

REGENERACIÓN ÓSEA EN DEFECTOS DE TAMAÑO CRÍTICO DE CRÁNEO DE RATA CON MATRIZ ÓSEA DESMINERALIZADA

ESTUDIO ESTEREOLÓGICO, HISTOLÓGICO Y
RADIOLÓGICO MEDIANTE TOMOGRAFÍA DE
HAZ CÓNICO

José María López-Arcas Calleja, MD, DDS, PhD¹;
Javier Arias Gallo, MD, PhD²; Rosa Lorente Ramos,
MD, PhD¹; Miguel Burgueño García, MD, PhD³;
Danilo Eduardo Salazar Chiriboga, MD¹; Francisco
Javier Azpeitia Armán, MD, PhD.

¹Servicio de Radiodiagnóstico. Hospital Infanta Leonor, UCR
Madrid.

²Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial, Hospital Ruber Juan Bravo,
Madrid

³ Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial Hospital Universitario La Paz,
Madrid

1.INTRODUCCIÓN

2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.MATERIALES Y MÉTODOS

4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.CONCLUSIONES

1. INTRODUCCIÓN

- Aunque en términos generales el hueso tiene un enorme potencial regenerativo, en ciertos ámbitos como en la cirugía reconstructiva craneofacial o la traumatología, dicho potencial es insuficiente.
- Así en estos casos, será necesario potenciar el proceso osteogénico con diferentes técnicas o factores:

- **INJERTO ÓSEO**
- **TÉCNICAS DE REGENERACIÓN ÓSEA GUIADA**
- **XENOINJERTOS**
- **BIOMATERIALES SINTÉTICOS**
- **DISTRACCIÓN ÓSEA**

- De las diferentes estrategias para estimular y/o potenciar la regeneración ósea, una de las más utilizadas en los últimos años ha consistido en la utilización de matrices óseas desmineralizadas.
- Dichas matrices que se obtienen a partir de complejos procesos de digestión de tejido óseo de origen humano o animal, permiten obtener un preparado de la matriz ósea sin el componente mineral que en teoría es rico en proteínas óseas morfogenéticas.

1. INTRODUCCIÓN

En términos generales la utilización de Matriz Ósea Desmineralizada (en adelante denominaremos DBM, acrónimo de la definición anglosajona *Demineralised Bone Matrix*) presenta las siguientes características:

- Es la estrategia con factores de crecimiento teóricamente más fisiológica.
 - Permite una gran variabilidad de *carriers* o transportadores que se pueden adaptar a las diferentes situaciones clínicas.
 - Normalmente se obtienen a partir de donantes con los condicionantes que ello supone.
 - Existe cierta variabilidad de dosificación de los diferentes factores de crecimiento.
 - Fundamentalmente son osteoinductores por efecto del TGF- β y BMP-2/BMP-7
- Aunque experimentalmente la utilización de matriz ósea desmineralizada (DBM), de forma aislada o en combinación con diferentes *carriers*, hueso autólogo o incluso BMP (Proteína Ósea Morfogenética) recombinante humana, está ampliamente extendida, la utilización clínica de la misma es cuanto menos limitada.
 - Uno de los principales problemas que el clínico se encuentra a la hora de elegir entre un producto u otro es la práctica ausencia de datos objetivos y estandarizados del potencial osteogénico relativo a cada uno de estos productos.

De Long WG, Einhorn TA, Koval K, et al. Bone Grafts and Bone Grafts Substitutes in Orthopaedic Trauma Surgery. A critical Analysis. J Bone Joint Surg. 2007; 89:649-658.

