los diferentes grupos de estudio. EE: error estándar. IC: intervalo de confianza.

COMPARATION GROUP	Variable	Estimate	SE	IC (95%)	p value	I^2	p I^2
1 Técnica de túnel con tejido conectivo vs. colgajo avanzado coronalmente con tejido conectivo	Cobertura radicular media	-8.68	4.34	-17.19 to -0.17	0.0457	61.75%	0.0333
	Cobertura completa de la raíz	-1.67	0.43	-2.52 to -0.82	0.0001	0%	0.7318
	Ganancia de tejido queratinizado	-0.19	0.17	-0.52 to 0.13	0.2317	20.10%	0.2197
2 Técnica de túnel con conectivo y/o otros materiales vs. técnica de túnel con conectivo	Cobertura radicular media	4.17	11.27	-17.91 to 26.26	0.7110	91.87%	<0.001
	Cobertura completa de la raíz	0.37	0.77	-1.14 to 1.89	0.6269	82.56%	0.0044
	Ganancia de tejido queratinizado	-0.30	0.61	-1.49 to 0.89	0.6196	95.71%	<0.001
3 Técnica de túnel vs. colgajo coronal	Cobertura radicular media	2.32	5.73	-8.90 to 13.55	0.685	93.19%	<0.001
	Cobertura completa de la raíz	-0.006	0.54	-1.08 to 1.06	0.9905	81.88%	<0.001
	Keratinized Tissue Gain	0.13	0.21	-0.28 to 0.54	0.6301	84.69%	<0.001

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

5.3.4 Grupo 1: Técnica de túnel con tejido conectivo vs. colgajo de avance coronal con tejido conectivo

En el análisis de los cuatro artículos incluidos [280] [281] [284] [285], se estimó una cobertura radicular de 8,6 mm (IC 95%: −17,19 a −0,17) a favor de CAF con CTG en comparación con TT con CTG. En cuanto a la cobertura radicular completa (CRC), la diferencia de medias ponderadas (DMP) entre CAF y TT fue de −1,67, lo que indica que CAF presenta mejores resultados que TT en términos de cobertura radicular. No se encontraron diferencias significativas en la ganancia de tejido queratinizado entre ambas técnicas (Figura 28)

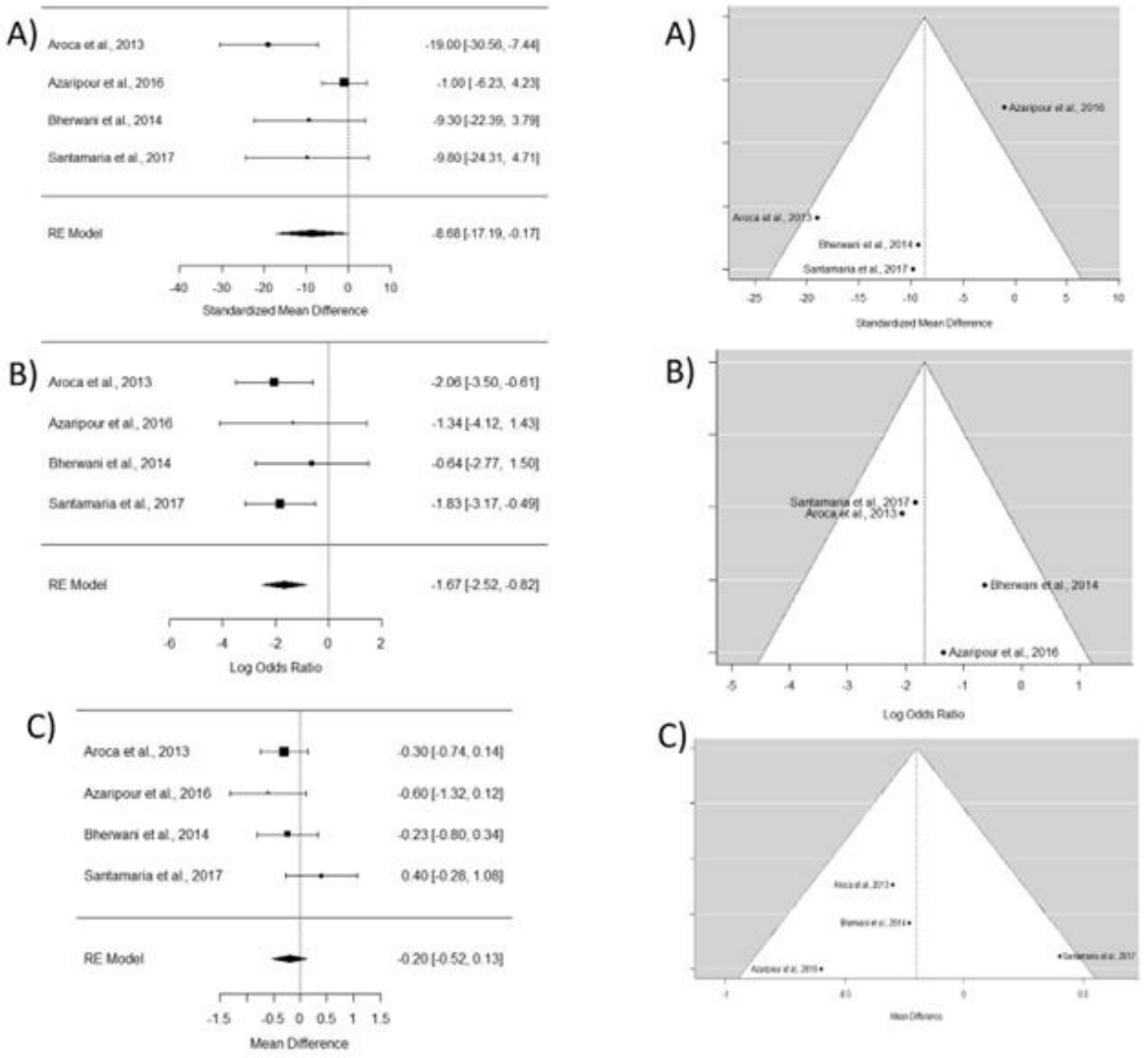


Figura 28. Técnica de túnel con tejido conectivo vs. colgajo avanzado coronalmente con tejido conectivo. Diagramas de bosque (columna izquierda) y diagramas de embudo (columna derecha) para el Grupo 1. (A) Ganancia de tejido queratinizado. (B) Cobertura radicular media. (C) Cobertura radicular completa.

5.3.5 Grupo 2: Técnica de túnel con conectivo y/o otros materiales vs. Técnica de túnel con conectivo

Se analizaron cuatro artículos en este grupo [291] [293] [294] [295]. El estudio de MRC no incluyó la investigación realizada por Uzun et al. [293] debido a la falta de datos suficientes. La diferencia de medias ponderadas (DMP) de 4,17 sugiere que el uso de CTG combinado con otros materiales arroja resultados superiores en comparación con el uso exclusivo de CTG, aunque no se encontraron diferencias significativas.

El estudio de Stähli A et al. [294] no se consideró para el análisis de cobertura radicular completa (CRC) debido a la falta de datos, aunque se observó una DMP de 0,37 a favor de TT con CTG y/o otros materiales, sin diferencias significativas.

En cuanto a la ganancia de tejido queratinizado, el modelo de efectos aleatorios mostró una DMP de −0,30, indicando una mayor ganancia con CTG exclusivo, pero sin diferencias significativas entre los grupos y con alta heterogeneidad (Figura 29).

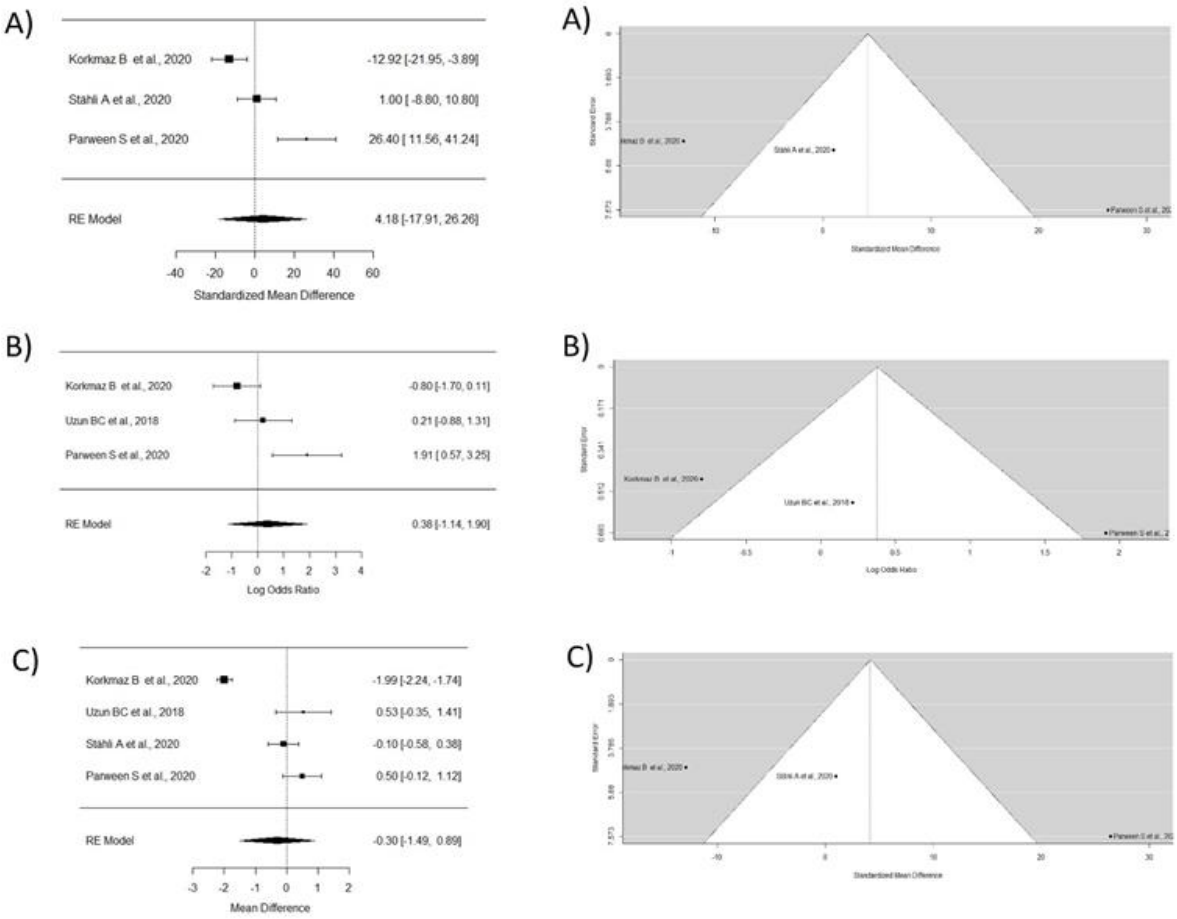


Figura 29. Técnica de túnel con conectivo y otros materiales vs. técnica de túnel con conectivo. Gráficas de bosque (columna izquierda) y gráficas de embudo (columna derecha) para el Grupo 2. (A) Ganancia de tejido queratinizado. (B) Cobertura radicular media. (C) Cobertura radicular completa.

5.3.6 Grupo 3: Técnica de Túnel vs. Colgajo Coronal (Sin Considerar el Material Coadyuvante Utilizado)

Este grupo incluyó 11 ensayos [280 281 282 283 284 285 288 291 292 293 296]. En el análisis de la cobertura radicular media (MRC), se excluyó el estudio de Uzun BC et al. [293] debido a la falta de datos necesarios. La diferencia de medias ponderadas (DMP) entre los grupos fue de 2,32, lo que sugiere que TT tiene una mayor capacidad de cobertura radicular, aunque sin diferencias estadísticamente significativas y con una heterogeneidad muy alta.

Para la cobertura radicular completa (CRC), la DMP fue de −0,006, indicando que no hay una gran diferencia en la efectividad de ambas técnicas para lograr una cobertura completa de la raíz expuesta. En cuanto a la ganancia de tejido queratinizado (KTG), se observó una diferencia media significativamente mayor en la técnica CAF en comparación con TT (DMP = 0,13) (Figura 30).

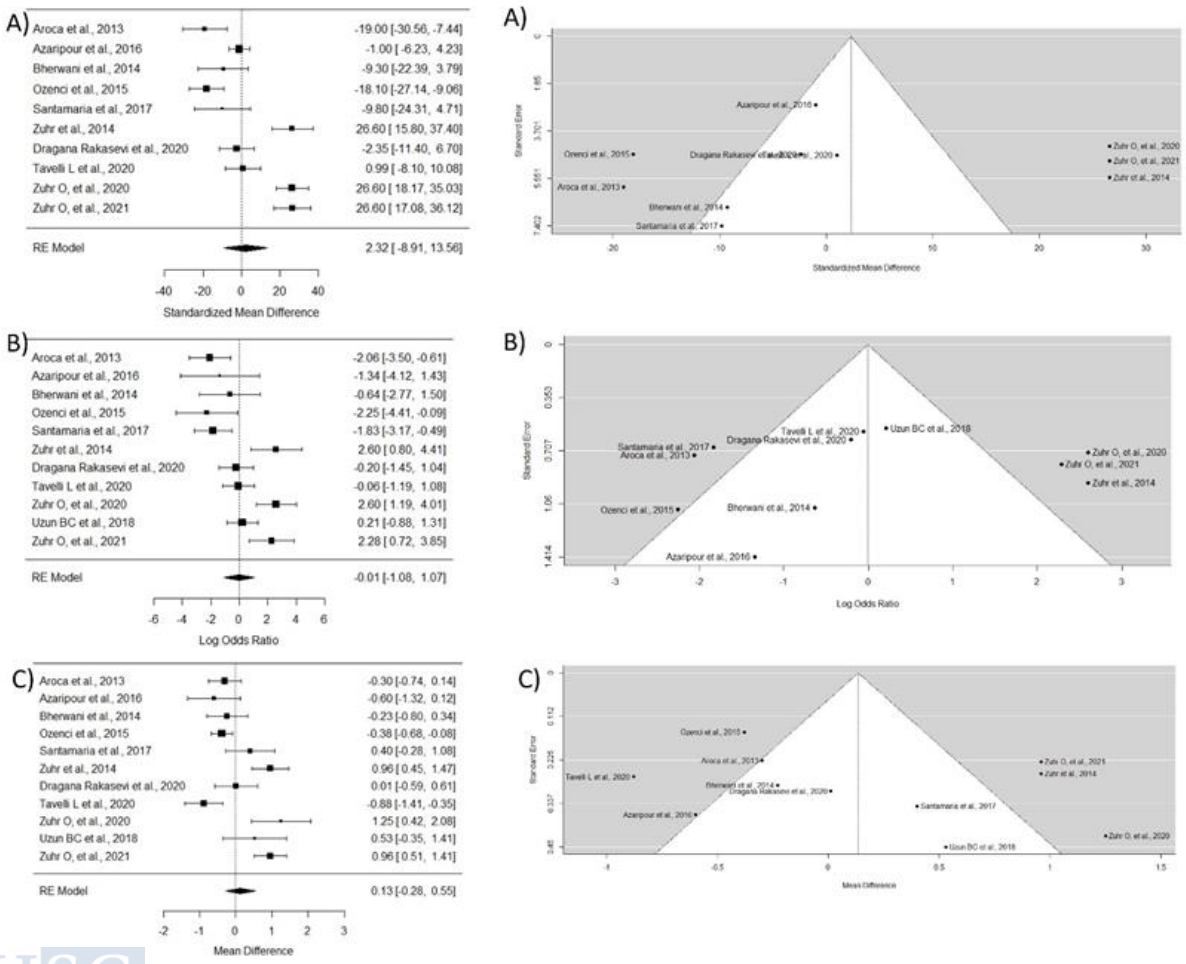


Figura 30. Técnica de túnel vs. colgajo coronal sin considerar el material coadyuvante utilizado. Gráficas de bosque (columna izquierda) y de embudo (columna derecha) para el Grupo 3. (A) Ganancia de tejido queratinizado. (B) Cobertura radicular media. (C) Cobertura radicular completa

5.4 PROTOCOLO DE AISLAMIENTO DE CÉLULAS MADRE OBTENIDAS DE LA PULPA DENTAL.

El pH del medio DMEM empleado en el aislamiento de células mesenquimales se evaluó, registrándose un valor de 8,26. Hay que tener en cuenta que la mayoría de las células de mamíferos suelen crecer bien a un pH de 7,4. El pH actual del medio es más básico de lo normal, lo que podría estar afectando el crecimiento de las células. Además, se observaron partículas no disueltas en el medio a simple vista, que podrían ser del gel de porcina o L-glutatión que se agregó al inicio del cultivo.

Día 3: Después de 3 días, se observó lo siguiente en el microscopio invertido con una lente de objetivo de 40X:

Grupo 1. Se observan celdas redondas, también se observan celdas con bordes irregulares. Todas estas células están flotando en el medio. No se observan células adheridas de forma estable en la superficie del frasco de cultivo. Hay una gran cantidad de pequeñas partículas suspendidas y otras se fijan en el fondo de la botella. Se observan trozos de tejido que no fueron digeridos inicialmente (Figura 31 A, B, C). Grupo 2. Se observan células redondas y células con bordes irregulares flotando en el medio. No hay celdas fijas en la superficie de la botella. Presencia de pequeñas estructuras esféricas translúcidas. Hay una gran cantidad de pequeñas partículas suspendidas y otras se fijan en el fondo de la botella (Figura 27 D, E, F). Grupo 3. No se observan células. Hay una gran cantidad de pequeñas partículas fijadas en el fondo de la botella. Se observan trozos de tejido que no fueron digeridos inicialmente (Figura 27 G, H, I).

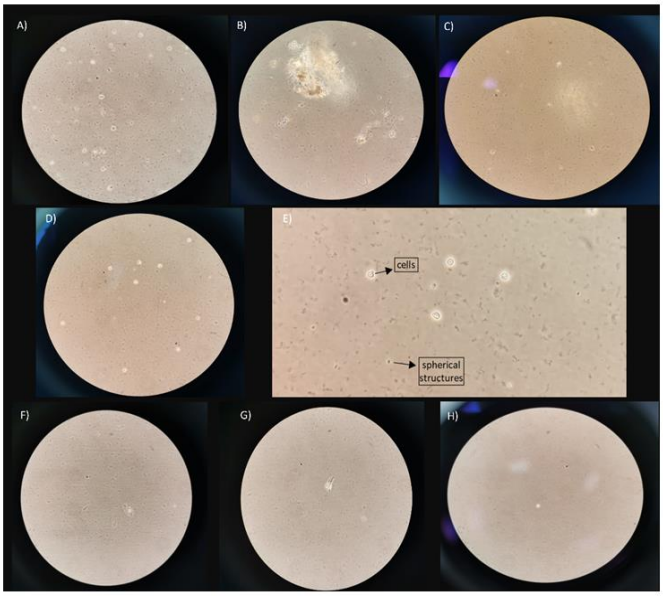


Figura 31. Día 3. Línea superior: A, B, C pertenecen al grupo 1; Línea media: D, E, F pertenecen al grupo 2 y la línea inferior G, H, I pertenecen al grupo 3.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Día 5: Grupo 1: Un número reducido de células, con bordes irregulares, flotando en el medio, no hay células fijas o adheridas (Figura 32 A, B). Grupo 2A: Células con contornos no uniformes, en cantidad reducida y suspendidas en el medio, sin células fijas o adheridas (Figura 32 C, D). Grupo 2B: Se observan células con bordes irregulares, otras células son redondas, sin embargo, no se observa suficiente reproducción de células en el medio (Figura 32 E, F). Grupo 3: No se observan células. Hay una gran cantidad de pequeñas partículas fijadas en el fondo de la botella. Se observan trozos de tejido que no fueron digeridos inicialmente (Figura 32 G, H).

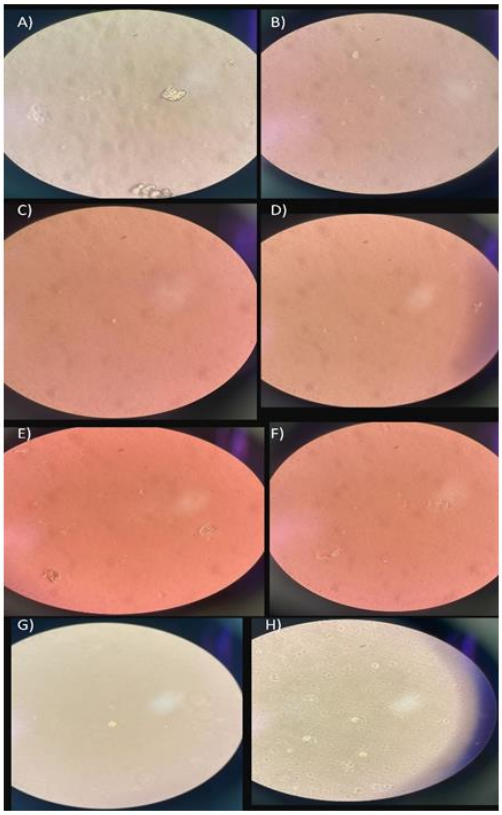


Figura 32. Día 5. Línea superior grupo 1, línea 2 grupo 2A, línea 3 grupo 2B, línea inferior grupo 3.

Día 10: Grupo 1: Se observan algunas células redondas y otras con bordes irregulares. Del mismo modo, en la botella están presentes pequeñas partículas y material que no fue digerido (Figura 33 A, B). Grupo 2A: Se observa un mayor número de células más redondas, así como partículas no digeridas (Figura 33 C, D). Grupo 2B: Se evidencia una clara reproducción de células en el medio, con una morfología más redonda y algunas con irregularidades, pero se encuentran en mayor cantidad (Figura 33 E, F). Grupo 3: Hay una gran cantidad de pequeñas partículas fijadas en el fondo de la botella. Se observan trozos de tejido que no fueron digeridos inicialmente (Figura 33 G).

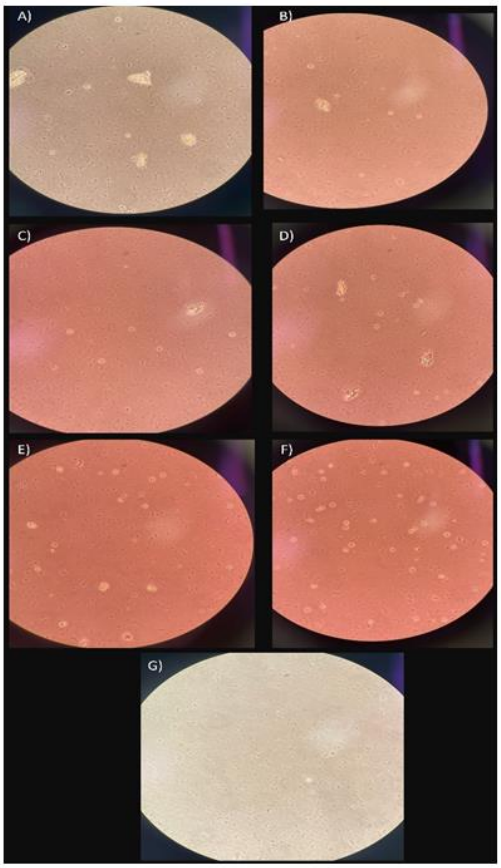


Figura 33 Día 10. A, B) Grupo 1; C, D) grupo 2A; E, F) Grupo 2B; G) grupo 3.

Día 16

Grupo 1A: Solo se pueden ver dos células redondas en el medio, sin reproducción de estas (Figura 34 A, B). Grupo 1B: Se observa actividad bacteriana en esta muestra mediana, con pocas células, que son irregulares y nos son uniformes, además, varias partículas varían en tamaño y forma (Figura 34 C, D). Grupo 2A-1: Solo se observa una célula en el medio, con morfología redonda (Figura 34 E). Grupo 2A-2: Se observan células redondas y células con bordes irregulares flotando en el medio. Hay pequeñas partículas suspendidas y otras fijadas en el fondo de la botella (Figura 34 F, G). Grupo 2B: Se observan varias celdas redondas y celdas con bordes irregulares, algunas fijas y otras flotantes; sin embargo, en esta muestra se evidencia una importante reproducción de las células. Presencia de pequeñas estructuras esféricas translúcidas. Hay partículas pequeñas (Figura 34 H, I).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

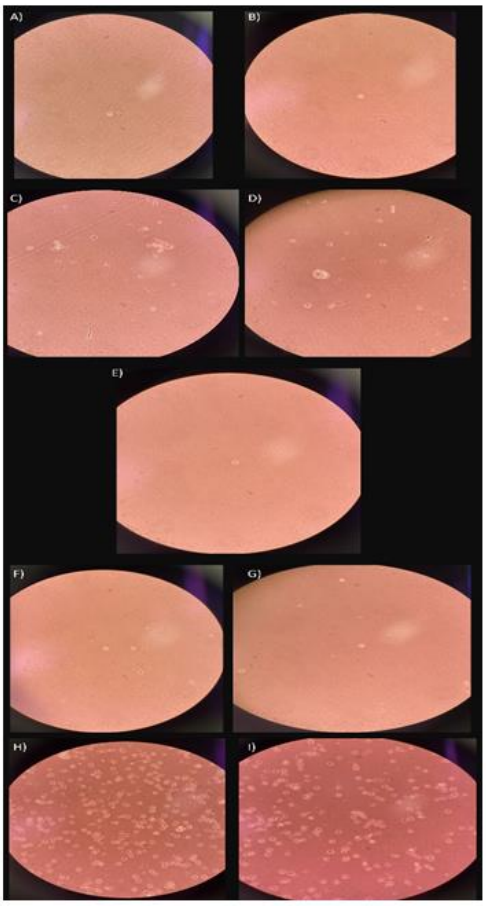


Figura 34. Día 16. A, B) Grupo 1A; C, D) Grupo 1B; E) Grupo 2A-1, F, G) Grupo 2A-2, H, I) Grupo 2B.

Día 20

Resultados de la tinción de Gram

Grupo 1A: No se observó presencia de bacterias, pero hay un gran número de partículas con formas irregulares en el medio (Figuras 35 A y B). Grupo 1B: Se observaron bacterias Gram+ en forma de coco (Figura 35 C). Grupo 2A-1: No se observó presencia de bacterias, pero sí un gran número de partículas con formas irregulares en el medio (Figura 35 D). Grupo 2A-2: Se observaron bacterias Gram+ en forma de coco (Figura 35 E). Grupo 2B: No se realizó tinción de Gram.

La tinción con azul de tripano se realizó tomando una alícuota de las siguientes muestras: Grupo 1-B, Grupo 1-A y Grupo 2A-2, Grupo 2A-1. No fue posible observar células en la cámara de Neubauer, por lo tanto, no se pudo evaluar la viabilidad celular; Esto puede deberse a la baja densidad celular en los pocillos. Solo se observan algunas estructuras filamentosas de conglomerado que no estaban teñidas de azul (Figura 35 F, G, H).

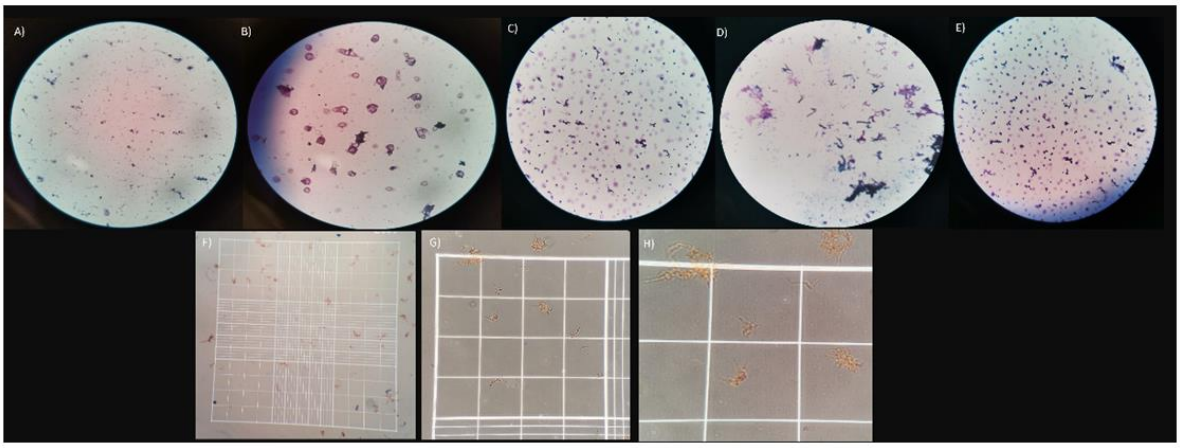


Figura 35. Tinción. Tinción de Gram en la línea superior A, B) Grupo 1A, C) Grupo 1B, D) Grupo 2A-1, E) Grupo 2A-2. En pocas palabras: F, G, H) Tinción de azul de tripano.

Día 22: Grupo 1A: Se observa una mayor densidad de celdas en el centro del pocillo y hacia los extremos del pocillo no se observaron celdas (Figura 36 A, B). Grupo 1B: Se descarta la presencia de células (Figura 36 C). Grupo 2A-1: No se observan células, presencia de partículas con morfología alargada (Figura 36 D). Grupo 2A-2: Se observaron partículas con morfología redondeada, que no corresponden a células (Figura 36 E). Grupo 2B: Se observaron partículas con morfología redondeada, que no corresponden a células (Figura 36 F). Grupo 3: Se observan partículas de diferente tamaño y morfología, se desconoce el tipo exacto de partículas encontradas, se descarta la presencia de células (Figura 36 G).

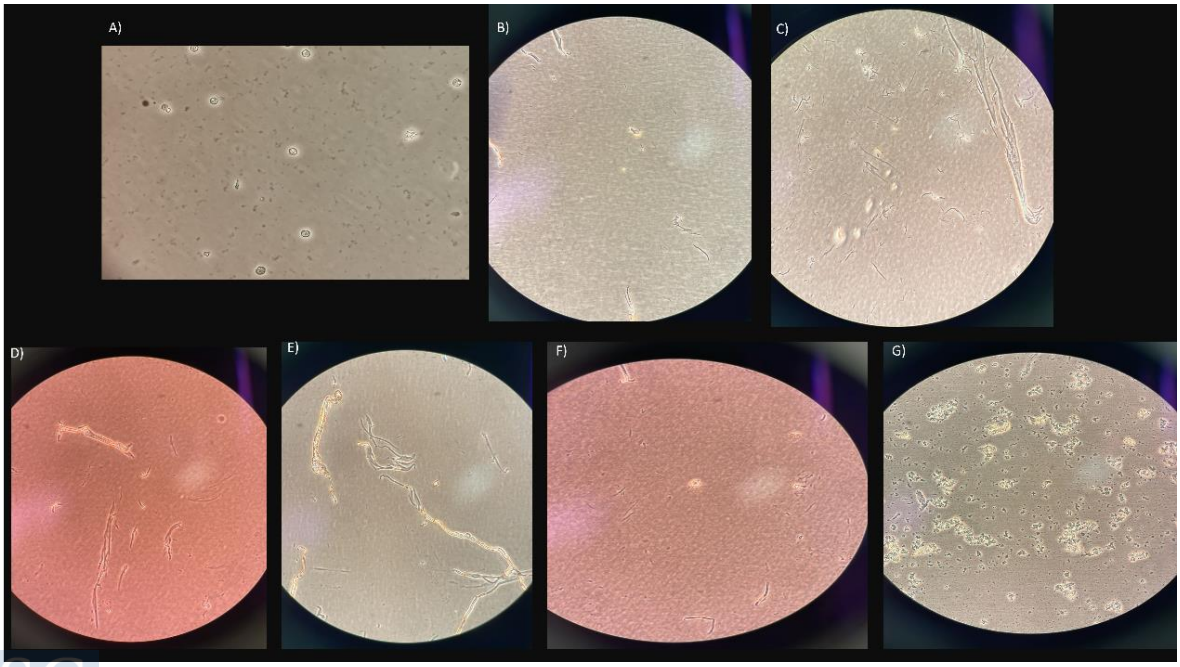


Figura 36. Día 22. A, B) Grupo 1 A, C) Grupo 1B, D) Grupo 2A1, E) Grupo 2 A2, F) Grupo 2B, G) Grupo 3.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

6. DISCUSIÓN

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

6. DISCUSIÓN

6.1 DISCUSIÓN DE REGENERACIÓN PERIODONTAL CON CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

La presente revisión sistemática y metaanálisis observó que la regeneración periodontal con MSC, solas o combinadas con otros materiales regenerativos como el beta-fosfato tricálcico, el hueso bovino o el plasma rico en plaquetas, ofreció mejores resultados en comparación con el uso de solo materiales regenerativos. Los estudios cualitativos indican que las PDLSc y las BMSC parecen tener mayores propiedades regenerativas. En la literatura revisada, se encontraron dos artículos de revisión sistemática sobre regeneración periodontal con MSC publicados por Tassi et al. [305] y Yan et al. [306]. En el primer estudio, el metaanálisis no fue posible debido a la heterogeneidad de los diseños de los estudios. En el segundo, el metaanálisis no mostró diferencias estadísticamente significativas en el efecto entre PDLSc y BMSC.

Un sustituto de injerto óseo ideal debe tener propiedades como osteoconducción, osteoinducción, osteogénesis y osteointegración[307]. A pesar de los esfuerzos para desarrollar y caracterizar diversos sustitutos de injertos óseos, ninguno ha sido aceptado como alternativa ideal a los autoinjertos debido a la baja capacidad de estos sustitutos para mejorar la osteoinducción y la osteogénesis [308 309]. La mayoría de los estudios in vitro y muchos in vivo sugieren que las MSC tienen el potencial de aumentar la osteoinducción y la osteogénesis, especialmente en combinación con materiales sustitutos óseos[239]. El uso de β-TCP es aplicable como armazón para el trasplante de BMSC y ayuda a aumentar el hueso alveolar sin afectar la regeneración del cemento[244].

El potencial regenerativo de las MSC probablemente esté relacionado con la etapa de diferenciación y el compromiso del linaje de las células, así como con las tasas de proliferación, la heterogeneidad de las subpoblaciones de MSC selectivamente aisladas, el número de células transferidas a los defectos y la composición del andamio y las dimensiones tridimensionales [310 311]. El origen de las células madre y su papel en los procesos regenerativos ha sido objeto de mucho debate, a veces con resultados contradictorios. Nagahara et al. [244] demostraron que la regeneración periodontal con

USC UNIVERSIDADE

BMSC y fosfato beta-tricálcico mejoró a las 8 semanas en el cemento alveolar y el hueso alveolar. Sin embargo, Iwasaki et al. [242] encontraron una diferencia significativa en la regeneración periodontal en PDLSC con beta-fosfato tricálcico y colágeno en comparación con BMSC.

También se ha informado sobre la regeneración ósea mediante la transferencia de genes a MSC; no obstante, la eficiencia de transducción en MSC por cada vector no siempre es alta. Chung et al.[230] indicaron que cuando se utilizaron MSC con adenovirus BMP-2 (advBMP-2) en defectos óseos, la regeneración periodontal fue significativamente mejor a las 8 semanas en comparación con el grupo de control. Otros estudios han indicado que los PDLSC tienen resultados similares [59] [232] [237] sin necesidad de utilizar vectores virales. Fawzy El-Sayed et al.[231] utilizaron células progenitoras del margen gingival (GMSC) junto con una matriz extracelular sintética de ácido hialurónico liberador de IL-1ra (HA-sECM) y concluyeron que había un potencial regenerativo periodontal significativo en comparación con los grupos de control. Por otro lado, en el caso del plasma rico en plaquetas con MSC y hueso autólogo, no hubo diferencias significativas entre el grupo de plasma rico en plaquetas solo y el de hueso autólogo[236]. La diferenciación condrogénica de las MSC antes de la implantación también es una estrategia útil para la regeneración del cartílago; sin embargo, su papel en la regeneración del hueso alveolar y del ligamento periodontal aún no está claro[243].

Tsumanuma et al 2011 [59] y Dangaria et al 2011 [312] demostraron el potencial regenerativo de las células madres son la población más idónea para la regeneración del hueso recién formado y cemento en comparación de las células madres de BMSC. Además, en una revisión sistemática sobre células madres de PDL demostraron una mejora significativa en la regeneración periodontal[313]. En la presente revisión sistemática determinó que las células madre derivadas del ligamento periodontal y de la médula ósea fueron las más empleadas en los estudios, y cuando se combinaron con otros biomateriales regenerativos, se lograron resultados superiores en la regeneración del tejido periodontal. Esto sugiere que la integración de estas células con biomateriales específicos potencia su capacidad regenerativa, mejorando significativamente la reparación del tejido dañado en comparación con otras técnicas. Yan et al 2015 [306] en un metaanálisis de subgrupos demostró que las células derivadas de PDL y las BMSC tuvieron un efecto similar en la mejora de la formación de hueso y cemento.

El metaanálisis sobre la regeneración de hueso nuevo revela que las MSC tienen una mayor capacidad regenerativa en comparación con otros materiales regenerativos. Los

resultados muestran que el tamaño del efecto fue significativamente mayor en el grupo que utilizó MSC, lo que coincide con las observaciones de estudios como los de Chung et al. (2011) [230] y Fawzy El-Sayed et al. (2015) [231]. Estos autores también encontraron que las MSC, especialmente cuando se combinan con biomateriales como el beta-fosfato tricálcico, mejoran significativamente la formación de hueso nuevo.

La variabilidad observada en los resultados puede atribuirse a factores como la heterogeneidad de las MSC y las diferencias en los modelos experimentales utilizados. Por ejemplo, Zhou et al. (2012) [238] reportaron que la regeneración ósea fue más efectiva en estudios que utilizaron adenovirus para transducir genes osteogénicos en MSC. Esta variabilidad sugiere que la eficacia de las MSC puede depender de múltiples factores, incluyendo el método de preparación celular, el tipo de defectos óseos tratados y la naturaleza del biomaterial utilizado como andamiaje.

Es importante destacar que, aunque los resultados del metaanálisis son prometedores, existe una necesidad de estudios adicionales para estandarizar los protocolos de aplicación de MSC y evaluar su efectividad en condiciones clínicas más diversas. Esto ayudaría a validar los hallazgos y facilitar la traducción de estas terapias a la práctica clínica.

Las principales limitaciones de esta investigación están relacionadas con el diseño de los experimentos (grupos diferentes y no equitativos), los diferentes tipos de modelos animales (perro, cerdo y rata), la alta variabilidad de las MSC y la diferente metodología utilizada para aplicar las células ya sea solas o en combinación con varios tipos de biomateriales.

La presente investigación, hubo diferencias significativas en el uso de MSC en comparación con el grupo de otros biomateriales para la regeneración periodontal. Las células madre más utilizadas fueron las células madre del ligamento periodontal y de la médula ósea, y estas se mezclaron con otros biomateriales regenerativos, obteniendo mejores resultados en la regeneración periodontal. A partir de los resultados de los metaanálisis, es posible concluir que las células madre tienen una mayor capacidad regenerativa periodontal que los materiales regenerativos individuales.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

6.2 DISCUSIÓN DE REGENERACIÓN DE DEFECTOS ÓSEOS PERIODONTALES CON PRF.

La presente revisión sistemática y metaanálisis sugiere que el uso de PRF para la regeneración de defectos óseos periodontales en humanos puede ser eficaz en comparación con otras técnicas regenerativas. Sin embargo, es crucial señalar que los resultados pueden variar según diversos factores, tales como el tipo de defecto periodontal, la técnica quirúrgica empleada y la calidad de los estudios incluidos.

A pesar de su uso extendido en la práctica clínica, persiste la controversia sobre qué tipo de concentrado de plasma ofrece mejores resultados en la formación ósea. han demostrado que el PC presenta algunas ventajas, como la formación de nuevo hueso trabecular, rápida resorción y curación, atribuibles a diversos factores de crecimiento[314]. Se considera que una combinación de un material de baja reabsorción, que conserve el volumen del alvéolo, junto con otro material que favorezca la formación de nuevo hueso, es una opción adecuada para mejorar la osteointegración y la estabilidad primaria[315]. Además, Caponio et al 2023 en una revisión sistemática, metaanálisis y un análisis secuencial de ensayos determinó que el uso de cualquier concentrado plaquetario mejora la neoformación ósea en la preservación de la cresta alveolar, en comparación con la curación espontánea [316].

El presente estudio revela que el uso de PRF fue el tratamiento más representativo en el tratamiento de PS, seguido de coágulos sanguíneos y relleno óseo. Sin embargo, la combinación de PRF con injerto óseo mostró mejores resultados en comparación con el uso de PRF o relleno óseo de manera individual. No obstante, estos resultados no fueron estadísticamente significativos y presentaron intervalos predictivos amplios, lo cual podría resultar en resultados nulos en futuros ensayos clínicos.

En el grupo relleno óseo, se observó que la intervención más efectiva fue la combinación de hueso y PRF, produciendo resultados estadísticamente superiores en comparación con el uso de PRF o hueso solo. La adición de BF a PRF resultó que el relleno óseo es similar al de la combinación de hueso y PRF. No obstante, el tratamiento mejor calificado fue la combinación de hueso y PRF, con una calificación promedio de tres entre todas las intervenciones y un valor SUCRA de 86,3.

Los estudios de Bansal y Bharti [260] y Agarwal et al. [262] mostraron que PRF y ADFDB son más efectivos que ADFDB con solución salina. Liu et al. encontraron que el complejo BPBM-PRF es clínicamente más efectivo. En el grupo BM vs. PRF, los estudios de Panda

et al. [270] fueron significativos, con una sensibilidad del 72%, indicando que el PRF en combinación con una membrana de barrera es más eficaz. Pham et al. [268] y Ustaoglu et al. [269] encontraron resultados positivos para el PRF con valores de p de 0,00, destacando su efectividad en el tratamiento periodontal y como regeneración tisular guiada (GTR) en EII. En el grupo Estatinas vs. PRF, el estudio de Martande et al. [277] mostró una sensibilidad del 73% para el control del riesgo.

Pradeep et al.[278] demostraron que la combinación de OFD con ROSU 1,2% y PRF produce beneficios periodontales. En el grupo Bone vs. PRF, el estudio de Galav et al. [258] mostró que ABG y PRF son efectivos para la reconstrucción de estructuras periodontales. En el grupo Metformina vs. PRF, Pradeep et al. [275] encontraron que el grupo PRF + MF 1% es más eficaz que MF, PRF u OFD en el control del riesgo. Para el grupo OFD vs. PRF, los estudios de Thorat et al. [254], Rosamma et al.[249], Ajwani et al. [250], Bajaj et al.[251], Patel et al. [253], Pradeep et al.[278] y Thorat et al. [254] demostraron significancia para el control del riesgo.

Uno de los aspectos destacados es la capacidad de PRF para mejorar significativamente la reducción de la profundidad de sondaje (PD) y el nivel de inserción clínica (CAL), lo cual es consistente con otros estudios previos que han demostrado el potencial de PRF para mejorar la regeneración tisular periodontal. Por ejemplo, Sharma et al. (2011) [247] observaron que el uso de PRF en combinación con desbridamiento a colgajo abierto (OFD) resultó en una mayor ganancia de CAL en comparación con OFD solo. Además, los hallazgos de Thorat et al. (2011) [248] respaldan la superioridad de PRF en la regeneración ósea en defectos periodontales intraoseos cuando se combina con OFD.

Sin embargo, es crucial considerar la heterogeneidad entre los estudios incluidos, ya que las variaciones en el diseño del estudio, las técnicas quirúrgicas y los biomateriales utilizados pueden influir en los resultados. Por ejemplo, estudios como el de Ajwani et al. (2015) [250] muestran que la combinación de PRF con otros biomateriales, como el metformina, no siempre mejora significativamente los resultados en comparación con PRF solo. Esto indica que la elección del biomaterial y su interacción con PRF son factores determinantes para el éxito clínico, como también lo sugiere Patel et al. (2017)[252].

Además, la variabilidad en los protocolos de preparación de PRF, incluyendo factores como la velocidad de centrifugación y la adición de activadores, puede afectar la liberación de factores de crecimiento, influyendo así en la efectividad de la regeneración. Rosamma et al. (2014) [249] señalan que las diferencias en la preparación de PRF pueden

USC
UNIVERSIDADE DE COMPOSTELA

conducir a resultados inconsistentes, lo que refuerza la necesidad de estandarizar los protocolos para mejorar la reproducibilidad de los estudios.

Finalmente, es importante reconocer que, aunque los resultados a corto plazo de PRF son alentadores, la falta de estudios con seguimiento a largo plazo limita la comprensión de la estabilidad y durabilidad de los efectos regenerativos obtenidos. Como indican Pradeep et al. (2017) [317], se requieren estudios adicionales que evalúen la efectividad a largo plazo de PRF en combinación con otros tratamientos regenerativos para proporcionar una evaluación más completa del éxito del tratamiento.

Una de las principales limitaciones de esta revisión sistemática y metaanálisis es la heterogeneidad entre los estudios incluidos. Las diferencias en el diseño de los estudios, las características de los pacientes, los tipos de defectos periodontales, las técnicas quirúrgicas y los métodos de preparación del PRF podrían haber contribuido a la notable heterogeneidad de los resultados. Esta diversidad dificulta la obtención de conclusiones definitivas y podría limitar la aplicabilidad general de los hallazgos. Aunque se intentó incluir una amplia variedad de estudios relevantes, el sesgo de publicación sigue siendo una limitación potencial. La calidad de los estudios incluidos es fundamental para la validez de los resultados del metaanálisis. A pesar de los esfuerzos por evaluar el riesgo de sesgo en cada estudio individual utilizando la herramienta Cochrane de riesgo de sesgo, algunos estudios podrían tener limitaciones inherentes que no se abordaron por completo. Los resultados de este metaanálisis se basan en un conjunto específico de criterios de inclusión y exclusión, que incluyen la restricción a estudios en humanos, publicados en inglés y que involucraron a pacientes no fumadores. Esta selección puede limitar la aplicabilidad de los resultados a una población más amplia o a diferentes contextos clínicos. Los estudios incluidos pueden haber empleado distintos protocolos de preparación de PRF, con variaciones en la velocidad de centrifugación, el tiempo y la adición de activadores. Estas diferencias en la preparación del PRF podrían afectar la liberación de factores de crecimiento y otros componentes terapéuticos, lo que influiría en los resultados del tratamiento. Además, muchos de los estudios incluidos pueden tener periodos de seguimiento relativamente cortos, lo que podría limitar la comprensión de la efectividad y estabilidad a largo plazo del PRF en la regeneración periodontal. Idealmente, los datos de seguimiento a largo plazo proporcionarían una evaluación más completa del éxito del tratamiento. El análisis se centró en la profundidad de sondaje (PD), el nivel de inserción clínica (CAL) y el relleno óseo radiográfico (RBF) como medidas de resultado. Si bien estos son parámetros clave para evaluar la regeneración periodontal, otros resultados clínicos e informados por los pacientes podrían ofrecer una evaluación más integral del

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

éxito del tratamiento. A pesar de los esfuerzos por agrupar los estudios según intervenciones similares, aún puede haber variabilidad clínica dentro de los grupos de tratamiento. Las diferencias en las técnicas quirúrgicas, la habilidad del operador y el cumplimiento del paciente podrían introducir variabilidad adicional en los resultados.

6.3 RECUBRIMIENTO RADICULAR CON TÉCNICA DE COLGAJO DE AVANCE CORONAL VERSUS TUNELIZACIÓN

Los resultados de esta revisión sistemática y metaanálisis ofrecen información valiosa sobre la eficacia comparativa de las técnicas de túnel (TT) y colgajo avanzado coronal (CAF) para lograr la cobertura radicular. En lo que respecta a la cobertura radicular media (CRM), el análisis reveló que la técnica CAF con tejido conectivo gingival (CTG) mostró mejores resultados en comparación con la técnica TT con CTG. Este hallazgo es consistente con investigaciones anteriores que han demostrado que el método CAF es más efectivo para la cobertura radicular [280] [318] [284]. La diferencia entre ambos métodos podría estar relacionada con la experiencia del operador, especialmente en el caso de la técnica TT. Aunque la diferencia media en CRM es estadísticamente significativa, es importante considerar que podría no ser clínicamente relevante.

Se revisaron dos metaanálisis, incluido uno realizado por Tavelli et al. [318], que concluyó que la técnica de túnel fue más efectiva para la cobertura radicular, alcanzando un CRM del 82,8% en recesiones localizadas y del 87,9% en recesiones múltiples. Sin embargo, el CAF logró una tasa de cobertura radicular completa (CRC) más alta en comparación con la TT cuando se utilizó CTG o una matriz dérmica acelular en ambas técnicas. Por otro lado, Tovalino et al. en 2023 [319] encontraron resultados similares en primarios y secundarios para TT y CAF, lo que coincide con los hallazgos de Azaripour et al., Tavelli et al. y Zuhr et al. [285] [290] [293], sugiriendo que ambas técnicas son igualmente efectivas para lograr una cobertura radicular completa. La mínima diferencia en CRC podría deberse a la naturaleza de estándar de oro del CTG en los procedimientos de cobertura radicular. Aunque el CAF puede mostrar un CRC ligeramente superior, las ventajas de la TT, como una mejor estética y un tiempo de curación más rápido, la convierten en una alternativa válida [280] [281] [282].

En términos de ganancia de tejido queratinizado (KTG), el análisis indicó que la técnica CAF resulta en valores más altos en comparación con TT. Este resultado respalda estudios previos que subrayan la importancia de KTG para mejorar la salud periodontal y

USC DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

la estética [318] [282]. Sin embargo, Rebele et al. encontraron que la técnica TT generó encías más gruesas según mediciones digitales. Aunque la diferencia en KTG es estadísticamente significativa, su relevancia clínica puede variar según las necesidades individuales de los pacientes y las situaciones clínicas específicas.

Estudios como el de Santamaria et al. [280] informaron que el porcentaje promedio de cobertura radicular media (MCR) fue significativamente mayor en el grupo CAF + CTG (87,2 ± 27,1%) en comparación con el grupo TT + CTG (77,4 ± 20,4%; p = 0,02), y que el CRC fue más alto en el grupo CAF + CTG (71,4%) en contraste con el grupo TT + CTG (28,6%; p = 0,01). En otro estudio de Azaripour et al. [285], se encontró que el MCR fue de 98,3 ± 9,3% en CAF + CTG y de 97,2 ± 9,8% en TT + CTG, mientras que el CRC fue de 96% en CAF + CTG y de 90,5% en TT + CTG, concluyendo que no hubo diferencias significativas entre ambas técnicas.

Se han explorado otros materiales para la cobertura radicular, como muestra el estudio de Dragana Rakasevic et al.[288], que reportó un MCR de 85,25 ± 14,9 en el grupo TT + matriz de colágeno xenogénico (XCM) y de 87,6 ± 15,1 en el grupo CAF + CTG, con un CRC del 46,8% en TT + XCM y del 51,9% en CAF + CTG, mostrando resultados similares en ambas técnicas. Otro estudio [282] utilizó una matriz dérmica acelular (ADM) y encontró un MCR de 75,72 ± 6,54 en el grupo TT + ADM y de 93,81 ± 13,10 en el grupo CAF + ADM, con un CRC de 37,36 ± 21,10 en TT + ADM y de 85,00 ± 33,75 en CAF + ADM, concluyendo que tanto TT + ADM como CAF + ADM fueron eficaces en la cobertura radicular de recesiones múltiples. En un estudio relacionado, Tavelli L et al. [290] encontraron un MCR de 89,13 ± 15,19 en TT + ADM y de 88,14 ± 16,91 en CAF + ADM, con un CRC de 51,2% en TT + ADM y de 52,6% en CAF + ADM, concluyendo que no existían diferencias significativas.

Mientras tanto, Zuhr O et al.[296], al usar derivados de la matriz del esmalte (EMD), demostraron que el MCR en el grupo TT + CTG fue de 98,4 ± 3,6% y en el grupo CAF + EMD fue de 71,8 ± 20,3%, mientras que el CRC en el grupo TT + CTG fue de 82,2% y en el grupo CAF + EMD fue de 32%, concluyendo que TT + CTG mostró resultados a largo plazo significativamente superiores en comparación con CAF + EMD en términos de CRC y MCR.

Los resultados de este estudio son relevantes para los clínicos al momento de seleccionar la técnica quirúrgica adecuada para los procedimientos de cobertura radicular. Aunque la técnica CAF con CTG puede ofrecer resultados ligeramente mejores en

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

términos de MCR y KTG, la TT presenta varias ventajas que la hacen clínicamente relevante. La TT se asocia con una mejor estética debido a su naturaleza conservadora, preservando la papila interdental y evitando incisiones verticales [281] [283]. Además, la TT tiene un período de curación más corto y menor morbilidad postoperatoria debido a la apertura limitada del colgajo [290]. Por lo tanto, la elección entre ambas técnicas debe considerar factores como las preferencias del paciente, los requisitos estéticos y la experiencia del clínico.

Sin embargo, este estudio tiene algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta. En primer lugar, las técnicas quirúrgicas principales (CAF y TT) se complementaron con varios materiales de regeneración, lo que podría haber introducido sesgos en los resultados debido a la heterogeneidad en los materiales utilizados y en los diseños de estudio, complicando las conclusiones generales. En segundo lugar, los estudios incluidos tuvieron períodos de seguimiento no uniformes, lo que llevó a variabilidad en la evaluación de los resultados. Además, los resultados informados podrían haber sido influenciados por diferentes definiciones de éxito y el uso de distintos métodos de medición en cada estudio.

Las investigaciones futuras deben enfocarse en estandarizar las mediciones de resultados, los períodos de seguimiento y las características de los pacientes para permitir comparaciones más precisas entre las técnicas. También se necesitan estudios a largo plazo con muestras más grandes para obtener una comprensión completa de la durabilidad y estabilidad de la cobertura radicular lograda con CAF y TT. Además, investigar los resultados desde la perspectiva del paciente, incluida la satisfacción estética y la incomodidad, puede mejorar la evaluación integral de la efectividad clínica de cada método.

6.4 ERRORES METODOLÓGICOS EN OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE DE LA PULPA DENTAL

Es fundamental contar con un protocolo estandarizado para el aislamiento y caracterización de las células madre de la pulpa dental y así poder garantizar la transparencia, fiabilidad e interpretación adecuada de los resultados. Sin embargo, es ampliamente reconocido que los resultados negativos no siempre se divulgan, lo que podría conducir a un sesgo considerable en los resultados.

Se ha demostrado que los tejidos relacionados con los dientes, como la pulpa dental y los folículos dentales, podrían representar una fuente alternativa de células madre

mesenquimales [40] [320] [37]. La investigación ha demostrado que la extracción de terceros molares es capaz de generar suficiente tejido de la pulpa dental para aislar eficazmente las células madre de la pulpa dental (DPSC) [36] [37.] Es por esto, qué, la obtención de la pulpa dental se convierte en un punto crucial, ya que puede dar lugar a la contaminación si no se lleva a cabo un correcto protocolo para el aislamiento de las células madre.

Las DPSC pueden obtenerse mediante dos métodos diferentes: mediante el método de explante o mediante la técnica de descomposición enzimática [321]. Ferrúa et al. [322] en una revisión sistemática, describió que el 56.3% de las investigaciones utilizaron la técnica enzimática, seguida por el 33.5%, que utilizó una aplicación de técnicas enzimáticas y mecánicas, mientras que las menos frecuentes fueron las técnicas de explante con 9.8% y mecánicas con 0.5%, determinando que el método más conveniente es la digestión enzimática.

El proceso de digestión enzimática de la pulpa dental se refiere al uso de enzimas como la colagenasa tipo 1, la dispasa y la tripsina para descomponer el tejido de la pulpa dental con el objetivo de obtener células madre. Este método implica el uso de enzimas específicas que pueden degradar las estructuras del tejido pulpar, liberando así las células madre presentes en el [323] [324]. Ebrahimi Dastgurdi et al. [325] utilizaron colagenasa tipo 1/dispasa o colagenasa tipo 1 solas, concluyendo que diferentes soluciones enzimáticas daban lugar a diferentes poblaciones de DPSC. La falta de homogeneidad en el tipo de enzima y la cantidad utilizada podría poner en riesgo la viabilidad y la función de las CPDP, lo que podría complicar el proceso de aislamiento de células madre [322] . Si la digestión enzimática no se realiza de manera óptima, puede llevar a la liberación incompleta de las células madre, lo que afectaría la cantidad de células obtenidas para el cultivo.

Después de la desintegración enzimática, se pasa a través de un tamiz celular tipo Falcon de 100 μm. Este procedimiento se lleva a cabo con el propósito de eliminar cualquier agrupación de células y partículas que no son celulares y así permitir que el cultivo no se contamine [21]. Otro estudio demostró la utilidad de los filtros de 40, 70 y 100 μm para filtrar células primarias [322]. Por esta razón, se pudo pasar el contenido en el filtro de 100 μm, para retener las partículas más grandes y permitir que las células madre de la pulpa dental pasaran a través del filtro. Sin embargo, podría haber una pérdida de algunas células durante el proceso de filtración, lo que podría afectar la eficiencia del cultivo y la recuperación celular. Durante esta filtración, las celdas pueden experimentar cierto estrés mecánico debido a la presión ejercida para pasar a través del filtro y esto podría dañar las

celdas o afectar su viabilidad. Por el contrario, los filtros de 35 μm tienen poros más pequeños y se utilizan para retener partículas más pequeñas, por lo que las células madre de la pulpa dental podrían quedar atrapadas en el filtro, lo que limitaría la recuperación celular.

El uso de antibióticos en el medio de cultivo de células madre es una práctica común en la investigación científica y el cultivo celular para prevenir la contaminación microbiana y mantener un entorno estéril para el crecimiento y la expansión de las células madre. Varghese et al [326] determinaron que una combinación de antibióticos, gentamicina y penicilina-estreptomicina (pen-estreptomicina), tiene un impacto negativo en la viabilidad celular durante el proceso de diferenciación de las células madre embrionarias humanas (hESCs). Por el contrario, Llobet et al [327] utilizaron una mezcla de penicilina 100 U/ml-estreptomicina 100 μg/ml-anfotericina B 0,25 μg/ml; o gentamicina 5 μg/ml demostrando que estos antibióticos afectan a la diferenciación celular. Por otro lado, Raoof et al [321] usó 100 U/ml de penicilina G, 100 μg/ml de estreptomicina y 1 μg/ml de anfotripsina B, obteniendo resultados favorables en el aislamiento de células madre de la pulpa dental. También se ha encontrado que varias cepas bacterianas son resistentes a la penicilina-estreptomicina (pen-estreptomicina), para lo cual se utilizan otros antibióticos de amplio espectro como la normocina y la gentamicina [328]. El Pen-Strep en el medio de cultivo de células madre de pulpa dental es una práctica común para prevenir infecciones bacterianas y mantener un ambiente de cultivo limpio, sin embargo, es importante evaluar si las DPSC son sensibles a estos antibióticos. En el presente estudio, se utilizó Penicilina/ estreptomicina al 5% Ref. P0781 de Sigma Aldrich en todos los grupos. Aunque la penicilina y la estreptomicina son antibióticos eficaces contra muchas bacterias, también pueden ser tóxicos para las células madre de la pulpa dental en altas concentraciones o con una exposición prolongada. Esto puede afectar negativamente la viabilidad y la función de las células madre de la pulpa dental. No obstante, el uso de antibióticos en los medios de cultivo es esencial, especialmente cuando se trabaja con material de extracción dental.

El uso de un fármaco antifúngico, como la anfotericina B, que es un antifúngico de amplio espectro utilizado para combatir las infecciones fúngicas en cultivos celulares, ha adquirido importancia en los cultivos celulares [321] Sin embargo, se ha informado que el uso de anfotericina B está limitado por sus fuertes propiedades nefrotóxicas, lo que puede influir negativamente en la viabilidad del cultivo al afectar la salud de las células cultivadas [329]. Los estudios combinan anfotericina B con iones de cobre (II) que exhiben fuertes propiedades antifúngicas y es menos dañina para las células en comparación con la anfotericina B [330 331]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO

Utumi et al. [332] determinaron que el fluconazol en las células madre de la pulpa dental canina no interfería significativamente con la replicación de estas células, pero en el análisis de citotoxicidad se produjo una pérdida de viabilidad y muerte celular a medida que aumentaba la concentración de fluconazol. Por otro lado, Skubis et al [333] demostraron que el uso de anfotericina B tenía una disminución de la viabilidad celular y un aumento significativo de la actividad oxidativa mitocondrial celular. Por lo tanto, se puede decir que la anfotericina B puede ser tóxica para las células debido a su mecanismo de acción, que implica la interacción con las membranas celulares, lo que puede provocar daño celular y muerte. En el contexto del cultivo de células madre de pulpa dental, la toxicidad de la anfotericina B podría reducir la viabilidad y la función celular, afectando negativamente a la utilidad de los cultivos celulares.

Estos protocolos para el cultivo de DPSC utilizan suero fetal bovino (FBS), que se usa ampliamente. Los métodos de cultivo actuales para el aislamiento y la expansión de células madre adultas se basan en gran medida en el uso de cantidades significativas de sueros animales, sin embargo, los componentes de cultivo de origen animal suscitan preocupación debido a la posibilidad real de infecciones y reacciones inmunitarias graves [334] . Ferro et al [335] demostraron que es posible sustituir el suero bovino por un medio de cultivo completamente definido químicamente que contenga concentraciones reducidas de suero humano, obteniendo buenos resultados. Eubanks et al. concluyeron que las DPSC pueden aislarse y ampliarse a números a escala clínica en medios sin FBS y aun así mantener sus propiedades fenotípicas, pero aún no se ha determinado la capacidad regenerativa in vivo de estas DPSC [336] . Piva et al [337] reportaron que el uso de suero humano (HS) tiene mayor capacidad de angiogénesis in vivo.

Diversos estudios reportan el uso de suero fetal bovino en diferentes concentraciones al 20% [33 321 338] y otros al 10% [339 340 341], obteniendo buenos resultados en el aislamiento de DPSC. En el presente estudio, se utilizó suero fetal bovino al 10%, ya que es un componente comúnmente utilizado en el aislamiento y expansión de células madre de pulpa dental (DPSC) debido a su capacidad para proporcionar nutrientes esenciales y factores de crecimiento. Sin embargo, se deben tener en cuenta las cuestiones éticas y la calidad del suero, y se pueden explorar alternativas sin componentes de origen animal si es necesario.

Otro reactivo utilizado en el cultivo de células madre es el L Glutatión, ya que es un antioxidante y un aminoácido que desempeña un papel importante en la protección de las células contra el daño oxidativo y la regulación de la función celular [342]. Cho et al [343]

describieron la importancia de los niveles celulares de glutatión (GSH) en la regulación de las funciones de las MSC y presentan FreSHtracer como una herramienta eficaz para evaluar y seleccionar MSC altamente funcionales. En nuestros resultados, el glutatión puede ser una herramienta útil en el cultivo celular de DPSC, especialmente para protegerlas contra el estrés oxidativo, mejorar la viabilidad y regular la diferenciación celular. Sin embargo, es importante optimizar las concentraciones y controlar los niveles de GSH para asegurarse de que están en el rango adecuado para el tipo de cultivo.

El presente estudio aborda varias consideraciones importantes en el aislamiento y cultivo de células DPSC y pone de manifiesto algunas limitaciones y retos asociados a estos procesos como la contaminación celular, por lo que es imprescindible contar con un protocolo estandarizado para el aislamiento y caracterización de DPSC que garantice resultados reproducibles y fiables.

Es común el uso de técnicas de descomposición de explantes o enzimas, y es importante seguir procedimientos estériles para evitar la contaminación bacteriana o fúngica; la selección del método puede variar en función de los objetivos de la investigación y de las preferencias del laboratorio. Además, el uso de filtros celulares, como los tubos Falcon de 100 μm, puede eliminar los agregados celulares y garantizar la pureza en las poblaciones celulares, generando resultados variables. Además, el uso de antibióticos y antifúngicos en el medio de cultivo es común para prevenir infecciones, pero su elección y concentración deben evaluarse cuidadosamente. Algunos estudios han encontrado que ciertos antibióticos pueden afectar la viabilidad o diferenciación celular, por lo que es importante considerar estos factores.

Otro de los reactivos más utilizados y estudiados en cultivo celular es el FBS, pero su origen animal plantea problemas éticos y de calidad. Se están explorando alternativas, como los medios de cultivo químicamente definidos o el suero humano, para reducir la dependencia de los componentes de origen animal.

El uso de L-glutatión como antioxidante en el cultivo celular de DPSC es una práctica que puede ayudar a proteger las células del estrés oxidativo y mejorar su viabilidad. Sin embargo, se debe optimizar la concentración y controlar los niveles para evitar efectos adversos.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

7. CONCLUSION

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

7. CONCLUSIÓN

1. En el presente estudio, se observaron diferencias significativas en el uso de células madre mesenquimales (MSCs) en comparación con otros biomateriales para la regeneración periodontal. Las células madre que se combinaron con otros biomateriales regenerativos, lograron mejores resultados en la regeneración periodontal.

2. Según los resultados de esta revisión sistemática y metaanálisis, el uso de PRF (fibrina rica en plaquetas) parece ser una opción prometedora para la regeneración de defectos óseos periodontales en humanos. Sin embargo, se necesitan más ensayos clínicos aleatorizados de alta calidad para confirmar estos hallazgos y ofrecer una guía más precisa sobre el uso clínico de PRF en la práctica odontológica.

3. Tanto la técnica de túnel como el colgajo avanzado coronal con injerto de tejido conectivo son efectivas para cubrir raíces expuestas. La técnica de colgajo avanzado coronal ofrece una cobertura media y ganancia de tejido queratinizado superiores, mientras que la técnica de túnel destaca por sus ventajas en estética, comodidad y tiempo de recuperación del paciente.

4. En el cultivo de células madre de la pulpa dental, se identificaron dificultades comunes como problemas con la manipulación del medio, regulación del pH, presencia de partículas no disueltas, adherencia celular y contaminación bacteriana. Estos aspectos resaltan la necesidad de estandarizar los protocolos para poder maximizar su potencial terapéutico y las aplicaciones clínicas.

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

8. REFERENCIAS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

8. REFERENCIAS

1. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. ScientificWorldJournal. 2020;2020:2146160.

2. Jakubovics NS, Goodman SD, Mashburn-Warren L, Stafford GP, Cieplik F. The dental plaque biofilm matrix. Periodontol 2000. 2021;86(1):32-56.

3. Cancedda R, Bianchi G, Derubeis A, Quarto R. Cell therapy for bone disease: a review of current status. Stem Cells. 2003;21(5):610-9.

4. Ivanovic A, Nikou G, Miron RJ, Nikolidakis D, Sculean A. Which biomaterials may promote periodontal regeneration in intrabony periodontal defects? A systematic review of preclinical studies. Quintessence Int. 2014;45(5):385-95.

5. Hutmacher D, Hürzeler MB, Schliephake H. A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications. Int J Oral Maxillofac Implants. 1996;11(5):667-78.

6. Wang L, Shen H, Zheng W, Tang L, Yang Z, Gao Y, et al. Characterization of stem cells from alveolar periodontal ligament. Tissue Eng Part A. 2011;17(7-8):1015-26.

7. Su F, Liu SS, Ma JL, Wang DS, E LL, Liu HC. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of osteoprotegerin-engineered periodontal ligament stem cells. Stem Cell Res Ther. 2015;6(1):22.

8. Abou Neel EA, Bozec L, Knowles JC, Syed O, Mudera V, Day R, et al. Collagen--emerging collagen based therapies hit the patient. Adv Drug Deliv Rev. 2013;65(4):429-56.

9. Shi S, Bartold P, Miura M, Seo B, Robey P, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. Orthod Craniofac Res. 2005;8(3):191-9.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

10. Tong D, Gobert S, Reuzeau A, et al. Dental pulp mesenchymal stem cells-response to fibrin hydrogel reveals ITGA2 and MMPs expression. *Heliyon*. 2024;10(13):e32891.

11. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. Cell. 7 de 2000;100(1):157-68.

12. Kondo M, Wagers AJ, Manz MG, Prohaska SS, Scherer DC, Beilhack GF, et al. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: implications for clinical application. Annu Rev Immunol. 2003; 21:759-806.

13. Rodríguez-Lozano FJ, Insausti CL, Iniesta F, Blanquer M, Ramírez M del C, Meseguer L, et al. Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012;17(6):e1062-1067.

14. Naji A, Eitoku M, Favier B, Deschaseaux F, Rouas-Freiss N, Suganuma N. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications. Cell Mol Life Sci. 2019;76(17):3323-48.

15. De Bari C, Dell'Accio F, Vanlauwe J, Eyckmans J, Khan IM, Archer CW, et al. Mesenchymal multipotency of adult human periosteal cells demonstrated by single-cell lineage analysis. Arthritis Rheum. 2006;54(4):1209-21.

16. Botelho J, Cavacas MA, Machado V, Mendes JJ. Dental stem cells: recent progresses in tissue engineering and regenerative medicine. Ann Med. 2017;49(8):644-51.

17. Chauca-Bajaña L, Velasquez-Ron B, Tomás-Carmona I, Camacho-Alonso F, Pérez-Jardón A, Pérez-Sayáns M. Regeneration of periodontal bone defects with mesenchymal stem cells in animal models. Systematic review and meta-analysis. Odontology. 2023;111(1):105-22.

18. Buduru SD, Gulei D, Zimta AA, Tigu AB, Cenariu D, Berindan-Neagoe I. The Potential of Different Origin Stem Cells in Modulating Oral Bone Regeneration Processes. Cells. 2019;8(1):29.

19. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-7.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

20. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. Exp Hematol. 2000;28(8):875-84.

21. Pisciotta A, Carnevale G, Meloni S, Riccio M, De Biasi S, Gibellini L, et al. Human Dental pulp stem cells (hDPSCs): isolation, enrichment and comparative differentiation of two sub-populations. BMC Developmental Biology. 2015;15(1):14.

22. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100(10):5807-12.

23. Tomokiyo A, Wada N, Maeda H. Periodontal Ligament Stem Cells: Regenerative Potency in Periodontium. Stem Cells and Development. 2019;28(15):974-85.

24. Nada OA, El Backly RM. Stem Cells From the Apical Papilla (SCAP) as a Tool for Endogenous Tissue Regeneration. Front Bioeng Biotechnol. 2018;6:103.

25. Chen X, Yang B, Tian J, Hong H, Du Y, Li K, et al. Dental Follicle Stem Cells Ameliorate Lipopolysaccharide-Induced Inflammation by Secreting TGF-β3 and TSP-1 to Elicit Macrophage M2 Polarization. Cell Physiol Biochem. 2018;51(5):2290-308.

26. Nakajima K, Kunimatsu R, Ando K, Ando T, Hayashi Y, Kihara T, et al. Comparison of the bone regeneration ability between stem cells from human exfoliated deciduous teeth, human dental pulp stem cells and human bone marrow mesenchymal stem cells. Biochem Biophys Res Commun. 2018;497(3):876-82.

27. Nakao Y, Fukuda T, Zhang Q, Sanui T, Shinjo T, Kou X, et al. Exosomes from TNF-α-treated human gingiva-derived MSCs enhance M2 macrophage polarization and inhibit periodontal bone loss. Acta Biomater. 2021; 122:306-24.

28. Tsukasaki M, Komatsu N, Negishi-Koga T, Huynh NCN, Muro R, Ando Y, et al. Periosteal stem cells control growth plate stem cells during postnatal skeletal growth. Nat Commun. 2022;13(1):4166.

29. Pringle S, Wang X, Verstappen GMPJ, Terpstra JH, Zhang CK, He A, et al. Salivary Gland Stem Cells Age Prematurely in Primary Sjögren's Syndrome. Arthritis Rheumatol. 2019;71(1):133-42.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

30. Zhao J, Zhou YH, Zhao YQ, Gao ZR, Ouyang ZY, Ye Q, et al. Oral cavity-derived stem cells and preclinical models of jaw-bone defects for bone tissue engineering. Stem Cell Res Ther. 2023;14(1):39.

31. Kumar A, Raik S, Sharma P, Rattan V, Bhattacharyya S. Primary Culture of Dental Pulp Stem Cells. J Vis Exp. 5 de mayo de 2023;(195).

32. Nuti N, Corallo C, Chan BMF, Ferrari M, Gerami-Naini B. Multipotent Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells: a Literature Review. Stem Cell Rev Rep. 2016;12(5):511-23.

33. Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(25):13625-30.

34. Victor AK, Reiter LT. Dental pulp stem cells for the study of neurogenetic disorders. Hum Mol Genet. 2017;26(R2):R166-71.

35. Gronthos S, Arthur A, Bartold PM, Shi S. A method to isolate and culture expand human dental pulp stem cells. Methods Mol Biol. 2011; 698:107-21.

36. Atari M, Barajas M, Hernández-Alfaro F, Gil C, Fabregat M, Ferrés Padró E, et al. Isolation of pluripotent stem cells from human third molar dental pulp. Histol Histopathol. 2011;26(8):1057-70.

37. Atari M, Gil-Recio C, Fabregat M, García-Fernández D, Barajas M, Carrasco MA, et al. Dental pulp of the third molar: a new source of pluripotent-like stem cells. Journal of Cell Science. 2012;125(14):3343-56.

38. Hilkens P, Gervois P, Fanton Y, Vanormelingen J, Martens W, Struys T, et al. Effect of isolation methodology on stem cell properties and multilineage differentiation potential of human dental pulp stem cells. Cell Tissue Res. 2013;353(1):65-78.

39. Manaspon C, Jongwannasiri C, Chumprasert S, Sa-Ard-Iam N, Mahanonda R, Pavasant P, et al. Human dental pulp stem cell responses to different dental pulp capping materials. BMC Oral Health. 2021;21(1):209.

40. Sui B, Wu D, Xiang L, Fu Y, Kou X, Shi S. Dental Pulp Stem Cells: From Discovery to Clinical Application. Journal of Endodontics. 2020;46(9):S46-55.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

41. Pilbauerová N, Soukup T, Suchánková Kleplová T, Suchánek J. Enzymatic Isolation, Amplification and Characterization of Dental Pulp Stem Cells. Folia Biol (Praha). 2019;65(3):124-33.

42. Aydin S, Şahin F. Stem Cells Derived from Dental Tissues. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1144:123-132. doi:10.1007/5584_2018_33343. Xie Z, Shen Z, Zhan P, Yang J, Huang Q, Huang S, et al. Functional Dental Pulp Regeneration: Basic Research and Clinical Translation. Int J Mol Sci. 2021;22(16):8991.

43. Xie Z, Shen Z, Zhan P, Yang J, Huang Q, Huang S, et al. Functional Dental Pulp Regeneration: Basic Research and Clinical Translation. Int J Mol Sci. 2021;22(16):8991.

44. Mai Z, Chen H, Ye Y, Hu Z, Sun W, Cui L, et al. Translational and Clinical Applications of Dental Stem Cell-Derived Exosomes. Front Genet. 2021;12:750990.

45. Suchánek J, Visek B, Soukup T, El-Din Mohamed SK, Ivancaková R, Mokrỳ J, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth--isolation, long term cultivation and phenotypical analysis. Acta Medica (Hradec Kralove). 2010;53(2):93-9.

46. El Alami M, Viña-Almunia J, Gambini J, Mas-Bargues C, Siow RCM, Peñarrocha M, et al. Activation of p38, p21, and NRF-2 Mediates Decreased Proliferation of Human Dental Pulp Stem Cells Cultured under 21% O2. Stem Cell Reports. 2014;3(4):566-73.

47. Ledesma-Martínez E, Mendoza-Núñez VM, Santiago-Osorio E. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Pulp: A Review. Stem Cells Int. 2016;2016:4709572.

48. Yamada Y, Nakamura-Yamada S, Kusano K, Baba S. Clinical Potential and Current Progress of Dental Pulp Stem Cells for Various Systemic Diseases in Regenerative Medicine: A Concise Review. Int J Mol Sci. 2019;20(5):1132.

49. Yaemkleebbua K, Osathanon T, Nowwarote N, Limjeerajarus CN, Sukarawan W. Analysis of hard tissue regeneration and Wnt signalling in dental pulp tissues after direct pulp capping with different materials. Int Endod J. 2019;52(11):1605-16.

50. Lindroos B, Mäenpää K, Ylikomi T, Oja H, Suuronen R, Miettinen S. Characterisation of human dental stem cells and buccal mucosa fibroblasts. Biochem Biophys Res Commun. 2008;368(2):329-35.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

51. Imanishi Y, Hata M, Matsukawa R, Aoyagi A, Omi M, Mizutani M, et al. Efficacy of extracellular vesicles from dental pulp stem cells for bone regeneration in rat calvarial bone defects. Inflamm Regen. 2021;41(1):12.

52. Lee AE, Choi JG, Shi SH, He P, Zhang QZ, Le AD. DPSC-Derived Extracellular Vesicles Promote Rat Jawbone Regeneration. J Dent Res. 2023;102(3):313-21.

53. Xiong J, Gronthos S, Bartold PM. Role of the epithelial cell rests of Malassez in the development, maintenance and regeneration of periodontal ligament tissues. Periodontol 2000. 2013;63(1):217-33.

54. Carnes DL, Maeder CL, Graves DT. Cells with osteoblastic phenotypes can be explanted from human gingiva and periodontal ligament. J Periodontol. 1997;68(7):701-7.

55. Dangaria SJ, Ito Y, Luan X, Diekwisch TGH. Differentiation of Neural-Crest-Derived Intermediate Pluripotent Progenitors into Committed Periodontal Populations Involves Unique Molecular Signature Changes, Cohort Shifts, and Epigenetic Modifications. Stem Cells Dev. 2011;20(1):39-52.

56. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. Lancet. 2004;364(9429):149-55.

57. Xu J, Wang W, Kapila Y, Lotz J, Kapila S. Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL mesenchymal progenitor cells. Stem Cells Dev. 2009;18(3):487-96.

58. Tomokiyo A, Yoshida S, Hamano S, Hasegawa D, Sugii H, Maeda H. Detection, Characterization, and Clinical Application of Mesenchymal Stem Cells in Periodontal Ligament Tissue. Stem Cells International. 2018;2018: e5450768.

59. Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Yamada A, Takagi R, et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. Biomaterials. 2011;32(25):5819-25.

60. Huang GTJ, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. J Dent Res. 2009;88(9):792-806.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

61. Zhao Z, Wang Y, Wang D, Liu H. The regulatory role of a disintegrin and metalloproteinase 28 on the biologic property of human periodontal ligament stem cells. J Periodontol. 2010;81(6):934-44.

62. Gay IC, Chen S, MacDougall M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. Orthod Craniofac Res. 2007;10(3):149-60.

63. Hidaka T, Nagasawa T, Shirai K, Kado T, Furuichi Y. FGF-2 induces proliferation of human periodontal ligament cells and maintains differentiation potentials of STRO-1(+)/CD146(+) periodontal ligament cells. Arch Oral Biol. 2012;57(6):830-40.

64. Annibali S, Cristalli MP, Tonoli F, Polimeni A. Stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth: a narrative synthesis of literature. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014;18(19):2863-81.

65. Martinez Saez D, Sasaki RT, Neves A da C, da Silva MCP. Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous Teeth: A Growing Literature. Cells Tissues Organs. 2016;202(5-6):269-80.

66. Galli R, Borello U, Gritti A, Minasi MG, Bjornson C, Coletta M, et al. Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells. Nat Neurosci. 2000;3(10):986-91.

67. Xu N, Chen K, Shen YY. [Isolation and identification of stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2009;29(3):479-82.

68. Xie F, He J, Chen Y, Hu Z, Qin M, Hui T. Multi-lineage differentiation and clinical application of stem cells from exfoliated deciduous teeth. Hum Cell. 2020;33(2):295-302.

69. Nam H, Lee G. Identification of novel epithelial stem cell-like cells in human deciduous dental pulp. Biochem Biophys Res Commun. 2009;386(1):135-9.

70. Zhao Z, Liu H, Wang D. ADAM28 manipulates proliferation, differentiation, and apoptosis of human dental pulp stem cells. J Endod. 2011;37(3):332-9.

71. Bakopoulou A, Leyhausen G, Volk J, Tsiftsoglou A, Garefis P, Koidis P, et al. Assessment of the impact of two different isolation methods on the osteo/odontogenic

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

differentiation potential of human dental stem cells derived from deciduous teeth. Calcif Tissue Int. 2011;88(2):130-41.

72. Seo BM, Sonoyama W, Yamaza T, Coppe C, Kikuiri T, Akiyama K, et al. SHED repair critical-size calvarial defects in mice. Oral Dis. 2008;14(5):428-34.

73. Pivoriuūnas A, Surovas A, Borutinskaite V, Matuzeviccius D, Treigyte G, Savickiene J, et al. Proteomic analysis of stromal cells derived from the dental pulp of human exfoliated deciduous teeth. Stem Cells Dev. 2010;19(7):1081-93.

74. Nourbakhsh N, Soleimani M, Taghipour Z, Karbalaie K, Mousavi SB, Talebi A, et al. Induced in vitro differentiation of neural-like cells from human exfoliated deciduous teeth-derived stem cells. Int J Dev Biol. 2011;55(2):189-95.

75. Farea M, Husein A, Halim AS, Abdullah NA, Mokhtar KI, Lim CK, et al. Synergistic effects of chitosan scaffold and TGFβ1 on the proliferation and osteogenic differentiation of dental pulp stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth. Arch Oral Biol. 2014;59(12):1400-11.

76. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. PLoS One. 2006;1(1):e79.

77. Yang ZH, Zhang XJ, Dang NN, Ma ZF, Xu L, Wu JJ, et al. Apical tooth germ cell-conditioned medium enhances the differentiation of periodontal ligament stem cells into cementum/periodontal ligament-like tissues. J Periodontal Res. 2009;44(2):199-210.

78. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. J Endod. 2008;34(2):166-71.

79. Sequeira DB, Seabra CM, Palma PJ, Cardoso AL, Peça J, Santos JM. Effects of a New Bioceramic Material on Human Apical Papilla Cells. J Funct Biomater. 2018;9(4):74.

80. Han C, Yang Z, Zhou W, Jin F, Song Y, Wang Y, et al. Periapical Follicle Stem Cell: A Promising Candidate for Cementum/Periodontal Ligament Regeneration and Bio-Root Engineering. Stem Cells and Development. 2010;19(9):1405-15.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

81. Ding G, Wang W, Liu Y, An Y, Zhang C, Shi S, et al. Effect of cryopreservation on biological and immunological properties of stem cells from apical papilla. J Cell Physiol. 2010;223(2):415-22.

82. Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S, et al. Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Gingiva Are Capable of Immunomodulatory Functions and Ameliorate Inflammation-Related Tissue Destruction in Experimental Colitis. J Immunol. 2009;183(12):7787-98.

83. Abe S, Yamaguchi S, Watanabe A, Hamada K, Amagasa T. Hard tissue regeneration capacity of apical pulp derived cells (APDCs) from human tooth with immature apex. Biochem Biophys Res Commun. 2008;371(1):90-3.

84. Abe S, Hamada K, Miura M, Yamaguchi S. Neural crest stem cell property of apical pulp cells derived from human developing tooth. Cell Biol Int. 2012;36(10):927-36.

85. Chen Q, Yuan C, Jiang S, Heng BC, Zou T, Shen Z, et al. Small molecules efficiently reprogram apical papilla stem cells into neuron-like cells. Exp Ther Med. 2021;21(6):546.

86. McGuire MK, Scheyer ET, Nunn ME, Lavin PT. A pilot study to evaluate a tissue-engineered bilayered cell therapy as an alternative to tissue from the palate. J Periodontol. 2008; 79(10): 1847-56.

87. Liu J, Yu F, Sun Y, Jiang B, Zhang W, Yang J, et al. Concise reviews: Characteristics and potential applications of human dental tissue-derived mesenchymal stem cells. Stem Cells. 2015; 33(3) :627-38.

88. Liu Z, Lin Y, Fang X, Yang J, Chen Z. Epigallocatechin-3-Gallate Promotes Osteo-/Odontogenic Differentiation of Stem Cells from the Apical Papilla through Activating the BMP–Smad Signaling Pathway. Molecules. 2021;26(6):1580.

89. Mayo V, Sawatari Y, Huang CYC, Garcia-Godoy F. Neural crest-derived dental stem cells--where we are and where we are going. J Dent. 2014;42(9):1043-51.

90. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. J Bone Miner Res. 2003;18(4):696-704.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

91. Palmer RM, Lubbock MJ. The soft connective tissues of the gingiva and periodontal ligament: are they unique? Oral Dis. 1995;1(4):230-7.

92. Stefańska K, Mehr K, Wieczorkiewicz M, Kulus M, Angelova Volponi A, Shibli JA, et al. Stemness Potency of Human Gingival Cells-Application in Anticancer Therapies and Clinical Trials. Cells. 2020;9(8):1916.

93. Ono-Minagi H, Nohno T, Serizawa T, Usami Y, Sakai T, Okano H, et al. The Germinal Origin of Salivary and Lacrimal Glands and the Contributions of Neural Crest Cell-Derived Epithelium to Tissue Regeneration. Int J Mol Sci. 2023;24(18):13692.

94. Etchevers HC, Dupin E, Le Douarin NM. The diverse neural crest: from embryology to human pathology. Development. 2019;146(5):dev169821.

95. Irwin CR, Picardo M, Ellis I, Sloan P, Grey A, McGurk M, et al. Inter- and intra-site heterogeneity in the expression of fetal-like phenotypic characteristics by gingival fibroblasts: potential significance for wound healing. J Cell Sci. 1994;107 (Pt 5):1333-46.

96. Gardin, C., Ricci, S., Ferroni, L. Dental Stem Cells (DSCs): Classification and Properties. In: Zavan, B., Bressan, E. (eds) Dental Stem Cells: Regenerative Potential. Stem Cell Biology and Regenerative Medicine. Humana Press, Cham. 2016. doi.org/10.1007/978-3-319-33299-4_1

97. Kim D, Lee AE, Xu Q, Zhang Q, Le AD. Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells: Potential Application in Tissue Engineering and Regenerative Medicine - A Comprehensive Review. Front Immunol. 2021;12:667221.

98. Tomar GB, Srivastava RK, Gupta N, Barhanpurkar AP, Pote ST, Jhaveri HM, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells are superior to bone marrow-derived mesenchymal stem cells for cell therapy in regenerative medicine. Biochem Biophys Res Commun. 2010;393(3):377-83.

99. Sun Q, Nakata H, Yamamoto M, Kasugai S, Kuroda S. Comparison of gingiva-derived and bone marrow mesenchymal stem cells for osteogenesis. J Cell Mol Med. 2019;23(11):7592-601.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

100. Yang H, Gao LN, An Y, Hu CH, Jin F, Zhou J, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from gingival tissue and periodontal ligament in different incubation conditions. Biomaterials. 2013;34(29):7033-47.

101. Zhang QZ, Nguyen AL, Yu WH, Le AD. Human oral mucosa and gingiva: a unique reservoir for mesenchymal stem cells. J Dent Res. 2012;91(11):1011-8.

102. Gao X, Cao Z. Gingiva-derived Mesenchymal Stem Cells and Their Potential Applications in Oral and Maxillofacial Diseases. Curr Stem Cell Res Ther. 2020;15(1):43-53.

103. Mitrano TI, Grob MS, Carrión F, Nova-Lamperti E, Luz PA, Fierro FS, et al. Culture and characterization of mesenchymal stem cells from human gingival tissue. J Periodontol. 2010;81(6):917-25.

104. Abdal-Wahab M, Abdel Ghaffar KA, Ezzatt OM, Hassan AAA, El Ansary MMS, Gamal AY. Regenerative potential of cultured gingival fibroblasts in treatment of periodontal intrabony defects (randomized clinical and biochemical trial). J Periodontal Res. 2020;55(3):441-52.

105. Nair PN. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. Periodontol 2000. 1997;13:121-48.

106. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. Crit Rev Oral Biol Med. 2004;15(6):348-81.

107. Stashenko P, Yu SM, Wang CY. Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic infections. J Endod. 1992;18(9):422-6.

108. Silva TA, Garlet GP, Lara VS, Martins W, Silva JS, Cunha FQ. Differential expression of chemokines and chemokine receptors in inflammatory periapical diseases. Oral Microbiol Immunol. 2005;20(5):310-6.

109. Colić M, Lukić A, Vucević D, Milosavljević P, Majstorović I, Marjanović M, et al. Correlation between phenotypic characteristics of mononuclear cells isolated from human periapical lesions and their in vitro production of Th1 and Th2 cytokines. Arch Oral Biol. 2006; 51(12) :1120-30.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

110. Alongi DJ, Yamaza T, Song Y, Fouad AF, Romberg EE, Shi S, et al. Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain tissue regeneration potential. Regen Med. 2010;5(4):617-31.

111. Li Y, Nan X, Zhong TY, Li T, Li A. Treatment of Periodontal Bone Defects with Stem Cells from Inflammatory Dental Pulp Tissues in Miniature Swine. Tissue Eng Regen Med. 2019; 16(2): 191-200.

112. Park JC, Kim JM, Jung IH, Kim JC, Choi SH, Cho KS, et al. Isolation and characterization of human periodontal ligament (PDL) stem cells (PDLSCs) from the inflamed PDL tissue: in vitro and in vivo evaluations. J Clin Periodontol. 2011;38(8):721-31.

113. Dokić J, Tomić S, Cerović S, Todorović V, Rudolf R, Colić M. Characterization and immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells from periapical lesions. J Clin Periodontol. 2012;39(9):807-16.

114. Dokić J, Tomić S, Marković M, Milosavljević P, Colić M. Mesenchymal stem cells from periapical lesions modulate differentiation and functional properties of monocyte-derived dendritic cells. Eur J Immunol. 2013;43(7):1862-72.

115. Sidney LE, Branch MJ, Dunphy SE, Dua HS, Hopkinson A. Concise review: evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. Stem Cells. 2014;32(6):1380-9.

116. Nakano A, Harada T, Morikawa S, Kato Y. Expression of leukocyte common antigen (CD45) on various human leukemia/lymphoma cell lines. Acta Pathol Jpn. 1990;40(2):107-15.

117. Dally J, Khan JS, Voisey A, Charalambous C, John HL, Woods EL, et al. Hepatocyte Growth Factor Mediates Enhanced Wound Healing Responses and Resistance to Transforming Growth Factor-β1-Driven Myofibroblast Differentiation in Oral Mucosal Fibroblasts. Int J Mol Sci. 2017;18(9):1843.

118. Enoch S, Wall I, Peake M, Davies L, Farrier J, Giles P, et al. Increased oral fibroblast lifespan is telomerase-independent. J Dent Res. 2009;88(10):916-21.

119. Presland RB, Dale BA. Epithelial structural proteins of the skin and oral cavity: function in health and disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2000;11(4):383-408.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

120. Davies LC, Locke M, Webb RDJ, Roberts JT, Langley M, Thomas DW, et al. A multipotent neural crest-derived progenitor cell population is resident within the oral mucosa lamina propria. Stem Cells Dev. 2010;19(6):819-30.

121. Vasyliev RG, Rodnichenko AE, Gubar OS, Zlatska AV, Gordiienko IM, Novikova SN, et al. Large-scale expansion and characterization of human adult neural crest-derived multipotent stem cells from hair follicle for regenerative medicine applications. Exp Oncol. 2017;39(3):171-80.

122. Davies LC, Lönnies H, Locke M, Sundberg B, Rosendahl K, Götherström C, et al. Oral Mucosal Progenitor Cells Are Potently Immunosuppressive in a Dose-Independent Manner. Stem Cells Dev. 2012;21(9):1478-87.

123. Yang Y, Knight R, Stephens P, Zhang Y. Three-dimensional culture of oral progenitor cells: Effects on small extracellular vesicles production and proliferative function. J Oral Pathol Med. 2020;49(4):342-9.

124. Stephens P, Genever P. Non-epithelial oral mucosal progenitor cell populations. Oral Dis. 2007;13(1):1-10.

125. Nakamura T. Hepatocyte growth factor as mitogen, motogen and morphogen, and its roles in organ regeneration. Princess Takamatsu Symp. 1994;24:195-213.

126. Kollet O, Shivtiel S, Chen Y, Suriawinata J, Thung S, Dabeva M, et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34 + stem cell recruitment to the liver. Journal of Clinical Investigation. 2003;112(2):160-9.

127. Board-Davies E, Moses R, Sloan A, Stephens P, Davies LC. Oral Mucosal Lamina Propria-Progenitor Cells Exert Antibacterial Properties via the Secretion of Osteoprotegerin and Haptoglobin. Stem Cells Translational Medicine. 2015;4(11):1283-93.

128. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. Transplantation. 1974;17(4):331-40.

129. Fridenshteĭn AI. [Stromal bone marrow cells and the hematopoietic microenvironment]. Arkh Patol. 1982;44(10):3-11.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

130. Chai Y, Jiang X, Ito Y, Bringas P, Han J, Rowitch DH, et al. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. Development. 2000;127(8):1671-9.

131. Noden DM. The role of the neural crest in patterning of avian cranial skeletal, connective, and muscle tissues. Dev Biol. 1983;96(1):144-65.

132. Tan SS, Morriss-Kay G. The development and distribution of the cranial neural crest in the rat embryo. Cell Tissue Res. 1985;240(2):403-16.

133. Bronner-Fraser M. Mechanisms of neural crest cell migration. Bioessays. 1993;15(4):221-30.

134. Matsubara T, Suardita K, Ishii M, Sugiyama M, Igarashi A, Oda R, et al. Alveolar bone marrow as a cell source for regenerative medicine: differences between alveolar and iliac bone marrow stromal cells. J Bone Miner Res. 2005;20(3):399-409.

135. Yamaza T, Ren G, Akiyama K, Chen C, Shi Y, Shi S. Mouse mandible contains distinctive mesenchymal stem cells. J Dent Res. 2011;90(3):317-24.

136. Izadpanah R, Trygg C, Patel B, Kriedt C, Dufour J, Gimble JM, et al. Biologic properties of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. J Cell Biochem. 2006;99(5):1285-97.

137. Lamoury FMJ, Croitoru-Lamoury J, Brew BJ. Undifferentiated mouse mesenchymal stem cells spontaneously express neural and stem cell markers Oct-4 and Rex-1. Cytotherapy. 2006;8(3):228-42.

138. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science. 1997;276(5309):71-4.

139. Dezawa M, Ishikawa H, Itokazu Y, Yoshihara T, Hoshino M, Takeda S ichi, et al. Bone marrow stromal cells generate muscle cells and repair muscle degeneration. Science. 2005;309(5732):314-7.

140. Tanaka Y, Nakayamada S, Okada Y. Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation. Curr Drug Targets Inflamm Allergy. 2005;4(3):325-8.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

141. Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. Cell. 2001;105(3):369-77.

142. Zou L, Zou X, Chen L, Li H, Mygind T, Kassem M, et al. Multilineage differentiation of porcine bone marrow stromal cells associated with specific gene expression pattern. J Orthop Res. 2008;26(1):56-64.