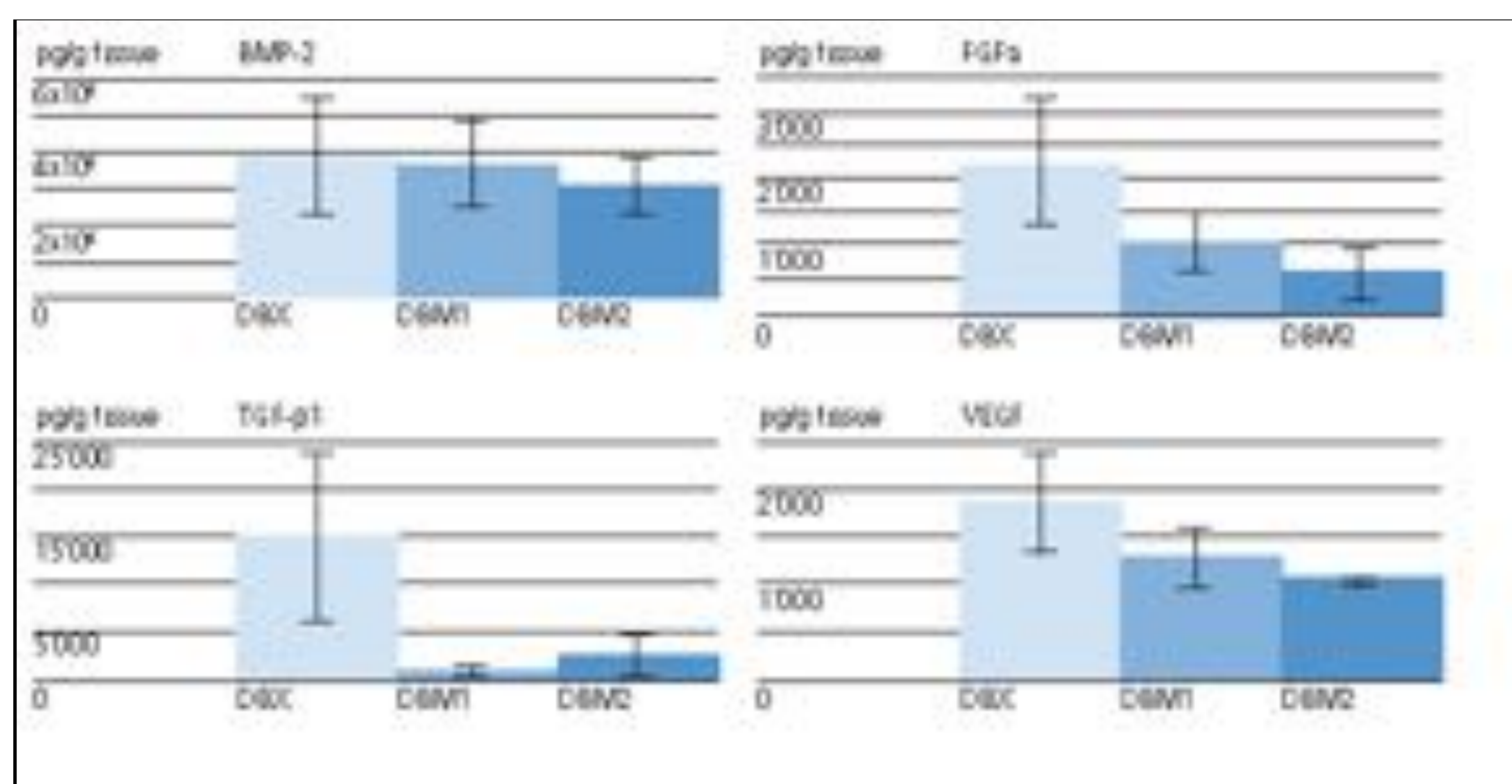
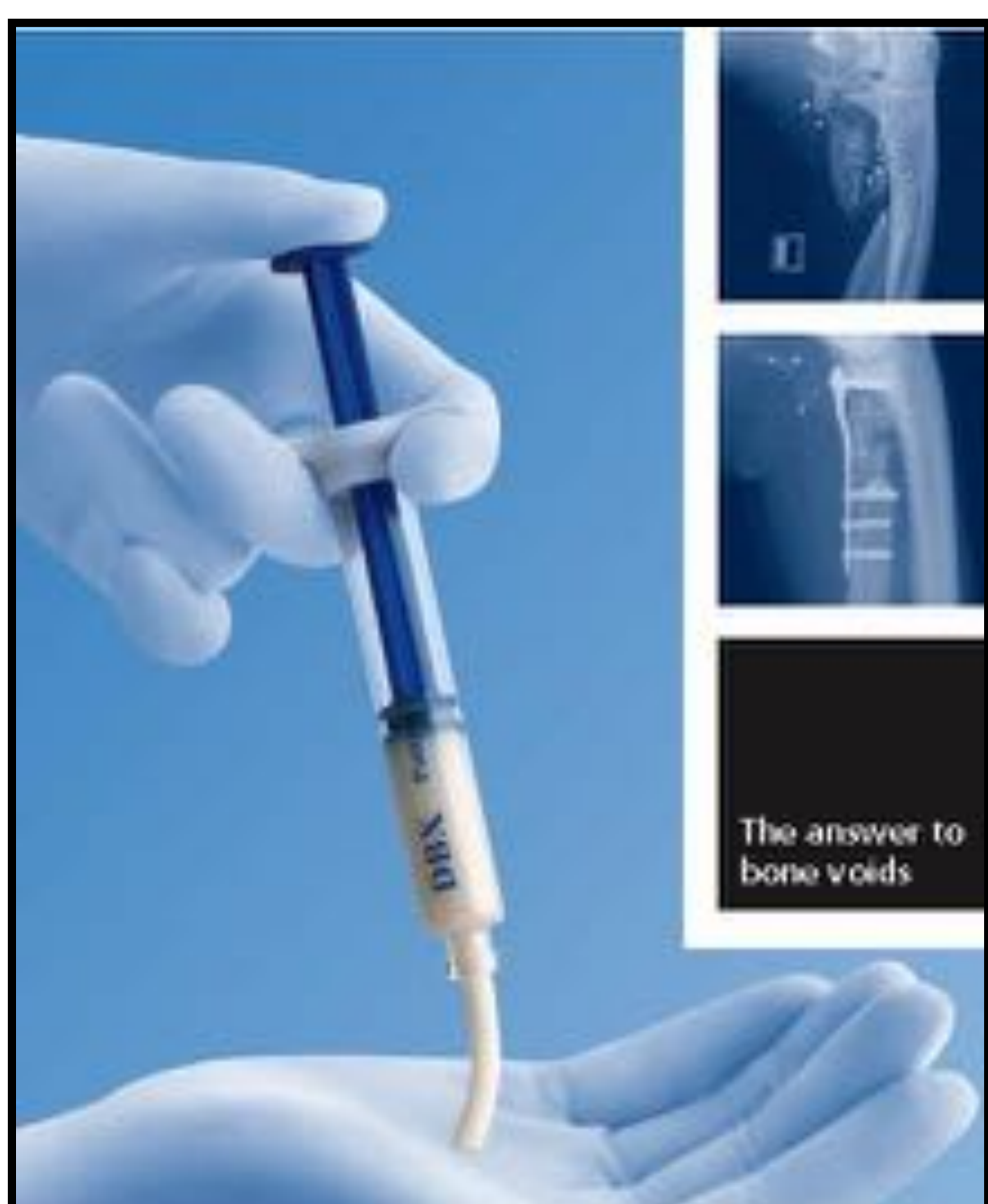
Gruskin E, Doll BA, Futrell FW, Schmitz JP, Hollinger JO. Demineralized bone matrix in bone repair: history and use. Avd Drug Deliv Rev. 2012; 64:1063,77.

1. INTRODUCCIÓN

- En el presente proyecto de investigación se utilizaron dos matrices óseas desmineralizadas: DBX y Colloss y una apatita carbonatada con propiedades osteoconductoras (Bio-Oss).

DBX®

- Matriz ósea desmineralizada de donantes humanos
- Comercializada por Synthes (Johnson & Johnson) en colaboración con la Musculoskeletal Transplant Foundation (MTF)
- Serodespistaje en Donantes
- Obtenidas con técnicas asépticas según la AATB (Asociación Americana de Bancos de Tejido) que permite evitar procedimientos de esterilización terminal
- Propiedades Osteoinductivas



- Diferentes formulaciones:
 - DBX Putty® (93% de Ácido Hialurónico)
 - DBX Mix® (Mezclado con chips de hueso cortical)
 - DBX Strip® (Mezcla de ácido hialurónico y gelatina porcina)
- Carrier utilizado: Hialuronato sódico al 93% con tampón fosfato dibásico de alta calidad
- Dosificación media 3,8 microgramos de BMP-2 por gramo de DBX

COLLOSS®

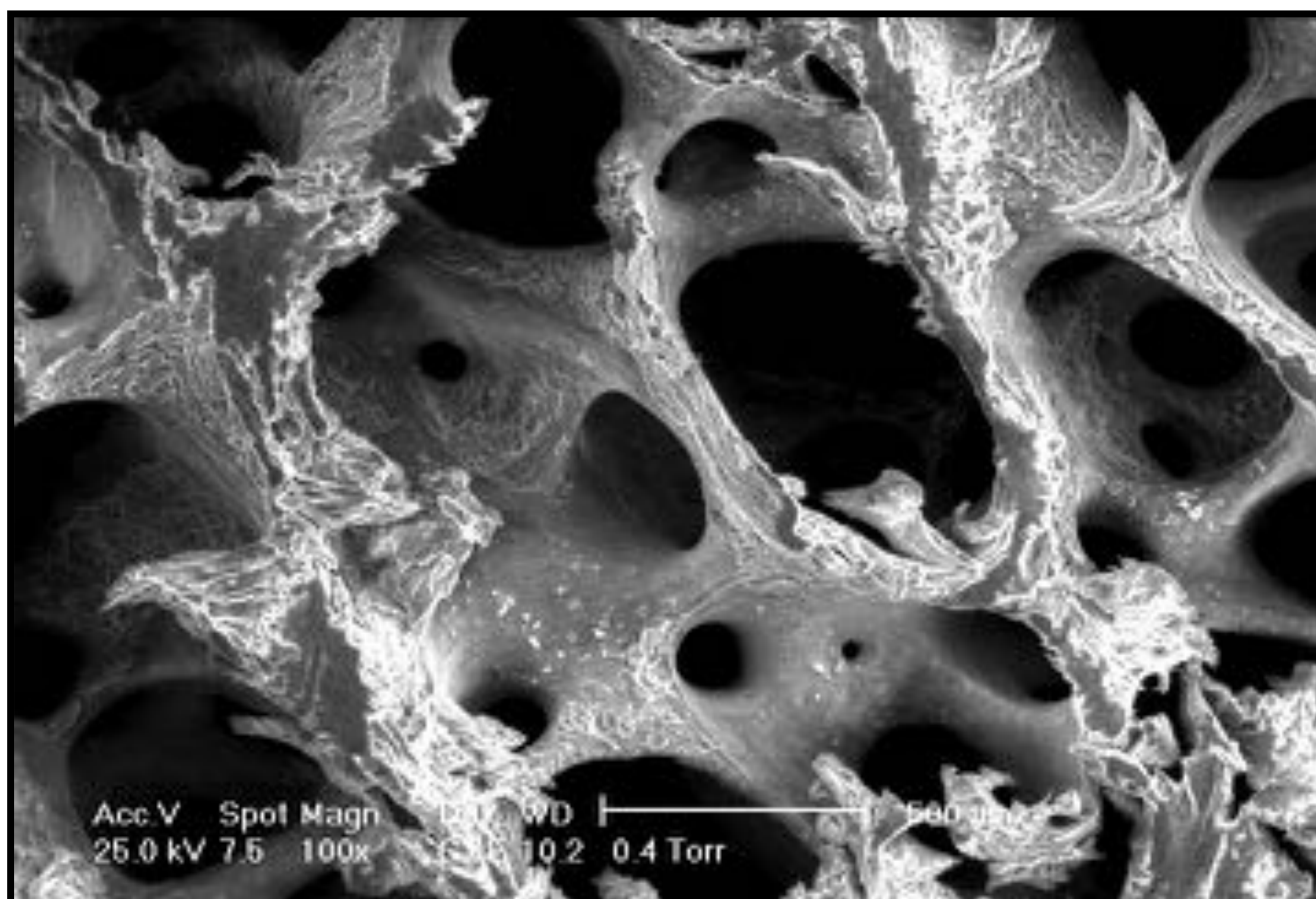
- Liofilizado de hueso equino/bovino manufacturado por Ossacur AG.
- Teóricamente sin desnaturalización de proteínas
- Colágeno y proteínas óseas (no cuantificadas)
- Teóricas capacidades osteoinductivas
- Estructura algodonosa compresible.