143. Tsutsumi S, Shimazu A, Miyazaki K, Pan H, Koike C, Yoshida E, et al. Retention of multilineage differentiation potential of mesenchymal cells during proliferation in response to FGF. Biochem Biophys Res Commun. 2001;288(2):413-9.

144. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood. 2005;105(4):1815-22.

145. Mason S, Tarle SA, Osibin W, Kinfu Y, Kaigler D. Standardization and safety of alveolar bone-derived stem cell isolation. J Dent Res. 2014;93(1):55-61.

146. Nuñez J, Vignoletti F, Caffesse RG, Sanz M. Cellular therapy in periodontal regeneration. Periodontol 2000. 2019;79(1):107-16.

147. Liu Y, Guo L, Li X, Liu S, Du J, Xu J, et al. Challenges and Tissue Engineering Strategies of Periodontal-Guided Tissue Regeneration. Tissue Eng Part C Methods. 2022;28(8):405-19.

148. Sculean A, Nikolidakis D, Nikou G, Ivanovic A, Chapple ILC, Stavropoulos A. Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review. Periodontol 2000. 2015;68(1):182-216.

149. Bee SL, Hamid ZAA. Asymmetric resorbable-based dental barrier membrane for periodontal guided tissue regeneration and guided bone regeneration: A review. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2022;110(9):2157-82.

150. Takallu S, Mirzaei E, Zakeri Bazmandeh A, Ghaderi Jafarbeigloo HR, Khorshidi H. Addressing Antimicrobial Properties in Guided Tissue/Bone Regeneration Membrane: Enhancing Effectiveness in Periodontitis Treatment. ACS Infect Dis. 2024;10(3):779-807.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

151. Ledesma-Martínez E, Mendoza-Núñez VM, Santiago-Osorio E. Mesenchymal Stem Cells for Periodontal Tissue Regeneration in Elderly Patients. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2019;74(9):1351-8.

152. Deng Y, Li Q, Svoboda KKH, Opperman LA, Ruest LB, Liu X. Gli1+ Periodontal Mesenchymal Stem Cells in Periodontitis. J Dent Res. 2024;103(3):279-88.

153. Wen W, Pang Y, Tian Y, Xu C, Wang J, Wu Y, et al. Osteogenic mesenchymal stem cells/progenitors in the periodontium. Oral Dis. 2024;30(3):914-20.

154. Tobita M, Mizuno H. Adipose-derived stem cells and periodontal tissue engineering. Int J Oral Maxillofac Implants. 2013;28(6):e487-493.

155. Avila-Ortiz G, De Buitrago JG, Reddy MS. Periodontal regeneration - furcation defects: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop. J Periodontol. 2015;86(2 Suppl):S108-130.

156. Schmalz G, Widbiller M, Galler KM. Clinical Perspectives of Pulp Regeneration. J Endod. 2020;46(9S):S161-74.

157. Zhou D, Gan L, Peng Y, Zhou Y, Zhou X, Wan M, et al. Epigenetic Regulation of Dental Pulp Stem Cell Fate. Stem Cells Int. 2020;2020:8876265.

158. Bryniarska-Kubiak N, Basta-Kaim A, Kubiak A. Mechanobiology of Dental Pulp Cells. Cells. 2024;13(5):375.

159. Zhao J, Du W, Guo D, Wang S, Du W. Mechanical Signaling in Dental Pulp Stem Cells. Front Biosci (Landmark Ed). 2023;28(10):274.

160. Alkharobi H. Exploring Various Transfection Approaches and Their Applications in Studying the Regenerative Potential of Dental Pulp Stem Cells. Curr Issues Mol Biol. 2023; 45(12) :10026-40.

161. Sarra G, Machado ME de L, Caballero-Flores HV, Moreira MS, Pedroni ACF, Marques MM. Effect of human dental pulp stem cell conditioned medium in the dentin-pulp complex regeneration: A pilot in vivo study. Tissue Cell. 2021;72:101536.

162. Zanini G, Bertani G, Di Tinco R, Pisciotta A, Bertoni L, Selleri V, et al. Dental Pulp Stem Cells Modulate Inflammasome Pathway and Collagen Deposition of Dermal Fibroblasts. Cells. 2024;13(10):836.

163. Lee HN, Liang C, Liao L, Tian WD. Advances in Research on Stem Cell-Based Pulp Regeneration. Tissue Eng Regen Med. 2021;18(6):931-40.

164. Morsczeck C. Mechanisms during Osteogenic Differentiation in Human Dental Follicle Cells. Int J Mol Sci. 2022;23(11):5945.

165. Bi R, Lyu P, Song Y, Li P, Song D, Cui C, et al. Function of Dental Follicle Progenitor/Stem Cells and Their Potential in Regenerative Medicine: From Mechanisms to Applications. Biomolecules. 2021;11(7):997.

166. Honda M, Ohshima H. Biological characteristics of dental pulp stem cells and their potential use in regenerative medicine. J Oral Biosci. 2022;64(1):26-36.

167. Baker A, Karpagaselvi K, Kumaraswamy J, Ranjini MR, Gowher J. Role of dental pulp in age estimation: A quantitative and morphometric study. J Forensic Dent Sci. 2019;11(2):95-102.

168. Muñoz-Carrillo JL, Vázquez-Alcaraz SJ, Vargas-Barbosa JM, Ramos-Gracia LG, Alvarez-Barreto I, Medina-Quiroz A, et al. The Role of microRNAs in Pulp Inflammation. Cells. 2021; 10(8): 2142.

169. Masuda K, Han X, Kato H, Sato H, Zhang Y, Sun X, et al. Dental Pulp-Derived Mesenchymal Stem Cells for Modeling Genetic Disorders. Int J Mol Sci. 2021;22(5):2269.

170. Rusu MC, Vrapciu AD, Nicolescu MI, Stoenescu MD, Jianu AM, Lighezan R, et al. Extruded Nucleoli of Human Dental Pulp Cells. Medicina (Kaunas). 2022;58(2):260.

171. Jeong SY, Lee S, Choi WH, Jee JH, Kim HR, Yoo J. Fabrication of Dentin-Pulp-Like Organoids Using Dental-Pulp Stem Cells. Cells. 2020;9(3):642.

172. Nireeksha null, Varma SR, Damdoum M, Alsaegh MA, Hegde MN, Kumari SN, et al. Immunomodulatory Expression of Cathelicidins Peptides in Pulp Inflammation and Regeneration: An Update. Curr Issues Mol Biol. 2021;43(1):116-26.

173. Richert R, Ducret M, Alliot-Licht B, Bekhouche M, Gobert S, Farges JC. A critical analysis of research methods and experimental models to study pulpitis. Int Endod J. 2022;55 Suppl 1:14-36.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

174. Ok CY, Park S, Jang HO, Takata T, Bae MK, Kim YD, et al. Visfatin Induces Senescence of Human Dental Pulp Cells. Cells. 2020;9(1):193.

175. Tatullo M, Codispoti B, Paduano F, Nuzzolese M, Makeeva I. Strategic Tools in Regenerative and Translational Dentistry. Int J Mol Sci. 2019;20(8):1879.

176. Uribe-Etxebarria V, Pineda JR, García-Gallastegi P, Agliano A, Unda F, Ibarretxe G. Notch and Wnt Signaling Modulation to Enhance DPSC Stemness and Therapeutic Potential. Int J Mol Sci. 2023;24(8):7389.

177. Lorusso F, Inchingolo F, Dipalma G, Postiglione F, Fulle S, Scarano A. Synthetic Scaffold/Dental Pulp Stem Cell (DPSC) Tissue Engineering Constructs for Bone Defect Treatment: An Animal Studies Literature Review. Int J Mol Sci. 2020;21(24):9765.

178. Kwon SK, Kyeong M, Adasooriya D, Cho SW, Jung IY. Histologic and Electron Microscopic Characterization of a Human Immature Permanent Premolar with Chronic Apical Abscess 16 Years after Regenerative Endodontic Procedures. J Endod. 2023;49(8):1051-7.

179. Samir PV, Mahapatra N, Dutta B, Bagchi A, Dhull KS, Verma RK. A Correlation between Clinical Classification of Dental Pulp and Periapical Diseases with its Patho Physiology and Pain Pathway. Int J Clin Pediatr Dent. 2023;16(4):639-44.

180. McCabe PS, Dummer PMH. Pulp canal obliteration: an endodontic diagnosis and treatment challenge. Int Endod J. 2012;45(2):177-97.

181. Igna A, Mircioagă D, Boariu M, Stratul Ștefan I. A Diagnostic Insight of Dental Pulp Testing Methods in Pediatric Dentistry. Medicina (Kaunas). 2022;58(5):665.

182. Schuh CMAP, Benso B, Aguayo S. Potential Novel Strategies for the Treatment of Dental Pulp-Derived Pain: Pharmacological Approaches and Beyond. Front Pharmacol. 2019;10:1068.

183. Masthoff M, Gerwing M, Masthoff M, Timme M, Kleinheinz J, Berninger M, et al. Dental Imaging - A basic guide for the radiologist. Rofo. 2019;191(3):192-8.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

184. Maqbool M, Syed NH, Rossi-Fedele G, Shatriah I, Noorani TY. MicroRNA and their implications in dental pulp inflammation: current trends and future perspectives. Odontology. 2023; 111 (3):531-40.

185. Wassel M, Hamdy D, Elghazawy R. Evaluation of four vital pulp therapies for primary molars using a dual-cured tricalcium silicate (TheraCal PT): one-year results of a non-randomized clinical trial. J Clin Pediatr Dent. 2023;47(2):10-22.

186. Wang K, Zhou L, Mao H, Liu J, Chen Z, Zhang L. Intercellular mitochondrial transfer alleviates pyroptosis in dental pulp damage. Cell Prolif. 2023;56(9):e13442.

187. EzEldeen M, De Piero MNSP, Xu L, Driesen RB, Wyatt J, Van Gorp G, et al. Multimodal Imaging of Dental Pulp Healing Patterns Following Tooth Autotransplantation and Regenerative Endodontic Treatment. J Endod. 2023;49(8):1058-72.

188. Florimond M, Minic S, Sharpe P, Chaussain C, Renard E, Boukpessi T. Modulators of Wnt Signaling Pathway Implied in Dentin Pulp Complex Engineering: A Literature Review. *Int J Mol Sci*. 2022;23(18):10582.

189. Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine-Pulp Complex and the Periapical Tissues. Int J Mol Sci. 2021;22(3):1480.

190. Glickman GN. AAE Consensus Conference on Diagnostic Terminology: background and perspectives. J Endod. 2009;35(12):1619-20.

191. Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL. Regeneration of periodontal tissue: bone replacement grafts. Dent Clin North Am. 2010;54(1):55-71.

192. Hanes PJ. Bone replacement grafts for the treatment of periodontal intrabony defects. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2007;19(4):499-512, vi.

193. AlGhamdi AS, Shibly O, Ciancio SG. Osseous grafting part I: autografts and allografts for periodontal regeneration--a literature review. J Int Acad Periodontol. 2010;12(2):34-8.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

194. Rosenberg E, Rose LF. Biologic and clinical considerations for autografts and allografts in periodontal regeneration therapy. Dent Clin North Am. 1998;42(3):467-90.

195. Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. Ann Periodontol. 2003;8(1):227-65.

196. Aichelmann-Reidy ME, Yukna RA. Bone replacement grafts. The bone substitutes. Dent Clin North Am. 1998;42(3):491-503.

197. Kao RT, Nares S, Reynolds MA. Periodontal regeneration - intrabony defects: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop. J Periodontol. 2015;86(2 Suppl): S77-104.

198. Murphy KG, Gunsolley JC. Guided tissue regeneration for the treatment of periodontal intrabony and furcation defects. A systematic review. Ann Periodontol. 2003;8(1):266-302.

199. Reynolds MA, Kao RT, Camargo PM, Caton JG, Clem DS, Fiorellini JP, et al. Periodontal regeneration - intrabony defects: a consensus report from the AAP Regeneration Workshop. J Periodontol. 2015;86(2 Suppl):S105-107.

200. Nevins M, Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE. Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. J Periodontol. 2003;74(9):1282-92.

201. Reichert C, Deschner J, Kasaj A, Jäger A. Guided tissue regeneration and orthodontics. A review of the literature. J Orofac Orthop. 2009;70(1):6-19.

202. Ren Y, Fan L, Alkildani S, Liu L, Emmert S, Najman S, et al. Barrier Membranes for Guided Bone Regeneration (GBR): A Focus on Recent Advances in Collagen Membranes. Int J Mol Sci. 2022;23(23):14987.

203. Villar CC, Cochran DL. Regeneration of periodontal tissues: guided tissue regeneration. Dent Clin North Am. 2010;54(1):73-92.

204. Wang HL, Cooke J. Periodontal regeneration techniques for treatment of periodontal diseases. Dent Clin North Am. 2005;49(3):637-59, vii.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

205. Wang HL, Modarressi M, Fu JH. Utilizing collagen membranes for guided tissue regeneration-based root coverage. Periodontol 2000. 2012;59(1):140-57.

206. Liu J, Ruan J, Weir MD, Ren K, Schneider A, Wang P, et al. Periodontal Bone-Ligament-Cementum Regeneration via Scaffolds and Stem Cells. Cells. 2019;8(6):537.

207. Sheikh Z, Qureshi J, Alshahrani AM, Nassar H, Ikeda Y, Glogauer M, et al. Collagen based barrier membranes for periodontal guided bone regeneration applications. Odontology. 2017;105(1):1-12.

208. Raja S, Byakod G, Pudakalkatti P. Growth factors in periodontal regeneration. Int J Dent Hyg. 2009;7(2):82-9.

209. Sood S, Gupta S, Mahendra A. Gene therapy with growth factors for periodontal tissue engineering–A review. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012;17(2):e301-10.

210. Solakoglu Ö, Heydecke G, Amiri N, Anitua E. The use of plasma rich in growth factors (PRGF) in guided tissue regeneration and guided bone regeneration. A review of histological, immunohistochemical, histomorphometrical, radiological and clinical results in humans. Ann Anat. 2020; 231:151528.

211. Smith PC, Martínez C, Cáceres M, Martínez J. Research on growth factors in periodontology. Periodontol 2000. 2015;67(1):234-50.

212. Giannobile WV, Al-Shammari KF, Sarment DP. Matrix molecules and growth factors as indicators of periodontal disease activity. Periodontol 2000. 2003;31:125-34.

213. Chang J, Blanchard SB, Windsor LJ, Gregory RL, Hamada Y. Levels of growth factors from platelet-rich fibrin from chronic periodontitis versus periodontally healthy subjects: a pilot study. Clin Oral Investig. 2020;24(2):823-32.

214. Johnson RB, Serio FG, Dai X. Vascular endothelial growth factors and progression of periodontal diseases. J Periodontol. 1999;70(8):848-52.

215. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. BMJ. 2009;339: b2700.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

216. Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RBM, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. BMC Med Res Methodol. 2014;14:43.

217. Balduzzi S, Rücker G, Schwarzer G. How to perform a meta-analysis with R: a practical tutorial. Evid Based Ment Health. 2019;22(4):153-60.

218. Higgins JPT, Altman DG, Gotzsche PC, Juni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. BMJ. 2011; 343:d5928-d5928.

219. Cipriani A, Higgins JPT, Geddes JR, Salanti G. Conceptual and technical challenges in network meta-analysis. Ann Intern Med. 2013;159(2):130-7.

220. Reken S, Sturtz S, Kiefer C, Böhler YB, Wieseler B. Assumptions of Mixed Treatment Comparisons in Health Technology Assessments - Challenges and Possible Steps for Practical Application. PLoS One. 2016;11(8):e0160712.

221. Salanti G. Indirect and mixed-treatment comparison, network, or multiple-treatments meta-analysis: many names, many benefits, many concerns for the next generation evidence synthesis tool. Res Synth Methods. 2012;3(2):80-97.

222. Antonacci D, Caponio VCA, Troiano G, Pompeo MG, Gianfreda F, Canullo L. Facial scanning technologies in the era of digital workflow: A systematic review and network meta-analysis. J Prosthodont Res. 2023;67(3):321-36.

223. Hutton B, Salanti G, Caldwell DM, Chaimani A, Schmid CH, Cameron C, et al. The PRISMA extension statement for reporting of systematic reviews incorporating network meta-analyses of health care interventions: checklist and explanations. Ann Intern Med. 2015;162(11):777-84.

224. Puhan MA, Schünemann HJ, Murad MH, Li T, Brignardello-Petersen R, Singh JA, et al. A GRADE Working Group approach for rating the quality of treatment effect estimates from network meta-analysis. BMJ. 2014;349:g5630.

225. Chaimani A, Higgins JPT, Mavridis D, Spyridonos P, Salanti G. Graphical tools for network meta-analysis in STATA. PLoS One. 2013;8(10):e76654.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

226. Cairo F, Nieri M, Cincinelli S, Mervelt J, Pagliaro U. The interproximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: an explorative and reliability study. J Clin Periodontol. 2011;38(7):661-6.

227. Higgins JPT, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. Stat Med. 2002;21(11):1539-58.

228. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. BMJ. 1997;315(7109):629-34.

229. Doyle DJ, Hendrix JM, Garmon EH. American Society of Anesthesiologists Classification. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): 2023.

230. Chung VHY, Chen AYL, Kwan CC, Chen PKT, Chang SCN. Mandibular Alveolar Bony Defect Repair Using Bone Morphogenetic Protein 2-Expressing Autologous Mesenchymal Stem Cells: Journal of Craniofacial Surgery. 2011;22(2):450-4.

231. Fawzy El-Sayed KM, Mekhemar MK, Beck-Broichsitter BE, Bähr T, Hegab M, Receveur J, et al. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells in conjunction with IL-1ra-hydrogel synthetic extracellular matrix. J Clin Periodontol. 2015;42(5):448-57.

232. Han J, Menicanin D, Marino V, Ge S, Mrozik K, Gronthos S, et al. Assessment of the regenerative potential of allogeneic periodontal ligament stem cells in a rodent periodontal defect model. J Periodont Res. 2014;49(3):333-45.

233. Duan X, Tu Q, Zhang J, Ye J, Sommer C, Mostoslavsky G, et al. Application of induced pluripotent stem (iPS) cells in periodontal tissue regeneration. J Cell Physiol. 2011; 226(1):150-7.

234. Suaid FF, Ribeiro FV, Rodrigues TL, Silvério KG, Carvalho MD, Nociti FH, et al. Autologous periodontal ligament cells in the treatment of class II furcation defects: a study in dogs. J Clin Periodontol. 2011;38(5):491-8.

235. Nuñez J, Sanz-Blasco S, Vignoletti F, Muñoz F, Arzate H, Villalobos C, et al. Periodontal regeneration following implantation of cementum and periodontal ligament-derived cells. J Periodontal Res. 2012;47(1):33-44.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

236. Simsek SB, Keles GC, Barıs S, Cetinkaya BO. Comparison of mesenchymal stem cells and autogenous cortical bone graft in the treatment of class II furcation defects in dogs. Clin Oral Invest. 2012;16(1):251-8.

237. Suaid FF, Ribeiro FV, Gomes TRLES, Silvério KG, Carvalho MD, Nociti FH, et al. Autologous periodontal ligament cells in the treatment of class III furcation defects: a study in dogs. J Clin Periodontol. 2012;39(4):377-84.

238. Zhou W, Mei L. Effect of autologous bone marrow stromal cells transduced with osteoprotegerin on periodontal bone regeneration in canine periodontal window defects. Int J Periodontics Restorative Dent. 2012;32(5):e174-181.

239. Khorsand A, Eslaminejad MB, Arabsolghar M, Paknejad M, Ghaedi B, Rokn AR, et al. Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue. J Oral Implantol. 2013;39(4):433-43.

240. Tobita M, Uysal CA, Guo X, Hyakusoku H, Mizuno H. Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. Cytotherapy. 2013;15(12):1517-26.

241. Yu X, Ge S, Chen S, Xu Q, Zhang J, Guo H, et al. Human Gingiva-Derived Mesenchymal Stromal Cells Contribute to Periodontal Regeneration in Beagle Dogs. Cells Tissues Organs. 2013;198(6):428-37.

242. Iwasaki K, Komaki M, Yokoyama N, Tanaka Y, Taki A, Honda I, et al. Periodontal regeneration using periodontal ligament stem cell-transferred amnion. Tissue Eng Part A. 2014;20(3-4):693-704.

243. Cai X, Yang F, Yan X, Yang W, Yu N, Oortgiesen DAW, et al. Influence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells pre-implantation differentiation approach on periodontal regeneration in vivo. Journal of Clinical Periodontology. 2015;42(4):380-9.

244. Nagahara T, Yoshimatsu S, Shiba H, Kawaguchi H, Takeda K, Iwata T, et al. Introduction of a mixture of β-tricalcium phosphate into a complex of bone marrow mesenchymal stem cells and type I collagen can augment the volume of alveolar bone without impairing cementum regeneration. J Periodontol. 2015;86(3):456-64.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

245. Paknejad M, Eslaminejad MB, Ghaedi B, Rokn AR, Khorsand A, Etemad-Moghadam S, et al. Isolation and Assessment of Mesenchymal Stem Cells Derived From Bone Marrow: Histologic and Histomorphometric Study in a Canine Periodontal Defect. J Oral Implantol. 2015; 41(3):284-91.

246. Zhang C, Yan B, Cui Z, Cui S, Zhang T, Wang X, et al. Bone regeneration in minipigs by intrafibrillarly-mineralized collagen loaded with autologous periodontal ligament stem cells. Sci Rep. 2017;7:10519.

247. Sharma A, Pradeep A r. Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Patients With Chronic Periodontitis With Autologous Platelet-Rich Fibrin: A Randomized Controlled Clinical Trial. Journal of Periodontology. 2011;82(12):1705-12.

248. Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. Journal of Clinical Periodontology. 2011;38(10):925-32.

249. Joseph V R, Sam G, Amol NV. Clinical evaluation of autologous platelet rich fibrin in horizontal alveolar bony defects. J Clin Diagn Res. 2014;8(11):ZC43-47.

250. Ajwani H, Shetty S, Gopalakrishnan D, Kathariya R, Kulloli A, Dolas RS, et al. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin biomaterial and open flap debridement in the treatment of two and three wall intrabony defects. J Int Oral Health. 2015;7(4):32-7.

251. Bajaj P, Agarwal E, Rao NS, Naik SB, Pradeep AR, Kalra N, et al. Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Aggressive Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. J Periodontol. 2017;88(11):1186-91.

252. Patel GK, Gaekwad SS, Gujjari SK, S C VK. Platelet-Rich Fibrin in Regeneration of Intrabony Defects: A Randomized Controlled Trial. J Periodontol. 2017;88(11):1192-9.

253. Pradeep AR, Bajaj P, Rao NS, Agarwal E, Naik SB. Platelet-Rich Fibrin Combined With a Porous Hydroxyapatite Graft for the Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. J Periodontol. 2017;88(12):1288-96.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

254. Thorat M, Baghele ON, S RP. Adjunctive Effect of Autologous Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Intrabony Defects in Localized Aggressive Periodontitis Patients: A Randomized Controlled Split-Mouth Clinical Trial. Int J Periodontics Restorative Dent. 2017;37(6):e302-9.

255. Mathur A, Bains VK, Gupta V, Jhingran R, Singh GP. Evaluation of intrabony defects treated with platelet-rich fibrin or autogenous bone graft: A comparative analysis. Eur J Dent. 2015;09(01):100-8.

256. Shah M, Patel J, Dave D, Shah S. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin with demineralized freeze-dried bone allograft in periodontal infrabony defects: A randomized controlled clinical study. J Indian Soc Periodontol. 2015;19(1):56-60.

257. Chadwick JK, Mills MP, Mealey BL. Clinical and Radiographic Evaluation of Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft Versus Platelet-Rich Fibrin for the Treatment of Periodontal Intrabony Defects in Humans. J Periodontol. 2016;87(11):1253-60.

258. Galav S, Chandrashekar KT, Mishra R, Tripathi V, Agarwal R, Galav A. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin and autogenous bone graft for the treatment of infrabony defects in chronic periodontitis: Clinical, radiological, and surgical reentry. Indian Journal of Dental Research. 2016;27(5):502.

259. Yajamanya SR, Chatterjee A, Hussain A, Coutinho A, Das S, Subbaiah S. Bioactive glass versus autologous platelet-rich fibrin for treating periodontal intrabony defects: A comparative clinical study. J Indian Soc Periodontol. 2017;21(1):32-6.

260. Bansal C, Bharti V. Evaluation of efficacy of autologous platelet-rich fibrin with demineralized-freeze dried bone allograft in the treatment of periodontal intrabony defects. J Indian Soc Periodontol. 2013;17(3):361-6.

261. Elgendy EA, Abo Shady TE. Clinical and radiographic evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite with or without platelet-rich fibrin membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. J Indian Soc Periodontol. 2015;19(1):61-5.

262. Agarwal A, Gupta ND, Jain A. Platelet rich fibrin combined with decalcified freeze-dried bone allograft for the treatment of human intrabony periodontal defects: a randomized split mouth clinical trail. Acta Odontol Scand. 2016;74(1):36-43.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

263. Naqvi A, Gopalakrishnan D, Bhasin MT, Sharma N, Haider K, Martande S. Comparative Evaluation of Bioactive Glass Putty and Platelet Rich Fibrin in the Treatment of Human Periodontal Intrabony Defects: A Randomized Control Trial. J Clin Diagn Res. 2017;11(7):ZC09-ZC13.

264. Sezgin Y, Uraz A, Taner IL, Çulhaoğlu R. Effects of platelet-rich fibrin on healing of intra-bony defects treated with anorganic bovine bone mineral. Braz Oral Res. 2017;31:e15.

265. Liu K, Huang Z, Chen Z, Han B, Ouyang X. Treatment of periodontal intrabony defects using bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration with/without platelet-rich fibrin: A randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2021;92(11):1546-53.

266. Paolantonio M, Di Tullio M, Giraudi M, Romano L, Secondi L, Paolantonio G, et al. Periodontal regeneration by leukocyte and platelet-rich fibrin with autogenous bone graft versus enamel matrix derivative with autogenous bone graft in the treatment of periodontal intrabony defects: A randomized non-inferiority trial. J Periodontol. 2020;91(12):1595-608.

267. Bodhare GH, Kolte AP, Kolte RA, Shirke PY. Clinical and radiographic evaluation and comparison of bioactive bone alloplast morsels when used alone and in combination with platelet-rich fibrin in the treatment of periodontal intrabony defects—A randomized controlled trial. J Periodontol. 2019;90(6):584-94.

268. Pham TAV. INTRABONY DEFECT TREATMENT WITH PLATELET-RICH FIBRIN, GUIDED TISSUE REGENERATION AND OPEN-FLAP DEBRIDEMENT: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL. Journal of Evidence Based Dental Practice. 2021;21(3):101545.

269. Ustaoğlu G, Uğur Aydin Z, Özelçi F. Comparison of GTR, T-PRF and open-flap debridement in the treatment of intrabony defects with endo-perio lesions: a randomized controlled trial. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2020;25(1):e117-23.

270. Panda S, Sankari M, Satpathy A, Jayakumar D, Mozzati M, Mortellaro C, et al. Adjunctive Effect of Autologus Platelet-Rich Fibrin to Barrier Membrane in the Treatment of Periodontal Intrabony Defects. Journal of Craniofacial Surgery. 2016;27(3):691.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

271. Pradeep AR, Rao NS, Agarwal E, Bajaj P, Kumari M, Naik SB. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2012;83(12):1499-507.

272. Gupta SJ, Jhingran R, Gupta V, Bains VK, Madan R, Rizvi I. Efficacy of platelet-rich fibrin vs. enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a clinical and cone beam computed tomography study. J Int Acad Periodontol. 2014;16(3):86-96.

273. Csifó-Nagy BK, Sólyom E, Bognár VL, Nevelits A, Dőri F. Efficacy of a new-generation platelet-rich fibrin in the treatment of periodontal intrabony defects: a randomized clinical trial. BMC Oral Health. 2021;21(1):580.

274. Aydemir Turkal H, Demirer S, Dolgun A, Keceli HG. Evaluation of the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. Six-month results of a randomized, split-mouth, controlled clinical study. J Clin Periodontol. 2016;43(11):955-64.

275. Pradeep AR, Nagpal K, Karvekar S, Patnaik K, Naik SB, Guruprasad CN. Platelet-rich fibrin with 1% metformin for the treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2015;86(6):729-37.

276. Kanoriya D, Pradeep AR, Singhal S, Garg V, Guruprasad CN. Synergistic Approach Using Platelet-Rich Fibrin and 1% Alendronate for Intrabony Defect Treatment in Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. J Periodontol. 2016;87(12):1427-35.

277. Martande SS, Kumari M, Pradeep AR, Singh SP, Suke DK, Guruprasad CN. Platelet-Rich Fibrin Combined With 1.2% Atorvastatin for Treatment of Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. J Periodontol. 2016;87(9):1039-46.

278. Pradeep A r., Garg V, Kanoriya D, Singhal S. Platelet-Rich Fibrin With 1.2% Rosuvastatin for Treatment of Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. Journal of Periodontology. 2016;87(12):1468-73.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

279. Bakhishov H, Isler SC, Bozyel B, Yıldırım B, Tekindal MA, Ozdemir B. De-epithelialized gingival graft versus subepithelial connective tissue graft in the treatment of multiple adjacent gingival recessions using the tunnel technique: 1-year results of a randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2021;48(7):970-83.

280. Santamaria MP, Neves FL da S, Silveira CA, Mathias IF, Fernandes-Dias SB, Jardini MAN, et al. Connective tissue graft and tunnel or trapezoidal flap for the treatment of single maxillary gingival recessions: a randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2017;44(5):540-7.

281. Aroca S, Molnár B, Windisch P, Gera I, Salvi GE, Nikolidakis D, et al. Treatment of multiple adjacent Miller class I and II gingival recessions with a Modified Coronally Advanced Tunnel (MCAT) technique and a collagen matrix or palatal connective tissue graft: a randomized, controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2013;40(7):713-20.

282. Ozenci I, Ipci SD, Cakar G, Yilmaz S. Tunnel technique versus coronally advanced flap with acellular dermal matrix graft in the treatment of multiple gingival recessions. J Clin Periodontol. 2015;42(12):1135-42.

283. Rebele SF, Zuhr O, Schneider D, Jung RE, Hürzeler MB. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivative for root coverage: a RCT using 3D digital measuring methods. Part II. Volumetric studies on healing dynamics and gingival dimensions. J Clin Periodontol. 2014;41(6):593-603.

284. Bherwani C, Kulloli A, Kathariya R, Shetty S, Agrawal P, Gujar D, et al. Zucchelli's technique or tunnel technique with subepithelial connective tissue graft for treatment of multiple gingival recessions. J Int Acad Periodontol. 2014;16(2):34-42.

285. Azaripour A, Kissinger M, Farina VSL, Van Noorden CJF, Gerhold-Ay A, Willershausen B, et al. Root coverage with connective tissue graft associated with coronally advanced flap or tunnel technique: a randomized, double-blind, mono-centre clinical trial. J Clin Periodontol. 2016;43 (12):1142-50.

286. Bednarz W, Żurek J, Gedrange T, Dominiak M. A Preliminary Clinical Comparison of the Use of Fascia Lata Allograft and Autogenous Connective Tissue Graft in Multiple

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Gingival Recession Coverage Based on the Tunnel Technique. Adv Clin Exp Med. 2016;25(3):587-98.

287. Cieślik-Wegemund M, Wierucka-Młynarczyk B, Tanasiewicz M, Gilowski Ł. Tunnel Technique With Collagen Matrix Compared With Connective Tissue Graft for Treatment of Periodontal Recession: A Randomized Clinical Trial. J Periodontol. 2016;87(12):1436-43.

288. Rakasevic DL, Milinkovic IZ, Jankovic SM, Soldatovic IA, Aleksic ZM, Nikolic-Jakoba NS. The use of collagen porcine dermal matrix and connective tissue graft with modified coronally advanced tunnel technique in the treatment of multiple adjacent type I gingival recessions: A randomized, controlled clinical trial. J Esthet Restor Dent. 2020;32(7):681-90.

289. Górski B, Górska R, Wysokińska-Miszczuk J, Kaczyński T. Tunnel technique with enamel matrix derivative in addition to subepithelial connective tissue graft compared with connective tissue graft alone for the treatment of multiple gingival recessions: a randomized clinical trial. Clin Oral Investig. 2020;24(12):4475-86.

290. Tavelli L, Barootchi S, Di Gianfilippo R, Modarressi M, Cairo F, Rasperini G, et al. Acellular dermal matrix and coronally advanced flap or tunnel technique in the treatment of multiple adjacent gingival recessions. A 12-year follow-up from a randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2019;46(9):937-48.

291. Korkmaz B, Balli U. Clinical evaluation of the treatment of multiple gingival recessions with connective tissue graft or concentrated growth factor using tunnel technique: a randomized controlled clinical trial. Clin Oral Investig. 2021;25(11):6347-56.

292. Zuhr O, Rebele SF, Vach K, Petsos H, Hürzeler MB, Research Group for Oral Soft Tissue Biology & Wound Healing. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivate for root coverage: 2-year results of an RCT using 3D digital measuring for volumetric comparison of gingival dimensions. J Clin Periodontol. 2020;47 (9): 1144-58.

293. Uzun BC, Ercan E, Tunalı M. Effectiveness and predictability of titanium-prepared platelet-rich fibrin for the management of multiple gingival recessions. Clin Oral Investig. 2018;22(3):1345-54.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

294. Stähli A, Imber JC, Raptis E, Salvi GE, Eick S, Sculean A. Effect of enamel matrix derivative on wound healing following gingival recession coverage using the modified coronally advanced tunnel and subepithelial connective tissue graft: a randomised, controlled, clinical study. Clin Oral Investig. 2020;24(2):1043-51.

295. Parween S, George JP, Prabhuji M. Treatment of Multiple Mandibular Gingival Recession Defects Using MCAT Technique and SCTG With and Without rhPDGF-BB: A Randomized Controlled Clinical Trial. Int J Periodontics Restorative Dent. 2020;40(2):e43-51.

296. Zuhr O, Akakpo D, Eickholz P, Vach K, Hürzeler MB, Petsos H, et al. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivate for root coverage: 5-year results of an RCT using 3D digital measurement technology for volumetric comparison of soft tissue changes. J Clin Periodontol. 2021;48(7):949-61.

297. Sculean A, Cosgarea R, Stähli A, Katsaros C, Arweiler NB, Brecx M, et al. The modified coronally advanced tunnel combined with an enamel matrix derivative and subepithelial connective tissue graft for the treatment of isolated mandibular Miller Class I and II gingival recessions: a report of 16 cases. Quintessence Int. 2014;45(10):829-35.

298. Chaparro A, De la Fuente M, Albers D, Hernandez D, Villalobos AM, Gaedechens D, et al. Root Coverage of Multiple Miller Class I and II Recession Defects Using Acellular Dermal Matrix and Tunneling Technique in Maxilla and Mandible: A 1-Year Report. Int J Periodontics Restorative Dent. 2015;35(5):639-45.

299. Vincent-Bugnas S, Charbit Y, Lamure J, Mahler P, Dard MM. Modified Tunnel Technique Combined with Enamel Matrix Derivative: A Minimally Invasive Treatment for Single or Multiple Class I Recession Defects. J Esthet Restor Dent. 2015;27(3):145-54.

300. Cosgarea R, Juncar R, Arweiler N, Lascu L, Sculean A. Clinical evaluation of a porcine acellular dermal matrix for the treatment of multiple adjacent class I, II, and III gingival recessions using the modified coronally advanced tunnel technique. Quintessence Int. 2016;47(9):739-47.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

301. Nart J, Valles C. Subepithelial Connective Tissue Graft in Combination with a Tunnel Technique for the Treatment of Miller Class II and III Gingival Recessions in Mandibular Incisors: Clinical and Esthetic Results. Int J Periodontics Restorative Dent. 2016;36(4):591-8.

302. Sculean A, Cosgarea R, Stähli A, Katsaros C, Arweiler NB, Miron RJ, et al. Treatment of multiple adjacent maxillary Miller Class I, II, and III gingival recessions with the modified coronally advanced tunnel, enamel matrix derivative, and subepithelial connective tissue graft: A report of 12 cases. Quintessence Int. 2016;47(8):653-9.

303. Thalmair T, Fickl S, Wachtel H. Coverage of Multiple Mandibular Gingival Recessions Using Tunnel Technique with Connective Tissue Graft: A Prospective Case Series. Int J Periodontics Restorative Dent. 2016;36(6):859-67.

304. Vincent-Bugnas S, Borie G, Charbit Y. Treatment of multiple maxillary adjacent class I and II gingival recessions with modified coronally advanced tunnel and a new xenogeneic acellular dermal matrix. J Esthet Restor Dent. 2018;30(2):89-95.

305. Tassi SA, Sergio NZ, Misawa MYO, Villar CC. Efficacy of stem cells on periodontal regeneration: Systematic review of pre-clinical studies. J Periodont Res. 2017;52(5):793-812.

306. Yan XZ, Yang F, Jansen JA, de Vries RBM, van den Beucken JJJP. Cell-Based Approaches in Periodontal Regeneration: A Systematic Review and Meta-Analysis of Periodontal Defect Models in Animal Experimental Work. Tissue Eng Part B Rev. 2015;21(5):411-26.

307. Wikesjö UM, Sorensen RG, Wozney JM. Augmentation of alveolar bone and dental implant osseointegration: clinical implications of studies with rhBMP-2. J Bone Joint Surg Am. 2001;83-A Suppl 1(Pt 2):S136-145.

308. Xie J, Peng C, Zhao Q, Wang X, Yuan H, Yang L, et al. Osteogenic differentiation and bone regeneration of iPSC-MSCs supported by a biomimetic nanofibrous scaffold. Acta Biomater. 2016; 29:365-79.

309. Tang M, Chen W, Liu J, Weir MD, Cheng L, Xu HHK. Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cell Seeding on Calcium Phosphate Scaffold for Bone Regeneration. Tissue Engineering Part A. 2014;20(7-8):1295-305.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

310. Harris CT, Cooper LF. Comparison of bone graft matrices for human mesenchymal stem cell-directed osteogenesis. J Biomed Mater Res A. 2004;68(4):747-55.

311. Lee YM, Seol YJ, Lim YT, Kim S, Han SB, Rhyu IC, et al. Tissue-engineered growth of bone by marrow cell transplantation using porous calcium metaphosphate matrices. J Biomed Mater Res. 2001;54(2):216-23.

312. Dangaria SJ, Ito Y, Luan X, Diekwisch TGH. Successful periodontal ligament regeneration by periodontal progenitor preseeding on natural tooth root surfaces. Stem Cells Dev. 2011; 20 (10):1659-68.

313. Bright R, Hynes K, Gronthos S, Bartold PM. Periodontal ligament-derived cells for periodontal regeneration in animal models: a systematic review. J Periodontal Res. 2015;50(2):160-72.

314. Abad CE, Sanz-Sanchez I, Serrano V, Sanz Esporrin J, Sanz-Martin I, Sanz M. Efficacy of the application of leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) on alveolar ridge preservation. A randomized controlled clinical trial. Clin Implant Dent Relat Res. 2023;25(3):592-604.

315. Atieh MA, Alsabeeha NH, Payne AG, Ali S, Faggion CMJ, Esposito M. Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development. Cochrane Database Syst Rev. 2021;4(4):CD010176.

316. Caponio VCA, Baca-González L, González-Serrano J, Torres J, López-Pintor RM. Effect of the use of platelet concentrates on new bone formation in alveolar ridge preservation: a systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis. Clin Oral Investig. 2023; 27(8) :4131-46.

317. Pradeep AR, Bajaj P, Rao NS, Agarwal E, Naik SB. Platelet-Rich Fibrin Combined With a Porous Hydroxyapatite Graft for the Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. J Periodontol. 2017;88(12):1288-96.

318. Barootchi S, Tavelli L. Tunneled coronally advanced flap for the treatment of isolated gingival recessions with deficient papilla. Int J Esthet Dent. 2022;17(1):14-26.

319. Mayta-Tovalino F, Barboza JJ, Pasupuleti V, Hernandez AV. Efficacy of Tunnel Technique (TUN) versus Coronally Advanced Flap (CAF) in the Management of

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Multiple Gingival Recession Defects: A Meta-Analysis. Int J Dent. 2023;2023:8671484.

320. Taşlı PN, Tapşın S, Demirel S, Yalvaç ME, Akyuz S, Yarat A, et al. Isolation and Characterization of Dental Pulp Stem Cells from a Patient with Papillon–Lefèvre Syndrome. Journal of Endodontics. 2013;39(1):31-8.

321. Raoof M, Yaghoobi MM, Derakhshani A, Kamal-abadi AM, Ebrahimi B, Abbasnejad M, et al. A modified efficient method for dental pulp stem cell isolation. Dent Res J (Isfahan). 2014; 11(2) :244-50.

322. Ferrúa CP, Centeno EGZ, Rosa LC da, Amaral CC do, Severo RF, Sarkis-Onofre R, et al. How has dental pulp stem cells isolation been conducted? A scoping review. Braz oral res. 2017 ;31(0).

323. Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, Stukart-Parsons GC, Gomes Massironi SM, Pereira LV, et al. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. Cells Tissues Organs. 2006;184(3-4):105-16.

324. Asgary S, Nazarian H, Khojasteh A, Shokouhinejad N. Gene expression and cytokine release during odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells induced by 2 endodontic biomaterials. J Endod. 2014;40(3):387-92.

325. Ebrahimi Dastgurdi M, Ejeian F, Nematollahi M, Motaghi A, Nasr-Esfahani MH. Comparison of two digestion strategies on characteristics and differentiation potential of human dental pulp stem cells. Archives of Oral Biology. 2018;93:74-9.

326. Varghese DS, Parween S, Ardah MT, Emerald BS, Ansari SA. Effects of Aminoglycoside Antibiotics on Human Embryonic Stem Cell Viability during Differentiation In Vitro. Stem Cells International. 2017;2017:e2451927.

327. Llobet L, Montoya J, López-Gallardo E, Ruiz-Pesini E. Side Effects of Culture Media Antibiotics on Cell Differentiation. Tissue Engineering Part C: Methods. 2015;21(11):1143-7.

328. Fischer AB. Gentamicin as a bactericidal antibiotic in tissue culture. Med Microbiol Immunol. 1975;161(1):23-39.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

329. Antonowicz-Juchniewicz J, Jodkowska A, Kwiecińska D. [Secondary nephropathies in occupational health practice. II. Kidney disorders induced by drug and contrast media]. Med Pr. 2006;57(5):455-68.

330. Chudzik B, Czernel G, Miaskowski A, Gagoś M. Amphotericin B-copper(II) complex shows improved therapeutic index in vitro. Eur J Pharm Sci. 2017;97:9-21.

331. Chudzik B, Tracz IB, Czernel G, Fiołka MJ, Borsuk G, Gagoś M. Amphotericin B-copper(II) complex as a potential agent with higher antifungal activity against Candida albicans. Eur J Pharm Sci. 2013;49(5):850-7.

332. Utumi PH, Fracaro L, Fragoso FYI, Miyasaki DM, dos Santos PJ, Boldrini-Leite LM, et al. Cytotoxicity of fluconazole on canine dental pulp-derived stem cells. J Oral Biol Craniofac Res. 2020;10(4):361-8.

333. Skubis A, Gola J, Sikora B, Hybiak J, Paul-Samojedny M, Mazurek U, et al. Impact of Antibiotics on the Proliferation and Differentiation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. Int J Mol Sci. 2017;18(12):2522.

334. van der Valk J, Bieback K, Buta C, Cochrane B, Dirks WG, Fu J, et al. Fetal Bovine Serum (FBS): Past - Present - Future. ALTEX. 2018;35(1):99-118.

335. Ferro F, Spelat R, Beltrami AP, Cesselli D, Curcio F. Isolation and characterization of human dental pulp derived stem cells by using media containing low human serum percentage as clinical grade substitutes for bovine serum. PLoS One. 2012;7(11):e48945.

336. Eubanks EJ, Tarle SA, Kaigler D. Tooth Storage, Dental Pulp Stem Cell Isolation, and Clinical Scale Expansion without Animal Serum. Journal of Endodontics. 2014;40(5):652-7.

337. Piva E, Tarlé SA, Nör JE, Zou D, Hatfield E, Guinn T, et al. Dental Pulp Tissue Regeneration Using Dental Pulp Stem Cells Isolated and Expanded in Human Serum. Journal of Endodontics. 2017;43(4):568-74.

338. Alsulaimani RS, Ajlan SA, Aldahmash AM, Alnabaheen MS, Ashri NY. Isolation of dental pulp stem cells from a single donor and characterization of their ability to differentiate after 2 years of cryopreservation. Saudi Medical Journal. 2016;37(5):551-60.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

339. Lee HS, Jeon MJ, Kim SO, Kim SH, Lee JH, Ahn SJ, et al. Characteristics of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) from intact cryopreserved deciduous teeth. Cryobiology. 2015;71(3):374-83.

340. Huynh NCN, Le SH, Doan VN, Ngo LTQ, Tran HLB. Simplified conditions for storing and cryopreservation of dental pulp stem cells. Archives of Oral Biology. 2017;84:74-81.

341. Ji EH, Song JS, Kim SO, Jeon M, Choi BJ, Lee JH. Viability of pulp stromal cells in cryopreserved deciduous teeth. Cell Tissue Bank. 2014;15(1):67-74.

342. Averill-Bates DA. The antioxidant glutathione. Vitam Horm. 2023;121:109-41.

343. Cho GH, Bae HC, Cho WY, Jeong EM, Park HJ, Yang HR, et al. High-glutathione mesenchymal stem cells isolated using the FreSHtracer probe enhance cartilage regeneration in a rabbit chondral defect model. Biomaterials Research. 2023;27(1):54.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

9. ÍNDICE DE FIGURAS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

9. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferenciación de Células Madre Mesenquimales Humanas. Imagen tomada de Deans, R J, and A B Moseley 33

Figura 2. Tipos de células madre, imagen tomada de Jie Zhao et al 33

Figura 3. Multipotencia de las PDLSCs, imagen tomada de Atsushi Tomokiyo et al 36

Figura 4. Diferenciación celular de la SHED, imagen tomada de Farea, Manal et al 37

Figura 5 Aislamiento y caracterización de células madre mesenquimales derivadas de tejidos gingivales de origen de la cresta neural. Imagen tomada de Kim D et al 40

Figura 6. Tipos de lesiones de periodontitis apical. Histopatológicamente, las lesiones de periodontitis apical pueden clasificarse en absceso (AB; a, b), granuloma (GR; c, d) y quiste (e, f). Dependiendo de la presencia o ausencia de epitelio (EP), los dos primeros se subdividen en lesiones epitelizadas (b, d) y no epitelizadas (a, c). Los quistes pueden diferenciarse en quistes periapicales verdaderos (e) con un lumen (LU) completamente cerrado y quistes periapicales de bolsillo (f) con cavidades (LU) abiertas al conducto radicular (RC). Las áreas delimitadas en b, d y f están ampliadas en la Fig. 7a, 11b y 12b respectivamente. D, dentina. Ampliación: a-c, e: x15; d: x23; f: x2. Imagen tomada de Nair, P N R 41

Figura 7. Capacidad de diferenciación multi-linaje de OMSCs de ratón. Imagen tomada de Yamaza et al 43

Figura 8. Células madre de la pulpa dental. Imagen tomada de Imagen tomada de Honda, Masaki, and Hayato Ohshima. 46

Figura 9. Diagrama de flujo PRISMA. Síntesis del análisis bibliográfico 81

Figura 10. Forest plot y datos del metaanálisis para la regeneración en cemento nuevo. 85

Figura 11. Gráfico en embudo para la regeneración en cemento nuevo 86

USC DE COMPOSTELA

Figura 12. Forest plot y datos del metaanálisis para la regeneración en hueso alveolar 87

Figura 13. Gráfico en embudo para la regeneración en hueso alveolar. 88

Figura 14. Diagrama de flujo PRISMA. Síntesis del análisis bibliográfico 89

Figura 15. Gráfico de bosque para análisis de PD 93

Figura 16. Gráfico de embudo para análisis de grupos de PD. 94

Figura 17. Gráfico de bosque para análisis de grupos CAL 96

Figura 18. Gráfico de embudo para análisis de grupos CAL 97

Figura 19. Gráfico de bosque para el análisis del grupo óseo 99

Figura 20. Gráfico de embudo para el análisis del grupo óseo 100

Figura 21. Gráfico de geometría de red para análisis de grupos de PD y Gráfico de bosque de red para análisis de grupos de PD. A La mayoría de las comparaciones tuvieron un riesgo de sesgo bajo; sin embargo, la principal, PRF versus coágulos sanguíneos presentó un sesgo moderado; B La inconsistencia general resultó en ausencia a nivel global (valor p = 0,558) y local (valor p entre 0,139 y 0,997. Las letras corresponden a: A = ROSU1,2% + PRF; B = BF1% + PRF; C = MF1% + PRF; D = Relleno óseo + PRF; E = 1,2% ATV + PRF; F = EMD + PRF; H = PRF + HA; J = BM; L = MF1%; O = PRP; P = BF; Q = ATV; U = Coágulo de sangre: PRF: Fibrina rica en plaquetas; HA: Hidroxiapatita; Membrana de barrera; plasma rico en plaquetas; BF: relleno óseo; MF: metformina; ROSU = rosuvastina = ATV: atorvastatina 102

Figura 22. Valores detallados de SUCRA y el rango medio 104

Figura 23. Gráfico de geometría de red para análisis de grupos CAL y Gráfico de bosque de red para análisis de grupos CAL. A La mayoría de las comparaciones tuvieron un riesgo de sesgo bajo; sin embargo, la principal, PRF versus coágulos sanguíneos presentó un sesgo moderado; B La inconsistencia general resultó en ausencia a nivel global (valor p = 0,567) y local (valor p entre 0,102 y 0,996. Las letras corresponden a: A = Relleno óseo + PRF; B = BF1% + PRF; C = MF1 % + PRF; D = 1,2%ROSU + PRF; E = EMD + PRF; F = 1,2%ATV + PRF; = BM; O = MF1%; P = ATV; Q = BF; U = Coágulo de sangre: PRF: Fibrina rica en plaquetas; BM: Membrana de barrera; Plasma rico en plaquetas; BF: relleno óseo; MF: metformina; ROSU = rosuvastina = atorvastatina. 105

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 24. Valores detallados de SUCRA y el rango medio 107

Figura 25. Gráfico de geometría de red para análisis de grupo RBF y Gráfico de bosque de red para análisis de grupo RBF. A La mayoría de las comparaciones tuvieron un riesgo de sesgo bajo; sin embargo, la principal, PRF versus coágulos sanguíneos presentó un sesgo moderado; (B) La inconsistencia general resultó en el presente a nivel global (valor de p = 0,006), mientras que, a nivel local, solo los coágulos de sangre versus BM y PRF versus BM produjeron inconsistencia local (valores de p 0,012 y 0,033 respectivamente). Las letras corresponden a: A = PRF + HA; B = MF1% + PRF; C = Relleno óseo + PRF; D = MF1%; E = BF1%PRF; F = MO; G = 1,2%ATV + PRF; I = DME; J = DME + PRF; K = PRF; L = Relleno óseo; O = Coágulo de sangre; P = BF; Q = ATV; U = PRP. La sigla corresponde a: PRF: Fibrina Rica en Plaquetas; HA: Hidroxiapatita; BM: Membrana Barrera; EMD: Derivado de la Matriz del Esmalte; PRP: Plasma Rico en Plaquetas; BF: Relleno Óseo; MF: metformina; ROSU = Rosuvastina; ATV = Atorvastatina 108

Figura 26. Valores detallados de SUCRA y el rango medio 110

Figura 27. Diagrama de flujo de estudios seleccionados..... 111

Figura 28. Técnica de túnel con tejido conectivo vs. colgajo avanzado coronalmente con tejido conectivo. Diagramas de bosque (columna izquierda) y diagramas de embudo (columna derecha) para el Grupo 1. (A) Ganancia de tejido queratinizado. (B) Cobertura radicular media. (C) Cobertura radicular completa..... 114

Figura 29. Técnica de túnel con conectivo y otros materiales vs. técnica de túnel con conectivo. Gráficas de bosque (columna izquierda) y gráficas de embudo (columna derecha) para el Grupo 2. (A) Ganancia de tejido queratinizado. (B) Cobertura radicular media. (C) Cobertura radicular completa. 115

Figura 30. Técnica de túnel vs. colgajo coronal sin considerar el material coadyuvante utilizado. Gráficas de bosque (columna izquierda) y de embudo (columna derecha) para el Grupo 3. (A) Ganancia de tejido queratinizado. (B) Cobertura radicular media. (C) Cobertura radicular completa 116

Figura 31. Día 3. Línea superior: A, B, C pertenecen al grupo 1; Línea media: D, E, F pertenecen al grupo 2 y la línea inferior G, H, I pertenecen al grupo 3..... 117

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 32. Día 5. Línea superior grupo 1, línea 2 grupo 2A, línea 3 grupo 2B, línea inferior grupo 3. 118

Figura 33. Día 10. A, B) Grupo 1; C, D) grupo 2A; E, F) Grupo 2B; G) grupo 3. 119

Figura 34. Día 16. A, B) Grupo 1A; C, D) Grupo 1B; E) Grupo 2A-1, F, G) Grupo 2A-2, H, I) Grupo 2B. 120

Figura 35. Tinción. Tinción de Gram en la línea superior A, B) Grupo 1A, C) Grupo 1B, D) Grupo 2A-1, E) Grupo 2A-2. En pocas palabras: F, G, H) Tinción de azul de tripano. 121

Figura 36. Día 22. A, B) Grupo 1 A, C) Grupo 1B, D) Grupo 2A1, E) Grupo 2 A2, F) Grupo 2B, G) Grupo 3. 121

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

10. ÍNDICE DE TABLAS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

10. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las patologías pulpares y periapicales según la Asociación Americana de Endodoncia. (190)..... 49

Table 2. Tratamientos aplicados 78

Table 3. Herramienta Rob de SYRCLE para cada estudio experimental con animales (n =18)..... 83

Tabla 4. Herramienta Cochrane de riesgo de sesgo para ensayos controlados aleatorios 91

Tabla 5 Riesgo de sesgo Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones. 112

Tabla 6. Resultados del metaanálisis para los diferentes grupos de estudio. EE: error estándar. IC: intervalo de confianza. 113

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

11. APÉNDICES

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

11. APÉNDICES

11.1 ARTÍCULO 1

Título: ***Regeneration of periodontal bone defects with mesenchymal stem cells in animal models. Systematic review and meta-analysis.***

Luis Chauca-Bajaña 1, Byron Velasquez-Ron 2, Inmaculada Tomás-Carmona 3, Fabio Camacho-Alonso 4, Alba Pérez-Jardón 5, Mario Pérez-Sayáns 6

PMID: 35788845

PMCID: PMC9810679

DOI: https://doi.org/10.1007/s10266-022-00725-5

Revista: Odontology.

Año: 2022

Factor de Impacto (JCR 2023): 1.9

Cuartil: Q2

Categoría: Dentistry, Oral Surgery & Medicine

Posición: 66/157.

Otros: Open Access

Link: https://link.springer.com/article/10.1007/s10266-022-00725-5

Contribuciones: Concepción, diseño de estudio, escritura del primer borrador del manuscrito, aprobación del manuscrito.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Odontology (2023) 111:105–122
https://doi.org/10.1007/s10266-022-00725-5

ORIGINAL ARTICLE

Regeneration of periodontal bone defects with mesenchymal stem cells in animal models. Systematic review and meta-analysis

Luis Chauca-Bajaña[1] · Byron Velasquez-Ron[2] · Inmaculada Tomás-Carmona[3] · Fabio Camacho-Alonso[4] · Alba Pérez-Jardón[5] · Mario Pérez-Sayáns[5]

Received: 12 March 2022 / Accepted: 8 June 2022 / Published online: 5 July 2022
© The Author(s) 2022

Abstract

The aim of this study was to evaluate the efficacy of mesenchymal stem cells (MSCs) in the regeneration of periodontal bone defects in animal models. A systematic review and meta-analysis were conducted following the PRISMA guidelines, and the study was recorded in PROSPERO under reference number CDR42021247462. The PICO question was: is periodontal regeneration (cementum, periodontal ligament and alveolar bone) with MSCs more effective than other techniques? Three groups were considered: Group 1: MSCs alone or mixed with regenerative materials. Group 2: only regenerative materials. Group 3: no regenerative material nor MSCs. The search was conducted using MeSH with a total of 18 articles for qualitative analysis and 5 for quantitative analysis. For the meta-analysis, a modification of the effect size algorithm was developed, which considered a comparison of means between treatments using the Student's t sample distribution. When comparing the effect size between Group 1 and Group 2, the effect size for the new cementum was 2.83 mm with an estimated confidence interval of 95% (CI 95%) between 0.48 and 5.17 mm. When considering the fit to a random-effects model, the combined variance (τ^2) was 6.1573 mm, with a standard deviation (SD) of 5.6008 mm and a percentage of total heterogeneity I^2 of 92.33% ($p < 0.0001$). For new bone, the effect size was 0.88 mm, CI 95% − 0.25 to 2.01 mm, $\tau^2 = 1.3108$ mm (SD = 1.2021 mm) and $I^2 = 80.46\%$, $p = 0.0004$). With regard to the new periodontal ligament, it was not possible for the meta-analysis to be performed. MSCs have a greater capacity for tissue regeneration in root cementum than in alveolar bone compared to other regenerative materials.

Keywords Stem cells · Pluripotent stem cells · Periodontal defect · Periodontal regeneration

Clinical relevance: The MSCs could be effective in the regeneration of human periodontal defects.

✉ Mario Pérez-Sayáns
mario.perez@usc.es

Luis Chauca-Bajaña
luischauk@hotmail.com

Byron Velasquez-Ron
byron.velasquez@udla.edu.ec; drvelasquezron@gmail.com

Inmaculada Tomás-Carmona
inmaculada.tomas@usc.es

Fabio Camacho-Alonso
fcamacho@um.es

Alba Pérez-Jardón
alba.perez.gonzalez@sergas.es

[1] Faculty of Medicine and Dentistry, Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit, Periodontics and Implantology Oral Research, College Dentistry, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador

[2] Dental Prosthesis Department Research, College Dentistry, University of the Americas, UDLA. Av, Colon y 6 de diciembre, Campus Colón, Quito, Ecuador

[3] Oral Sciences Research Group, Department of Surgery and Medical-Surgical Specialties, School of Medicine and Dentistry, University of Santiago de Compostela, Health Research Institute of Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

[4] Department of Oral Surgery, University of Murcia, Murcia, Spain

[5] Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit (MedOralRes), Faculty of Medicine and Dentistry, Universidade de Santiago de Compostela, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), (ORALRES GROUP), Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Background

Periodontitis is a chronic, multifactorial, inflammatory pathology that results in the destruction of the supporting tissues of the tooth [1]. It is estimated that 50% of the European adult population presents with some form of periodontal disease, and that 750 million people worldwide suffer from severe periodontitis [2]. Periodontal regeneration consists of several methods that aid in the reconstruction or reproduction of a lost or damaged part of the supporting tissues [3–5]. There are many surgical techniques and regenerative materials, which include guided tissue regeneration, growth factors, bone materials, among others, and these are considered as promising solutions for the repair and regeneration of tissues in cases of periodontium, bone defects, atrophic alveolar ridge and furcation defects [6]. Regenerative medicine is a medical discipline that is based on new knowledge of mesenchymal stem cells (MSCs) and their ability to become cells of different tissues [7]. MSCs therapy has demonstrated amazing regenerative capacities in orofacial, neurological, corneal, cardiovascular, hepatic, diabetic, renal, muscular dystrophies, and autoimmune diseases [8]. MSCs are classified into two different types: embryonic and postnatal and adult [9] according to their origin or evolutionary state, and, likewise, they are classified into the following classes: totipotent, pluripotent, and multipotent [10, 11] according to their potential. In this context, MSCs show extensive proliferative potential, multipotency, tropism and immunosuppressive functions, as has been suggested by several in vitro and in vivo studies [12]. In addition to regenerating lost alveolar bone, MSCs can also induce the growth of alveolar cementum and periodontal ligament, which involves the complete regeneration of the periodontal complex [13], a process in which platelets also play a crucial role in haemostasis, immune modulation, and repair mechanisms [14].

MSCs may be isolated from different sources, which include bone marrow, blood from the umbilical cord, adipose tissue, pancreas, liver, skeletal muscle, dermis and the synovial membrane. Alternative sources exist, which include amniotic fluid and Wharton´s jelly from the umbilical cord [15]. Recent studies have indicated that there are no morphological or immunophenotypic differences between the cells obtained from these tissues [16]. In the oral cavity, MSCs can be found in the dental pulp (DPMSCs), dental follicle and gingival connective tissue, as well as other areas [17]. Bianchi et al. studied the bio-morphological reaction of human periodontal ligament fibroblasts to different types of dentinal derivates (mineralized dentine, deproteinized and demineralized dentine, and demineralized dentine), and a positive response was observed in terms of proliferation and adhesion, with stronger vinculin and integrin signal. This therefore confirms that dentinal derivates present high conductivity and inductivity properties in the regenerative processes [18].

The use of advanced therapies based on MSCs in periodontal regeneration is derived from pre-clinical investigations, as very few controlled clinical trials (CCT) have been conducted to date to evaluate their efficacy in the treatment of human periodontal lesions [19]. In recent years, a wide variety of studies have been conducted in which MSCs were used in combination with other biomaterials to obtain optimal periodontal regeneration [20–23]; however, none of these achieved optimal success, and conflicting results were reported [24–27].

To the best of the authors' knowledge, no meta-analysis of preclinical studies on the efficacy of MSCs in periodontal regeneration has been performed to date, and therefore there is a knowledge gap that must be closed in order to lay the foundations for adequate clinical studies in the future.

Methods

Protocol and registration

A specific study protocol was designed for the search and data retrieval process, which fulfilled PRISMA guidelines [28]. The protocol was registered in PROSPERO under reference ID CDR42021247462 to minimize the risk of bias and improve the transparency, precision, and integrity.

Focused question

The review was designed to answer this PICO question: Is periodontal regeneration with MSCs more effective than other techniques? P: Articles with studies of periodontal defects in animals were evaluated; I: Intervention, periodontal regenerations performed with different MSCs, alone or in combination with other biomaterials; C: Comparison of the different results of regeneration of the support periodontal tissue with different regenerative materials; O: Observation, the amount of periodontal regeneration, histologically measured as new bone, cementum and periodontal ligament in the periodontal defect were compared.

Information sources and search strategy

The search was conducted using the Rayyan QCRI programme (Qatar Computing Research Institute (Data Analytics), Doha, Qatarcon). Following the PRISMA requirements, the MeSH terms used were: "Mesenchymal Stem Cells", "Periodontal Attachment Loss", "Periodontal Atrophy", "Alveolar Bone Loss" and "Guided Tissue Regeneration,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Periodontal". For verification purposes, other keywords (pluripotent stem cells, adult stem cells, hematopoietic stem cells, bone marrow stem cells (BMSCs), mesenchymal stem cell transplantation, furcation defect, bone regeneration) were also included when searching MEDLINE through PubMed, EMBASE through OVID, the Web of Science, Scopus, Cochrane Library, Clinical Trials, the five WHO regional bibliographic databases (AIM, LILACS, IMEMR, IMSEAR, WPRIM), and the Conference Proceedings Citation Index. Any potentially relevant articles that any of the authors were aware of, as well as reference lists from the retrieved articles, were also comprehensively checked. This process was complemented by a manual search (peer-reviewed journals with related content).

Eligibility criteria

All of the references identified from computerized databases were manually retrieved, and the articles were included if they met the following inclusion criteria: (1) Studies on bone defect regeneration with MSCs (type/origin) in animals without systemic conditions or genetic modification. (2) Studies in dogs, rabbit, rats, and pigs (the gender and age of the animals were not considered in the studies). (3) Studies of preclinical controlled animal models, in which MSCs were used locally to correct periodontal defects in the first six months with a single evaluation at 2—4—6—8 weeks. (4) Data on periodontal regeneration (cementum, bone and periodontal ligament). (5) Studies published in the English language. The following exclusion criteria were considered: (1) Human studies. (2) Alveolar bone regeneration only with biomaterials. (3) Studies that did not include a control group, or studies in which it was not possible to compare the regeneration results due to the absence of data regarding gain/loss of periodontal regeneration. (4) Clinical cases. (5) Studies for which there was a lack of measurements and standard deviation data. (6) Reviews, systematic reviews and meta-analysis.

Study selection and data extraction process

Data was retrieved by two researchers (LC and MPS) using a custom-made extraction sheet. Any discrepancies that arose between the two researchers were resolved by a third researcher (BVR) who was blinded to the study hypothesis. The following data was recorded: first author, country, type of study, type of animal, number of animals, overall number of defects, type of control condition (including group with other types of regenerative materials), number of defects in the control group, type of MSCs, number of defects in the MSCs group, and periodontal regeneration assessment procedure.

First the title and abstracts of all potential records were read, and a full-text protocol was used to determine the inclusion of any texts with insufficient data. Subsequently, all eligible articles were examined in full text, and if any data considered essential for the review was missing or unclear, an attempt was made to contact the corresponding author of the study in order to resolve or clarify the problem.

Evaluation of quality and risk of bias

The risk of bias was assessed according to the Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) [29]. An overall bias risk assessment was conducted for each study included, assigning the following bias ratings: High, Unclear, and Low. The following elements were evaluated for bias: selection, performance, detection, desertion, notification, among others. These elements were assessed using the Cochrane RoB tool. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies includes the following aspects: (1) Sequence generation: this was evaluated taking into account whether or not periodontal defects were induced. (2) Allocation concealment: randomization results were checked by evaluating the baseline characteristics in test and control groups. (3) Incomplete result data: the inclusion of all data was verified, including the types of animals (beagle dogs, rats, mini pigs, rabbits), the number of animals, the types of periodontal defects (periodontal bone defects, furcation defects type II and III), types of MSCs, control group or groups with other materials, and assessment of periodontal regeneration (periodontal ligament, root cementum and alveolar bone). (4) Selective reporting of results: the study protocols and group results were evaluated with other materials and other sources of bias [Table 1]. (5) Selective reporting of results: The MSC groups were compared with their respective control groups, to determine whether or not there was an increased number of animals in the MSC groups or the regenerative materials group, whether or not the animals had been given additional medications, the number of surgical interventions performed, and whether or not the animals in each study received the same treatment and care, or if differentiations were made taking into account the different types of animal (beagle dogs, mini pigs, rats and rabbits) and the types of periodontal defects.

Statistical analysis

Qualitative analysis

The qualitative analysis described the general aspects of the articles that met the inclusion criteria. A systematic review of the included articles was carried out, describing the previously defined characteristics (see data extraction), and distinguishing between the three study groups: (1) the first group

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1 SYRCLE's Rob tool for each experimental animal studies ($n = 18$)

Study	Selection bias		Attrition bias	Reporting bias	Other bias
	Sequence generation	Allocation concealment	Incomplete outcome data	Selective reporting	Other sources of bias
Vanessa Hui-Ying Chung et al [23]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Yuka Tsumanuma et al [24]	Unclear	Yes	No	Unclear	No
K. M. Fawzy El-Sayed et al [25]	Yes	Yes	No	Unclear	No
J Han et al [26]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Duan et al [27]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Suaid et al [28]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Nuñez et al [29]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Simsek et al. [30]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Suaid et al [31]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Zhou et al. [32]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Khorsand et al [33]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Tobita et al. [34]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Yu et al [35]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Iwasaki et al [36]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Cai et al.2015 [37]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Nagahara et al. 2015 [38]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Paknejad et al 2015 [39]	Yes	Yes	No	Unclear	No
Zhang et al 2017[40]	Yes	Yes	No	Unclear	No

Positive (good) indicator | Unclear | Negative (bad) indicator

of MSCs alone or mixed with other types of regenerative materials. (2) the second group of other regenerative materials. (3) the third group in which no regenerative material was placed. The periodontal regeneration (alveolar bone, periodontal ligament, and alveolar cementum) was assessed in each group.

Meta-analysis

Meta-analysis was used under the following systematic process: (1) Definition of experimental variables. (2) Identification of treatment and control. (3) Determining the effect size and its standard deviation. (4) Specification of the model according to the type of characteristics: qualitative or quantitative. (5) Selection of the fixed or random effects model. 6) Model validation and heterogeneity analysis. (7) Graphical representations (Forest Plot and Funnel Plot). (8) Interpretation of the results. This process was validated through the following assumptions: (1) Tissue regeneration variable measured in mm and (2) Modification of the effect size algorithm, considering a comparison of means between treatments with Student's *t* sample distribution.

With respect to the method used for the meta-analysis, the effect size was determined for each of the five included studies. A high variability was obtained given that in the process of calculating the effect size, the control was not used, and in contrast, comparison between Groups 1 and 2 was made. This methodological change was justified due to the extent to which the articles reviewed did not contain adequate analysis of the control treatment, and due to the lack of extensive literature available in order to guarantee the probabilistic properties of the sampling distribution of the statistic effect size. This was adjusted for both the New Cementum and the New Bone. The calculation process was carried out through the R software, using the following statistical packages: "meta" and "metasens" [30].

Results

Biographical research

111 articles were identified through the aforementioned search, the abstracts of which were reviewed for content relevant to the topic under study, with 93 of the articles excluded for this reason. After the critical analysis of the studies had been performed, 18 studies from different geographical areas met the inclusion criteria. These 18 articles were included for qualitative analysis, and 5 of said articles were included for meta-analysis (Fig. 1).

Risk of bias

The articles were evaluated using the SYRCLE RoB tool for animal studies [29]. It was determined that all of the studies had a low risk of bias [31–48], in terms of sequence generation, allocation concealment, incomplete outcome data and their sources of bias. The complete data can be found in Table 1.

Qualitative analysis: Clinical features and periodontal regeneration

The first group of MSCs alone or mixed with other types of regenerative materials included several materials, such as polyglycolic acid, bone bovine, gelatin sponge, apatite-coated silk, autogenous cortical bone, platelet-rich plasma,

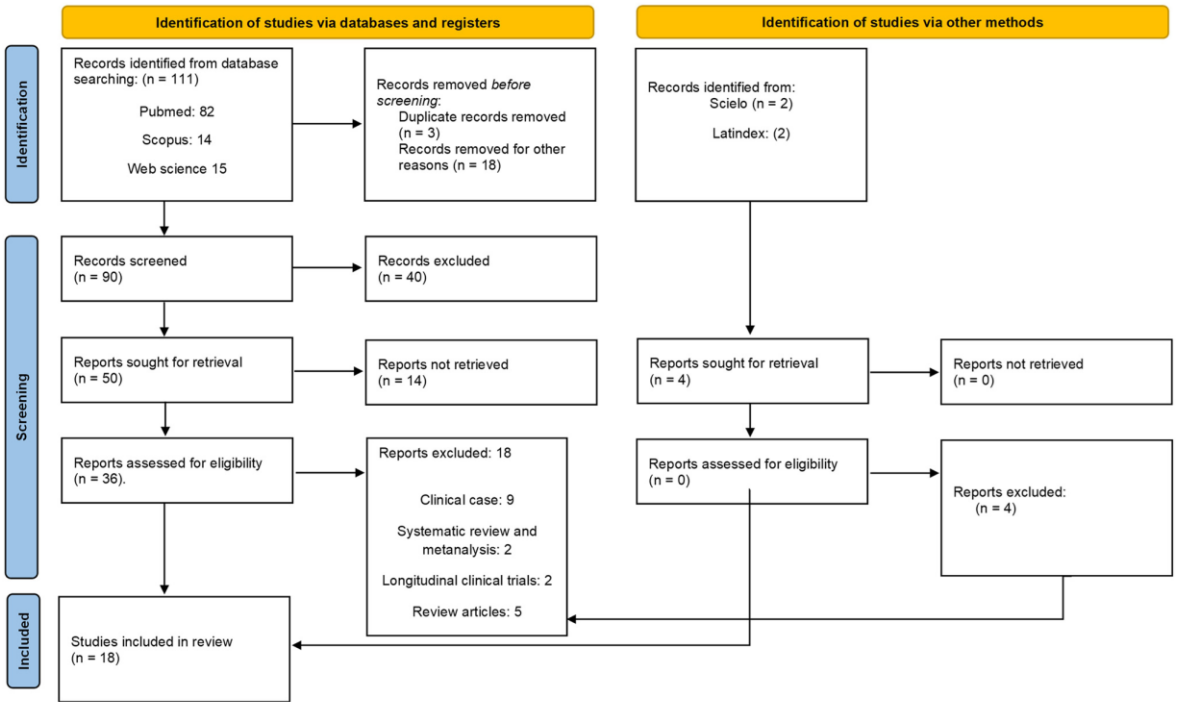


Fig. 1 Flowchart of selected studies

polyglycolic acid/trimethylene carbonate, beta-tricalcium phosphate, hydroxyapatite, and biomimetic intrafibrillarly mineralized collagen. The MSCs were obtained from the dental pulp, periodontal ligament, gingival margin and bone marrow, periosteal alveolar cells. The second group of other regenerative materials was comprised of several products: bovine bone, adenovirus, beta-tricalcium phosphate, platelet rich plasma (PRP), polyglycolic acid/trimethylene carbonate, polyglycolic acid and osteoprotegerin. Periodontal regeneration was based on the results obtained by the gain of alveolar bone, periodontal ligament and alveolar cementum tissue and the results are included in full in Table 2.

In the qualitative analysis, 18 articles were considered, some of which contained results expressed in percentages, millimetres and square millimetres. 67% of the studies were performed on Beagle dogs, 22% on rats and 11% on mini pigs. In the study groups, the most relevant stem cells were those obtained from the periodontal ligament (PDLMSC) and bone marrow stem cells (BM-MSC) mixed with bovine bone or platelet-rich plasma. In terms of bone defects, the most widely used stem cell type was PDLMSC with bovine bone and in furcation defects, type II and III, BM-MSC with platelet-rich plasma were used. A full summary of the results of the included studies is included in Table 2.

Meta-analysis

New cementum

The results obtained regarding the regeneration of root cementum when comparing the effect size between Group 1–Group 2, with Group 1 being stem cells and Group 2 other regenerative materials, shows that Group 1 presented greater regeneration of periodontal tissue than Group 2. Indeed, the initial results showed that among the studies reviewed, the effect size had an average of 3.4005 mm of tissue with a standard deviation of 1.2634. This means that the average effect size explicitly expresses the highest value by Group 1 compared to Group 2 with characteristics of experimental homogeneity in each of the experiments due to the coefficient of variation not greater than one, $|\,cv\,| < 1$.

Considering the fit to a random-effects model, the combined variance, τ^2 was 6.1573 with a percentage of total heterogeneity I^2 between studies of 92.33% (Fig. 2). At a significance level of 0.05 there was no statistical evidence to confirm that the effect between treatments is equal. There was high variability between the results obtained when comparing both treatments $Q = 52.1251$ ($p < 0.0001$), meaning therefore that there was great influence by at least one experimentation (stem cells). The Funnel plot, the influence graph and the forest plot show the significant differences

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 2 Full data of the studies included in the systematic review

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
Chung et al. 2011 [23]	Taiwan	Case–control A split mouth	Beagle dogs	18 mandibular 4 mm defects	No treatment	No treatment	AdvBMP-2 group with BMP-2 expressing MSC Other group MSC alone	9 bilateral mandibular defects of 4 mm And other group 9 defects	No treatment	No treatment	Bone new MSC alone: 578.69 ± 68.13 advBMP-2 group with BMP-2 expressing MSC: 282.73 ± 36.68 mm3
Tsumanuma et al. [24]	Japan	Case–control A split mouth	Beagle dogs	1-wall intrabony defects (5 5 mm in depth, mesio-distal width) were created surgically on the mesial and distal sides of mandibular third premolars and the mesial of mandibular first molars bilaterally	No treatment	No treatment	PDLC + β-TCP / collagen other group BMMSC + β-TCP / collagen other group (APC) + β-TCP / collagen	1st group 1 defects 2nd group 1 defects 3rd group 1 defects	Pga	1 defects	Newly formed cementum thickness (mm) PDLC + β-TCP / collagen: 14.37 ± 4.38 mm BMMSC: 7.80 ± 2.67 mm APC + β-TCP/collagen:3.99 ± 2.64 mm Pga: 6.59 ± 2.82 mm Periodontal score (1–5) PDLC + β-TCP/collagen: 4.00 ± 1.41 BMMSC: 3.38 ± 0.95 APC + β-TCP/collagen: 2.63 ± 0.48 Pga: 1.75 ± 0.96 Bone regeneration ratio (%) PDLC + β-TCP/collagen: 72.28 ± 32.56 BMMSC: 2.05 ± 12.92 APC + β-TCP/collagen: 67.63 ± 21.56 Pga: 67.51 ± 14.26 Length of junctional epithelium (mm) PDLC + β-TCP/collagen: 0.15 ± 0.30 (BMMSC: 0.49 ± 0.97 APC + β-TCP/collagen: 0.63 ± 0.52 Pga: 0.64 ± 0.46
Fawzy El-Sayed et al. [25]	Germany	Case–control A split mouth	Mini pings	48 Bilateral fenestration defect	SRP + surgical access only	8 defects Other group 8 defects	SRP + ABBM + GM-MSC + collagen membrane Other group SRP + collagen + GM-MSC + collagen membrane	8 defects and other group 8 defects	SRP + ABBM + collagen membrane Other group SRP + collagen membrane	8 defects and other group 8 defects	Periodontal regeneration Negative control: − 5.4 ± 1.9 mm Surgical access: − 4.9 ± 2.1 mm ABBM + membrane: − 4.7 ± 2.1 mm Collagen membrane: − 6.2 ± 2.0 mm ABBM + GM-MSC + membrane: − 1.6 ± 1.1 mm Collagen + GM-MSC + membrane: − 2.4 ± 1.7 mm

Table 2 (continued)

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
J Han et al. [26]	Australia	Case–control A split mouth	Rats	72 defects Fenestration defects were surgically created on right first and second mandibular molars (W × L = 2 × 3 mm)	No treatment	24 defects	Gelatin sponge + PDL-MSC	24 defects	Gelatin sponge	24 defects	% of bone fill – 7 days Untreated: 0% Gelatin sponge: 0% Gelatin sponge + PDL-MSC: ~ 5% – 14 days Untreated: ~ 10% Gelatin sponge: ~ 20% Gelatin sponge + PDL-MSC: ~ 50% – 21 days Untreated: ~ 20% Gelatin sponge: ~ 30% Gelatin sponge + PD-MSC: 60% % of new bone length in the defect – 7 days Untreated: ~ 15% Gelatin sponge: 0% Gelatin sponge + PDL-MSC: ~ 15% – 14 days Untreated: ~ 25% Gelatin sponge: ~ 30% Gelatin sponge + PDL-MSC: ~ 75% – 21 days Untreated: ~ 30% Gelatin sponge: ~ 40% Gelatin sponge + PDL-MSC: 80% New cementum (mm) – 7 days Untreated: 0.00 mm Gelatin sponge: 0.00 mm Gelatin sponge + PDL-MSC: 0.00 mm – 14 days Untreated: 0.01 mm Gelatin sponge: 0.01 mm Gelatin sponge + PDL-MSC: 0.01 mm – 21 days Untreated:0.05 mm Gelatin sponge: 0.1 mm Gelatin sponge + PDL-MSC: 0.3 mm

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 2 (continued)

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
Duan et al. [27]	China	Case–control A split mouth	Rats	36 defects	Group control with apatite-coated silk	6 defects	Apatite-coated silk + EMD + iPSC	6 defects Bilateral fenestration defects were surgically created on mandibular first molars (2×1.5 mm2)	Apatite-coated silk + EMD	6 defects bilateral	New bone Apatite-coated silk: 39.57 ± 1.58% Apatite-coated silk + EMD: 41.25 ± 2.14% Apatite-coated silk + EMD + iPSC: 58.53 ± 2.6%
Suaid et al. [28]	Brasil	Case control	Beagle dogs	14 defects Bilateral class II furcation defects	No treatment	No treatment	Collagen composite + PDLMSC + resorbable glycode and lactide copolymer membrane	7 defects Bilateral class II furcation defects	Collagen composite + resorbable glycode and lactide copolymer membrane	7 defects Bilateral class II furcation defects	New bone Collagen + membrane: 7.01 ± 0.61mm2 Collagen composite + PDL-MSC + membrane: 9.02 ± 2.30 mm New cementum Collagen membrane: 6.00 ± 1.50 mm Collagen + PDL-MSC + membrane: 8.08 ± 1.08 mm
Nuñez et al. [29]	Spain	Case–control A split mouth	Beagle dogs	24 defects Bilateral 3-wall intrabony defects	No treatment	No treatment	SRP + collagen sponge + CDC Other group SRP + collagen sponge + PDL-MSC	8 defects And other group 8 defects	SRP + collagen sponge	8 defects	New bone collagen sponge: 2.63 ± 0.67 mm collagen sponge CDC: 2.63 ± 0.44 mm collagen sponge + PDL-MSC: 3.08 ± 1.06 mm New cementum collagen sponge: 1.56 ± 0.39 mm collagen sponge + CDC: 3.98 ± 0.59 mm collagen sponge + PDL-MSC: 4.07 ± 0.97 mm

Table 2 (continued)

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
Simsek et al. [30]	Istanbul, Turkey	Case–control A split mouth	Beagle dogs	30 defects Bilateral class II furcation defects	Grouop control SRP	6 defects	SRP + PRP + BM- MSC	6 defects	SRP + autogenous corticol bone Other group SRP + PRP Other group SRP + PRP + autogenous cortical bone	6 defects and other group 6 defects Other group 6 defects	New alveolar bone SRP: 31.98 ± 6.67% SRP + PRP: 33.95 ± 15.39% SRP + autogenous cortical bone: 84.60 ± 4.85% SRP + PRP + autogenous cortical bone: 68.80 ± 14.20% SRP + PRP + BM-MSC: 80.47 ± 8.23% new cementum SRP: 3.33 ± 3.33% SRP + PRP: 36.60 ± 20.1% SRP + autogenous cortical bone: 93.62 ± 4.09% SRP + PRP + autogenous cortical bone: 66.83 ± 10.78% SRP + PRP + BM-MSC: 70.47 ± 11.75%
Susaid et al. [31]	Brasil	Case–control split mouth	Beagle dogs	28 defects Bilateral supracrestal class III furcation defect	Surgical access only	7 defects	Collagen composite + PGA: TMC fiber-PLGA membrane + PDL-MSC	7 defects	PGA: TMC fiber-PLGA membrane Other group: collagen composite + PGA:TMC fiber-PLGA membrane	7 defects and other group 7 defects	New bone Surgical access: 1.89 ± 0.95 mm2 Membrane: 2.91 ± 0.56 mm2 Membrane + collagen: 3.94 ± 1.52 mm2 Membrane + collagen + PDL-MSC: 5.45 ± 1.58 mm2 New cementum Surgical access: 1.70 ± 0.60 mm Membrane: 2.87 ± 0.74 mm Membrane + collagen: 3.66 ± 0.95 mm2 Membrane + collagen + PDL-MSC: 4.82 ± 0.61 mm Periodontal regeneration Surgical access: 0.69 ± 0.59 mm Membrane: 1.52 ± 0.39 mm Membrane + collagen: 2.33 ± 0.95 mm Membrane + collagen + PDL-MSC: 3.43 ± 1.44 mm

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 2 (continued)

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
Zhou et al. [32]	China	Case–control split mouth	Beagle dogs	24 Bilateral fenestration defects were surgically created at the buccal aspect of mandibular P2-P4. (W×L×D = 4×4×3 mm)	SRP	6 defects	PLGA + BMMSC + collagen membrane (n = 6) Group 4: PLGA + OPG BM-MSC + collagen membrane (n = 6)	6 defects and other group 6 defects	PLGA + collagen membrane	6 defects	New bone SRP: 0.33 ± 0.09 mm PLGA + membrane: 0.67 ± 0.14 mm PLGA + BM-MSC + membrane: 1.12 ± 0.12 mm PLGA + OPG- BM-MSC + membrane: 2.02 ± 0.11 mm New cementum SRP: 0.44 ± 0.04 mm PLGA + membrane: 0.11 ± 0.11 mm PLGA + BM-MSC + membrane: 1.02 ± 0.05 mm PLGA + OPG-BM-MSC + membrane: 2.02 ± 0.10 mm New connective tissue SRP: 2.12 ± 0.05 mm PLGA + membrane: 2.73 ± 0.09 mm PLGA + BM-MSC + membrane: 2.12 ± 0.11 mm PLGA + OPG-BM-MSC + membrane: 3.34 ± 0.14 mm
Khorsand et al. [33]	Iran	Case–control split mouth	Beagle dogs	20 Bilateral 3-wall defects were surgically created at the mesial aspect of mandibular	No treatment	No treatment	SRP + ABBM + DPMSC	10 DEFECTS	SRP + BONE BOVINE	10 DEFECTS	New bone SRP + ABBM: 3.10 ± 0.82 mm SRP + ABBM + DP-MSC: 3.60 ± 1.06 mm New cementum (mm): SRP + ABBM: 2.42 ± 1.40 mm SRP + ABBM + DP-MSC: 3.83 ± 1.32 mm New PDL SRP + ABBM: 1.77 ± 1.27 mm SRP + ABBM + DP-MSC: 3.30 ± 1.12 mm

Table 2 (continued)

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
Tobita et al. [34]	Japan	Case–control A split mouth	Beagle dogs	48 Bilateral class III furcation defects were surgically created at mandibular P2, P3 and P4	No treatment	4 weeks 8 defects 8 weeks 8 defects	PRP + A-MSC	4 weeks 8 defects 8 weeks 8 defects	PRP	4 weeks 8 defects 8 weeks 8 defects	% of new bone − 4 weeks Untreated: 37.0% PRP: 33.6% PRP + A-MSC: 35.1% − 8 weeks Untreated: 40.3% PRP: 53.7% PRP + A-MSC: 63.9% % of new cementum − 4 weeks Untreated: 38.7% PRP: 37.7% PRP + A-MSC: 36.4% − 8 weeks Untreated: 61.7% PRP: 62.5% PRP + A-MSC: 84.7%
Yu et al. [35]	China	Case–control A split mouth	Beagle dogs	16 defects Bilateral surgically created class III furcation defects at mandibular	SRP	8 defects	SRP + G-MSC sheet	8 defects	No treatment	No treatment	Area of new bone SRP: 10.37 ± 9.53% SRP + G-MSC sheet: 47.11 ± 7.91% % of new cementum length SRP: 24% SRP + G-MSC sheet: 68%
Iwasaki et al. [36]	Japan	Case–control A split mouth	Rats	12 Bilateral class II furcation defects	No treatment	No treatment	PDL-MSC + amniotic membrane	6 defects	amniotic membrane	6 defects	Histological new cementum thickness Amniotic membrane: 0.00 ± 0.00 µm PDL-MSC + amniotic membrane: 3.44 ± 0.49 µm
Cai et al. [37]	China	Case–control A split mouth	Rats	24 Bilateral surgically created 3-wall intrabony defects at the mesial aspect of the maxillary first molars	No treatment	No treatment	undifferentiated BM-MSC + PLGA/ PCL Other group osteogenic differentiated BM-MSC (oBM-MSC) + PLGA/PCL Other group chondrogenic differentiated BM-MSC (cBM-MSC) + PLGA/PCL	6 defects, other group 6 defects and other group with stem cells 6 defects	PLGA/PCL	6 defects	Relative new bone area: PLGA/PCL: 0.1 BM-MSC + PLGA/PCL: 0.14 oBM-MSC + PLGA/PCL: 0.22 cBM-MSC + PLGA/PCL: 0.2 Relative functional ligament length: PLGA/PCL: 0.23 BM-MSC + PLGA/PCL: 0.09 oBM-MSC + PLGA/PCL: 0.23 cBM-MSC + PLGA/PCL: 0.16

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 2 (continued)

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
Nagahara et al. [38]	Japan	Case–control A split mouth	Beagle dogs	72 Bilateral class III furcation defects were surgically created at mandibula	No treatment	No treatment	SRP + BM- MSC + collagen Other group with stem cells: SRP + BM-MSC + β-TCP/collagen	20 defects and 20 defects other group	SRP + collagen Other group SRP + β-TCP/ collagen	10 defects and other group 16 defects	% area of new bone − 4 weeks: Collagen: 17.5 ± 8.3% β-TCP/collagen: 38.5 ± 15.1% BM-MSC + collagen: 23.5 ± 17.4% BM-MSC + β-TCP/collagen: 65.3 ± 13.1% − 8 weeks Collagen: 31.1 ± 4.3% β-TCP/collagen: 49.8 ± 1.4% BM-MSC + collagen: 65.6 ± 19.9% BM-MSC + β-TCP/collagen: 76.6 ± 10.3% % of new cementum − 4 weeks Collagen: 36.8 ± 7.1% β-TCP/collagen: 38.5 ± 12.7% BM-MSC + collagen: 69.9 ± 30.3% BM-MSC + β-TCP/collagen: 79.4 ± 15.7% − 8 weeks Collagen: 56.9 ± 16.3% β-TCP/collagen: 45.4 ± 19.0% BM-MSC + collagen: 89.1 ± 15.1% BM-MSC + β-TCP/collagen: 89.2 ± 10.3%

Table 2 (continued)

Author (year)	Country	Type of study	Animal model	No of global defects	Type of control condition	Defects in controls	Type of target condition MSCs	Defects with stem cell	Type of target condition other techniques	Defects with other techniques	Periodontal regeneration
Palnejad et al. [39]	Mexico	Case–control A split mouth	Beagle dogs	16 Bilateral 3-wall intrabony defects	No treatment	No treatment	SRP + ABBM + BM-MSC	8 defects	SRP + bone bovine	8 defects	New cementum ABBM: 3.33 ± 0.94 mm ABBM + BM-MSC: 2.03 ± 1.30 mm % of cementum length in the defect ABBM: 80.1% ABBM + BM-MSC: 48.5% New PDL ABBM: 2.69 ± 0.73 mm ABBM + BM-MSC: 1.53 ± 1.21 mm % of PDL length in the defect ABBM: 64.3% ABBM + BM-MSC: 36.5% New bone ABBM: 2.70 ± 0.86 mm ABBM + BM-MSC: 1.99 ± 1.3 mm % of bone length in the defect ABBM: 64.7% ABBM + BM-MSC: 48.5%
Zhang, C et al. [40]	China	Case–control A split mouth	Mini pigs	18 defects and 2 defects cranial bone	S/N	6 defects	IMC con PDL-MSC and other group HA con PDL-MSC	6 defects and other group 6 defects	No treatment	No treatment	New bone IMC con PDL-MSC 45,2 + —17,7% HA con PDL-MSC 29,3 + —7,7% Control 19,6 + —3,4%

ABBM anorganic bovine bone mineral, *PDLMSC* periodontal ligament stem cells, *SRP* scaling and root planning, *DPSC* dental pulp mesenchymal stem cells, *MSC* mesenchymal stem cells, *PRP* platelet-rich plasma, *BM-MSC* mesenchymal stem cells of the bone marrow, *PGA* polyglycolic acid, *PGA-TMC* polyglycolic acid/trimethylene carbonate, *PLGA* polylactic-co-glycolic acid), *OPG* osteoprotegerin, *A-MSC* adipose tissue-derived, *MSC G-MSC* gingival margin-derived, *β-TCP* beta-tricalcium phosphate, *HA* hydroxyapatite, *IMC* biomimetic intrafibrillarly mineralized collagen

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

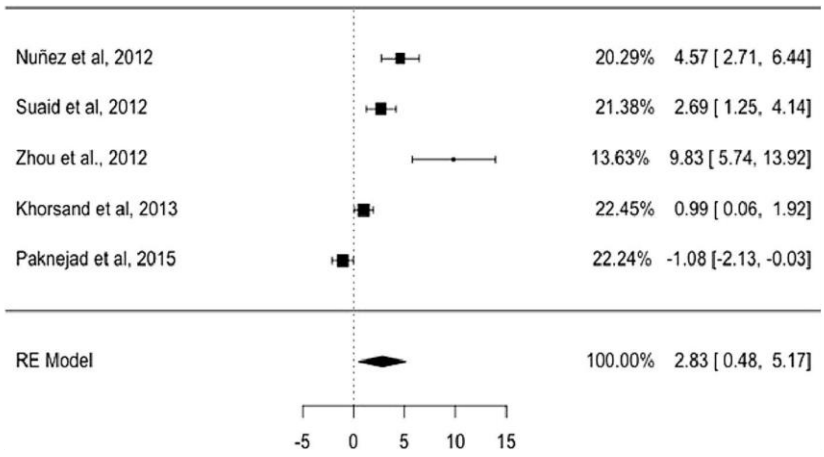


Fig. 2 Forest plot and data from the meta-analysis for the regeneration in new cementum. τ^2 (estimated amount of total heterogeneity): 6.1573 (SE = 5.6008). τ (square root of estimated τ^2 value): 2.4814. I^2 (total heterogeneity / total variability): 92.33%. H^2 (total variability/sampling variability): 13.03. Test for Heterogeneity: Q (df = 4) = 52.1251, p-value < 0.0001

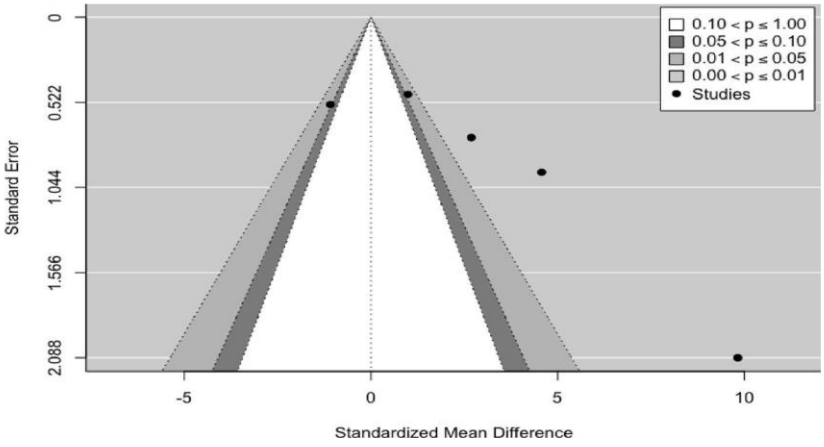


Fig. 3 Funnel plot for the regeneration in new cementum

between the experiments, differences that are attributed to the study by Zhou et al. 2012 [40] that has a share of the study of 13.63%, and an estimated average effect size at a confidence level of 0.95 (95%) of between 5.74 and 13.92 (Fig. 3).