Arias J, López-Arcas JM, González T, Gómez E, Morán MJ. Utilización de Colloss® para el tratamiento de quistes mandibulares. Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac. 2007; 29:1-11.

BIO-OSS®

- Apatita Carbonatada
- Xenoinjerto de Origen Bovino
- Propiedades Osteoconductoras: Estructura porosa de alta eficacia
- Teóricamente completamente desproteinizada
- Comercializado por Geistlich Biomaterials AG



Taylor JC, Cuff SE, Leger JP, et al. In vitro osteoclast resorption of bone substitute biomaterials used for implant site augmentation: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants.*2002; 17:321-330.

Benke D, Olah A, Mohler H. Protein-chemical analysis of Bio-Oss bone substitute and evidence on its carbonate content. *Biomaterials.* 2001; 22:1005-1012.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS CENTRAL

- La regeneración ósea en defectos de tamaño crítico de cráneo de rata puede ser potenciada mediante la utilización de matriz ósea desmineralizada humana con carrier de hialuronato sódico (DBX®)

OBJETIVO PRINCIPAL

- Determinar el verdadero potencial osteogénico de la matriz ósea desmineralizada humana con carrier de hialuronato sódico (DBX®) en defectos de tamaño crítico de cráneo de rata en comparación con el potencial de la matriz ósea desmineralizada de origen equino (Colloss-E®) y una apatita carbonatada derivada del hueso bovino con propiedades osteoconductivas (Bio-Oss®).

OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Confirmar la validez del modelo de craniectomía de 5mm de diámetro en hueso parietal de rata como modelo válido de defecto de tamaño crítico para estudios de regeneración ósea.
2. Valorar la eficacia del análisis radiológico de la regeneración ósea mediante tomografía de haz cónico como método complementario del análisis histológico y estereológico y como alternativa a los sistemas clásicos de análisis radiológico.
3. Valorar la congruencia interna del potencial osteogénico de la matriz ósea desmineralizada entre diferentes lotes de producto.
4. Valorar las características adsorptivas y de manejo quirúrgico de los diferentes compuestos utilizados.

3.MATERIAL Y MÉTODO

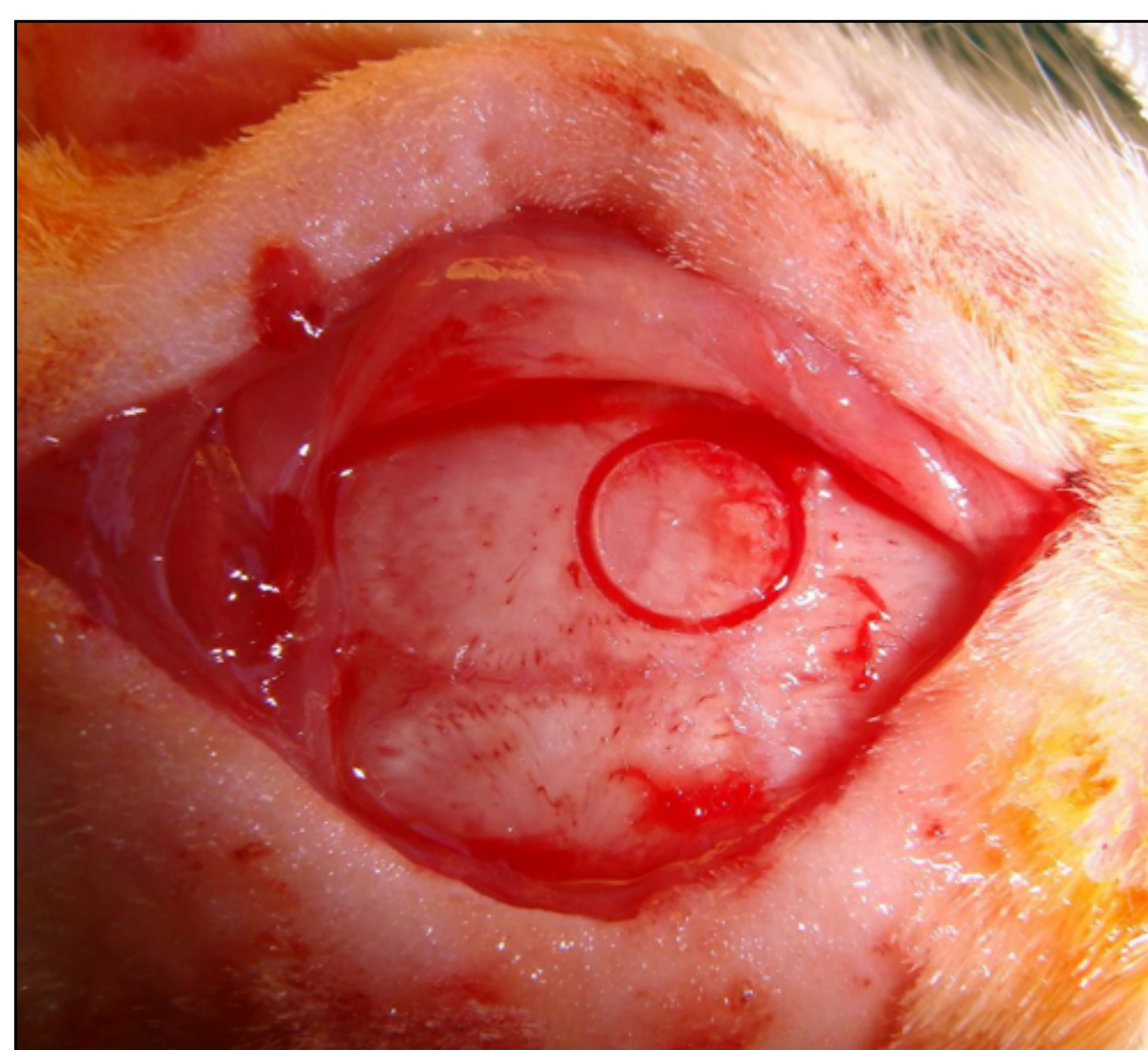
PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

- Modelo experimental de regeneración ósea en cráneo de rata con matriz ósea desmineralizada
- Se emplearon diferentes técnicas de análisis:
 - Estereológico
 - Histológico
 - Radiológico con tomografía de haz cónico
- El protocolo experimental fue aprobado por el comité de bienestar ético animal de la unidad de investigación animal del hospital universitario la paz. Investigador principal categoría C: José M^o López-Arcas Calleja
- HISTOLOGÍA:** Anatomía Patológica H.U. La Paz de Madrid
- ESTEREOLOGÍA:** Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid
- RADIOLOGÍA:** Centro ICAT Madrid