New bone

According to the results obtained when comparing the regeneration of the alveolar bone, the effect size between Group 1 and Group 2, with Group 1 being stem cells and Group 2 other regenerative materials, it was evident that Group 1 presented greater regeneration of periodontal tissue than Group 2. Indeed, the results showed that among the reviewed studies the effect size had an average of 1.2717 mm of tissue, with a standard deviation of 0.3806. This therefore means that the average effect size explicitly expresses the highest value by Group 1 compared to Group 2, with characteristics of experimental homogeneity in each of the experiments resulting from a coefficient of variation, not greater than one, | cv |< 1.

After calculating the effect size in each of the 5 studies, a high variability was determined in each of the experiments (Group with stem cells and group with other materials), an average of 1.2717 ± 0.3806 mm with characteristics of experimental homogeneity in each of the experiments due to a coefficient of variation not greater than one, | cv |< 1. Considering the fit to a random effects model, the combined variance τ^2 was 1.3108, with a percentage of total heterogeneity I^2 between studies of 80.46% (Fig. 4). At a significance level of 0.05 there was no statistical evidence to suggest that the effect between treatments is equal. Therefore, there was a high variability between the results obtained when comparing both treatments. $Q = 20.4717$ ($p < 0.0004$). The Funnel plot, the influence plot and the forest plot show that there were significant differences between the experiments, and these differences were attributed to the study by Zhou et al. 2012

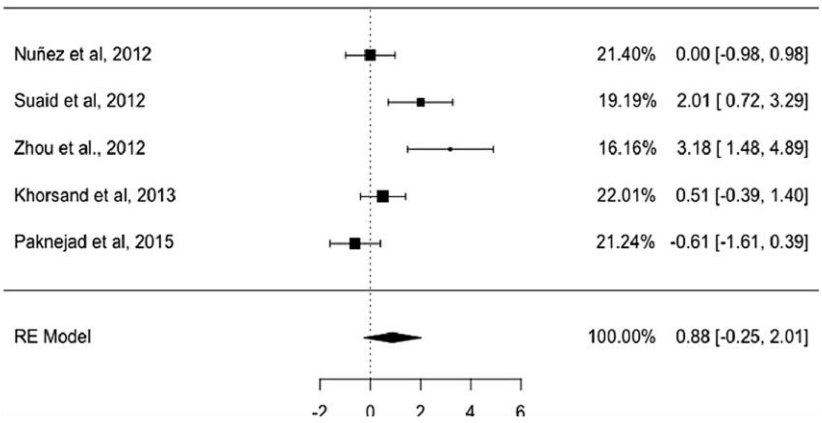


Fig. 4 Forest plot and data from the meta-analysis for the regeneration in alveolar bone. τ^2 (estimated amount of total heterogeneity): 1.3108 (SE = 1.2021). τ (square root of estimated τ^2 value): 1.1449. I^2 (total heterogeneity / total variability): 80.46%. H^2 (total variability/sampling variability) : 5.12%. Test for Heterogeneity: Q (df = 4) = 20.4717, p-value: 0.0004

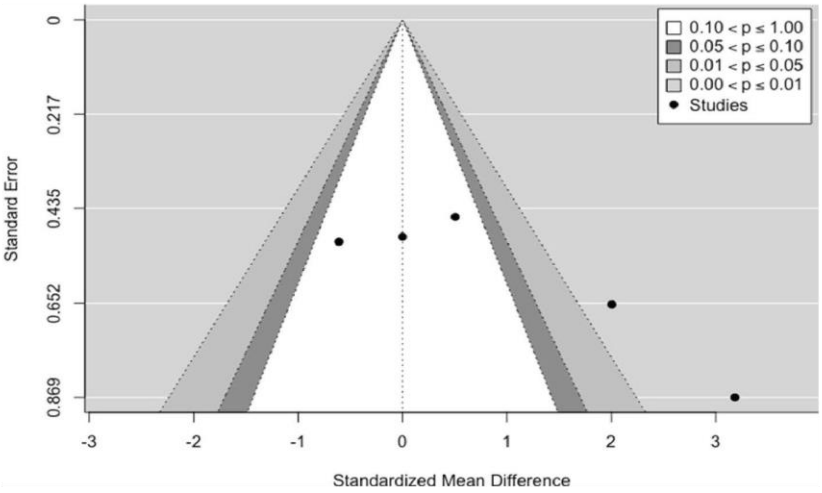


Fig. 5 Funnel plot for the regeneration in alveolar bone

[40] that has a share of the study of 16.16% and an estimated average effect size at a confidence level of 0.95 (95%) of between 1.48 and 4.89 (Fig. 5).

New periodontal ligament

It was not possible to develop the meta-analysis due to the lack of data.

Discussion

The present systematic review and meta-analysis observed that periodontal regeneration with MSCs alone or mixed with other regenerative materials, such as beta-tricalcium phosphate, bovine bone or platelet-rich plasma, offered better regenerative results than those attained for the group with only regenerative materials. Qualitative studies showed that PDLSc and BMSCs appear to have greater regenerative properties. After reviewing the literature, two systematic review articles on periodontal regeneration with MSCs published by Tassi et al. [49] and Yan et al. [50] were found. In the first study, the meta-analysis was not possible because of the heterogeneities observed in the study designs. In the second study, the meta-analysis showed no statistically significant differences in effect between PDLSCs and BMScs.

An ideal bone graft substitute must have certain properties, which include osteoconduction, osteoinduction, osteoincorporation, osteointegration, and osteogenesis [51]. Despite several efforts to invent and characterize various bone graft substitutes, none of these could be accepted as an ideal alternative to autografts due to the low ability of the bone substitutes to enhance osteoinduction and osteogenesis [52, 53]. The majority of in vitro and many in vivo studies have suggested that the MSCs have the potential to

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

increase osteoinduction and osteogenesis [46], in particular in association with bone substitute materials [41]. The use of β-TCP is applicable as a scaffold for BMSC transplantation and it helps to augment alveolar bone without affecting cementum regeneration [46].

The regenerative potential of MSCs is probably related predominantly to the stage of differentiation and lineage commitment of the cells, as well as proliferation rates, heterogeneity of selectively isolated MSCs subpopulations, the number of cells transferred to the defects and the scaffold composition and three-dimensional arrangement [54, 55].The origin of stem cells and the role these play in the regenerative processes has been the subject of much debate, sometimes with contradictory results. Nagahara et al. [46] demonstrated that periodontal regeneration with BMSCs with beta-tricalcium phosphate was enhanced at 8 weeks in alveolar cementum and alveolar bone. Nevertheless, Iwasaki et al. [44] determined that there was a considerable significant difference in periodontal regeneration in PDLSCs with beta-tricalcium phosphate and collagen compared to the BMSCs.

Bone regeneration by gene transfer into MSCs has also been reported; however, the reported transduction efficiency into MSCs by each vector was not always high. Chung et al. [31] indicated that when using MSCs with adenovirus BMP-2 (advBMP-2) in bone defects, the periodontal regeneration was significantly better at 8 weeks than in the control group. Other studies have indicated that PDLSCs, have the same results [32, 34, 39] without needing to use viral vectors. Fawzy El-Sayed et al. [33] used gingival margin stem progenitor cells (GMSCs) together with IL-1ra-releasing hyaluronic acid synthetic extracellular matrix (HA-sECM), and they concluded that there was a significant periodontal regenerative potential compared to the control groups. On the other hand, in the case of platelet-rich plasma with MSCs and autologous bone, there was no significant difference between the platelet-rich plasma alone and the autologous bone group [38]. Chondrogenic differentiation of MSCs before implantation is also a useful strategy for the regeneration of the cartilage; however, its role in alveolar bone and periodontal ligament regeneration is still not clear [45].

The main limitations of this research were related to the design of the experiments (different and non-equitable groups), the different types of animal model (dog, pig, and rat), the high variability of MSCs, and the different methodology used to apply the cells, whether alone or in combination with many different types of biomaterials.

In the present study, there were significant differences in the use of MSCs compared to the group of other biomaterials for periodontal regeneration. The most commonly used stem cells were periodontal ligament and bone marrow stem cells, and these cells were mixed with other regenerative biomaterials, obtaining better results in periodontal regeneration. Taking into account the results attained from the meta-analyses, it is possible to conclude that stem cells have a higher periodontal regenerative capacity than other single regenerative materials.

Author contributions All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by ITC, FCA and MPS. The first draft of the manuscript was written by LCB and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding Open Access funding provided thanks to the CRUE-CSIC agreement with Springer Nature. This study was partly funded by a pre-doctoral grant (on a competitive basis) from the Health Research Institute of Santiago de Compostela that was awarded to Alba Pérez Jardón (IDIS2020/PREDOC/03).

Declarations

Conflict of interest The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper. The authors declare that they have contributed significantly to the preparation of the manuscript and that all authors agree with the content of the manuscript.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

References

1. Balta MG, Papathanasiou E, Blix IJ, Van Dyke TE. Host modulation and treatment of periodontal disease. J Dent Res. 2021;100(8):798–809. https://doi.org/10.1177/0022034521995157.
2. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. Sci World J. 2020. https://doi.org/10.1155/2020/2146160.
3. Hernández-Monjaraz B, Santiago-Osorio E, Ledesma-Martínez E, Aguiñiga-Sánchez I, Sosa-Hernández NA, Mendoza-Núñez VM. Dental pulp mesenchymal stem cells as a treatment for periodontal disease in older adults. Stem Cells Int. 2020. https://doi.org/10.1155/2020/8890873.
4. Liu Y, Wang H, Dou H, Tian B, Li L, Jin L, et al. Bone regeneration capacities of alveolar bone mesenchymal stem cells sheet in rabbit calvarial bone defect. J Tissue Eng. 2020. https://doi.org/10.1177/2041731420930379.
5. Tetè G, D'Orto B, Nagni M, Agostinacchio M, Polizzi E, Agliardi E. Role of induced pluripotent stem cells (IPSCS) in bone tissue

regeneration in dentistry: a narrative review. J Biol Regul Homeost Agents. 2020;34:1–10.
6. Abou Neel EA, Bozec L, Knowles JC, Syed O, Mudera V, Day R, et al. Collagen–emerging collagen based therapies hit the patient. Adv Drug Deliv Rev. 2013;65:429–56. https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.08.010.
7. Chen F, Gao L, Tian B, Zhang X, Zhang Y, Dong G, et al. Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial. Stem Cell Res Ther. 2016. https://doi.org/10.1186/s13287-016-0288.
8. Botelho J, Cavacas MA, Machado V, Mendes JJ. Dental stem cells: recent progresses in tissue engineering and regenerative medicine. Ann Med. 2017;49:644–51. https://doi.org/10.1080/07853890.2017.1347705.
9. Rodríguez-Lozano F, Insausti C, Iniesta F, Blanquer M, Ramírez M, Meseguer L, et al. Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012. https://doi.org/10.4317/medoral.17925.
10. Ferrarotti F, Romano F, Gamba MN, Quirico A, Giraudi M, Audagna M, et al. Human intrabony defect regeneration with micrografts containing dental pulp stem cells: a randomized controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2018;45:841–50. https://doi.org/10.1111/jcpe.12931.
11. Hazeltine LB, Selekman JA, Palecek SP. Engineering the human pluripotent stem cell microenvironment to direct cell fate. Biotechnol Adv. 2013;31:1002–19. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.03.002.
12. Naji A, Eitoku M, Favier B, Deschaseaux F, Rouas-Freiss N, Suganuma N. Biological functions of mesenchymal stem cells and clinical implications. Cell Mol Life Sci. 2019;76:3323–48. https://doi.org/10.1007/s00018-019-03125-1.
13. Huang GT, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. J Dent Res. 2009;88:792–806.
14. Bianchi S, Torge D, Rinaldi F, Piattelli M, Bernardi S, Varvara G. Platelets' role in dentistry: from oral pathology to regenerative potential. Biomedicines. 2022. https://doi.org/10.3390/biomedicines10020218.
15. Buduru SD, Gulei D, Zimta A, Tigu AB, Cenariu D, Berindan-Neagoe I. The potential of different origin stem cells in modulating oral bone regeneration processes. Cells. 2019;8(1):29.
16. Gonzalez-Vilchis RA, Piedra-Ramirez A, Patiño-Morales CC, Sanchez-Gomez C, Beltran-Vargas NE. Sources, characteristics, and therapeutic applications of mesenchymal cells in tissue engineering. Tissue Eng Regen Med. 2022;19(2):325–61.
17. Chen F, Sun H, Lu H, Yu Q. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. Biomaterials. 2012;33:6320–44. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.05.048.
18. Bianchi S, Mancini L, Torge D, Cristiano L, Mattei A, Varvara G, et al. Bio-morphological reaction of human periodontal ligament fibroblasts to different types of dentinal derivates: in vitro study. Int J Mol Sci. 2021;22(16):8681. https://doi.org/10.3390/ijms22168681.
19. Novello S, Debouche A, Philippe M, Naudet F, Jeanne S. Clinical application of mesenchymal stem cells in periodontal regeneration: a systematic review and meta-analysis. J Periodontal Res. 2020;55:1–12. https://doi.org/10.1111/jre.12684.
20. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. Periodontol. 2012;59:203–27.
21. Chen F, Jin Y. Periodontal tissue engineering and regeneration: current approaches and expanding opportunities. Tissue Eng Part B Rev. 2010;16:219–55.
22. Iohara K, Zheng L, Ito M, Tomokiyo A, Matsushita K, Nakashima M. Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis. Stem Cells. 2006;24:2493–503.
23. Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, Colapietro AM, Sampath J, Morris JJ, et al. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. Nat Med. 2001;9:1028–34. https://doi.org/10.1038/nm0901-1028.
24. Dhote R, Charde P, Bhongade M, Rao J. Stem cells cultured on beta tricalcium phosphate (β-TCP) in combination with recombinant human platelet-derived growth factor—BB (rh-PDGF-BB) for the treatment of human infrabony defects. J Stem Cells. 2015;10:243–54.
25. Chen F, Gao L, Tian B, Zhang X, Zhang Y, Dong G, et al. Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial. Stem Cell Res Ther. 2016;7:33.
26. Sánchez N, Fierravanti L, Núñez J, Vignoletti F, González-Zamora M, Santamaria S, et al. Periodontal regeneration using a xenogeneic bone substitute seeded with autologous periodontal ligament-derived mesenchymal stem cells: A 12-month quasi-randomized controlled pilot clinical trial. J Clin Periodontol. 2020. https://doi.org/10.1111/jcpe.13368.
27. Abdal-Wahab M, Abdel GKA, Ezzatt OM, Hassan AAA, Ansary EL, Mervat MS, Gamal AY. Regenerative potential of cultured gingival fibroblasts in treatment of periodontal intrabony defects (randomized clinical and biochemical trial). J Periodontal Res. 2020;55:441–52.
28. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. BMJ. 2009;339: b2700.
29. Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RBM, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. BMC Med Res Methodol. 2014;14:43. https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43.
30. Balduzzi S, Rücker G, Schwarzer G. How to perform a meta-analysis with R: a practical tutorial. Evid Based Ment Health. 2019;22:153–60. https://doi.org/10.1136/ebmental-2019-300117.
31. Chung VH, Chen AY, Kwan C, Chen PK, Chang SC. Mandibular alveolar bony defect repair using bone morphogenetic protein 2-expressing autologous mesenchymal stem cells. J Craniofac Surg. 2011;22:450–4. https://doi.org/10.1097/SCS.0b013e3182077de9.
32. Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Yamada A, Takagi R, et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. Biomaterials. 2011;32:5819–25. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.04.071.
33. Fawzy El-Sayed KM, Mekhemar MK, Beck-Broichsitter BE, Bähr T, Hegab M, Receveur J, et al. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells in conjunction with IL-1ra-hydrogel synthetic extracellular matrix. J Clin Periodontol. 2015;42:448–57. https://doi.org/10.1111/jcpe.12401.
34. Han J, Menicanin D, Marino V, Ge S, Mrozik K, Gronthos S, et al. Assessment of the regenerative potential of allogeneic periodontal ligament stem cells in a rodent periodontal defect model. J Periodontal Res. 2014;49:333–45. https://doi.org/10.1111/jre.1211.
35. Duan X, Tu Q, Zhang J, Ye J, Sommer C, Mostoslavsky G, et al. Application of induced pluripotent stem (iPS) cells in periodontal tissue regeneration. J Cell Physiol. 2011;226:150–7. https://doi.org/10.1002/jcp.22316.
36. Suaid FF, Ribeiro FV, Rodrigues TL, Silvério KG, Carvalho MD, Nociti FH, et al. Autologous periodontal ligament cells in the treatment of class II furcation defects: a study in dogs. J Clin

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Periodontol. 2011;38:491–8. https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01715.x.
37. Nuñez J, Sanz-Blasco S, Vignoletti F, Muñoz F, Arzate H, Villalobos C, et al. Periodontal regeneration following implantation of cementum and periodontal ligament-derived cells. J Periodontal Res. 2012;47:33–44. https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2011.01402.x.
38. Simsek SB, Keles GC, Baris S, Cetinkaya BO. Comparison of mesenchymal stem cells and autogenous cortical bone graft in the treatment of class II furcation defects in dogs. Clin Oral Investig. 2012;16:251–8. https://doi.org/10.1007/s00784-010-0486-7.
39. Suaid FF, Ribeiro FV, Gomes TR, Lopes ES, Silvério KG, Carvalho MD, Nociti FH, et al. Autologous periodontal ligament cells in the treatment of Class III furcation defects: a study in dogs. J Clin Periodontol. 2012;39:377–84. https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01858.x.
40. Zhou W, Mei L. Effect of autologous bone marrow stromal cells transduced with osteoprotegerin on periodontal bone regeneration in canine periodontal window defects. Int J Periodontics Restorative Dent. 2012;32:174.
41. Khorsand A, Eslaminejad MB, Arabsolghar M, Paknejad M, Ghaedi B, Rokn AR, et al. Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue. J Oral Implantol. 2013;39:433–43. https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-12-00027.
42. Tobita M, Uysal CA, Guo X, Hyakusoku H, Mizuno H. Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. Cytotherapy. 2013;15:1517–26. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.05.007.
43. Yu X, Ge S, Chen S, Xu Q, Zhang J, Guo H, et al. Human gingiva-derived mesenchymal stromal cells contribute to periodontal regeneration in beagle dogs. Cells Tissues Organs. 2013;198:428–37. https://doi.org/10.1159/000360276.
44. Iwasaki K, Komaki M, Yokoyama N, Tanaka Y, Taki A, Honda I, et al. Periodontal regeneration using periodontal ligament stem cell-transferred amnion. Tissue Eng Part A. 2014;20:693–704. https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2013.0017.
45. Cai X, Yang F, Yan X, Yang W, Yu N, Oortgiesen DAW, et al. Influence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells preimplantation differentiation approach on periodontal regeneration in vivo. J Clin Periodontol. 2015;42:380–9. https://doi.org/10.1111/jcpe.12379.
46. Nagahara T, Yoshimatsu S, Shiba H, Kawaguchi H, Takeda K, Iwata T, et al. Introduction of a mixture of β-tricalcium phosphate into a complex of bone marrow mesenchymal stem cells and type I collagen can augment the volume of alveolar bone without impairing cementum regeneration. J Periodontol. 2015;86:456–64. https://doi.org/10.1902/jop.2014.140384.
47. Paknejad M, Eslaminejad MB, Ghaedi B, Rokn A, Khorsand A, Etemad-Moghadam S, et al. Isolation and assessment of mesenchymal stem cells derived from bone marrow: histologic and histomorphometric study in a canine periodontal defect. J Oral Implantol. 2015;41:284–91. https://doi.org/10.3390/ijms19040944.
48. Zhang C, Yan B, Cui Z, Cui S, Zhang T, Wang X, et al. Bone regeneration in minipigs by intrafibrillarly-mineralized collagen loaded with autologous periodontal ligament stem cells. Sci Rep. 2017. https://doi.org/10.1038/s41598-017-11155-7.
49. Tassi SA, Sergio NZ, Misawa MYO, Villar CC. Efficacy of stem cells on periodontal regeneration: systematic review of pre-clinical studies. J Periodontal Res. 2017;52:793–812. https://doi.org/10.1111/jre.12455.
50. Yan X, Yang F, Jansen JA, de Vries RBM, van den Beucken J, Jeroen JJP. Cell-based approaches in periodontal regeneration: a systematic review and meta-analysis of periodontal defect models in animal experimental work. Tissue Eng Part B Rev. 2015;21:411–26. https://doi.org/10.1089/ten.teb.2015.0049.
51. Wikesjö UM, Sorensen RG, Wozney JM. Augmentation of alveolar bone and dental implant osseointegration: clinical implications of studies with rhBMP-2. J Bone Joint Surg Am. 2001;83:136.
52. Xie J, Peng C, Zhao Q, Wang X, Yuan H, Yang L, et al. Osteogenic differentiation and bone regeneration of iPSC-MSCs supported by a biomimetic nanofibrous scaffold. Acta Biomater. 2016;29:365–79. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.10.007.
53. Tang M, Chen W, Liu J, Weir MD, Cheng L, Xu HHK. Human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cell seeding on calcium phosphate scaffold for bone regeneration. Tissue Eng Part A. 2014;20:1295–305. https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2013.0211.
54. Harris CT, Cooper LF. Comparison of bone graft matrices for human mesenchymal stem cell-directed osteogenesis. J Biomed Mater Res A. 2004;68:747–55.
55. Lee YM, Seol YJ, Lim YT, Kim S, Han SB, Rhyu IC, et al. Tissue-engineered growth of bone by marrow cell transplantation using porous calcium metaphosphate matrices. J Biomed Mater Res. 2001;54:216–23.

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

11.2 ARTÍCULO 2

Título: ***Regeneration of periodontal intrabony defects using platelet-rich fibrin (PRF): a systematic review and network meta-analysis***

Fábio França Vieira E Silva # 1, Luis Chauca-Bajaña # 2, Vito Carlo Alberto Caponio # 3, Kareelend Andreina Segura Cueva 4, Byron Velasquez-Ron 5, Maria Elena Padín-Iruegas 6, Lays Lamolha Almeida 7, Alejandro Ismael Lorenzo-Pouso 8, José Manuel Suárez-Peñaranda 9, Mario Pérez-Sayáns 10

PMID: 38771493

DOI: https://doi.org/10.1007/s10266-024-00949-7

Revista: Odontology.

Año: 2024

Factor de Impacto (JCR 2023): 1.9

Cuartil: Q2

Categoría: Dentistry, Oral Surgery & Medicine

Posición: 66/157.

Otros: Open Access

Link: https://link.springer.com/article/10.1007/s10266-024-00949-7

Contribuciones: responsable, de realizar la búsqueda, la selección de estudios potencialmente elegibles, la extracción de datos y la creación de tablas,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Odontology
https://doi.org/10.1007/s10266-024-00949-7

REVIEW ARTICLE

Regeneration of periodontal intrabony defects using platelet-rich fibrin (PRF): a systematic review and network meta-analysis

Fábio França Vieira e Silva[1] · Luis Chauca-Bajaña[2] · Vito Carlo Alberto Caponio[3] · Kareelend Andreina Segura Cueva[4] · Byron Velasquez-Ron[5] · Maria Elena Padín-Iruegas[6] · Lays Lamolha Almeida[7] · Alejandro Ismael Lorenzo-Pouso[8] · José Manuel Suárez-Peñaranda[1] · Mario Pérez-Sayáns[9]

Received: 21 February 2024 / Accepted: 4 May 2024
© The Author(s) 2024

Abstract
One of the most promising approaches to correct periodontal bone defects and achieve periodontal regeneration is platelet-rich fibrin (PRF). This systematic review and meta-analysis aimed to evaluate the regeneration of periodontal bone defects using PRF compared to other regenerative treatments. The data search and retrieval process followed the PRISMA guidelines. An electronic search of MEDLINE, Cochrane, and PubMed databases was performed, selecting exclusively randomized clinical trials where the following were measured: probing depth reduction (PD), clinical attachment level gain (CAL), and radiographic bone fill (RBF). Out of 284 selected articles, 32 were chosen based on inclusion criteria. The use of platelet-rich fibrin (PRF) + open flap debridement (OFD), PRF + metformin, PRF + platelet-rich plasma (PRP), and PRF + OFD/bone graft (BG) significantly reduced PD and improved CAL and RBF. However, the combination of PRF + BG, PRF + metformin, and PRF + STATINS reduced CAL. The intervention of PRF combined with different treatments such as metformin, OFD, PRP, BG, and STATINS has a significant impact on improving PD and CAL. The use of PRF significantly improved the regeneration of periodontal bone defects compared to other treatments.

Keywords Furcation defects · Guided periodontal tissue regeneration · Platelet-rich fibrin · Periodontal disease · Randomized clinical trial

Introduction

Periodontal disease is a multifactorial chronic disease that destroys the supporting tissues of the tooth (bone, cement, and periodontal ligament) [1, 2]. Studies indicate that 47% to 50% of the adult population has periodontal disease, and 38.5% are in moderate to severe stages of the disease (stage III or stage IV) [3–5]. The main objective of periodontal disease treatment is to suppress inflammation by controlling infection, although it is also possible to achieve partial periodontal regeneration in certain cases [6]. Periodontal regeneration is the reconstruction of the part of the tissues that suffered damage and may be accompanied by the loss of supporting tissues [7]. The pathological progression of periodontal disease will generate bone resorption causing vertical and/or horizontal bone defects [8]. Periodontal regeneration seeks to promote the growth of new tissues and the proper formation of periodontal structures to restore the health and function of teeth affected by periodontal diseases [9]. Currently, there are surgical techniques and regenerative materials such as guided tissue regeneration, growth factors, enamel matrix derivates, bone grafts, barrier membranes, and mesenchymal stem cells that are used to repair and regenerate periodontal tissue, bone defects, atrophic alveolar ridge, and furcation defects [10]. In regenerative medicine, the correction of periodontal intrabony defects using platelet concentrates (PC) has been studied [11]. Platelet-rich plasma (PRP) releases growth factors for tissue healing and regeneration [12, 13], demonstrating that anticoagulants interfere with the angiogenic and regenerative responses measured by the plates [14]. In regenerative medicine and dentistry, a second-generation platelet concentrate called platelet-rich fibrin (PRF) has been introduced, which does not require

Fábio França Vieira e Silva, Luis Chauca-Bajaña and Vito Carlo Alberto Caponio authors contributed equally.

Extended author information available on the last page of the article

Published online: 21 May 2024

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

anticoagulants [15, 16]. Periodontal intraosseous defects are considered to have good regeneration potential [17]. Several randomized clinical trials (RCTs) have been reported using PRF since one of the advantages is the formation of dense fibrin clots with platelets and leukocytes, which favors a more prolonged release over time [18, 19]. In addition, the use of PRF in periodontal bone defects has been studied in several systematic reviews, which conclude that it favors the healing of periodontal tissues [20]. The present systematic review and meta-analysis aim to evaluate the regeneration of periodontal bone defects using PRF in comparison with other regenerative treatments.

Material and methods

Prospero database was originally accessed in May of 2023 and the protocol for this systematic review and meta-analysis was submitted and successfully registered: CRD42023431418. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) guidelines were followed [21].

PICO question

"Is the regeneration of periodontal intrabony defects with PRF more effective than other techniques?" (P: Articles with studies of periodontal intrabony defects in humans were evaluated; I: Intervention, regeneration of periodontal intrabony defects performed with PRF, alone or in combination with other biomaterials; C: Comparison of the different regeneration results of the supporting periodontal tissue with different regenerative materials; O: Observation, the amount of periodontal regeneration was compared, measured by probing depth, clinical attachment level, and alveolar bone in the periodontal defect).

Search strategy and database screening

The Rayyan QCRI program (Qatar Computing Research Institute, Doha, Qatar) was used to identify eligible articles. The search strategy included the screening of different databases, such as MEDLINE through PubMed, EMBASE through OVID, Web of Science, Scopus, Cochrane Library, Clinical Trials, the five WHO regional bibliographic databases (AIM, LILACS, IMEMR, IMSEAR, WPRIM), and Conference Proceedings Citation Index. A combination of keywords and terms was set and adjusted for each database. The simple model of keywords used were: "Platelet-rich fibrin", "Platelet-rich plasma", "Periodontal attachment loss", "Alveolar bone loss", "Guided tissue regeneration", "PRF", "Periodontal bone defects", "Furcation defects"; AND/OR were also included when searching. This process was complemented by a manual search (peer-reviewed journals with related content).

Eligibility criteria

Inclusion criteria

1. Studies on the regeneration of bone defects with PRF in humans; 2. Studies of randomized clinical trials with PRF alone or with other regenerative biomaterials used locally to correct periodontal defects; 3. Regeneration data probing depth, clinical attachment level, and alveolar bone; 4. Studies published in English.

Exclusion criteria

1. Studies including patients with diabetes; 2. Studies including patients with osteoporosis; 3. Studies with patients with genetic modifications; 4. Preclinical in vitro or animal studies; 5. Periodontal regeneration without using PRF; 6. Studies that are not randomized clinical trials; 7. Clinical cases, cohort, and retrospective studies; 8. Studies for which measurements and standard deviation data were missing; 9. Reviews, systematic reviews, and meta-analysis.

Studies screening and data extraction

An ad-hoc extraction sheet was created and filled independently by three investigators (LC, KS, and MPS) using a customized data sheet. Any doubts that existed between the three investigators were resolved by three investigators (BVR, CCC, and REV) who were unaware of the study hypothesis. The following data were recorded: First author, year, study design, type of study, number of people, gender, mean age, types of defects, intervention groups, control group, smokers, conclusions, mean difference (MD) in probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), alveolar bone, spin system, the volume of blood drawn, and spin parameters (Table 1; Supplementary Table 1).

Assessment of risk of bias (RoB)

Two authors (MS, VM) independently assessed the included reports, using all checklist items of the respective scales. The Cochrane Risk of Bias Tool for Randomized Controlled Trials was used to assess randomized controlled trials [22].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1 General overview of the included studies

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
OFD vs PRF										
Sharma and Pradeep 2011 [15]	RCT parallel	9 months	42	24 M 18 F	35.3	3 walls	T: 28, OFD + PRF	C: 28 OFP	No	Greater reduction in probing depth, CAL gain, and bone fill at PRF-treated sites with conventional open-flap debridement
Thorat et al. 2011 [16]	RCT parallel	9 months	32	20 M 12 F	30.7	2 and 3 walls	T: 16, OFD + PRF	C: 16, OFD	No	Greater reduction in PD, more CAL gain, and greater filling of intrabony defects in the PRF-treated sites
Rosamma et al. 2014 [17]	TC split mouth	12 months	15	6 M 9 F	29.5	2 and 3 walls	T: 15, OFD + PRF	C: 15, OFD	No	Clinically, the use of PRF in both gel and membrane forms is more effective than open flap debridement alone in the management of horizontal periodontal defects
Ajwani et al. 2015 [18]	RCT	9 months	20	10 M 20 F	30.5	2 and 3 walls	T: 20, OFD + PRF	C: 20, OFD	No	The complementary use of PRF with OFD significantly improves defect filling compared to OFD alone
Bajaj et al. 2017 [19]	RCT	9 months	17	9 M 8 F	29.7	2 and 3 walls	T: 27, OFD + PRF	C: 27, OFD	No	There is greater bone fill in the PRF-treated areas with conventional OFD than with conventional OFD alone
Patel et al. 2017 [20]	RCT	12 months	13	4 M 9 F	44	2 and 3 walls	T: 13, OFD + PRF	C: 13, OFD	No	The use of PRF with conventional OFD can potentially be used in the treatment of periodontal bone defects

Table 1 (continued)

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
Pradeep et al. 2017 [21]	RCT	9 months	62	34 M 28 F	39.7	3 walls	T1: 19, OFD + PRF, T2: 20, OFD + PRF + HA	C: 18, OFD	No	PRF results in significant improvements of clinical parameters. When added to PRF, HA augments the regenerative effects seen with PRF in 3-wall IBD treatment
Thorat et al. 2017 [22]	RCT	12 months	15	7 M 8 F	25	3 walls	T: 15, OFD + PRF	C: 15, OFD	-	The use of PRF significantly improves the clinical and radiographic results of open flap debridement in the treatment of periodontal intrabony defects in patients affected by localized aggressive periodontitis
BG vs PRF										
Mathur et al. 2015 [23]	RCT	6 months	25	14 M 11 F	39.7	2 and 3 walls	T: 19, OFD + PRF	C: 19, OFD + ABG	No	The use of PRF or ABG was effective in the treatment of three-wall periodontal intrabony defects with uneventful healing of the sites
Shah et al. 2015 [24]	RCT	6 months	20	-	-	2 and 3 walls	T: 20, OFD + PRF	C: 20, OFD + DFDBA	No	PRF has shown significant results after 6 months, which is comparable to DFDBA for periodontal regeneration

Table 1 (continued)

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
Chadwick et al. 2016 [25]	RCT	6 months	36	20 M 16 F	54.9	2 and 3 walls	T: 17, OFD + PRF	C: 19, OFD + DFDBA	Yes	Treatment of periodontal intrabony defects with DFDBA or PRF resulted in a significant gain in CAL and bone fill after 6 months of healing, with no significant differences between materials
Galav et al. 2016 [26]	RCT	9 months	20	-	45	2 and 3 walls	T: 20, OFD + PRF	C: 20, OFD + ABG	No	Both ABG and PRF can be used in predictable ways to rebuild lost periodontal structures as indicated by PPD reduction and RAL gain. However, in terms of filling bone defects, ABG produces a more definitive result than PRF
Yajamanya et al. 2017 [7]	RCT	9 months	32	-	-	2 and 3 walls	T1: 28, OFD + BioG T2: 28, OFD + PRF	C: 28, OFD	No	Significant improvements in clinical parameters and radiographic results with PerioGlas ® and autologous PRF to treat periodontal intrabony defects compared to OFD alone
BG vs BG + PRF										

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1 (continued)

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
Bansal and Bharti 2013 [27]	RCT	6 months	10	-	-	-	T: 10, OFD + DFDBA + PRF	C: 10, OFD + DFDBA	-	Combining PRF with DFDBA demonstrated better results in probing depth reduction and clinical attachment level gain compared to DFDBA alone in the treatment of periodontal intrabony defects
Elgendy and Abo Shady 2015 [28]	RCT	6 months	20	-	44	-	T: 20, OFD + HA + PRF	C: 20, OFD + NcHA	Yes	NcHA bone grafting in combination with PRF demonstrated clinical advantages beyond those achieved by NcHA alone
Agarwal et al. 2016 [29]	RCT	12 months	30	15 M 15 F	52	2 and 3 walls	T: 30, OFD + DFDBA/ PRF	C: 30, OFD + DFDBA	No	Combination of PRF and DFDBA is more effective than DFDBA with saline for the treatment of infrabony periodontal defects
Naqvi et al. 2017 [30]	RCT	9 months	10	7 M 3 F	N/R	2 and 3 walls	T: 10, OFD + BioG + PRF	C: 10, OFD + BioG	No	The results of this study showed that BioG putty alone from both groups and the combination of PRF and BioG putty are effective in the treatment of subbony periodontal defects
Sezgin et al. 2017 [31]	RCT	6 months	15	8 M 7 F	N/R	2 and 3 walls	T: 15, OFD + ABBM + PRF	C: 15, OFD + ABBM	No	Both therapies are effective in the treatment of intrabony defects

Table 1 (continued)

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
Liu et al. 2021 [32]	RCT	12 months	15	4 M 11 F	36.0 ± 8.6	-	T: 14 BPBM + PRF	C: 14 BPBM	No	The BPBM-PRF complex is clinically more effective and produces better clinical results
Paolantonio et al. 2020 [33]	RCT	12 months	44	15 M 29 F	53 ± 12	1 and 2 walls	T: 22 L-PRF and ABG	C: 22 EMD + ABG	No	The results suggest that the L-PRF + ABG combination treatment of uncontained IBD produces non-inferior results in terms of CAL increase, PPD reduction, GR increase, and DBL increase compared to the EMD + ABG combination
Bodhare et al. 2019 [34]	RCT	6 months	20	11 M 9 F	35.9	2 and 3 walls	T: 20, OFD + Bioactive Glass + PRF	C: 20, OFD + Bioactive Glass	No	The use of Bioactive Glass, when used in combination with PRF, is more effective in gaining CAL, reducing PPD, and achieving greater bone fill compared to BG treatment alone in periodontal and intrabony defects. it is indicative of improved periodontal regeneration

BM vs PRF

Springer
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1 (continued)

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
Pham 2021 [35]	RCT	12 months	30	22 M 8 F	47.9	2 and 3 walls	T: 30 PRF + OFD	C: 30 GRUPO 2 BM + GTR Y 30 GRUPO 3 OFD	No	Compared to GTR, PRF yielded comparable periodontal tissue healing and treatment results in terms of improvements in clinical and radiographic parameters. Compared with OFD alone, PRF also significantly improved these parameters in the treatment of intrabony defects
Ustaoğlu et al. 2020 [36]	RCT	9 months	45	23 M 22 F	40 ± 8.37	Intrabony defects associated with a primary periodontal lesion with secondary endodontic involvement or true combined endodontic-periodontal lesions in single-rooted teeth	T: 15 PRF + OFD	C: 15 BM + GTR GRUPO 2 Y 15 OFD GRUPO 3	No	PRF can give similar successful results to GTR in the treatment of IBD with endo-perio lesions
Panda et al. 2016 [37]	RCT	9 months	18	10 M 8 F	38.1	3 walls	T: 18, OFD + BM + PRF	C: 18, OFD + BM	No	The adjunctive use of PRF in combination with the barrier membrane is more effective in the treatment of intrabony defects in chronic periodontitis compared to the barrier membrane alone

PRP vs PRF

Table 1 (continued)

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
Pradeep et al. 2012 [38]	RCT	9 months	54	27 M 27 F	36.8	3 walls	T1: 17, OFD + PRP T2: 16, OFD + PRF	C: 17, OFD	No	Similar reduction of PD, CAL gain and BF in PRF or PRP treated sites with conventional OFD
EMD vs PRF										
Gupta et al. 2014 [39]	RCT	6 months	30	15 M 15 F	-	3 walls	T: 22, OFD + PRF	C: 22, OFD + EMD	No	Both Emdogain and platelet-rich fibrin were effective in regenerating intrabony defects. Emdogain was significantly superior in terms of defect resolution percentage
Csif6Nagy 2021 [40]	RCT	6 months	18	9 M 9 F	55,5 ± 14,5	2 and 3 walls	T: 15, OFD + PRF	C: 15 OFD + EMD	No	New generation PRF appears to be as clinically effective as DME during surgical treatment of intrabony defects
EMD vs EMD + PRF										
Aydemir Turkal et al. 2016 [41]	RCT	6 months	28	14 M 14 F	38.5	1, 2 and 3 walls	T: 25, OFD + EMD + PRF	C: 24, OFD + EMD	No	Both therapies resulted in significant clinical improvement in IBD treatment. The addition of PRF did not improve clinical and radiographic results
PRF vs PRF + metformin										

Table 1 (continued)

Author	Study design	Follow-up	Sample size	Gender	Average age	Types of defects	Intervention group	Control group	Smokers	Conclusion
Pradeep et al. 2015 [42]	RCT	9 months	120	60 M 60 F	41	3 walls	T1: 30, OFD + PRF T2: 30, OFD + 1% MF + PRF	C1: 30, OFD C2: 30, OFD + 1% MF	No	The study showed that the PRF + 1% MF group was more effective than MF, PRF or OFD alone in the treatment of infrabony periodontal defects
PRF vs PRF + bisphosphonates										
Kanoriya et al. 2016 [43]	RCT	9 months	90	43 M 47 F	40.3	3 walls	T1: 30, OFD + PRF T2: 30, OFD + PRF/1% ALN	C: 30, OFD	No	Combined approach therapy of PRF + 1% ALN for the treatment of IBD in CP patients showed better clinical parameter outcomes with greater reduction in IBD depth compared to PRF and access therapy alone
PRF vs PRF + statins										
Martande et al. 2016 [44]	RCT	9 months	96	48 M 48 F	37.6	3 walls	T1: 30, OFD + PRF T2: 30, OFD + PRF + 1,2% ATV	C: 30, OFD	No	1.2% ATV failed to increase the regenerative potential of PRF in periodontal bone defects alone
Pradeep et al. 2016 [45]	RCT	9 months	90	45 M 45 F	35	2 and 3 walls	T1: 30, OFD + PRF T2: 30, OFD + PRF + 1,2%rosuvastatina	C: 30, OFD	No	OFD with rosuvastatin and PRF produces significantly greater periodontal benefits compared to OFD alone or with PRF

General Information. *OFD* Open Flap Debridement; *PRF* Platelet-Rich Fibrin; *CAL* Clinical Attachment Level; *T* Treatment; *C* Control; *HA* Hydroxyapatite; *ABG* Autogenous Bone Graft; *DFDBA* Allogeneic Demineralized Freeze-Dried Bone, *BioG* Bioactive glass; *ABBM* Anorganic Bovine Bone Mineral; *BPBM* Bovine Porous Bone Mineral; *L-PRF* Leukocytes and Platelet-Rich Fibrin; *EMD* Enamel Matrix Derivative; *M* Men; *F* Female; *GTR* Guided Tissue Regeneration; *BM* Barrier Membrane; *PRP* Platelet-Rich Plasma; *PD* Probing Depth; *BF* Bone Filler; *MF* MetFormin; *ALN* Alendronate; *ATV* Atorvastatin; *BG* Bone Graft; *RCT* Randomized Clinical Trials [7, 12, 30–59].

The RoB was classified as "high", "unclear" and "low". These studies were analyzed in five domains: 1. Sequence generation: It was evaluated by taking into account whether or not there were periodontal intrabony defects; 2. Concealment: Baseline characteristics were checked in the test and control groups; 3. Incomplete data: The inclusion of all data, number of patients, number of periodontal intrabony defects, control group, intervention group, patients without systemic disease, probing depth data, clinical attachment level, and alveolar bone was observed; 4. Selective reporting of results: Study protocols and group results were assessed only with PRF or other regenerative materials and other sources of bias; 5. Selective reporting of the results: The intervention groups with PRF in periodontal intrabony defects were compared with the control group, to observe if there were patients with additional medication, different treatments of intrabony defects, the number of interventions performed, and if any people received the same care or not.

Statistical analysis

Qualitative analysis

A systematic review of all the included articles was carried out, determining the characteristics previously defined in the inclusion criteria (see data extraction). Two groups of studies were established: 1. The first group of periodontal intrabony defects with PRF alone or mixed with other types of regenerative materials; 2. The second group only other regenerative materials or without placing any regenerative materials.

Probing depth gain, clinical attachment level, and periodontal bone regeneration were evaluated in each group.

Meta-analysis

To perform the meta-analysis, the studies were grouped according to their characteristics and results obtained, extracting the name, sample size, mean, and standard deviation of the treatment and control groups, segmented by PD, CAL, and radiographic bone fill (RBF) criteria. With all the data sorted and classified, the statistical software IBM SPSS version 29 was used, the Meta-analysis section with continuous results, where Cohen's d was used for the effect size with the random effects model, with a 95% confidence interval, with a restricted maximum likelihood estimator (REML), adding the Forest-plot graphs with effect size, standard error, confidence interval limits, P-value, weighting, including the reference line for overall effect size and null effect size, as well as the Funnel-plot graph showing standard error and effect size. According to the results, p-values <0.05 are considered statistically significant, according to the I2 the tests with values $<25\%$ were classified as low heterogeneity, while values of 25 and $<50\%$ are classified as moderate, but $>50\%$ are considered high heterogeneity.

Network meta-analysis

To assess the effects of various commercial and non-commercial biomaterials, including information regarding grafting materials that haven't been directly compared before, an arm-based network meta-analysis was carried out. Network meta-analysis (NMA) is an expansion of the traditional pairwise meta-analysis and can be used to compare many distinct treatments. Using this method, it is possible to synthesize a lot of data, estimate relative efficacy, and rank interventions based on their effectiveness. Results from the data extraction process were combined afterward (network setup command) to fit STATA software. Similarity, transitivity, and consistency were tested as relevant assumptions for network meta-analysis [23]. By analyzing demographic, intervention, comparison, and outcome, the similarity of the included studies was subjectively evaluated [24]. By statistically examining the consistency of the results of direct and indirect comparisons, transitivity was further evaluated [25]. Predictive interval plots and network geometry plots were consequently made. We used the network geometry plot to visualize the network of the various groups and investigate connections among them. The groups are represented by the nodes, and the direct comparisons between groups are shown by the edges. Surface under the Cumulative Ranking Curves (SUCRA) were utilized to determine the relative ranking of groups using probability. To establish a hierarchy of the interventions, SUCRA, a straightforward transformation of the mean rank, accounts for both the location and the variation of the relative treatment effects. The rank of the treatment improves with increasing SUCRA values. For hypothesis testing, a two-tailed p-value of 0.05 was regarded as significant. Clinical studies were used to extrapolate data on the mean difference, standard deviation, and total sample size for each intervention group. Three different NMA included PD, CAL, and RBF, and the relative mean effects and projections for each comparison are shown in the estimated summary effects forest plot, which includes confidence intervals and predictive intervals. NMA was performed using mvmeta network commands in the STATA software suggested by Chaimani et al. [26–29].

Results

Study selection

The results of the search are based on the PRISMA guidelines [21]. 284 articles whose abstracts were reviewed for

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

content relevant to the topic under study were identified, from which 252 studies were excluded. Once the critical analysis was completed, 32 articles from a randomized clinical trial met the inclusion criteria for the regeneration of periodontal intrabony defects with PRF alone or with another regenerative biomaterial [7, 12, 30–59]. These data can be found in Supplementary Fig. 1.

Quality assessment

Articles were assessed using the Cochrane RoB Tool for RCTs [22]. All studies were found to be at low RoB [7, 12, 30–59]. These data can be seen in Supplementary Table 2.

Meta-analysis

PD group

In Fig. 1, according to the Forest Plot to random-effects model, considering all groups, the overall effect size was 0.59 (0.21–0.97; p-value 0.00). The heterogeneity Tau-squared was 1.07, H-squared was 17.27 and I-squared was 0.94. In the test of overall effect size, z was equal to 3.08. The Funnel Plot also provides us with a rich analysis based on the standard error, that is, studies outside the funnel have publication bias, while studies inside and closer to the apex have higher methodological quality.

CAL group

In Fig. 2, according to the Forest Plot to random-effects model, considering all groups, the overall effect size was 0.67 (0.31–1.03; p-value 0.00). The heterogeneity Tau-squared was 0.96, H-squared was 15.55 and I-squared was 0.94. In the test of overall effect size, z was equal to 3.68. The Funnel Plot demonstrates evidence that the studies expressed publication bias. Pradeep et al. [56, 59] studies, and Martande et al. [51] found greater precision in their publication methodology based on 95% reliability.

Bone group

In Fig. 3, according to the Forest Plot to random-effects model, considering all groups, the overall effect size was 1.54 (0.70–2.37; p-value 0.00). The heterogeneity Tau-squared was 4.97, H-squared was 63.65 and I-squared was 0.98. In the test of overall effect size, z was equal to 3.61. The Funnel Plot, Thorat et al. [31], and Agarwal et al. [44] studies show greater precision in a CI95% when compared, for example, with Pradeep et al. [56].

Network meta-analysis (NMA)

PD group

Thirty-two studies were considered for PD NMA and direct and indirect comparisons were represented in the network geometry plot. PRF was the most representative treatment group, followed by blood clots and bone filling (Fig. 4A).

Overall inconsistency resulted in absence at global (p-value = 0.558) and local level (p-value ranging between 0.139 to 0.997). Visualization of the inconsistency was figured in the network forest plot, in which effect sizes by study were graphically represented (Fig. 4B).

Among the 15 interventions, 3 did not contribute to an improvement of PD, p-value > 0.05 (ATV, BF, and PRP), however, these interventions poorly contributed to the overall network geometry, with few studies being included. When also considering predictive intervals, of the 12 left interventions, 7 showed short predictive intervals, not crossing the null vertical line effect. These interventions might show positive results even in future studies and should be considered as an effective measure to improve PD compared to blood clots alone. When considering which intervention might be most effective, PRF was superior to ATV, BF, PRP, and MF1%, even though not statistically significant. EMD, BM, and bone fill reported very similar improvements in PD, with comparable effects to PRF. A combination of bone fill and PRF yielded better results compared to both bone fill and PRF alone, despite these results showing no statistical significance and large predictive intervals, which could lead in future clinical trials to null results. The combination of PRF with ATV, BF, MF, or rosuvastin (ROSU) generated increased effect size compared to PRF alone, while the addition of HA and EMD did not lead to gains (these comparisons were, however, not statistically significant).

Visualizing results based on SUCRA scores, the top 6 ranked treatments included a combination of PRF with other classes of drugs. PRF alone showed a SUCRA value of 49.3, representing almost 50% of cases with successful outcomes in terms of PD reduction. Similarly, bone filling registered a SUCRA value of 54.7, while a combination of PRF and bone fill raised the successful outcome at 68.7. Detailed SUCRA values and mean rank are illustrated in Supplementary Fig. 2.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

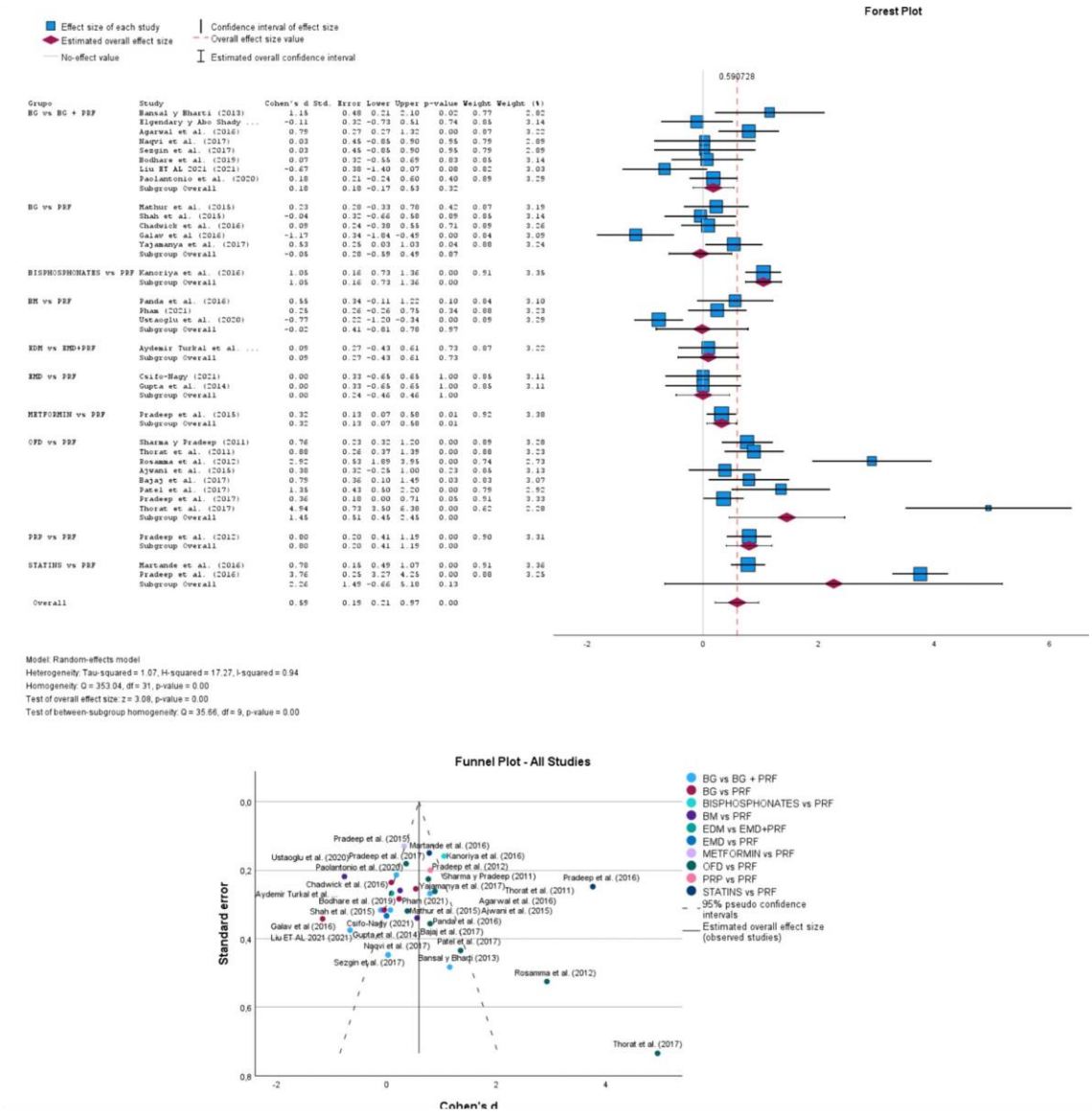


Fig. 1 Forest and Funnel Plot for PD group analysis. The overall effect size = 0.59 (0.21–0.97; p-value 0.00); Studies outside the funnel have publication bias, while studies inside and closer to the apex have higher methodological quality. PD: Probing Depth [7, 12, 30–59]

CAL group

Thirty-two studies were considered for CAL NMA and direct and indirect comparisons were represented in the network geometry plot (Fig. 5A). PRF was the most representative treatment group, followed by blood clots and bone filling.

Overall inconsistency resulted in absence at global (p-value = 0.567) and local level (p-value ranging between 0.102 to 0.996). Visualization of the inconsistency was figured in the network forest plot, in which effect sizes by study were graphically represented (Fig. 5B).

Among the 15 interventions, 5 did not contribute to an improvement of CAL, p-value > 0.05 (BF, ATV, MF1%, PRP, and EMD + PRF), however, these interventions poorly contributed to the overall network geometry, with few studies being included. When also considering predictive intervals, of the 10 left interventions, only a mixture of bone and PRF demonstrated short predictive intervals, not crossing

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

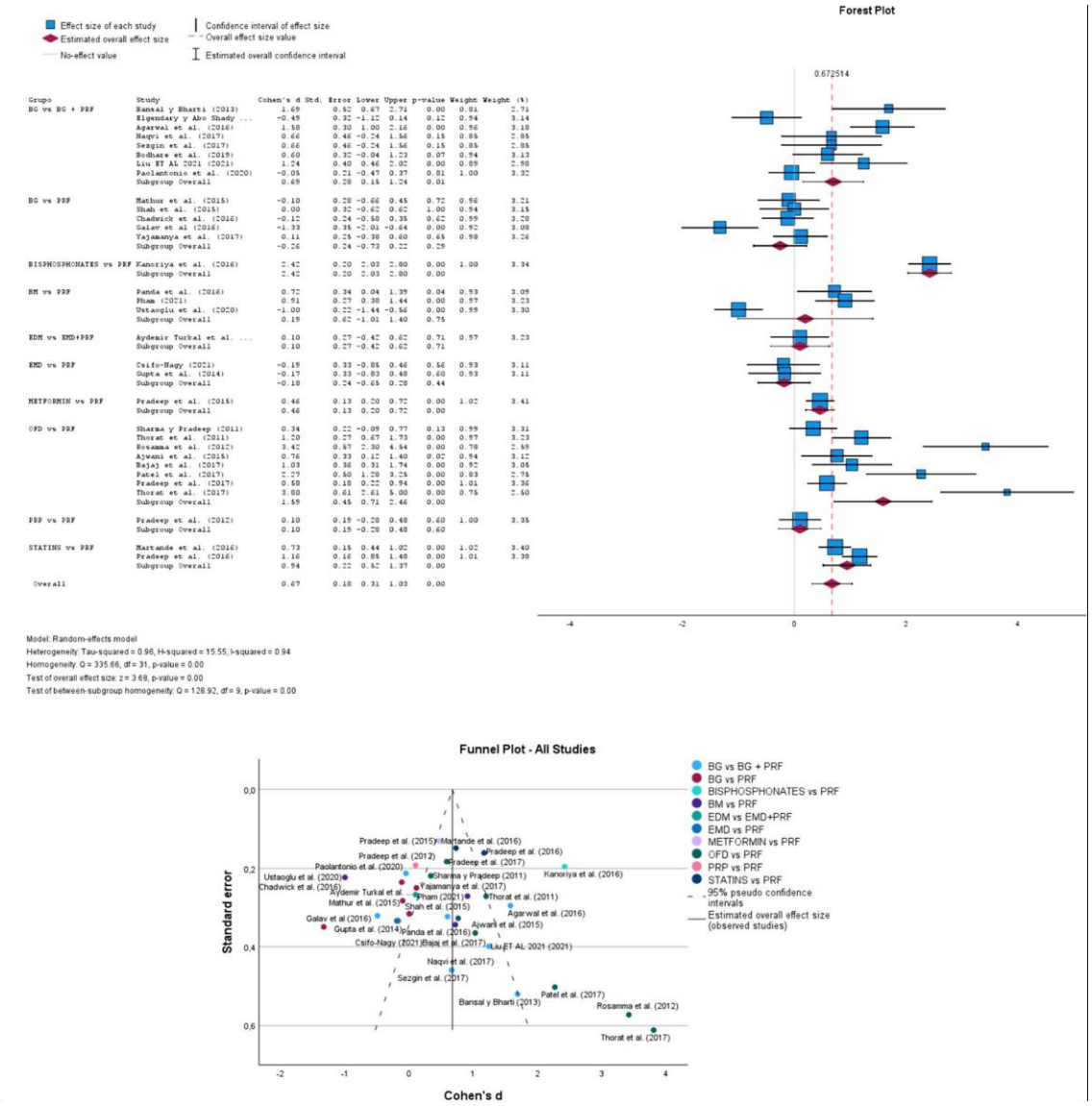


Fig. 2 Forest and Funnel Plot for CAL group analysis. The overall effect size = 0.67 (0.31–1.03; p-value 0.00); Studies outside the funnel have publication bias, while studies inside and closer to the apex have higher methodological quality. CAL: Clinical Attachment Level [7, 12, 30–59]

the null vertical line effect. This intervention might show positive results even in future studies and should be considered as an effective measure to improve CAL compared to blood clots alone. When considering which intervention might be most effective, a combination of bone and PRF was considered against all the other treatments. This combination yielded superior statistically significant results compared to bone or PRF alone, as well as in comparison to ATV and BF. This combination kept higher CAL recovery even when compared to a mixture of PRF with ATV, EMD, MF, and ROSU, however not statistically significant. The addition of BF to PRF resulted in a similar CAL compared to the bone and PRF mixture.

Visualizing results based on SUCRA scores, top-ranked treatment resulted combination of bone and PRF, with a mean rank of three among all the interventions and a SUCRA value of 86.3. The fifth top-ranked treatment included a combination of PRF with other molecules,

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

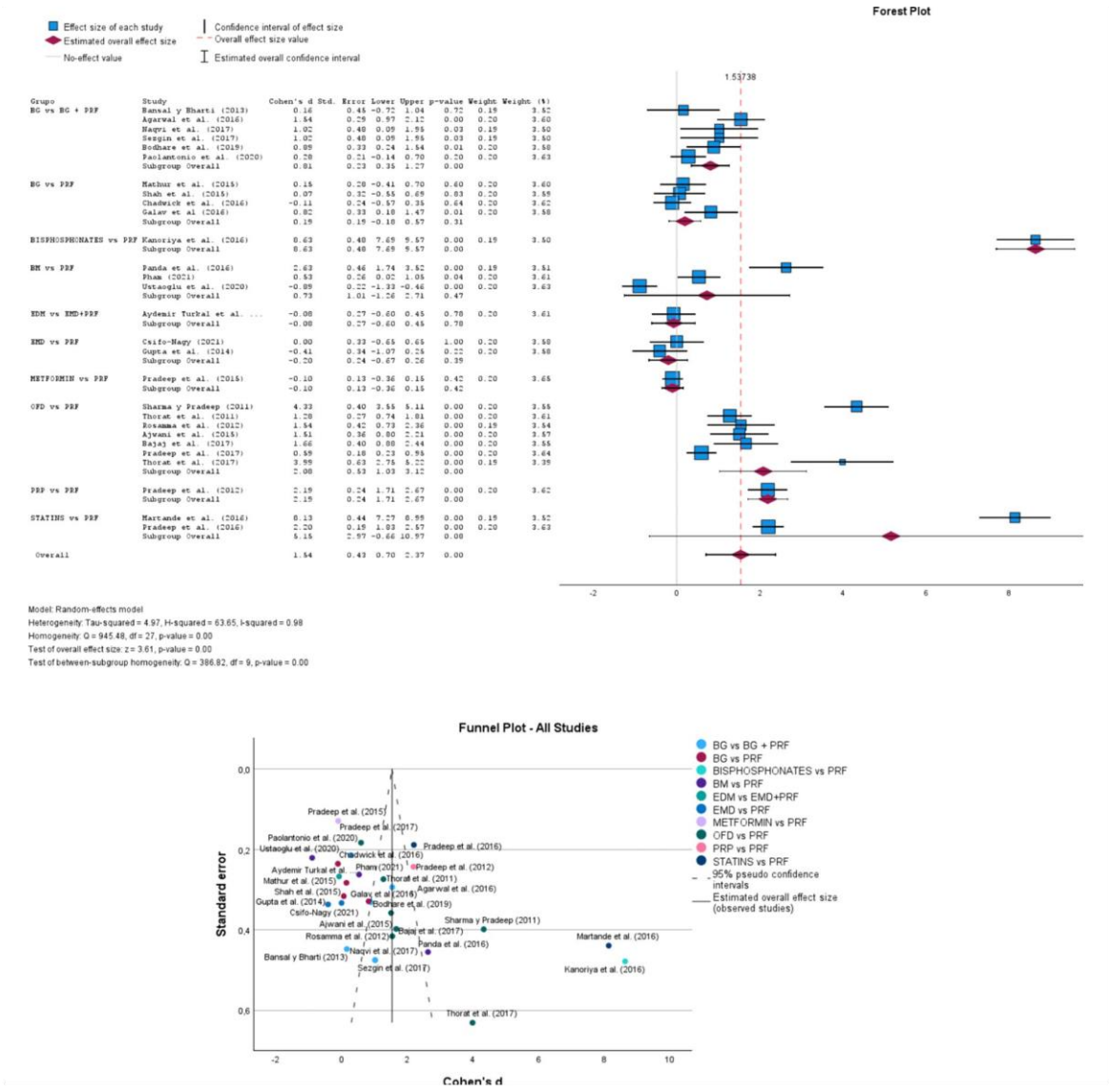


Fig. 3 Forest and Funnel Plot for Bone group analysis. The overall effect size = 1.54 (0.70–2.37; p-value 0.00); Studies outside the funnel have publication bias, while studies inside and closer to the apex have higher methodological quality [7, 12, 30–59]

such as BF, MF, ROFU, EMD, and ATV. PRF alone showed a SUCRA value of 47.2, representing almost of 50% of cases with successful outcomes in terms of CAL reduction. Similarly, bone filling registered a SUCRA value of 59.8. Detailed SUCRA values and mean rank are illustrated in Supplementary Fig. 3.

Bone group

Twenty-eight studies were considered for RBF NMA and direct and indirect comparisons were represented in the network geometry plot (Fig. 6A). PRF was the most

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

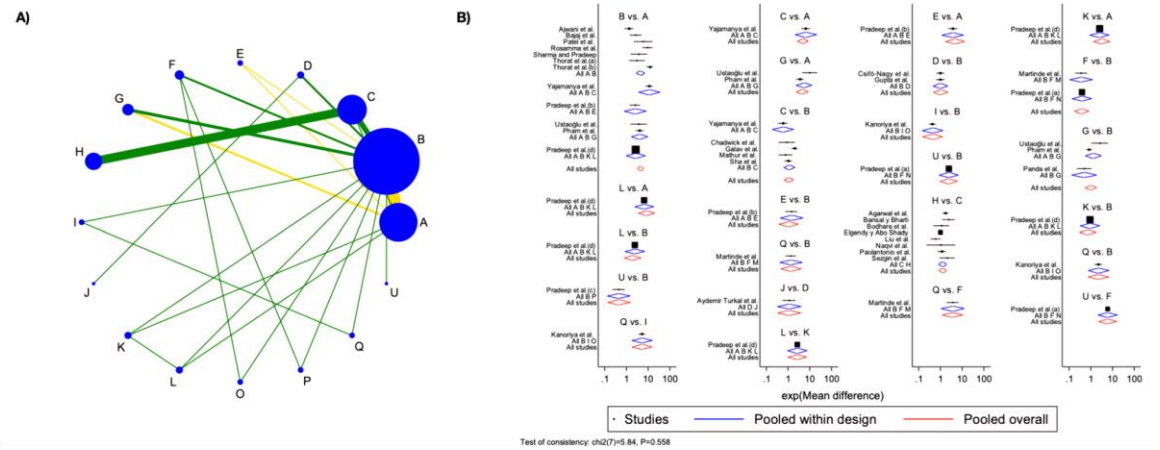


Fig. 4 Network geometry plot for PD group analysis and Network forest plot for PD group analysis. **A** Most of the comparisons were at low risk of bias, however, the main one, PRF vs. blood clots presented moderate bias; **B** Overall inconsistency resulted in absence at global (p-value = 0.558) and local levels (p-value ranging between 0.139 to 0.997. The letters corresponds to: A = ROSU1.2% + PRF; B = BF1% + PRF; C = MF1% + PRF; D = Bone Fill + PRF; E = 1.2%ATV + PRF; F = EMD + PRF; G = Bone Fill; H = PRF + HA; I = EMD; J = BM; K = PRF; L = MF1%; O = PRP; P = BF; Q = ATV; U = Blood Clot. The acronym corresponds to: PRF: Platelet-Rich Fibrin; HA: Hydroxyapatite; BM: Barrier Membrane; EMD: Enamel Matrix Derivative; PRP: Platelet-Rich Plasma; BF: Bone Filler; MF: MetFormin; ROSU = Rosuvastin; ATV = Atorvastatin [7, 12, 30–59]

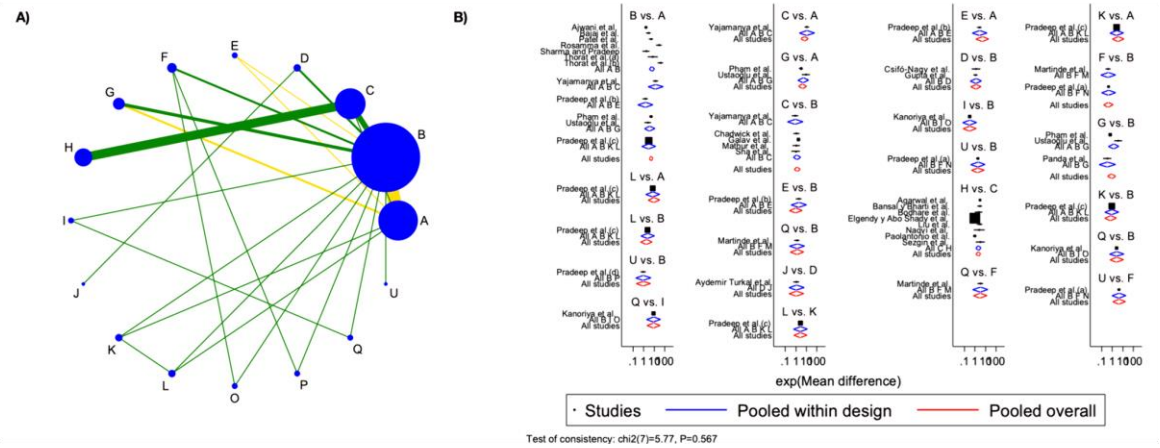


Fig. 5 Network geometry plot for CAL group analysis and Network forest plot for CAL group analysis. **A** Most of the comparisons were at low risk of bias, however, the main one, PRF vs. blood clots presented moderate bias; **B** Overall inconsistency resulted in absence at global (p-value = 0.567) and local levels (p-value ranging between 0.102 to 0.996. The letters corresponds to: A = Bone Fill + PRF; B = BF1% + PRF; C = MF1% + PRF; D = 1.2%ROSU + PRF; E = EMD + PRF; F = 1.2%ATV + PRF; G = Bone Fill; H = EMD; I = PRF + HA; J = PRF; K = PRP; L = BM; O = MF1%; P = ATV; Q = BF; U = Blood Clot. The acronym corresponds to: PRF: Platelet-Rich Fibrin; HA: Hydroxyapatite; BM: Barrier Membrane; EMD: Enamel Matrix Derivative; PRP: Platelet-Rich Plasma; BF: Bone Filler; MF: MetFormin; ROSU = Rosuvastin; ATV = Atorvastatin [7, 12, 30–59]

representative treatment group, followed by blood clots and bone filling.

Overall inconsistency resulted in present at the global level (p-value = 0.006), while at the local level, only blood clots versus BM and PRF versus BM yielded local inconsistency (p-values 0.012 and 0.033 respectively). Visualization of the inconsistency was figured in the network forest plot, in which effect sizes by study were graphically represented (Fig. 6B).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

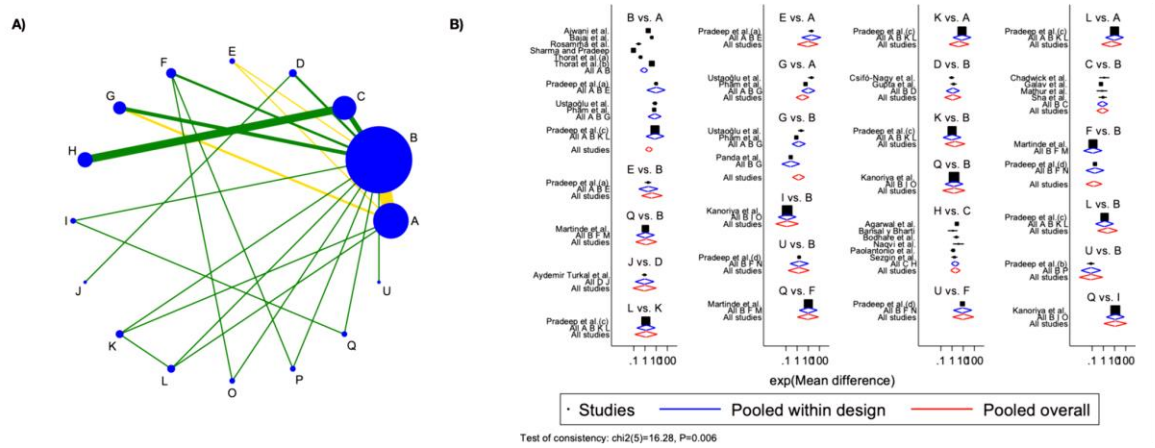


Fig. 6 Network geometry plot for RBF group analysis and Network forest plot for RBF group analysis. **A** Most of the comparisons were at low risk of bias, however, the main one, PRF vs. blood clots presented moderate bias; (B) Overall inconsistency resulted in the present at the global level (p-value = 0.006), while at the local level, only blood clots versus BM and PRF versus BM yielded local inconsistency (p-values 0.012 and 0.033 respectively). The letters corresponds to: A = PRF + HA; B = MF1% + PRF; C = Bone Fill + PRF; D = MF1%; E = BF1%PRF; F = BM; G = 1.2%ATV + PRF; I = EMD; J = EMD + PRF; K = PRF; L = Bone Fill; O = Blood Clot; P = BF; Q = ATV; U = PRP. The acronym corresponds to: PRF: Platelet-Rich Fibrin; HA: Hydroxyapatite; BM: Barrier Membrane; EMD: Enamel Matrix Derivative; PRP: Platelet-Rich Plasma; BF: Bone Filler; MF: MetFormin; ROSU = Rosuvastin; ATV = Atorvastatin [7, 12, 30–59]

Among the 15 interventions, with surprise, 3 led to worse RBF (PRP, BF, and ATV). All the other treatments were characterized by improved RBF compared to blood clots, however, seeing the large predictive intervals, these interventions could lead to unsuccessful results in future trials. Only PRF and PRF combined with HA led to statistically significant RBF improvements since their confidence interval did not cross the line of null effect. PRF + HA led to the highest RBF and was statistically significant compared to PRP, BF, ATV, and blood clots. All the other interventions demonstrated lower RBF, however, compared to PRF + HA, these differences were not statistically significant.

Visualizing results based on SUCRA scores, top-ranked treatment resulted combination of PRF and HA, with a mean rank of 3.5 among all the interventions and a SUCRA value of 83.7. Of interest, MF and PRF + MF resulted in the best second and fourth interventions. In this case, a combination of bone with PRF led to top-ranked results, as the third-best intervention. Detailed SUCRA values and mean rank are illustrated in Supplementary Fig. 4.

Discussion

PD group

STATISTS vs. PRF has the largest sample size but is not significant between the study groups, however, we can specifically direct that the BIPHOSPHONATES vs. PRF, OFD vs. PRF, and PRF vs. PRF groups resulted in statistical significance with a p-value < 0.05. These results are evident at CI95% in the position of the diamond in the forest plot (Fig. 1) in each group of studies.

The group of studies BG vs. BG + PRF is not significant, but studies such as Bansal and Bharti [42], Agarwal et al. [44], and Kanoriya et al. [57] have statistically significant risk factors. However, Ustaoglu et al. [51] are significant as a protective factor. Martande et al. [58] and Pradeep et al. [59] are significant with a risk factor for the regenerative potential of PRF only in periodontal bone defects. Galav et al. [41] and Yajamanya et al. [12] are highly significant with protective risk for the use of ABG or PRF as a rebuilder of periodontal structures, and significant with a risk factor for radiographic results with PerioGlas and PRF. Pradeep et al. [56] is a significant study with a risk factor of the PRF group + MF1%. The studies of Sharma and Pradeep [30], Thorat et al. [31], Rosamma et al. [32], Bajaj et al. [34], Patel et al. [35], Pradeep et al. [59], and Thorat et al. [37] are highly significant studies with control risk. The Pradeep et al. [53] study is statistically significant for the control risk in the PD reduction and gain of CAL and BF (Fig. 1).

CAL group

The results by groups of studies indicate that, according to Bilateral Significance, those less than 0.05 are statistically significant, for this the groups are BIPHOSPHONATES vs.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PRF, STATISTAS vs. PRF, METFORMIN vs. PRF, OFD vs. PRF, as well as all the studies in a global way turn out to be significant using CAL.

In the analysis of results within the groups, we also found the studies that have statistical significance, in the BG vs. BG + PRF group the study Bansal and Bharti [42], and Agarwal et al. [44] where PRF and ADFDB are more effective than ADFDB with saline solution. Liu et al. where the BPBM-PRF complex is clinically more effective with effective results. BIPHOSPHANES vs. PRF Kanoriya et al. [57] was the focused therapy combining PRF + ALN 1% for the treatment of IBD in patients. In the BM vs. PRF group, the studies by Panda et al. [52] are significant with 72% sensitivity where PRF in combination with barrier membrane is more effective. Pham et al. [50] are significant with a p-value of 0.00 where PRF gave positive results for periodontal tissue. Ustaoglu et al. [51] are significant with a p-value of 0.00 where the PRF can give positive results as GTR in the treatment of IBD. In the group of STATISTS vs. PRF, we found that the study by Martande et al. [58] is significant with 73% of sensitivity to control risk (Fig. 2).

Pradeep et al. [59] are significant where OFD with ROSU 1.2% and PRF produce periodontal benefits. In the BONE vs. PRF group, the Galav et al. [41] study is statistically significant where ABG as PRF can be used predictably for the reconstruction of periodontal structures. In the METFORMIN vs. PRF group, Pradeep et al. [56] are significant with control risk where the PRF + MF 1% group was more effective than MF, PRF, or OFD. For the group of OFD vs. PRF studies, the studies of Thorat et al. [31], Rosamma et al. [32], Ajwani et al. [33], Bajaj et al. [34], Patel et al. [36], Pradeep et al. [59], Thorat et al. [37] are significant for control risk (Fig. 2).

Bone group

The study groups were statistically significant due to the p-value of less than 0.05, in such a way that BG vs. BG + PRF, BIPHOSPHONATES vs. PRF, OFD vs. PRF, and PRP vs. PRF. At the global level of all the results of the study groups, significance is evidenced with a Z value of 3.605 and an effect size of 1.537.

When analyzing the Forest Plot graph (Fig. 3), it is evident that the overall result is relatively heterogeneous with an effect size of 1.537, with total risk. However when analyzing the groups of studies, although there are no significant results, the specific studies denote significance due to the results' characteristics. In the BG vs. BG + PRF group, significance is evidenced in the study by Agarwal et al. [44], Naqvi et al. [45], Sezgin et al. [46], and Bodhare et al. [49].

For the BM vs. PRF group, the Panda et al. [52] and Pham [50] studies were significant with control risk, while the Ustaoglu et al. [51] study is significant with protective risk. In the STATISTA vs. PRF group, the studies of Martande et al. [58], and Pradeep et al. [59] were significant for control risk. In the BONE vs. PRF group, the study by Galav et al. [41] generated significance with a standard error of 0.33. In the group of OFD vs. PRF studies, the studies by Sharma and Pradeep [30], Thorat et al. [31], Rosamma et al. [32], Ajwani et al. [33], Bajaj et al. [34], Pradeep et al. [59], Thorat et al. [37] were significant as control risk. In the PRP vs. PRF group, the study by Pradeep et al. [46] is significant with control risk, with a standard error of 0.24 (Fig. 3).

Conclusive NMA discussion

The present systematic review and meta-analysis suggest that using PRF to regenerate periodontal bone defects in humans may be effective compared to other regenerative techniques. However, it is important to note that results may vary depending on several factors, including the type of periodontal defect, the surgical technique used, and the quality of the studies included.

Despite its wide application in clinical practice, there is still controversy regarding which type of plasma concentrate can provide better results in relation to bone formation. Previous studies demonstrate that PC have some advantages, such as the formation of new trabecular bone, rapid resorption, and healing due to various growth factors. A combination of a material with low resorption, one that preserves the volume of the socket, together with another material that favors the formation of new bone, is supposed to be a good choice to promote osseointegration and primary stability. Other studies have also reported that alveolar ridge preservation (ARP) combined with any other material is superior to spontaneous healing [60].

The present study shows us that PRF use was the most representative treatment group in the treatment of PS, followed by blood clots and bone filling. However, the mixture of PRF with bone graft showed better results than the use of bone filler and PRF alone. However, these results do not present statistical significance and wide predictive intervals, which could result in null results in future clinical trials.

In the NBF group, it is possible to observe that the most effective intervention was the combination of bone and PRF. This combination produced statistically significant superior results compared to PRF or bone alone. The addition of BF to PRF resulted in a similar NBF with the combination of bone and PRF. However, the highest-rated treatment was the combination of bone and PRF, with an average rating of three across all interventions and a SUCRA value of 86.3.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Limitations

One of the primary limitations of this systematic review and meta-analysis is the heterogeneity among the included studies. Variations in study design, patient demographics, types of periodontal defects, surgical techniques, and PRF preparation protocols may have contributed to significant heterogeneity in the results. This heterogeneity makes it challenging to draw definitive conclusions and may limit the generalizability of the findings. Despite efforts to include a wide range of relevant studies, publication bias remains a potential limitation. The quality of the included studies is crucial for the validity of the meta-analysis results. While efforts were made to assess the risk of bias in individual studies using the Cochrane Risk of Bias Tool, some studies may have inherent limitations that were not fully accounted for. The findings of this meta-analysis are based on a specific set of inclusion and exclusion criteria, including the restriction to studies conducted in humans, published in English, and involving non-smoking patients. This selectivity may limit the generalizability of the results to broader populations or clinical scenarios. The included studies may have used different PRF preparation protocols, including variations in centrifugation speed, duration, and the addition of activators. These differences in PRF preparation could impact the release of growth factors and other therapeutic components, potentially influencing treatment outcomes. Many of the included studies may have relatively short follow-up periods, which could limit our understanding of the long-term effectiveness and stability of PRF in periodontal regeneration. Ideally, longer-term follow-up data would provide a more comprehensive assessment of treatment success. The analysis primarily focused on probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), and radiographic bone fill (RBF) as outcome measures. While these are essential parameters for assessing periodontal regeneration, other clinical and patient-reported outcomes may provide a more comprehensive evaluation of treatment success. Despite efforts to group studies based on similar interventions, there may still be clinical heterogeneity within the treatment groups. Variations in surgical techniques, operator skills, and patient compliance could introduce additional variability in the results.

Conclusion

Based on the results of this systematic review and meta-analysis, the use of PRF appears to be a promising option for the regeneration of periodontal bone defects in humans. However, more high-quality randomized clinical trials are needed to confirm these findings and provide more precise guidance on the clinical use of PRF in dental practice.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at https://doi.org/10.1007/s10266-024-00949-7.

Author contributions FFVS conducted study design, data analysis, interpreted results, and wrote the report. LCB, KASC, BVR, and RAVC were responsible for conducting the search, screening potentially eligible studies, data extraction, and creation of tables. VCAC and AILP contributed to the statistics study design and conducted the statistics analysis. LLA was responsible for providing feedback about the periodontology therms. MEPI, JMSP, and MPS were responsible for designing the review protocol and providing feedback on the report.

Funding Open Access funding provided thanks to the CRUE-CSIC agreement with Springer Nature. No funding.

Data Availability The data to support the findings of this study will be available on request from the corresponding author J.M.S.P.

Declarations

Conflict of interest The authors declare no conflicts of interest and no competing financial interests.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

References

1. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. Periodontol. 2020;83(1):14–25.
2. Muñoz-Salgado A, Silva FF, Padín-Iruegas ME, Camolesi GC, Bernaola-Paredes WE, Veronese HR, et al. Leukocyte and platelet rich fibrin in the management of medication-related osteonecrosis of the jaw: a systematic review and meta-analysis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2023;28(4):317–29.
3. Chauca-Bajaña L, Velasquez-Ron B, Tomás-Carmona I, Camacho-Alonso F, Pérez-Jardón A, Pérez-Sayáns M. Regeneration of periodontal bone defects with mesenchymal stem cells in animal models Systematic review and meta-analysis. Odontology. 2023;111(1):105–22.
4. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. Sci World J. 2020;2020:2146160.
5. Miron RJ, Moraschini V, Fujioka-Kobayashi M, Zhang Y, Kawase T, Cosgarea R, et al. Use of platelet-rich fibrin for the treatment of periodontal intrabony defects: a systematic review and meta-analysis. Clin Oral Invest. 2021;25(5):2461–78.
6. Nuñez J, Vignoletti F, Caffesse RG, Sanz M. Cellular therapy in periodontal regeneration. Periodontol. 2019;79(1):107–16.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

7. Csifó-Nagy BK, Sólyom E, Bognár VL, Nevelits A, Dőri F. Efficacy of a new-generation platelet-rich fibrin in the treatment of periodontal intrabony defects: a randomized clinical trial. BMC Oral Health. 2021;21(1):580.
8. Liu Y, Guo L, Li X, Liu S, Du J, Xu J, et al. Challenges and tissue engineering strategies of periodontal-guided tissue regeneration. Tissue Eng Part C Methods. 2022;28(8):405–19.
9. Liu J, Ruan J, Weir MD, Ren K, Schneider A, Wang P, et al. Periodontal bone-ligament-cementum regeneration via scaffolds and stem cells. Cells. 2019;8(6):537.
10. Jepsen S, Gennai S, Hirschfeld J, Kalemaj Z, Buti J, Graziani F. Regenerative surgical treatment of furcation defects: a systematic review and bayesian network meta-analysis of randomized clinical trials. J Clin Periodontol. 2020;47(Suppl 22):352–74.
11. Najeeb S, Khurshid Z, Agwan MAS, Ansari SA, Zafar MS, Matinlinna JP. Regenerative potential of platelet rich fibrin (PRF) for curing intrabony periodontal defects: a systematic review of clinical studies. Tissue Eng Regen Med. 2017;14(6):735–42.
12. Yajamanya SR, Chatterjee A, Hussain A, Coutinho A, Das S, Subbaiah S. Bioactive glass versus autologous platelet-rich fibrin for treating periodontal intrabony defects: a comparative clinical study. J Indian Soc Periodontol. 2017;21(1):32–6.
13. Pitzurra L, Jansen IDC, de Vries TJ, Hoogenkamp MA, Loos BG. Effects of L-PRF and A-PRF+ on periodontal fibroblasts in in vitro wound healing experiments. J Periodontal Res. 2020;55(2):287–95.
14. Oneto P, Zubiry PR, Schattner M, Etulain J. Anticoagulants interfere with the angiogenic and regenerative responses mediated by platelets. Front Bioeng Biotechnol. 2020;8:223.
15. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;101(3):56–60.
16. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? Clin Oral Investig. 2017;21(8):2619–27.
17. Sculean A, Nikolidakis D, Nikou G, Ivanovic A, Chapple ILC, Stavropoulos A. Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review. Periodontol. 2015;68(1):182–216.
18. Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. J Periodontol. 2017;88(1):112–21.
19. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;101(3):e45-50.
20. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Hernandez M, Choukroun J. Platelet-rich fibrin and soft tissue wound healing: a systematic review. Tissue Eng Part B Rev. 2017;23(1):83–99.
21. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. BMJ. 2009;339:b2700.
22. Higgins JPT, Altman DG, Gotzsche PC, Juni P, Moher D, Oxman AD, et al. The cochrane collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. BMJ. 2011;343:d5928–d5928.
23. Cipriani A, Higgins JPT, Geddes JR, Salanti G. Conceptual and technical challenges in network meta-analysis. Ann Intern Med. 2013;159(2):130–7.
24. Reken S, Sturtz S, Kiefer C, Böhler YB, Wieseler B. Assumptions of mixed treatment comparisons in health technology assessments - challenges and possible steps for practical application. PLoS ONE. 2016;11(8):e0160712.
25. Salanti G. Indirect and mixed-treatment comparison, network, or multiple-treatments meta-analysis: many names, many benefits, many concerns for the next generation evidence synthesis tool. Res Synth Methods. 2012;3(2):80–97.
26. Antonacci D, Caponio VCA, Troiano G, Pompeo MG, Gianfreda F, Canullo L. Facial scanning technologies in the era of digital workflow: a systematic review and network meta-analysis. J Prosthodont Res. 2023;67(3):321–36.
27. Hutton B, Salanti G, Caldwell DM, Chaimani A, Schmid CH, Cameron C, et al. The PRISMA extension statement for reporting of systematic reviews incorporating network meta-analyses of health care interventions: checklist and explanations. Ann Intern Med. 2015;162(11):777–84.
28. Puhan MA, Schünemann HJ, Murad MH, Li T, Brignardello-Petersen R, Singh JA, et al. A grade working group approach for rating the quality of treatment effect estimates from network meta-analysis. BMJ. 2014;349:g5630.
29. Chaimani A, Higgins JPT, Mavridis D, Spyridonos P, Salanti G. Graphical tools for network meta-analysis in STATA. PLoS ONE. 2013;8(10):e76654.
30. Sharma A, Pradeep Ar. Treatment of 3-wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2011;82(12):1705–12.
31. Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. J Clin Periodontol. 2011;38(10):925–32.
32. Joseph VR, Sam G, Amol NV. Clinical evaluation of autologous platelet rich fibrin in horizontal alveolar bony defects. J Clin Diagn Res. 2014;8(11):ZC43-47.
33. Ajwani H, Shetty S, Gopalakrishnan D, Kathariya R, Kulloli A, Dolas RS, et al. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin biomaterial and open flap debridement in the treatment of two and three wall intrabony defects. J Int Oral Health. 2015;7(4):32–7.
34. Bajaj P, Agarwal E, Rao NS, Naik SB, Pradeep AR, Kalra N, et al. Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of 3-wall intrabony defects in aggressive periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2017;88(11):1186–91.
35. Patel GK, Gaekwad SS, Gujjari SK, Veerendra Kumar SC. Platelet-rich fibrin in regeneration of intrabony defects: a randomized controlled trial. J Periodontol. 2017;88(11):1192–9.
36. Pradeep AR, Bajaj P, Rao NS, Agarwal E, Naik SB. Platelet-rich fibrin combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2017;88(12):1288–96.
37. Thorat M, Baghele ON, Rakhewar PS. Adjunctive effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intrabony defects in localized aggressive periodontitis patients: a randomized controlled split-mouth clinical trial. Int J Periodontics Restorative Dent. 2017;37(6):302–9.
38. Mathur A, Bains VK, Gupta V, Jhingran R, Singh GP. Evaluation of intrabony defects treated with platelet-rich fibrin or autogenous bone graft: a comparative analysis. Eur J Dent. 2015;09(01):100–8.
39. Shah M, Patel J, Dave D, Shah S. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin with demineralized freeze-dried bone allograft in periodontal infrabony defects: a randomized controlled clinical study. J Indian Soc Periodontol. 2015;19(1):56–60.
40. Chadwick JK, Mills MP, Mealey BL. Clinical and radiographic evaluation of demineralized freeze-dried bone allograft versus platelet-rich fibrin for the treatment of periodontal intrabony defects in humans. J Periodontol. 2016;87(11):1253–60.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

41. Galav S, Chandrashekar KT, Mishra R, Tripathi V, Agarwal R, Galav A. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin and autogenous bone graft for the treatment of infrabony defects in chronic periodontitis: clinical, radiological, and surgical reentry. Indian J Dent Res. 2016;27(5):502.
42. Bansal C, Bharti V. Evaluation of efficacy of autologous platelet-rich fibrin with demineralized-freeze dried bone allograft in the treatment of periodontal intrabony defects. J Indian Soc Periodontol. 2013;17(3):361–6.
43. Elgendy EA, Abo Shady TE. Clinical and radiographic evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite with or without platelet-rich fibrin membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. J Indian Soc Periodontol. 2015;19(1):61–5.
44. Agarwal A, Gupta ND, Jain A. Platelet rich fibrin combined with decalcified freeze-dried bone allograft for the treatment of human intrabony periodontal defects: a randomized split mouth clinical trail. Acta Odontol Scand. 2016;74(1):36–43.
45. Naqvi A, Gopalakrishnan D, Bhasin MT, Sharma N, Haider K, Martande S. comparative evaluation of bioactive glass putty and platelet rich fibrin in the treatment of human periodontal intrabony defects: a randomized control trial. J Clin Diagn Res. 2017;11(7):ZC09-ZC13.
46. Sezgin Y, Uraz A, Taner IL, Çulhaoğlu R. Effects of platelet-rich fibrin on healing of intra-bony defects treated with anorganic bovine bone mineral. Braz Oral Res. 2017;31:e15.
47. Liu K, Huang Z, Chen Z, Han B, Ouyang X. Treatment of periodontal intrabony defects using bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration with/without platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2021;92(11):1546–53.
48. Paolantonio M, Di Tullio M, Giraudi M, Romano L, Secondi L, Paolantonio G, et al. Periodontal regeneration by leukocyte and platelet-rich fibrin with autogenous bone graft versus enamel matrix derivative with autogenous bone graft in the treatment of periodontal intrabony defects: a randomized non-inferiority trial. J Periodontol. 2020;91(12):1595–608.
49. Bodhare GH, Kolte AP, Kolte RA, Shirke PY. Clinical and radiographic evaluation and comparison of bioactive bone alloplast morsels when used alone and in combination with platelet-rich fibrin in the treatment of periodontal intrabony defects-a randomized controlled trial. J Periodontol. 2019;90(6):584–94.
50. Pham TAV. Intrabony defect treatment with platelet-rich fibrin, guided tissue regeneration and open-flap debridement: a randomized controlled trial. J Evid Based Dent Pract. 2021;21(3):101545.
51. Ustaoğlu G, Uğur Aydin Z, Özelçi F. Comparison of GTR, T-PRF and open-flap debridement in the treatment of intrabony defects with endo-perio lesions: a randomized controlled trial. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2020;25(1):e117–23.
52. Panda S, Sankari M, Satpathy A, Jayakumar D, Mozzati M, Mortellaro C, et al. Adjunctive effect of autologus platelet-rich fibrin to barrier membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. Journal of Craniofacial Surgery. 2016;27(3):691.
53. Pradeep AR, Rao NS, Agarwal E, Bajaj P, Kumari M, Naik SB. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2012;83(12):1499–507.
54. Gupta SJ, Jhingran R, Gupta V, Bains VK, Madan R, Rizvi I. Efficacy of platelet-rich fibrin vs. enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a clinical and cone beam computed tomography study. J Int Acad Periodontol. 2014;16(3):86–96.
55. Aydemir Turkal H, Demirer S, Dolgun A, Keceli HG. Evaluation of the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. Six-month results of a randomized, split-mouth, controlled clinical study. J Clin Periodontol. 2016;43(11):955–64.
56. Pradeep AR, Nagpal K, Karvekar S, Patnaik K, Naik SB, Guruprasad CN. Platelet-rich fibrin with 1% metformin for the treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2015;86(6):729–37.
57. Kanoriya D, Pradeep AR, Singhal S, Garg V, Guruprasad CN. Synergistic approach using platelet-rich fibrin and 1% alendronate for intrabony defect treatment in chronic periodontitis: a randomized clinical trial. J Periodontol. 2016;87(12):1427–35.
58. Martande SS, Kumari M, Pradeep AR, Singh SP, Suke DK, Guruprasad CN. Platelet-rich fibrin combined with 12% atorvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2016;87(9):1039–46.
59. Pradeep Ar, Garg V, Kanoriya D, Singhal S. Platelet-rich fibrin with 12 rosuvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2016;87(12):1468–73.
60. Caponio VCA, Baca-González L, González-Serrano J, Torres J, López-Pintor RM. Effect of the use of platelet concentrates on new bone formation in alveolar ridge preservation: a systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis. Clin Oral Investig. 2023;27(8):4131–46.

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Authors and Affiliations

Fábio França Vieira e Silva[1] · Luis Chauca-Bajaña[2] · Vito Carlo Alberto Caponio[3] · Kareelend Andreina Segura Cueva[4] · Byron Velasquez-Ron[5] · Maria Elena Padín-Iruegas[6] · Lays Lamolha Almeida[7] · Alejandro Ismael Lorenzo-Pouso[8] · José Manuel Suárez-Peñaranda[1] · Mario Pérez-Sayáns[9]

✉ José Manuel Suárez-Peñaranda
jm.suarez.penaranda@usc.es

Fábio França Vieira e Silva
drfabiofrancavieira@gmail.com

Luis Chauca-Bajaña
luis.chaucab@ug.edu.ec; luischauk@hotmail.com

Vito Carlo Alberto Caponio
vitocarlo.caponio@unifg.it

Kareelend Andreina Segura Cueva
kareelend.segurac@ug.edu.ec

Byron Velasquez-Ron
byron.velasquez@udla.edu.ec; drvelasquezron@gmail.com

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Maria Elena Padín-Iruegas
mepadin@uvigo.es

Lays Lamolha Almeida
llamolhaa@gmail.com

Alejandro Ismael Lorenzo-Pouso
alexlopo@hotmail.com

Mario Pérez-Sayáns
mario.perez@usc.es

[1] Faculty of Medicine and Dentistry, Oral Surgery and Implantology Unit (MedOralRes, Oral Medicine, Universidade de Santiago de Compostela. Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela University Hospital Complex, Rúa da Choupana, S/N, 15706 Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

[2] Periodontics and Implantology Oral Research. College Dentistry, Ecuador. Faculty of Medicine and Dentistry, University of Guayaquil, Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

[3] Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Foggia, 71100 Foggia, Italy

[4] Oral Surgery, Department of Dentistry, University of Guayaquil, Quito-Ecuador, Ecuador

[5] Dental Prosthesis Department Research. College Dentistry, University of the Americas. UDLA. Av, Colon y 6 de Diciembre, Campus Colón, Quito-Ecuador, Ecuador

[6] Human Anatomy and Embryology Area, Department of Functional Biology and Health Sciences, Faculty of Physiotherapy, University of Vigo, 36001 Pontevedra, Spain

[7] Department of Dental Medicine, Federal Fluminense University, Rio de Janeiro 28625650, Brazil

[8] Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit (MedOralRes), Faculty of Medicine and Dentistry, University of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

[9] Faculty of Medicine and Dentistry, Oral Surgery and Implantology Unit (MedOralRes, Oral Medicine, Universidade de Santiago de Compostela. Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Instituto de los Materiales de Santiago de Compostela (iMATUS), Avenida Do Mestre Mateo, 25, 15782 Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

11.3 ARTÍCULO 3

Título: ***Root Coverage Techniques: Coronally Advancement Flap vs. Tunnel Technique: A Systematic Review and Meta-Analysis***

Luis Chauca-Bajaña, Alba Pérez-Jardón,Fábio França Vieira E Silva, Mercedes Conde-Amboage, Byron Velásquez-Ron, Elena Padín-Iruegas and Mario Pérez-Sayáns

DOI: https://doi.org/10.3390/dj12110341

Revista: Dentistry Journal

Año: 2024

Factor de Impacto (JCR 2023): 1.05

Cuartil: Q2

Categoría: Dentistry, Oral Surgery & Medicine

Posición: 45/158.

Otros: Open Access

Link: https://www.mdpi.com/2304-6767/12/11/341

Contribuciones: Conceptualización, validación, recursos, redacción: preparación del borrador original, visualización, administración del proyecto

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

dentistry journal

MDPI

Systematic Review

Root Coverage Techniques: Coronally Advancement Flap vs. Tunnel Technique: A Systematic Review and Meta-Analysis

Luis Chauca-Bajaña [1,2,†], Alba Pérez-Jardón [2,3,†], Fábio França Vieira E Silva [2,3], Mercedes Conde-Amboage [4], Byron Velásquez-Ron [5,*], Elena Padín-Iruegas [6] and Mario Pérez-Sayáns [2,3,7]

1 College of Dentistry, Universidad de Guayaquil, Guayas 090101, Ecuador; luis.chaucab@ug.edu.ec
2 Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology Unit (MedOralRes), Faculty of Medicine and Dentistry, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain; alba.perez.gzlez@usc.es (A.P.-J.); drfabiofrancavieira@gmail.com (F.F.V.E.S.); mario.perez@usc.es (M.P.-S.)
3 Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), ORALRES GROUP, 15706 Santiago de Compostela, Spain
4 Models of Optimization, Decision, Statistics and Applications Research Group (MODESTYA), Department of Statistics, Mathematical Analysis and Optimization, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain; mercedes.amboage@usc.es
5 Dental Prosthesis Department Research, College Dentistry, University of the Americas, UDLA. Av, Colon y 6 de diciembre, Campus Colón Quito 170102, Ecuador
6 Human Anatomy and Embryology Area, Department of Functional Biology and Health Sciences, Faculty of Physiotherapy, University of Vigo, 36001 Pontevedra, Spain; mepadin@uvigo.gal
7 Instituto de los Materiales de Santiago de Compostela (iMATUS), Avenida do Mestre Mateo, 25, 15782 Santiago de Compostela, Spain
* Correspondence: byron.velasquez@udla.edu.ec
† These authors contributed equally to this work.

Abstract: Introduction: Gingival recession, characterized by the apical displacement of the gingival margin, presents challenges to oral health. This study compares the effectiveness of the coronally advanced flap (CAF) and the tunnel technique (TT) for treating gingival recessions. Methods: Bibliographical searches included PubMed, Embase, Web of Science, Cochrane, Scopus, and the grey literature, with keywords "root coverage" "coronary advanced flap", and "tunnel". A systematic coreview was performed that included 26 studies evaluating root coverage, and 14 articles were included for the meta-analysis. Three groups were analyzed: Group 1 compared TT with connective tissue graft (CTG) versus CAF with CTG; Group 2 examined TT with CTG and/or other biomaterials versus TT with CTG alone; Group 3 compared TT with CAF, regardless of complementary biomaterials. Meta-analysis assessed mean root coverage (MRC), complete root coverage (CRC), and keratinized tissue gain (KTG). Results: In Group 1, TT with CTG demonstrated superior MRC compared with CAF with CTG (−8.68 CI95% −17.19 to −0.17; $p = 0.0457$). In Group 2, TT with CTG and/or other biomaterials showed similar MRC (4.17 CI95% −17.91 to 26.26; $p = 0.7110$) and CRC (0.37 CI95% −1.14 to 1.89; $p = 0.6269$) to TT with CTG alone, with variations in keratinized tissue gain. Group 3 indicated higher potential MRC for TT compared with CAF (5.73 CI95% −8.90 to 13.55; $p = 0.685$) but without statistically significant differences. Conclusions: This study suggests that TT with CTG might offer better root coverage than CAF with CTG; however, biomaterial selection requires consideration.

Keywords: gingival recession; root coverage; connective tissue graft; coronally advanced flap; tunnel

check for updates

Citation: Chauca-Bajaña, L.; Pérez-Jardón, A.; Silva, F.F.V.E.; Conde-Amboage, M.; Velásquez-Ron, B.; Padín-Iruegas, E.; Pérez-Sayáns, M. Root Coverage Techniques: Coronally Advancement Flap vs. Tunnel Technique: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dent. J.* **2024**, *12*, 341. https://doi.org/10.3390/dj12110341

Academic Editor: Jorge Nuno do Martins

Received: 22 August 2024
Revised: 21 October 2024
Accepted: 23 October 2024
Published: 25 October 2024

Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Gingival recession (GR) is defined as the displacement of the gingival margin apical to the cementum–enamel junction (CEJ) of a tooth or dental implant abutment [1,2]. This condition is of great importance in oral health as it can compromise not only dental esthetics but also overall periodontal health [3]. Recent surveys revealed that 88% of people aged 65 and older and 50% of people aged 18 to 64 have one or more recession sites [4]. The

USC DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

highest prevalence of gingival recessions varies between 58% and 99.7% in epidemiological studies [5]. Gingival recessions can be caused by several factors, including inadequate oral hygiene, gingivitis, periodontal diseases, dental caries, trauma, or unsuccessful restorations [6,7]. Gingival recession leads to dental hypersensitivity, and increased risk of root caries and plaque accumulation, and can be linked to minimal or no presence of keratinized tissue [8]. Root coverage surgery aims to achieve a comprehensive esthetic outcome rather than solely complete root coverage [9]. A systematic review demonstrated that connective tissue grafts (CTGs) or enamel matrix derivates (EMDs) increase the likelihood of obtaining complete root coverage in single gingival recessions Miller Class I and II [10]. Class I involves recession that stays above the mucogingival line, while Class II extends beyond it but without affecting the bone or interdental soft tissues. In Class III, the recession also extends beyond the mucogingival junction, but with partial loss of interdental bone or soft tissue, which may limit the potential for full root coverage (Figure 1).

Figure 1. (**A**) Miller Class I (RT1), (**B**) Miller Class II (RT2), (**C**) Miller Class III (RT3).

Periodontal plastic surgery aims to maintain an adequate mucogingival complex, emphasizing the importance of the amount and position of the attached gingiva [11]. Currently, different surgical procedures have been proposed to maintain the papilla's integrity when complete root coverage or regenerative therapy is needed, the most representative being the coronally advanced flap (CAF) and the tunnelling technique (TT) [12]. Connective tissue has proven to be the gold standard in root-coverage treatments [13]. Recent studies have shown that connective tissue + EMD has a favorable impact on the healing and regeneration process of periodontal wounds, manifesting through the generation of the periodontal ligament, root cementum, and, to some extent, alveolar bone [14]. Bajishov et al., in 2021, concluded that the depth of recession, amount of keratinized gingiva, and gingival thickness were significant predictors of complete or partial root coverage [15]. TT is a conservative technique that improves esthetic results [16]. Another advantage of this TT is the large blood supply and nutrition of the graft, and the healing period is faster than in a CAF, with less postoperative morbidity due to the limited opening of the flap [17]. A systematic review and meta-analysis demonstrated that TT is effective in treatments of localized and multiple gingival recessions, with a mean root coverage (MRC) of 82.75 ± 19.7% and 87.87 ± 16.45%, respectively [18]. On the other hand, the vestibular incision subperiosteal tunnel access (VISTA) technique achieved an MRC of 88.15 ± 20.79% and a cRC of 67.85 ± 21.72%, which was significantly higher compared with the tunnel technique [19]. Additionally, the application of the tunnel technique with coronally advanced flap (TCAF) and connective tissue graft (CTG) resulted in improvements in clinical, esthetic outcomes, and patient perception in gingival recessions classified as Miller Type II (RT2) with papillary deficiency [20]. In recent years, the use of leucocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) has gained attention in this area. A systematic review with meta-analysis demonstrated that combining L-PRF with CAF significantly improved CRC compared with CAF alone; however, in cases of limited basal keratinized mucosa width, the use of CTG may be preferable [21]. Furthermore, another systematic review from 2022 concluded that L-PRF could be an appropriate substitute for increasing keratinized mucosa around implants [22].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

The aim of the study was to analyze whether root coverage is more effective with TT compared with CAF.

2. Materials and Methods

A specific protocol was designed for the search and restore procedures complying with the PRISMA guidelines [23] (Figure 2). The PICO question was as follows: is root covering more effective with TT compared with CAF? P—patients with Miller Type I, II, and III gingival recession; RT1, RT2, or RT3 [24] single or multiple. I—intervention of all gingival recessions treated with TT. C—comparison of TT and CAF. O—evaluation of root coverage. The protocol was registered in PROSPERO with reference ID: CRD42023425664.

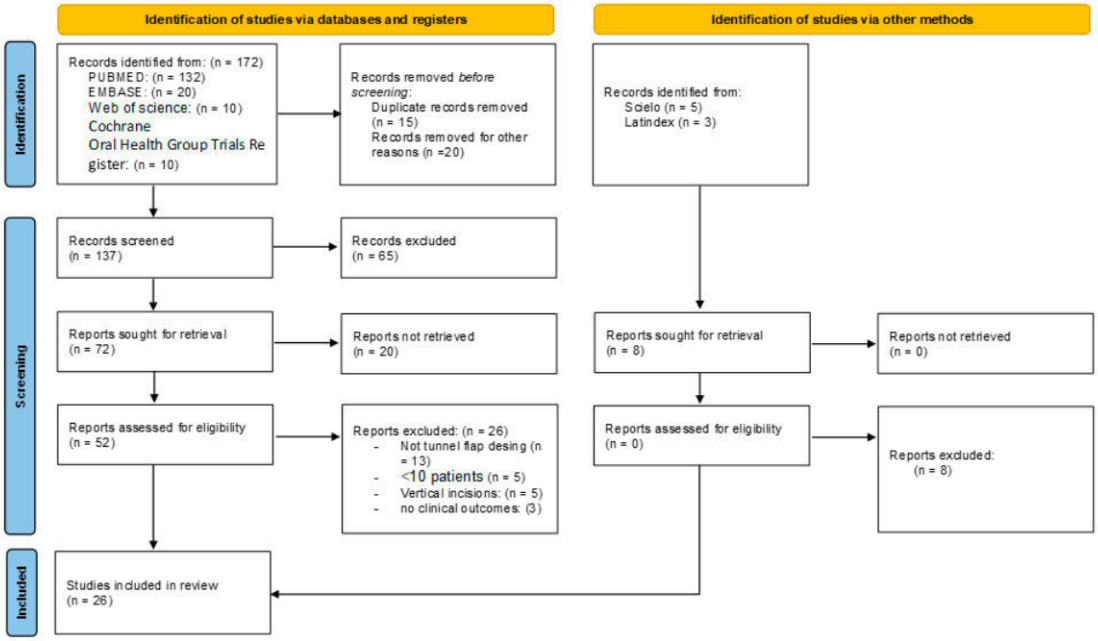


Figure 2. Flowchart of selected studies.

2.1. *Search Strategy and Database Screening*

A bibliographic search was performed by LCB and BVR covering the last 10 years, (upper limit: December 2022) in various databases, including PubMed, Embase, Web of Science, Cochrane, Scopus, and the grey literature. In addition, relevant journals, such as the *Journal of Periodontology*, were reviewed.

Searches combined thesaurus and free terms to maximize sensitivity. The algorithm "Root coverage" AND ("coronary advanced flap" OR "tunnel") was adapted for syntax in each database. Duplicated articles were manually removed after EndNote reference software import and automatic duplicate removal (Endnote X9.3.2, Clarivate Analytics, Philadelphia, PA, USA).

2.2. *Eligibility Criteria*

2.2.1. Inclusion Criteria

All references identified from computerized databases were manually retrieved (by LCB and BVR) and articles were included if they satisfied the following criteria: (1) evaluation of root coverage; (2) randomized clinical trial; (3) case–control studies involving at least 10 patients with single or multiple gingival recessions; (4) studies published within the last 10 years; (5) minimum study follow-up of 6 and 12 months.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.2.2. Exclusion Criteria

(1) If the TT involved vertical incisions or incisions in the papillae; (2) if the research had fewer than 10 patients; (3) if there was no coronally advanced flap; (4) case reports.

2.3. Study Selection and Data Extraction Process

Data were retrieved by three investigators (LCB, APJ, and MPS) using a custom-made extraction sheet. Disagreements between researchers were resolved by a third researcher (BVR) blinded to the study hypothesis.

During the search, titles and abstracts of all possible records were reviewed and the inclusion of any text with insufficient data was discussed using a full-text protocol. All eligible articles were then reviewed and, if important data were missing for the current systematic review and meta-analysis, attempts were made to contact the corresponding author of the study to address or clarify any concerns.

Data were extracted (by LCB, APJ, and MPS) regarding author, year of publication, country, study design, periodontal status and habits, type and location of recession, type of surgical technique, use of connective tissue or other biomaterials with full description, number of patients, number of recessions, follow-up in months, and outcome variables, e.g., mean root coverage (MRC), complete root coverage (CRC), keratinized tissue gain (KTG), and root coverage esthetic score (RCES).

2.4. Quality and Risk of Bias Assessment

Risk of bias was measured using the Cochrane risk of bias tool (ECA) [25] for the assessment of randomized controlled trials.

2.5. Statistical Analysis

Pooled weighted mean differences (WMDs) and standard deviations (SDs) were calculated. The contribution of each study was weighted accordingly, and the random effects model was selected, as heterogeneity between studies was assumed. Forest plots were produced to summarize the differences in both groups. For the statistical analysis of heterogeneity, the parameters of Cochran's Q test (χ^2) and Higgins I^2 were calculated. Cochran's Q test $p < 0.1$ was considered significant to assume apparent heterogeneity. The I^2 index was used to quantify the percentage of heterogeneity, with values of 25, 50, and 75% considered to indicate low, moderate, and high heterogeneity, respectively [26]. Publication bias was assessed visually using funnel plots and also using the test proposed by Egger et al. [27] (where pEgger < 0.1 was considered significant). The R Metafor software package (v.4.2.1; https://www.r-project.org, accessed on 15 June 2023) was used for all statistical analyses. The significance level was set at $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Study Selection

The searches, following PRISMA guidelines, can be seen in Figure 1. A total of 172 articles were identified, of which 145 articles were excluded. Finally, 26 articles were included for qualitative analysis, and 14 for quantitative analysis. The reviewers' agreement by k-agreement score was 0.91, considered almost perfect according to the scale classification.

3.2. Study Characteristics

Of the 26 articles included, 69% were randomized controlled trials [15–17,28–42] and 31% were case series [43–50]. Most of them were conducted in Europe [17,29,31–35,38,40,42,43,45–50], followed by Asia [15,28,30,37,39,41]. The total number of patients in this study was 612, and the total number of recessions analyzed in this study was 1708. The main characteristics of the included studies are shown in Table 1.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1. General overview of the included studies.

Author and Year	Country and Support	Study Design, Follow-Up	Patients and Recessions (n)	Periodontal Status and Smoking Habits	Recession Type	Location
Aroca et al., 2013 [17]	Hungary, university, partially supported by a company	RCT split-mouth, 12 months	Patients n = 22 Recessions n = 156	Healthy or treated non-smoking patients Plaque index < 25%	Multiple GRs RT1 and RT2	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar, molar)
Bherwani et al., 2014 [30]	India, university, NR	RCT 6 months	Patients n = 20 Recessions n = 75	Healthy non-smoking patients	Multiple GRs RT1 and RT2	Maxilla
Zuhr et al., 2014 [29]	Germany, private practice, self-supported	RCT 12 months	Patients n = 23 Recessions n = 45	Healthy non-smoking patients FMPS < 25% FMBS < 25%	Single and multiple GRs RT1 and RT2 recession < 5 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar)
Ozenci et al., 2015 [28]	Turkey, university, self-supported	RCT 12 months	Patients n = 20 Recessions n = 58	Healthy non-smoking patients	Multiple GRs RT1 recession ≥ 3 mm	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar)
Azaripour et al., 2016 [31]	Germany, university, self-supported	RCT split-mouth, 12 months	Patients n = 40 Recessions n = 71	Healthy or treated nonsmoking patients FMPS < 15% FMBS < 15%	Single and multiple GRs RT1 and RT2 recession ≥ 1 mm and < 6 mm	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar, molar)
Bednarz et al., 2016 [32]	Poland, university, self-supported	RCT 6 months	Patients n = 30 Recessions n = 97	Healthy non-smoking patients	Multiple GRs RT1 and RT2 recession ≥ 2 mm	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar, molar)
Cieslik-Wegemund et al., 2016 [33]	Poland, university, self-supported	RCT 6 months	Patients n = 28 Recession n = 106	Healthy or treated non-smoking patients	Multiple GRs RT1 and RT2	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar, molar)
Santamaria et al., 2017 [16]	Brazil, university, supported by the government	RCT parallel arm, 6 months	Patients n = 42 Recessions n = 42	Healthy non-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Single GRs RT1 and RT2	Maxilla (canine, premolar)
Dragana Rakasevicet al., 2020 [34]	University of Belgrade, Belgrade, Serbia	RCT split-mouth 6–12 months	Patients n =20 Recessions n = 114	Healthy light-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 recession ≥ 2 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar, molar
Górski B et al., 2020 [35]	Medical University of Lublin, Lublin, Poland	RCT split-mouth 6- months	Patients n =20 Recessions n = 50	Healthy non-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 and RT2 recession ≥ 1 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar, molar
Tavelli L et al., 2019 [36]	University of Michigan	RCT split-mouth 6 months	Patients n =19 Recessions n = 114	Healthy light-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 and RT2 recession ≥ 2 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar)
Bakhishov H et al., 2021 [15]	University, Biskek Turkey.	RCT single-blinded and parallel group 6–12 months	Patients n =27 Recessions n = 61	Healthy non-smoking patients FMPS < 15% FMBS < 15%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 recession ≥ 3 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar)
Korkmaz B et al., 2020 [37]	University, Zonguldak, Turkey	Single center, parallel group RCT split-mouth 6 months	Patients n = 40 Recessions n = 51	Healthy non-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 recession ≥ 2 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1. *Cont.*

Author and Year	Country and Support	Study Design, Follow-Up	Patients and Recessions (n)	Periodontal Status and Smoking Habits	Recession Type	Location
Zuhr O et al., 2020 [38]	Munich, Germany	RCT 12–24 months with 2-year follow-up	Patients n = 23 Recessions n = 45	Healthy non-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 and RT2 recession ≥ 2 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar,)
Uzun BC et al., 2018 [39]	University, Istanbul, Turkey	RCT split-mouth 6–12 months	Patients n =34 Recessions n = 114	Healthy non-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 and RT2 recession ≥ 3 mm	Maxilla (incisor, premolar)
Stähli A et al., 2020 [40]	University of Bern, Bern, Switzerland	RCT split-mouth 6 months	Patients n = 40 Recessions n = 40	Healthy non-smoking patients FMPS < 20% FMBS < 20%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 and RT2 or combine RT1 and RT3 recession ≥ 2 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar)
Parween S et al., 2020 [41]	Bengaluru, India	RCT split-mouth 6 months	Patients n = 21 Recessions n = 12	Healthy non-smoking patients FMPS < 10% FMBS < 10%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1, RT2, or combined Class I and III recession ≥ 2 mm	Mandible (incisors)
Zuhr O, et al., 2021 [42]	Munich, Germany.	RCT split-mouth 6-12-24-60 months	Patients n = 18 Recessions n = 36	Healthy non-smoking patients FMPS < 25% FMBS < 25%	Multiple maxillary and mandibule GRs RT1 and RT2 recession ≥ 2 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar)
Sculean et al., 2014 [43]	Switzerland, university	Case series, 12 months	Patients n = 16 Recessions n = 16	Healthy non-smoking patients FMPS < 25% FMBS < 25%	Single mandibular GRs RT1 and RT2 recession ≥ 3 mm	Mandible (incisor, canine)
Chaparro et al., 2015 [44]	Chile, private practice, NR	Case series, 12 months	Patients n = 24 Recessions n = 93	Healthy non-smoking patients FMPS < 20%	Multiple GRs RT1 and RT2 recession ≥ 3 mm	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar)
Vincent-Bugnas et al., 2015 [45]	France, university, self-supported	Case series, 24 months	Patients n = 14 Recessions n = 26	Healthy non-smoking patients	Single and multiple GRs RT1	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar)
Cosgarea et al., 2016 [46]	Romania, university, partially supported by a company	Case series, 12 months	Patients n = 12 Recessions n = 54	Healthy non-smoking patients FMPS < 25%	Multiple GRs RT1, RT2, and RT3 recession ≥ 2 mm	Maxilla and mandible (incisor, canine, premolar)
Nart and Valles, 2016 [47]	Spain, private practice, self-supported	Case series, mean of 20.53 months	Patients n = 15 Recessions n = 15	Healthy or treated non-smoking patients	Single GRs RT1, RT2, and RT3 recession ≥ 2 mm	Mandible (incisor)
Sculean et al., 2016 [48]	Switzerland, NR	Case series, 12 months	Patients n = 12 Recessions n = 54	Healthy non-smoking patients FMPS < 25% FMBS < 25%	Multiple maxillary GRs RT1, RT2, and RT3 recession ≥ 3 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 1. *Cont.*

Author and Year	Country and Support	Study Design, Follow-Up	Patients and Recessions (n)	Periodontal Status and Smoking Habits	Recession Type	Location
Thalmair et al., 2016 [49]	Germany, private practice, self-supported	Case series, 6 months	Patients n = 20 Recessions n = 63	Healthy non-smoking patients FMPS < 25% FMBS < 25%	Multiple mandible GRs RT1 and RT2 recession ≥ 2 mm	Mandible (incisor, canine, premolar)
Vincent-Bugnas et al., 2017 [50]	France, NR	Case series, 12 months	Patients n = 12 Recessions n = 100	Healthy non-smoking patients	Multiple maxillary GRs RT1 and RT2 recession ≥ 2 mm	Maxilla (incisor, canine, premolar, molar)

Abbreviations: FMPS—full-mouth plaque score. FMBS—full-mouth bleeding score. NR—not reported.

3.3. *Type of Intervention*

The interventions were heterogeneous and included comparisons such as TT + CTG versus CAF + CTG [15,28], TT + acellular dermal matrix (ADM) [25], TT + CTG versus CAF + EMD [26], TT + CTG versus TT + xenogeneic collagen matrix (XCM) [16,30], and other combinations, as detailed in Table 2.

Table 2. Overview of the intervention characteristics and outcomes.

Author	Preoperative Preparation	Treatment in Control Group	Treatment in the Intervention Group	Postsurgical Treatment	Suture Time	Follow-Up (Months)	MRC ± SD (%)	Authors' Conclusion
Aroca et al., 2013 [17]	OHI + full mouth supragingival scaling and polishing 1 month before surgery	MCAT + CTG	MCAT + XCM	Atb, NSAIDs, no brushing for 2 weeks, 0.12% CHX. Follow-up and prophylaxis at 28 days, 3, 6, and 12 months	After 2 weeks	12	90 ± 18 (control) 71 ± 21 (test)	XCM can be considered an alternative to CTG; however, MCAT + CTG showed better results than MCAT + XCM
Bherwani et al., 2014 [30]	OHI and prophylaxis	TT + CTG	CAF + CTG	Atb, analgesics, 0.2% CHX. Follow-up and prophylaxis at 1, 3, and 5 weeks after suture removal and every 3 months	After 2 weeks	6	80 ± 15.39 (control) 89.33 ± 14.47 (test)	CAF is more effective than TT
Sculean et al., 2014 [43]	OHI and prophylaxis	MCAT + CTG + EMD	/	Atb for 7 days, NSAID for 2/3 days, no brushing 2 weeks. 0.1% CHX 3 weeks. Follow-up and prophylaxis after suture removal at 1, 3, 6, and 12 months	After 2 or 3 weeks	12	96.25 ± NA	MCAT is a predictable approach for localized GRs
Zuhr et al., 2014 [29]	OHI and prophylaxis	CAF + EMD	TT + CTG	NSAID, no brushing 2 weeks, CHX 2 weeks. Follow-up and prophylaxis at 1, 3, 6, and 12 months	After 7 days	12	71.8 ± 20.3 (control) 98.4 ± 3.6 (test)	TT better clinical outcomes than CAF
Chaparro et al., 2015 [44]	/	TT + ADM	/	No brushing 8 weeks, 0.12% CHX 8 weeks	After 6 weeks	12	91.8 ± NA (maxilla) 89.1 ± NA (mandible)	No significant differences between mandible and maxilla; better CRC for RT1 than RT2
Ozenci et al., 2015 [28]	OHI and prophylaxis. Re-evaluation at 8 weeks	CAF + ADM	TT + ADM	Atb, NSAIDs, No brushing 2 weeks, 0.2% CHX. Monthly follow-up and prophylaxis until the 12 month evaluation.	After 2 weeks	12	93.8 ± 13 (control) 75.7 ± 6.5 (test)	Both techniques are effective. Better results for CAF + ADM
Vincent-Bugnas et al., 2015 [45]	OH assessment	mTT + EMD	/	NSAIDs, no brushing 2 weeks, 0.12% CHX. Follow-up and prophylaxis at 3, 6, 12, and 24 months	After 2 weeks	24	91.59 ± 11.17 (maxilla) 85.71 ± 16.5 (mandible)	mTT + EMD is an effective technique for root coverage
Azaripour et al., 2016 [31]	OHI and prophylaxis	CAF + CTG	MMTT + CTG	NSAIDs, 0.12% CHX, no brushing 4 weeks. Follow-up and prophylaxis at 3, 6, and 12 months	After 2 weeks	6	98.3 ± 9.2 (control) 97.3 ±7.6 (test)	CAF and MMTT are equally successful in root coverage

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 2. *Cont.*

Author	Preoperative Preparation	Treatment in Control Group	Treatment in the Intervention Group	Postsurgical Treatment	Suture Time	Follow-Up (Months)	MRC ± SD (%)	Authors' Conclusion
Bednarz et al., 2016 [32]	/	MCAT + CTG	MCAT + FL	Atb and analgesics	After 2 weeks	6	95.77 ± 0.11 (control) 94.21 ± 0.2 (test)	FL allograft is a viable alternative to CTG for root coverage procedure based on TT
Cieslik-Wegemund et al., 2016 [33]	OHI and prophylaxis	TT + CTG	TT + XCM	Atb (only test group), 0.12% CHX, no brushing 2 weeks	After 2 weeks	6	95 ± 11 (control) 91 ± 13 (test)	TT + XCM achieved satisfactory results but lower than TT + CTG
Cosgarea et al., 2016 [46]	OHI and prophylaxis	MCAT + XCM	/	Atb, NSAIDs, no brushing 2 weeks, 0.2% CHX	After 3 weeks	12	73.2 ± 27.71	MCAT + XCM is a successful technique for RT1, RT2, and RT3 GRs
Nart and Valles, 2016 [47]	OHI and prophylaxis	TT + CTG	/	Atb, NSAISs, corticosteroids, 0.12% CHX, no brushing 15 days, no flossing 3 weeks	After 15 days	20.53 ± 8.89	90.92 ± 13.53 (RT2) 74.49 ± 11.86 (RT3)	TT + CTG is an effective technique for mandibular incisors with RT1, RT2, and RT3 GRs
Sculean et al., 2016 [48]	OHI and prophylaxis	MCAT + CTG + EMD	/	Atb, NSAIDs, no brushing 2 weeks, 0.1% CHX. Follow-up and prophylaxis at 1, 3 6, and 12 months	After 14–21 days	12	96 ± NA	MCAT + CTG + EMD is a predictable treatment for RT1, RT2, and RT3 GRs
Thalmair et al., 2016 [49]	/	MMTT + CTG	/	NSAIDs, 0.2% CHX, no brushing 2 weeks	After 1 week	6	93.87 ± NA	MMTT + CTG is effective in root coverage and in KT gain
Vincent-Bugnas et al., 2017 [50]	OHI and prophylaxis	MCAT + XCM	/	Atb, analgesics, 0.2% CHX, no brushing 2 weeks	After 2 weeks	12	84.35 ± 7.53	MCAT + XCM is a viable treatment for RT1 and RT2 GRs
Dragana Rakasevic et al., 2020 [34]	Full-mouth supragingival scaling, polishing, receiving an individualized OHI	MCAT + XDM	CTG + XDM	Analgesics, 0.12% CHX, no brushing 3 weeks	After 3 weeks	12	−1.71 ± 13.7 (test) 2.96 ± 11.8 (control)	No significant differences in the clinical and esthetic outcomes when MCAT was used in combination with CTG or XDM after 6 and 12 months
Górski B et al., 2020 [35]	They were instructed on how to use the roll technique with a soft toothbrush and provided with dental prophylaxis and polishing	MCAT + SCTG + EMD	MCAT	Analgesics, 0.2% CHX, no brushing 2 weeks	After 2 weeks	6	2.0 ± 1.4 (test) 1.7 ± 1.5 (control)	Both treatments were equally effective. However, the application of EMD as an adjunct resulted in less postoperative pain and better professional assessment
Tavelli L et al., 2020 [36]	Full-mouth supragingival scaling, polishing, and OHI 2 months before surgery.	MAGRs treated with CAF + ADM and CAF	MAGRs treated with CAF + ADM and TT	Analgesics, 0.12% CHX, no brushing 3 weeks	After 3 week	144 (12 years)	22.80 ± 27.18 CAF and TT 25.65 ± 26.61	A significant relapse of the gingival margin of MAGRs treated with CAF or TT + ADM was observed after 12 years
Bakhishov H et al., 2021 [15]	Full-mouth supragingival scaling, polishing, and oral hygiene instructions	DGG + TT	SCTG + TT	Analgesics, 0.12% CHX, no brushing 2 weeks	After 2 weeks	12	0.27 ± 0.99 mm (DGG + TT) and 0.68 ± 0.99 mm (SCTG + TT)	DGG + TT presented higher MRC and CRC compared with SCTG + TT in the treatment of MAGRs. Treatment method was not a significant predictive factor for the amount of MRC outcomes, while RD, HKT, and GT were significant predictive factors
Korkmaz B et al., 2020 [37]	OHI to modify their oral hygiene habits	TT + CTG	TT + CGF	Analgesics, 0.12% CHX, no brushing 2 weeks	After 14 days	6	89.52 ± 16.36% (control) 76.60 ± 24.10% (test)	TT + CGF did not improve the results as much as TT + CTG in the treatment of RT1 and RT2 GRs. However, this finding is not sufficient to advocate the true clinical effects of CGF on GR treatment with TT

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 2. *Cont.*

Author	Preoperative Preparation	Treatment in Control Group	Treatment in the Intervention Group	Postsurgical Treatment	Suture Time	Follow-Up (Months)	MRC ± SD (%)	Authors' Conclusion
Zuhr O et al., 2020 [38]	OHI	TT + CTG	CAF + EMD	Tooth cleaning applying the modified Stillman technique with soft toothbrush and chlorhexidine-containing toothpaste 6 weeks	After 1 week	24	−0.18 ± 0.08 mm (TT + CTG) −0.06 ± 0.19 mm (CAF + EMD)	CTG showed better clinical and volumetric outcomes than EMD. Increased THK values were associated with improved outcomes regarding RC and RECred.
Santamaria MP et al., 2017 [16]	OHI, prophylaxis, and scaling	CAF + CTG	TT + CTG	Analgesics, 0.12% CHX	After 7 days	6	87.2 ± 27.1% (CAF + CTG) and 77.4 ± 20.4% (TT + CTG)	For root coverage of single maxillary recession defects, CAF + CTG was more effective than TT + CTG
Uzun BC et al., 2018 [39]	/	T-PRF + KTW	CTG + KTW	Atb containing 500 mg amoxicillin and 125 mg clavulanic acid, 0.12% CHX	After 14 days	12	1.71 ± 0.32 mm (T-PRF) and 1.71 ± 0.31 mm (CTG).	T-PRF is safe and effective for treatment of multiple Miller Class I/II gingival recession defects
Stähli A et al., 2020 [40]	/	MCAT + sCTG Control group: no EMD	MCAT + sCTG Test group: with EMD	Analgesics, 0.12% CHX, no brushing 2 weeks	After 2 weeks	6	78 ± 26% (test) 77 ± 18% (control)	No influence of EMD on clinical and immunological parameters related to wound healing after recession coverage surgery using MCAT and sCTG
Parween S et al., 2020 [41]	OHI	MCAT + SCTG	MCAT + SCTG + rhPDGF BB	0.2% CHX twice a day	2 weeks	6	82.6%± 23.69% (test), 56.2% ± 28.55% (control)	The use of rhPDGF-BB + SCTG using MCAT offered an advantage of a minimally invasive predictable method for achieving optimal outcomes
Zuhr O, et al., 2021 [42]	OHI, prophylaxis, and scaling.	TT + CTG	CAF + EMD	Analgesics, 0.12% CHX,	/	60 (5 years)	6.86 ± 2.31 (TT + CTG) 4.63 ± 1.99 (CAF + EMD)	CTG resulted in better clinical and esthetic outcomes than CAF + EMD. Increased THK was associated with improved outcomes for RECred and RC

Abbreviations: ADM—acellular dermal matrix, Atb—antibiotics, CAF—coronally advanced flap, l, CGF—concentrated growth factor, CHX—chlorhexidine, CRC—complete root coverage, CTG—connective tissue grafts, DGG—de-epithelialized gingival graft, EMD—enamel matrix derivate, FL—fascia lata, GR—gingival recessions, GT—gingival thickness, HKT—height of keratinized tissue, KTW—keratinized tissue width, MAGRs—multiple adjacent gingival recessions, MCAT—modified coronally advanced tunnel, MMTT—microsurgical tunnel technique, MRC—mean root coverage, mTT—modified tunnel technique, NA—not applicable, NSAIDs—non-steroidal anti-inflammatory drugs, OHI—oral hygienic instructions, RC—root coverage, RD—recession depth, RECred—recession reduction, RHPDGF-BB—recombinant human platelet-derived growth factor-BB, SCTG—subepithelial connective tissue graft, T-PRF—titanium-prepared platelet-rich fibrin, TT—tunnel technique, XCM—xenogeneic collagen matrix, XDM—xenogeneic dermal matrix.

3.4. Risk of Bias

The risk of bias was assessed using the Cochrane risk of bias tool. The majority of studies had a low or uncertain risk of bias in most areas, indicating a generally good methodological quality of the included studies, as shown in Table 3.

Table 3. Cochrane risk of bias of systematic reviews of interventions.

Study	Selection Bias		Performance Bias	Detection Bias	Attrition Bias	Reporting Bias	Other Bias
Author	Random Sequence Generation	Allocation Concealment	Blinding of Participants and Personnel	Blinding of Outcome Assessment	Incomplete Outcome Data	Selective Reporting	Other Sources of Bias
Aroca et al., 2013 [17]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No
Bherwani et al., 2014 [30]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 3. *Cont.*

Study	Selection Bias		Performance Bias	Detection Bias	Attrition Bias	Reporting Bias	Other Bias
Author	Random Sequence Generation	Allocation Concealment	Blinding of Participants and Personnel	Blinding of Outcome Assessment	Incomplete Outcome Data	Selective Reporting	Other Sources of Bias
Zuhr et al., 2014 [29]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Ozenci et al., 2015 [28]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Bakhishov H et al., 2021 [15]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Azaripour et al., 2016 [31]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Bednarz et al., 2016 [32]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Cieslik-Wegemund et al., 2016 [33]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Santamaria et al., 2017 [16]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Dragana Rakasevi et al., 2020 [34]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Górski B et al., 2020 [35]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Tavelli L et al., 2019 [36]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Korkmaz B et al., 2020 [37]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Zuhr O et al., 2020 [38]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Uzun BC et al., 2018 [39]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No
Stähli A et al., 2020 [40]	Yes	Yes	Yes	Yes	Unclear	No	No
Parween S et al., 2020 [41]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Zuhr O et al., 2021 [42]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No
		Positive (good) indicator		Unclear	Negative (bad) indicator		

3.5. Meta-Analysis

Subgroup analysis was conducted due to the variability of interventions. Three comparison groups were created: Group 1: TT with CTG vs. CAF with CTG; Group 2: TT with CTG and other biomaterials vs. TT with CTG; Group 3: TT vs. CAF regardless of the type of biomaterial. The extracted results from the meta-analysis and the degree of heterogeneity are shown in Table 4.

Table 4. Meta-analysis results for the different study groups. SE—standard error. CI—confidence Interval.

Comparation Group	Variable	Estimate	SE	CI (95%)	*p* Value	I^2	*p* I^2
1 Tunnel technique with connective tissue vs. coronally advanced flap with connective tissue	Mean root coverage	−8.68	4.34	−17.19 to −0.17	0.0457	61.75%	0.0333
	Complete root coverage	−1.67	0.43	−2.52 to −0.82	0.0001	0%	0.7318
	Keratinized tissue gain	−0.19	0.17	−0.52 to 0.13	0.2317	20.10%	0.2197
2 Tunnel technique with connective and/or other materials vs. tunnel technique with connective	Mean root coverage	4.17	11.27	−17.91 to 26.26	0.7110	91.87%	<0.001
	Complete root coverage	0.37	0.77	−1.14 to 1.89	0.6269	82.56%	0.0044
	Keratinized tissue gain	−0.30	0.61	−1.49 to 0.89	0.6196	95.71%	<0.001

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Table 4. *Cont.*

Comparation Group	Variable	Estimate	SE	CI (95%)	*p* Value	I^2	*p* I^2
3 Tunnel technique vs. coronal flap	Mean root coverage	2.32	5.73	−8.90 to 13.55	0.685	93.19%	<0.001
	Complete root coverage	−0.006	0.54	−1.08 to 1.06	0.9905	81.88%	<0.001
	Keratinized tissue gain	0.13	0.21	−0.28 to 0.54	0.6301	84.69%	<0.001

3.5.1. Group 1: Tunnel Technique with Connective Tissue vs. Coronally Advanced Flap with Connective Tissue

In the analysis of the four included articles [16,17,30,31], an 8.6 mm root coverage estimate (CI95% −17.19 to −0.17) in favor of CAF with CTG compared with TT with CTG was obtained. Regarding CRC, the WMD between CAF and TT was −1.67, indicating that CAF shows better outcomes than TT in terms of root coverage. No significant differences were found in terms of keratinized tissue gain between the two techniques (refer to Figure 3).

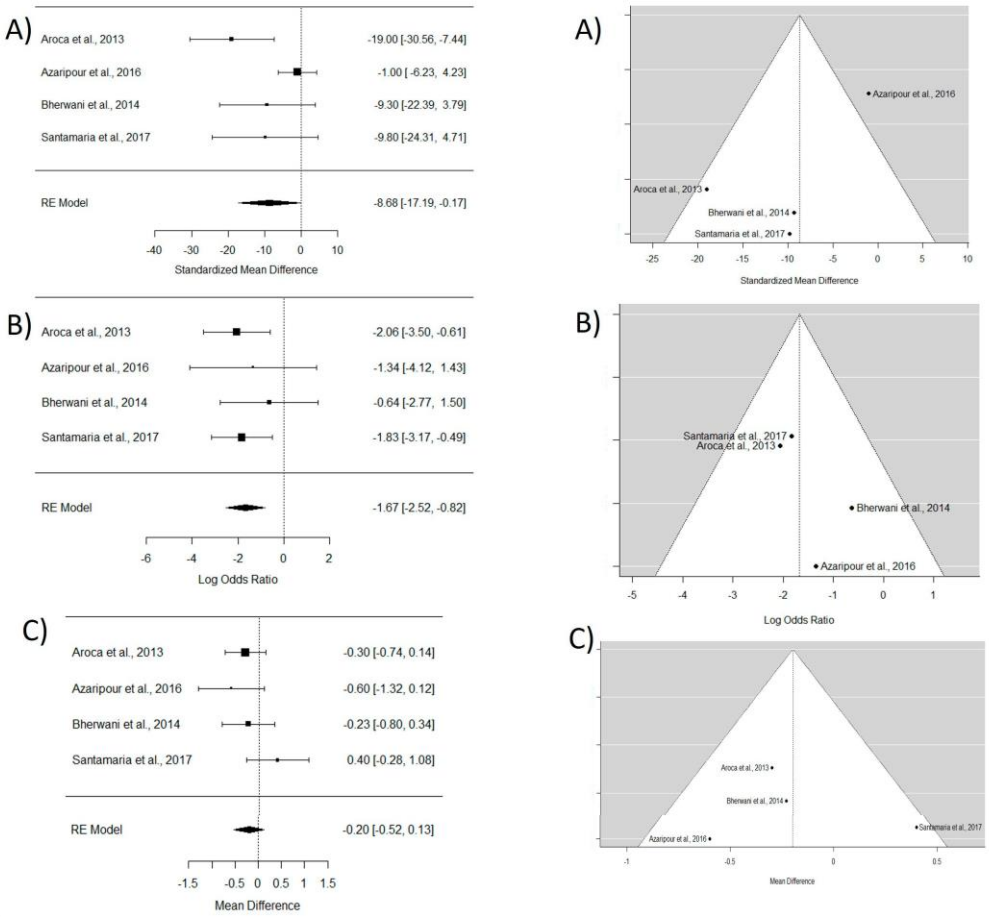


Figure 3. Tunnel technique with connective tissue vs. coronally advanced flap with connective tissue. Forest plots (**left column**) and funnel plots (**right column**) for Group 1. (**A**) Keratinized tissue gain. (**B**) Mean root coverage. (**C**) Complete root coverage. [16,17,30,31].

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

3.5.2. Group 2: Tunnel Technique with Connective and/or Other Materials vs. Tunnel Technique with Connective

Four articles were analyzed in this group [37,39–41]. The MRC study did not incorporate the research carried out by Uzun et al. [39] due to insufficient data. The WMD of 4.17 demonstrated superior outcomes with the usage of CTG combined with other materials in contrast to CTG alone. However, no significant differences were observed. The study by Stähli A et al. [40] was not considered for CRC analysis due to the lack of data, and a WMD of 0.37 in favor of TT with CTG and/or other materials was observed, though without significant differences. For keratinized tissue gain, the random effects model showed a WMD of −0.30, indicating a greater keratinized tissue gain with CTG exclusively, though without significant differences between groups and with high heterogeneity (Figure 4).

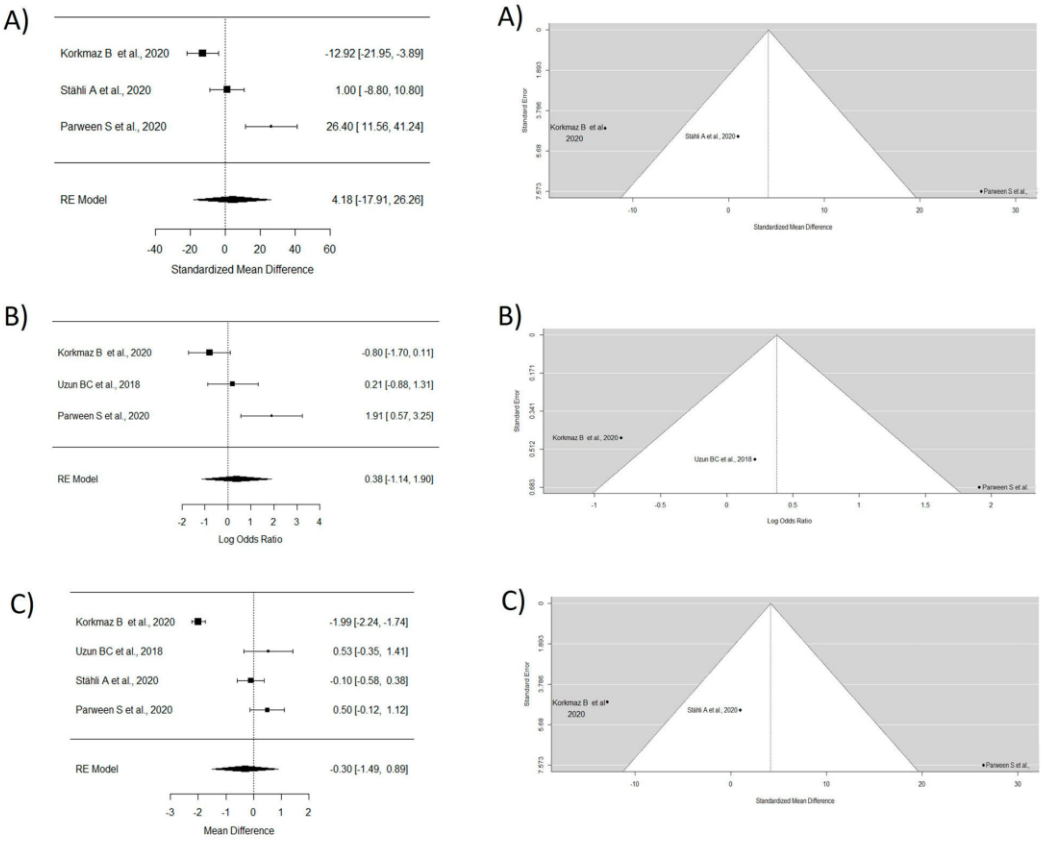


Figure 4. Tunnel technique with connective and or other materials vs. tunnel technique with connective. Forest plots (**left column**) and funnel plots (**right column**) for Group 2. (**A**) Keratinized tissue gain. (**B**) Mean root coverage. (**C**) Complete root coverage [37,39–41].

3.5.3. Group 3: Tunnel Technique vs. Coronal Flap (Without Considering the Coadjutant Material Used)

This group included 11 essays [16,17,28–31,34,37–39,42]. To study MRC, the study by Uzun BC et al. [39] was excluded due to the lack of necessary data. The WMD between groups was 2.32, indicating that TT has a greater ability for root coverage, though without statistically significant differences and with very high heterogeneity. The WMD for CRC was −0.006, indicating that there is not a large difference in the ability of both techniques to achieve complete coverage of the exposed root. Regarding KTG, a significantly greater

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

mean difference was observed in the CAF technique compared with TT (WMD = 0.13) (Figure 5).

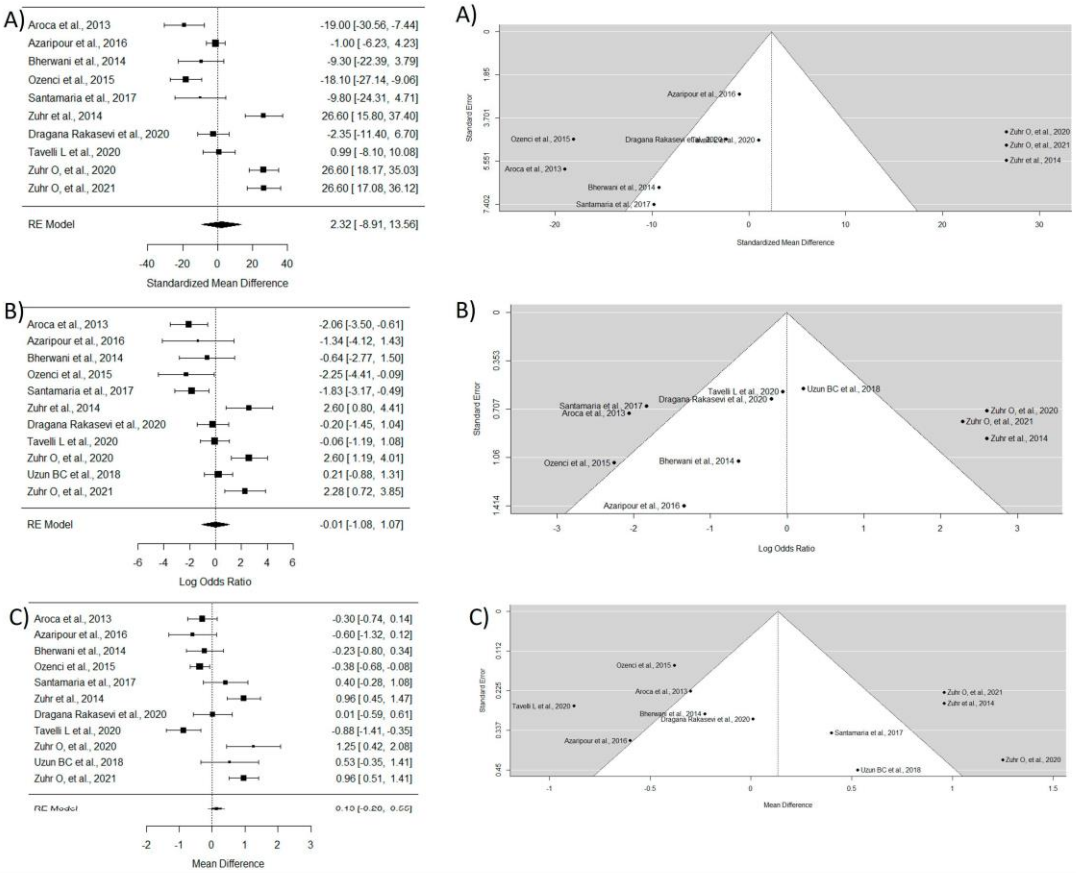


Figure 5. Tunnel technique vs. coronal flap without considering the coadjutant material used. Forest plots (**left column**) and funnel plots (**right column**) for Group 3. (**A**) Keratinized tissue gain. (**B**) Mean root coverage. (**C**) Complete root coverage [16,17,28–31,34,37–39,42].

4. Discussion

The results of this systematic review and meta-analysis provide information on the comparative efficacy of TT and CAF techniques in achieving root coverage. Regarding mean root coverage, the analysis revealed that the CAF technique with CTG showed better results compared with the TT technique with CTG. This result is consistent with prior research that has demonstrated better outcomes with the CAF method for root coverage [16,20,30]. This difference between methods could be related to operator experience (especially with TT) and it is also important to note that the mean difference in CRM, although statistically significant, may not be clinically relevant.

Two systematic reviews and meta-analyses were examined, including one conducted by Tavelli et al. [20]. Tavelli et al. concluded that the tunnel technique was more effective in root coverage, achieving an MRC of 82.8% for localized recessions and 87.9% for multiple recessions. However, CAF yielded a higher CRC compared with TT when using CTG or an acellular dermal matrix in both techniques. Meanwhile, Tovalino et al., in 2023, [51] found that TT and CAF had similar primary and secondary outcomes. This aligns with the findings of Azaripour et al., Tavelli et al., and Zuhr et al. [31,36,38], suggesting that

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

both techniques are equally effective in achieving complete root coverage. The minimal difference in CRC could be attributed to the gold standard nature of CTG in root coverage procedures. Therefore, while CAF may exhibit slightly better CRC, the advantages of TT, such as improved esthetics and faster healing, make it a viable alternative [16,17,29].

In terms of KTG, the analysis indicated that the CAF technique resulted in higher values compared with TT. This result is in line with previous studies that have emphasized the importance of KTG in improving periodontal health and esthetics [20,28]. However, Rebele et al. found that the TT technique resulted in thicker gingiva according to digital measurements. It is important to mention that, although statistically significant, the clinical significance of the difference in KTG could vary according to the individual needs of patients and clinical situations.

Studies like Santamaria et al. [16] described that the average percentage of MCR was significantly higher in the CAF + CTG group (87.2 ± 27.1%) compared with the TT + CTG group (77.4 ± 20.4%; $p = 0.02$), and CRC was highest in the CAF + CTG group (71.4%) in contrast with the TT + CTG group (28.6%; $p = 0.01$). In another study by Azaripour et al. [31], it was determined that mCR was 98.3 ± 9.3% in CAF + CTG and 97.2 ± 9.8% in MMTT + CTG, and CRC was 96% in CAF + CTG and 90.5% in MMTT + CTG, concluding that there were no significant differences in both techniques.

Other materials have been used for root coverage, as demonstrated by the study of Dragana Rakasevic et al. [34], which obtained an MCR of 85.25 ± 14.9 in the TT + XCM (xenogeneic collagen matrix) group and 87.6 ± 15.1 in the CAF + CTG group, and CRC was 46.8% in TT + XCM and 51.9% in CAF + CTG, yielding similar results in both techniques. Another study [28] utilized an acellular dermal matrix (ADM), which obtained an MRC of 75.72 ± 6.54 in the TT + ADM group, while it was 93.81 ± 13.10 in the CAF + ADM group, and CRC was 37.36 ± 21.10 in TT + ADM and 85.00 ± 33.75 in CAF + ADM, concluding that both TT + ADM and CAF + ADM proved to be effective in root coverage of multiple recessions. In a related study, Tavelli L et al. [36] found an MRC of 89.13 ± 15.19 in TT + ADM and 88.14 ± 16.91 in CAF + ADM, and a CRC of 51.2% in TT + ADM and 52.6% in CAF + ADM, concluding that there were no significant differences.

Meanwhile, Zuhr O et al. [42], using enamel matrix derivatives (EMDs), demonstrated that the MRC in the TT + CTG group was 98.4 ± 3.6% and in the CAF + EMD group was 71.8 ± 20.3%, while the CRC in the TT + CTG group was 82.2% and in CAF + EMD was 32%, determining that TT + CTG showed significantly superior long-term results compared with CAF + EMD in terms of CRC and MRC.

The results of this study provide valuable information for clinicians when selecting the appropriate surgical technique for root coverage procedures. Although the CAF technique with CTG may yield slightly superior results in MRC and KTG, TT offers several advantages that contribute to its clinical relevance. TT is associated with better esthetics due to its conservative nature, preserving the interdental papilla and avoiding vertical incisions [17,29]. In addition, TT has a shorter healing period and lower postoperative morbidity due to limited flap opening [36]. Therefore, the choice between both techniques should consider factors such as patient preferences, esthetic requirements, and clinician experience.

This study has some limitations that need to be acknowledged. First, the main surgical techniques (CAF and TT) were complemented with various regeneration materials (as described in Section 2), which means that heterogeneity in terms of materials used for root coverage and study designs could have introduced biases in the results, making overall conclusions complex due to the diversity of materials used. Second, the studies included in the analysis had non-uniform follow-up periods, leading to variability in the assessment of results. Additionally, the reported results may have been influenced by different definitions of success and the use of different measurement methods in different studies. Future research should aim to standardize outcome measurements, follow-up periods, and patient characteristics to enable more precise comparisons between techniques. Long-term studies with larger sample sizes are also needed to provide a comprehensive understanding of the durability and stability of root coverage achieved with both TT and CAF. Further-

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

more, investigating patient-reported outcomes, including esthetic satisfaction and patient discomfort, may enhance the comprehensive evaluation of the clinical effectiveness of each method.

5. Conclusions

In conclusion, this systematic review and this meta-analysis contribute to the understanding of root coverage techniques in the treatment of gingival recessions. The results suggest that both the tunnel technique and coronally advanced flap technique with connective tissue graft are effective in achieving root coverage. While the CAF technique may offer slightly better mean root coverage and keratinized tissue gain, the tunnel technique provides advantages in terms of esthetics, healing period, and patient comfort. The choice between the two techniques should be based on patient preferences, clinical considerations and clinical skills by the operator, and mastery of both techniques. Further research is needed to address the limitations and provide a more comprehensive assessment of these techniques.

Author Contributions: Conceptualization, A.P.-J., L.C.-B. and M.P.-S.; methodology, F.F.V.E.S., E.P.-I. and A.P.-J.; software, M.P.-S. and M.C.-A.; validation, F.F.V.E.S., L.C.-B., A.P.-J. and B.V.-R.; resources, A.P.-J., F.F.V.E.S., L.C.-B. and E.P.-I.; writing—original draft preparation, F.F.V.E.S., M.C.-A., A.P.-J. and L.C.-B.; writing—review and editing, A.P.-J., F.F.V.E.S., E.P.-I. and M.P.-S.; visualization, L.C.-B., B.V.-R., F.F.V.E.S. and M.C.-A.; supervision, F.F.V.E.S. and M.P.-S.; project administration, L.C.-B., F.F.V.E.S., A.P.-J. and M.P.-S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Dataset available on request from the authors.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Imber, J.; Kasaj, A. Treatment of Gingival Recession: When and How? *Int. Dent. J.* **2021**, *71*, 178–187. [CrossRef]
2. Pini Prato, G. Mucogingival deformities. *Ann. Periodontol.* **1999**, *4*, 98–101. [CrossRef] [PubMed]
3. Niemczyk, W.; Niemczyk, S.; Prokurat, M.; Grudnik, K.; Migas, M.; Wągrowska, K.; Lau, K.; Kasperczyk, J. Etiology of gingival recession-a literature review. *Wiad. Lek.* **2024**, *77*, 1080–1085. [CrossRef] [PubMed]
4. Kassab, M.M.; Cohen, R.E. The etiology and prevalence of gingival recession. *J. Am. Dent. Assoc.* **2003**, *134*, 220–225. [CrossRef] [PubMed]
5. Vignoletti, F.; Di Martino, M.; Clementini, M.; Di Domenico, G.L.; de Sanctis, M. Prevalence and risk indicators of gingival recessions in an Italian school of dentistry and dental hygiene: A cross-sectional study. *Clin. Oral. Investig.* **2020**, *24*, 991–1000. [CrossRef] [PubMed]
6. Heasman, P.A.; Ritchie, M.; Asuni, A.; Gavillet, E.; Simonsen, J.L.; Nyvad, B. Gingival recession and root caries in the ageing population: A critical evaluation of treatments. *J. Clin. Periodontol.* **2017**, *44* (Suppl. S18), S178–S193. [CrossRef]
7. Guttiganur, N.; Aspalli, S.; Sanikop, M.V.; Desai, A.; Gaddale, R.; Devanoorkar, A. Classification systems for gingival recession and suggestion of a new classification system. *Indian J. Dent. Res.* **2018**, *29*, 233–237. [CrossRef]
8. Zucchelli, G.; Mounssif, I. Periodontal plastic surgery. *Periodontology 2000* **2015**, *68*, 333–368. [CrossRef]
9. Cairo, F.; Rotundo, R.; Miller, P.D.; Pini Prato, G.P. Root coverage esthetic score: A system to evaluate the esthetic outcome of the treatment of gingival recession through evaluation of clinical cases. *J. Periodontol.* **2009**, *80*, 705–710. [CrossRef]
10. Cairo, F.; Pagliaro, U.; Nieri, M. Treatment of gingival recession with coronally advanced flap procedures: A systematic review. *J. Clin. Periodontol.* **2008**, *35* (Suppl. S8), 136–162. [CrossRef]
11. Pini Prato, G.P.; De Sanctis, M. Soft-tissue plastic surgery. *Curr. Opin. Dent.* **1991**, *1*, 98–103. [PubMed]
12. Aslan, S.; Buduneli, N.; Cortellini, P. Entire papilla preservation technique in the regenerative treatment of deep intrabony defects: 1-Year results. *J. Clin. Periodontol.* **2017**, *44*, 926–932. [CrossRef]
13. Park, H.C.; Kim, S.G.; Oh, J.S.; You, J.S.; Kim, J.S.; Lim, S.C.; Jeong, M.A.; Kim, J.S.; Jung, C.; Kwon, Y.S.; et al. Early Bone Formation at a Femur Defect Using CGF and PRF Grafts in Adult Dogs: A Comparative Study. *Implant Dent.* **2016**, *25*, 387–393. [CrossRef] [PubMed]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

14. Shirakata, Y.; Nakamura, T.; Shinohara, Y.; Nakamura-Hasegawa, K.; Hashiguchi, C.; Takeuchi, N.; Imafuji, T.; Sculean, A.; Noguchi, K. Split-mouth evaluation of connective tissue graft with or without enamel matrix derivative for the treatment of isolated gingival recession defects in dogs. *Clin. Oral Investig.* **2019**, *23*, 3339–3349. [CrossRef]
15. Bakhishov, H.; Isler, S.C.; Bozyel, B.; Yıldırım, B.; Tekindal, M.A.; Ozdemir, B. De-epithelialized gingival graft versus subepithelial connective tissue graft in the treatment of multiple adjacent gingival recessions using the tunnel technique: 1-year results of a randomized clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2021**, *48*, 970–983. [CrossRef]
16. Santamaria, M.P.; Neves, F.L.d.S.; Silveira, C.A.; Mathias, I.F.; Fernandes-Dias, S.B.; Jardini, M.A.N.; Tatakis, D.N. Connective tissue graft and tunnel or trapezoidal flap for the treatment of single maxillary gingival recessions: A randomized clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2017**, *44*, 540–547. [CrossRef] [PubMed]
17. Aroca, S.; Molnár, B.; Windisch, P.; Gera, I.; Salvi, G.E.; Nikolidakis, D.; Sculean, A. Treatment of multiple adjacent Miller class I and II gingival recessions with a Modified Coronally Advanced Tunnel (MCAT) technique and a collagen matrix or palatal connective tissue graft: A randomized, controlled clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2013**, *40*, 713–720. [CrossRef]
18. Tavelli, L.; Barootchi, S.; Nguyen, T.V.N.; Tattan, M.; Ravidà, A.; Wang, H. Efficacy of tunnel technique in the treatment of localized and multiple gingival recessions: A systematic review and meta-analysis. *J. Periodontol.* **2018**, *89*, 1075–1090. [CrossRef]
19. Sabri, H.; SamavatiJame, F.; Sarkarat, F.; Wang, H.L.; Zadeh, H.H. Clinical efficacy of Vestibular Incision Subperiosteal Tunnel Access (VISTA) for treatment of multiple gingival recession defects: A systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Clin. Oral Investig.* **2023**, *27*, 7171–7187. [CrossRef]
20. Barootchi, S.; Tavelli, L. Tunneled coronally advanced flap for the treatment of isolated gingival recessions with deficient papilla. *Int. J. Esthet. Dent.* **2022**, *17*, 14–26.
21. Miron, R.J.; Moraschini, V.; Del Fabbro, M.; Piattelli, A.; Fujioka-Kobayashi, M.; Zhang, Y.; Saulacic, N.; Schaller, B.; Kawase, T.; Cosgarea, R.; et al. Use of platelet-rich fibrin for the treatment of gingival recessions: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Oral Investig.* **2020**, *24*, 2543–2557. [CrossRef] [PubMed]
22. D'Agostino, S.; Grieco, M.; Valentini, G.; Sorana, A.S.; Dolci, M. Increasing the width of the keratinized mucosa around implants with L-PRF: Report of a case and systematic review. *Oral Implantol.* **2023**, *15*, 44–52.
23. Liberati, A.; Altman, D.G.; Tetzlaff, J.; Mulrow, C.; Gotzsche, P.C.; A Ioannidis, J.P.; Clarke, M.; Devereaux, P.J.; Kleijnen, J.; Moher, D. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: Explanation and elaboration. *BMJ* **2009**, *339*, b2700. [CrossRef] [PubMed]
24. Cairo, F.; Nieri, M.; Cincinelli, S.; Mervelt, J.; Pagliaro, U. The interproximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: An explorative and reliability study. *J. Clin. Periodontol.* **2011**, *38*, 661–666. [CrossRef] [PubMed]
25. Higgins, J.P.; Altman, D.G.; Gøtzsche, P.C.; Jüni, P.; Moher, D.; Oxman, A.D.; Savović, J.; Schulz, K.F.; Weeks, L.; Sterne, J.A. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomized trials. *BMJ.* **2011**, *343*, d5928. [CrossRef]
26. Higgins, J.P.T.; Thompson, S.G. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat. Med.* **2002**, *21*, 1539–1558. [CrossRef]
27. Egger, M.; Davey Smith, G.; Schneider, M.; Minder, C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* **1997**, *315*, 629–634. [CrossRef]
28. Ozenci, I.; Ipci, S.D.; Cakar, G.; Yilmaz, S. Tunnel technique versus coronally advanced flap with acellular dermal matrix graft in the treatment of multiple gingival recessions. *J. Clin. Periodontol.* **2015**, *42*, 1135–1142. [CrossRef]
29. Rebele, S.F.; Zuhr, O.; Schneider, D.; Jung, R.E.; Hürzeler, M.B. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivative for root coverage: A RCT using 3D digital measuring methods. Part II. Volumetric studies on healing dynamics and gingival dimensions. *J. Clin. Periodontol.* **2014**, *41*, 593–603. [CrossRef]
30. Bherwani, C.; Kulloli, A.; Kathariya, R.; Shetty, S.; Agrawal, P.; Gujar, D.; Desai, A. Zucchelli's technique or tunnel technique with subepithelial connective tissue graft for treatment of multiple gingival recessions. *J. Int. Acad. Periodontol.* **2014**, *16*, 34–42.
31. Azaripour, A.; Kissinger, M.; Farina, V.S.L.; Van Noorden, C.J.; Gerhold-Ay, A.; Willershausen, B.; Cortellini, P. Root coverage with connective tissue graft associated with coronally advanced flap or tunnel technique: A randomized, double-blind, mono-centre clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2016**, *43*, 1142–1150. [CrossRef] [PubMed]
32. Bednarz, W.; Żurek, J.; Gedrange, T.; Dominiak, M. A Preliminary Clinical Comparison of the Use of Fascia Lata Allograft and Autogenous Connective Tissue Graft in Multiple Gingival Recession Coverage Based on the Tunnel Technique. *Adv. Clin. Exp. Med.* **2016**, *25*, 587–598. [CrossRef]
33. Cieślik-Wegemund, M.; Wierucka-Młynarczyk, B.; Tanasiewicz, M.; Gilowski, Ł. Tunnel Technique with Collagen Matrix Compared With Connective Tissue Graft for Treatment of Periodontal Recession: A Randomized Clinical Trial. *J. Periodontol.* **2016**, *87*, 1436–1443. [CrossRef] [PubMed]
34. Rakasevic, D.L.; Milinkovic, I.Z.; Jankovic, S.M.; Soldatovic, I.A.; Aleksic, Z.M.; Nikolic-Jakoba, N.S. The use of collagen porcine dermal matrix and connective tissue graft with modified coronally advanced tunnel technique in the treatment of multiple adjacent type I gingival recessions: A randomized, controlled clinical trial. *J. Esthet. Restor. Dent.* **2020**, *32*, 681–690. [CrossRef]
35. Górski, B.; Górska, R.; Wysokińska-Miszczuk, J.; Kaczyński, T. Tunnel technique with enamel matrix derivative in addition to subepithelial connective tissue graft compared with connective tissue graft alone for the treatment of multiple gingival recessions: A randomized clinical trial. *Clin. Oral Investig.* **2020**, *24*, 4475–4486. [CrossRef]

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

36. Tavelli, L.; Barootchi, S.; Di Gianfilippo, R.; Modarressi, M.; Cairo, F.; Rasperini, G.; Wang, H. Acellular dermal matrix and coronally advanced flap or tunnel technique in the treatment of multiple adjacent gingival recessions. A 12-year follow-up from a randomized clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2019**, *46*, 937–948. [PubMed]
37. Korkmaz, B.; Balli, U. Clinical evaluation of the treatment of multiple gingival recessions with connective tissue graft or concentrated growth factor using tunnel technique: A randomized controlled clinical trial. *Clin. Oral Investig.* **2021**, *25*, 6347–6356. [CrossRef] [PubMed]
38. Zuhr, O.; Rebele, S.F.; Vach, K.; Petsos, H.; Hürzeler, M.B. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivate for root coverage: 2-year results of an RCT using 3D digital measuring for volumetric comparison of gingival dimensions. *J. Clin. Periodontol.* **2020**, *47*, 1144–1158. [CrossRef]
39. Uzun, B.C.; Ercan, E.; Tunalı, M. Effectiveness and predictability of titanium-prepared platelet-rich fibrin for the management of multiple gingival recessions. *Clin. Oral Investig.* **2018**, *22*, 1345–1354. [CrossRef]
40. Stähli, A.; Imber, J.; Raptis, E.; Salvi, G.; Eick, S.; Sculean, A. Effect of enamel matrix derivative on wound healing following gingival recession coverage using the modified coronally advanced tunnel and subepithelial connective tissue graft: A randomised, controlled, clinical study. *Clin. Oral Investig.* **2020**, *24*, 1043–1051. [CrossRef]
41. Parween, S.; George, J.P.; Prabhuji, M. Treatment of Multiple Mandibular Gingival Recession Defects Using MCAT Technique and SCTG With and Without rhPDGF-BB: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2020**, *40*, e43–e51. [CrossRef] [PubMed]
42. Zuhr, O.; Akakpo, D.; Eickholz, P.; Vach, K.; Hürzeler, M.B.; Petsos, H. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivate for root coverage: 5-year results of an RCT using 3D digital measurement technology for volumetric comparison of soft tissue changes. *J. Clin. Periodontol.* **2021**, *48*, 949–961. [CrossRef]
43. Sculean, A.; Cosgarea, R.; Stähli, A.B.; Katsaros, C.; Arweiler, N.B.; Brecx, M.; Deppe, H. The modified coronally advanced tunnel combined with an enamel matrix derivative and subepithelial connective tissue graft for the treatment of isolated mandibular Miller Class I and II gingival recessions: A report of 16 cases. *Quintessence Int.* **2014**, *45*, 829–835. [PubMed]
44. Chaparro, A.; De la Fuente, M.; Albers, D.; Hernandez, D.; Villalobos, A.; Gaedechens, D.; De la Fuente, M. Root Coverage of Multiple Miller Class I and II Recession Defects Using Acellular Dermal Matrix and Tunneling Technique in Maxilla and Mandible: A 1-Year Report. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2015**, *35*, 639–645. [CrossRef] [PubMed]
45. Vincent-Bugnas, S.; Charbit, Y.; Lamure, J.; Mahler, P.; Dard, M.M. Modified Tunnel Technique Combined with Enamel Matrix Derivative: A Minimally Invasive Treatment for Single or Multiple Class I Recession Defects. *J. Esthet. Restor. Dent.* **2015**, *27*, 145–154. [CrossRef]
46. Cosgarea, R.; Juncar, R.; Arweiler, N.; Lascu, L.; Sculean, A. Clinical evaluation of a porcine acellular dermal matrix for the treatment of multiple adjacent class I, II, and III gingival recessions using the modified coronally advanced tunnel technique. *Quintessence Int.* **2016**, *47*, 739–747.
47. Nart, J.; Valles, C. Subepithelial Connective Tissue Graft in Combination with a Tunnel Technique for the Treatment of Miller Class II and III Gingival Recessions in Mandibular Incisors: Clinical and Esthetic Results. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2016**, *36*, 591–598. [CrossRef]
48. Sculean, A.; Cosgarea, R.; Stähli, A.; Katsaros, C.; Arweiler, N.B.; Miron, R.J.; Deppe, H. Treatment of multiple adjacent maxillary Miller Class I, II, and III gingival recessions with the modified coronally advanced tunnel, enamel matrix derivative, and subepithelial connective tissue graft: A report of 12 cases. *Quintessence Int.* **2016**, *47*, 653–659.
49. Thalmair, T.; Fickl, S.; Wachtel, H. Coverage of Multiple Mandibular Gingival Recessions Using Tunnel Technique with Connective Tissue Graft: A Prospective Case Series. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2016**, *36*, 859–867. [CrossRef]
50. Vincent-Bugnas, S.; Borie, G.; Charbit, Y. Treatment of multiple maxillary adjacent class I and II gingival recessions with modified coronally advanced tunnel and a new xenogeneic acellular dermal matrix. *J. Esthet. Restor. Dent.* **2018**, *30*, 89–95. [CrossRef]
51. Mayta-Tovalino, F.; Barboza, J.J.; Pasupuleti, V.; Hernandez, A.V. Efficacy of Tunnel Technique (TUN) versus Coronally Advanced Flap (CAF) in the Management of Multiple Gingival Recession Defects: A Meta-Analysis. *Int. J. Dent.* **2023**, *2023*, 8671484. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

12. ANEXOS

USC
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO 1. DICTÁMENES DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

SERVIZO GALEGO DE SAÚDE

Código de registro 2023/484

DICTAMEN DEL Comité de ética de la investigación de Santiago-Lugo (CEI-SL)

Ana Estany Gestal, secretaria del Comité de ética de la investigación de Santiago-Lugo

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó la propuesta del estudio

Título:	Errores metodológicos en la obtención de Células Madre de la Pulpa Dental
Código del promotor:	DPSC/2023
Código de Registro:	2023/484
Promotor:	Mario Pérez Sayáns
Investigador Principal:	Mario Pérez Sayáns
Versión y fecha:	Protocolo v2 y HIP v1 03/01/2023

Que este Comité vista la solicitud, ha realizado la evaluación del estudio de investigación y ha valorado las respuestas del promotor a las aclaraciones solicitadas (si las hubiera), de acuerdo con los previsto en el Decreto 63/2013 por el que se regulan los Comités de ética de la investigación en Galicia y considera que:

1 El procedimiento para obtener el consentimiento informado, si lo hubiera, (incluyendo las hojas de información y consentimientos informados mencionados en el encabezamiento), y el plan de reclutamiento de sujetos previsto son adecuados y cumplen con los requisitos para la obtención del consentimiento informado previstos en la legislación vigente.

2 El procedimiento previsto para el manejo de datos personales es adecuado.

3 El uso futuro de las muestras biológicas obtenidas durante el estudio, si las hubiera, se adecua a lo previsto en el Real Decreto 1716/2011.

Que este Comité decidió emitir **DICTAMEN FAVORABLE** en la reunión celebrada el día miércoles 24 de enero de 2024. Que en dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación para que la decisión del citado CEI sea válida.

Que el Comité tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del mismo es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que en el caso de que algún miembro participe en el estudio o declare algún conflicto de interés, se ausentará durante la evaluación.

NOTA: Se le recuerda que en el caso de que en este estudio se recluten pacientes, el equipo investigador debe tener disponible el Documento de Consentimiento Informado (Hojas de Información y Hojas de Firma) tanto en *galego* como en castellano en el momento de comenzar el reclutamiento.

Documento asinado dixitalmente por:
Ana Estany Gestal (09/02/2024 16:33)
https://sede.xunta.gal/cve?idcve=SAOC-R4G4-BOAH-OF4O-TMH4-TMZM-S1DS-M170-7492-8234-86

Comité Territorial de Santiago y Lugo
XERENCIA DO SERVIZO GALEGO DE SAÚDE
Complexo Administrativo de San Lázaro
15781 Santiago de Compostela
T. 881 546425
ceic@sergas.gal
https://acis.sergas.es/cartafol/Redes-de-Comites-de-Etica-da-Investigacion

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

SERVIZO GALEGO DE SAÚDE

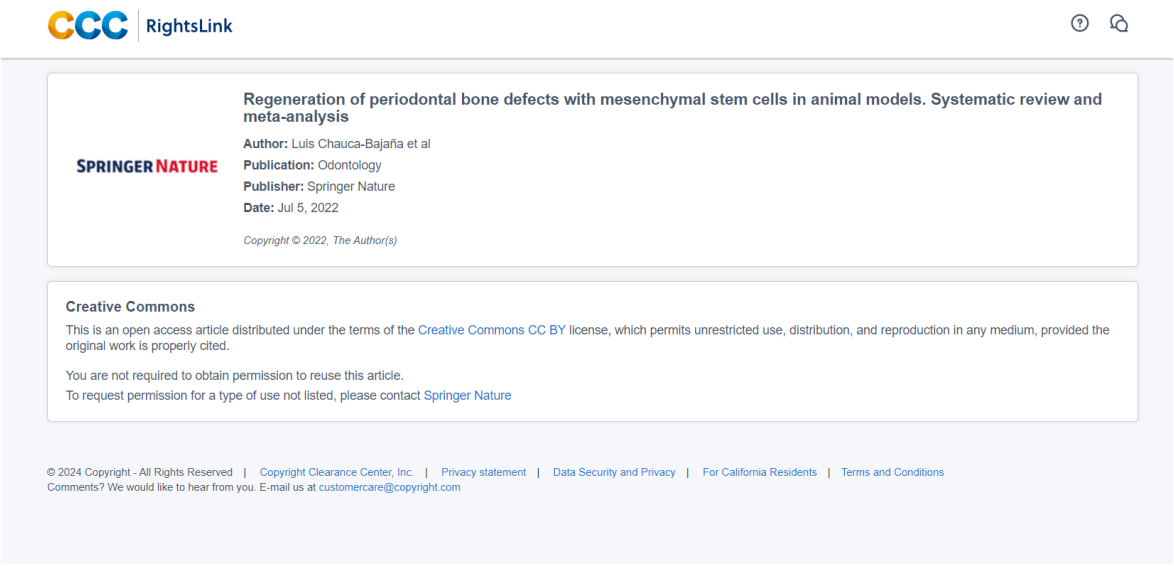
ANEXO I: Composición del Comité de Ética de la Investigación Santiago-Lugo (CEI S-L)

Presidenta	**Pilar Rodríguez Ledo.** Médico especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.
Vicepresidenta	**Mª Mercedes Rodicio García.** Médico especialista en Pediatría.
Secretaria	**Ana Estany Gestal.** Licenciada en Farmacia.
Vicesecretaria	**Jesús Prego Domínguez.** Enfermero.
Vocales	**Mª Cristina Arljón Barazal.** Médico especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.
	Mª Agustina Fernández Pérez. Farmacéutica de Atención Primaria
	Raúl Franco Gutiérrez. Médico especialista en Cardiología.
	Jesús Fernández Álvarez. Miembro lego.
	Ricardo García Martínez. Licenciado en Derecho.
	Eva Marcos Doldán. Analista-programadora.
	Carlos Rodríguez Moreno. Médico especialista en Farmacología Clínica.

Comité Territorial de Santiago y Lugo
XERENCIA DO SERVIZO GALEGO DE SAÚDE
Complexo Administrativo de San Lázaro
15781 Santiago de Compostela
T. 881 546425
ceic@sergas.gal
https://acis.sergas.es/cartafol/Redes-de-Comites-de-Etica-da-Investigacion

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ANEXO 2. AUTORIZACIONES



RightsLink

SPRINGER NATURE

Regeneration of periodontal bone defects with mesenchymal stem cells in animal models. Systematic review and meta-analysis

Author: Luis Chauca-Bajaña et al
Publication: Odontology
Publisher: Springer Nature
Date: Jul 5, 2022

Copyright © 2022, The Author(s)

Creative Commons

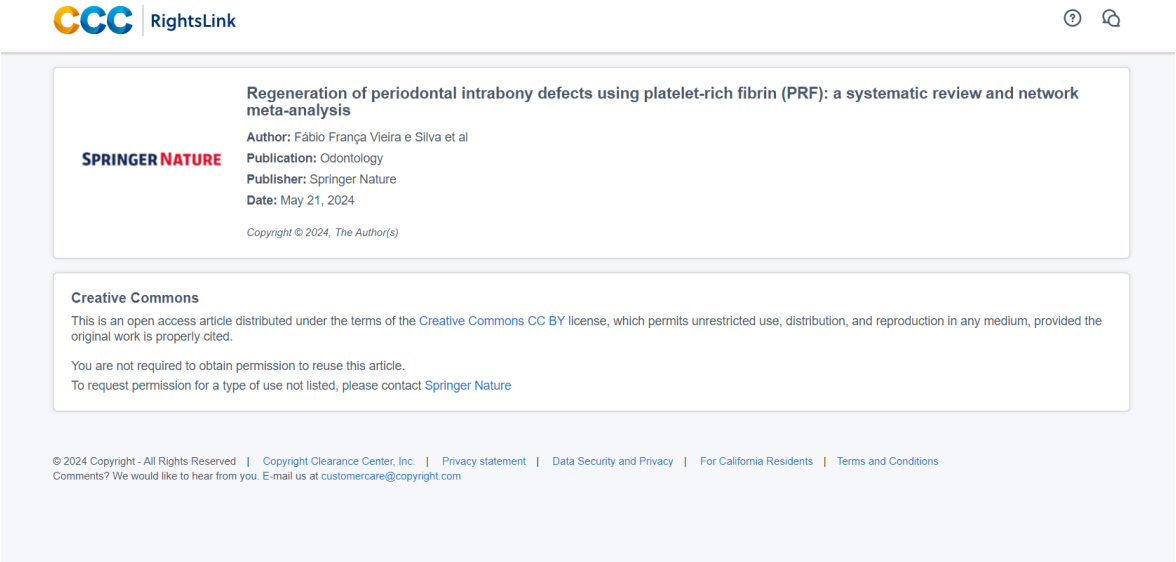
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

You are not required to obtain permission to reuse this article.
To request permission for a type of use not listed, please contact Springer Nature

© 2024 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Data Security and Privacy | For California Residents | Terms and Conditions
Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com

Le adjunto el Link:

https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet?title=Regeneration%20of%20periodontal%20bone%20defects%20with%20mesenchymal%20stem%20cells%20in%20animal%20models.%20Systematic%20review%20and%20meta-analysis&author=Luis%20Chauca-Baja%C3%B1a%20et%20al&contentID=10.1007%2Fs10266-022-00725-5&copyright=The%20Author%28s%29&publication=1618-1247&publicationDate=2022-07-05&publisherName=SpringerNature&orderBeanReset=true&oa=CC%20BY



RightsLink

SPRINGER NATURE

Regeneration of periodontal intrabony defects using platelet-rich fibrin (PRF): a systematic review and network meta-analysis

Author: Fábio França Vieira e Silva et al
Publication: Odontology
Publisher: Springer Nature
Date: May 21, 2024

Copyright © 2024, The Author(s)

Creative Commons

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

You are not required to obtain permission to reuse this article.
To request permission for a type of use not listed, please contact Springer Nature

© 2024 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Data Security and Privacy | For California Residents | Terms and Conditions
Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com

Le adjunto el Link:

https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet?title=Regeneration%20of%20periodontal%20intrabony%20defects%20using%20platelet-rich%20fibrin%20%28PRF%29%3A%20a%20systematic%20review%20and%20network%20meta-analysis&author=F%C3%A1bio%20Fran%C3%A7a%20Vieira%20e%20Silva%20et%20al&contentID=10.1007%2Fs10266-024-00949-7&copyright=The%20Author%28s%29&publication=1618-1247&publicationDate=2024-05-21&publisherName=SpringerNature&orderBeanReset=true&oa=CC%20BY

USC
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

De: luka.li <luka.li@mdpi.com>
Enviado: jueves, 14 de noviembre de 2024 21:52
Para: LUIS ALBERTO CHAUCA BAJANA <luis.chaucab@ug.edu.ec>
Cc: Dentistry Journal Editorial Office <dentistry@mdpi.com>
Asunto: Re: Authorization

Dear Dr. Velasquez Ron,

Thank you for your kind email and congratulations on your work being published in Dentistry Journal.

According to MDPI Open Access Information and Policy, all articles published by MDPI are made immediately available worldwide under an open access license.

Here is our guide and we hope this can help you:
https://www.mdpi.com/openaccess

Please feel free to contact us if you have any questions.

Best regards.
Mr. Luka Li
Section Managing Editor
E-Mail: luka.li@mdpi.com
Editorial Office E-Mail: dentistry@mdpi.com

Dentistry Journal (Impact Factor 2023: 2.5, ranking 43/157 (Q2);
CiteScore: 3.7;
http://www.mdpi.com/journal/dentistry)

Editor's Choice Articles:
https://www.mdpi.com/journal/dentistry/editors_choice
LinkedIn:
https://www.linkedin.com/company/dentistry-journal-mdpi/
Twitter: https://twitter.com/DentistryJ
Facebook:
https://www.facebook.com/people/Dentistry-Journal-MDPI/100093957411521/

Highly Cited Paper:

Chronic Stress and Depression in Periodontitis and Peri-Implantitis: A Narrative Review on Neurobiological, Neurobehavioral and Immune–Microbiome Interplays and Clinical Management Implications
https://www.mdpi.com/2304-6767/10/3/49

Artificial Intelligence in Periodontology: A Scoping Review
https://www.mdpi.com/2304-6767/11/2/43

MDPI
Grosspeteranlage 5
4052 Basel
Switzerland

https://www.mdpi.com

Data Protection Notes:
https://www.mdpi.com/about/data-protection

Disclaimer: The information contained in this message is confidential and intended solely for the use of the individual or entity to whom they are addressed. If you have received this message in error, please inform us by an email reply and then delete the message. You may not copy this message in its entirety or in part, or disclose its contents to anyone.

On 2024/11/15 6:18, LUIS ALBERTO CHAUCA BAJANA wrote:
CAUTION - EXTERNAL: This email originated from outside of MDPI organisation. BE CAUTIOUS especially to click links or open attachments.

Please accept my warmest regards. First of all, I would like to thank you for publishing the scientific article Root Coverage Techniques: Coronally Advancement Flap vs. Tunnel Technique: A Systematic Review and Meta-Analysis. This article is from my doctoral thesis at the University of Santiago de Compostela. Please help me obtain authorization to use the publication in my thesis.

https://www.mdpi.com/2304-6767/12/11/341

Od. Luis Alberto Chauca Bajaña, Mgs. Esp.

Magíster en Educación

Periodoncista e Implantólogo Oral

Nota: La información contenida en este mensaje y sus posibles documentos adjuntos es privada y confidencial y está dirigida únicamente a su destinatario. Si usted no es el destinatario original de este mensaje, por favor elimínelo. La distribución o copia de este mensaje no está autorizada

Note: The information in this message and any attachments that may be included with it, is private and confidential and is directed exclusively to the message's recipient. If you are not the original >recipient of this message, please erase it. Distribution or copying of this message isn´t authorized.

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Jan 28, 2025

This Agreement between Luis CHauca Bajaña ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	5957711315857
License date	Jan 28, 2025
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Experimental Hematology
Licensed Content Title	Mesenchymal stem cells Biology and potential clinical uses
Licensed Content Author	Robert J. Deans,Annemarie B. Moseley
Licensed Content Date	Aug 1, 2000
Licensed Content Volume	28
Licensed Content Issue	8
Licensed Content Pages	10
Start Page	875
End Page	884
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	No
Title of new work	Regeneración Periodontal con células madre obtenidas de la pulpa dental (DPSC) y otros biomateriales
Institution name	Universidade de Santiago de Compostela
Expected presentation date	May 2025
Portions	Figure 1
The Requesting Person / Organization to Appear on the License	Luis CHauca Bajaña
Requestor Location	Luis CHauca GUAYAQUIL Guayaquil, 090101 Ecuador
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 2

Figura 3

Detection, Characterization, and Clinical Application of Mesenchymal Stem Cells in Periodontal Ligament Tissue

Atsushi Tomokiyo [1,✉], Shinichiro Yoshida [1], Sayuri Hamano [2,3], Daigaku Hasegawa [1], Hideki Sugii [1], Hidefumi Maeda [1,2]

▸ Author information ▸ Article notes ▾ Copyright and License information

Copyright © 2018 Atsushi Tomokiyo et al.

This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

PMC Copyright notice

PMCID: PMC6129323 PMID: 30224921

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 4

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Jan 28, 2025

This Agreement between Luis Chauca Bajaña ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	5957710228774
License date	Jan 28, 2025
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Archives of Oral Biology
Licensed Content Title	Synergistic effects of chitosan scaffold and TGFβ1 on the proliferation and osteogenic differentiation of dental pulp stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth
Licensed Content Author	Manal Farea,Adam Husein,Ahmad Sukari Halim,Nurul Asma Abdullah,Khairani Idah Mokhtar,Chin Keong Lim,Zurairah Berahim,Kasmawati Mokhtar
Licensed Content Date	Dec 1, 2014
Licensed Content Volume	59
Licensed Content Issue	12
Licensed Content Pages	12
Start Page	1400
End Page	1411

USC DE COMPOSTELA

Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	No
Title of new work	Regeneración Periodontal con células madre obtenidas de la pulpa dental (DPSC) y otros biomateriales
Institution name	Universidade de Santiago de Compostela
Expected presentation date	May 2025
Portions	Graphical abstract
The Requesting Person / Organization to Appear on the License	Luis Chauca Bajaña
Requestor Location	Luis CHauca GUAYAQUIL Guayaquil, 090101 Ecuador
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	0.00 USD

USC DE COMPOSTELA

Terms and Conditions

Figura 5

REVIEW article

Front. Immunol., 15 April 2021

Sec. Immunological Tolerance and Regulation

Volume 12 - 2021 | https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667221

Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells: Potential Application in Tissue Engineering and Regenerative Medicine - A Comprehensive Review

Dane Kim[1] Alisa E. Lee[1] Qilin Xu[1] Qunzhou Zhang[1*] Anh D. Le[1,2,3*]

[1] Department of Oral & Maxillofacial Surgery & Pharmacology, School of Dental Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, United States

[2] Center of Innovation & Precision Dentistry, School of Dental Medicine, School of Engineering and Applied Sciences, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, United States

[3] Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Penn Medicine Hospital of the University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, United States

Copyright © 2021 Kim, Lee, Xu, Zhang and Le. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

***Correspondence:** Anh D. Le, Anh.Le@pennmedicine.upenn.edu; Qunzhou Zhang, zqunzhou@upenn.edu

Disclaimer: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article or claim that may be made by its manufacturer is not guaranteed or endorsed by the publisher.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 6

JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Jan 28, 2025

This Agreement between Luis Chauca Bajaña ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	5957800974426
License date	Jan 28, 2025
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Periodontology 2000
Licensed Content Title	Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response
Licensed Content Author	P. N. Ramachandran Nair
Licensed Content Date	Feb 23, 2007
Licensed Content Volume	13
Licensed Content Issue	1
Licensed Content Pages	28
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	University/Academic
Format	Print and electronic
Portion	Figure/table

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Number of figures/tables	1
Will you be translating?	No
Title of new work	Regeneración Periodontal con células madre obtenidas de la pulpa dental (DPSC) y otros biomateriales
Institution name	Universidade de Santiago de Compostela
Expected presentation date	May 2025
Portions	Figure 2
The Requesting Person / Organization to Appear on the License	Luis Chauca Bajaña
Requestor Location	Luis CHauca GUAYAQUIL Guayaquil, 090101 Ecuador
Publisher Tax ID	EU826007151
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 7

28/1/25, 8:47 RightsLink Printable License

SAGE PUBLICATIONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Jan 28, 2025

This Agreement between Luis CHauca Bajaña ("You") and Sage Publications ("Sage Publications") consists of your license details and the terms and conditions provided by Sage Publications and Copyright Clearance Center.

License Number	5957631178039
License date	Jan 28, 2025
Licensed Content Publisher	Sage Publications
Licensed Content Publication	Journal of Dental Research
Licensed Content Title	Mouse Mandible Contains Distinctive Mesenchymal Stem Cells
Licensed Content Author	T. Yamaza, G. Ren, K. Akiyama, C. Chen, et al.
Licensed Content Date	Mar 1, 2011
Licensed Content Volume	90
Licensed Content Issue	3
Licensed Content Pages	8
Type of Use	Dissertation/Thesis
Requestor type	I am NOT the author of the requested article
Format	Print and electronic
Portion	Figure/table

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO
https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet

Number of figures/tables	1
Will you be translating?	No, only English
Circulation	1
Title of new work	Regeneración Periodontal con células madre obtenidas de la pulpa dental (DPSC) y otros biomateriales
Institution name	Universidade de Santiago de Compostela
Expected presentation date	May 2025
Portions	Figure 2
The Requesting Person / Organization to Appear on the License	Luis CHauca Bajaña
Requestor Location	Luis CHauca GUAYAQUIL Guayaquil, 090101 Ecuador
Billing Type	Invoice
Billing Address	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL GUAYAQUIL Guayaquil, Ecuador 090101
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Figura 8

ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Jan 28, 2025

This Agreement between Luis Chauca Bajaña ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	5957630501686
License date	Jan 28, 2025
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Journal of Oral Biosciences
Licensed Content Title	Biological characteristics of dental pulp stem cells and their potential use in regenerative medicine
Licensed Content Author	Masaki Honda,Hayato Ohshima
Licensed Content Date	Mar 1, 2022
Licensed Content Volume	64
Licensed Content Issue	1
Licensed Content Pages	11
Start Page	26
End Page	36
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	No
Title of new work	Regeneración Periodontal con células madre obtenidas de la pulpa dental (DPSC) y otros biomateriales
Institution name	Universidade de Santiago de Compostela
Expected presentation date	May 2025
Portions	only the graphical abstract is used.
The Requesting Person / Organization to Appear on the License	Luis Chauca Bajaña
Requestor Location	Luis CHauca GUAYAQUIL GUAYAQUIL, 090101 Ecuador
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12
Total	**0.00 USD**
Terms and Conditions	

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Esta tesis doctoral explora el uso de células madre obtenidas de la pulpa dental para la regeneración periodontal, evaluando la eficacia de distintas técnicas y biomateriales en tratamientos clínicos. A pesar de los avances en periodoncia, lograr una regeneración completa de los tejidos de soporte dental sigue siendo un reto. Las células madre de la pulpa dental son especialmente prometedoras por su capacidad de autorrenovación y diferenciación, lo que podría mejorar los resultados regenerativos. Los estudios realizados incluyen un metaanálisis sobre la eficacia de células madre mesenquimales combinadas con materiales regenerativos, comparándolos con otros métodos. La investigación también abarca el uso de plasma rico en fibrina (PRF), el cual mostró resultados positivos en la regeneración de defectos periodontales. Otro apartado analiza técnicas de cobertura radicular, como el uso de la técnica de túnel frente al colgajo de avance coronal, donde la primera obtuvo mejores resultados en estética y comodidad del paciente. Además, se exploran las complicaciones metodológicas en el cultivo de células madre, que pueden influir en la cantidad y calidad de las células obtenidas. Los hallazgos sugieren que las células madre, en combinación con biomateriales adecuados, tienen un gran potencial en la regeneración periodontal, aunque persisten desafíos metodológicos que requieren mayor estandarización.