3.MATERIAL Y MÉTODO

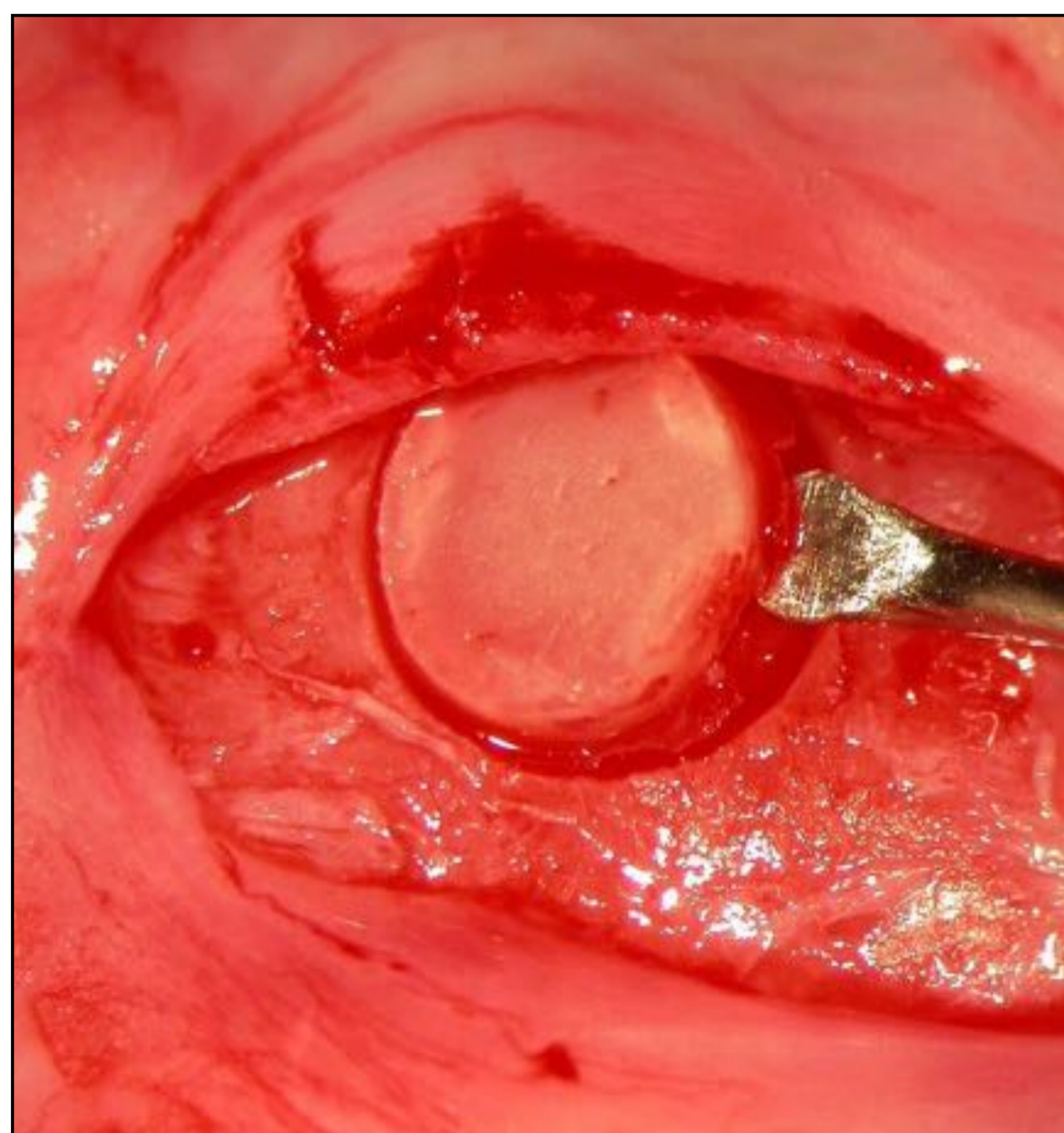
- Se utilizaron 55 ratas Sprague-Dawley machos adultos, a las cuales se les efectuó, en condiciones de asepsia y bajo anestesia general inhalada una craniectomía circular de 5 mm de diámetro en el hueso parietal izquierdo, con protocolo de defecto de tamaño crítico.

DISTRIBUCIÓN DE ANIMALES EMPLEADOS		
	Nº Animales	Peso Medio (g)
TÉCNICA QUIRÚRGICA	15	398,7
GRUPOS EXPERIMENTALES		
Grupo 1: Control	10	402,15
Grupo2: DBX®	10	405,23
Grupo 3: COLLOSS®	10	401,18
Grupo 4: BIO-OSS®	10	404,57



3.MATERIAL Y MÉTODO

- Una vez completada la craneotomía se procedía a la retirada del fragmento óseo del parietal izquierdo, comprobando que la duramadre estaba íntegra.



- Posteriormente y dependiendo del grupo experimental se procedía a rellenar el defecto con el biomaterial (DBX, Colloss, Bio-Oss o sin biomaterial en el grupo Control) en función del grupo experimental al que cada animal hubiese sido previamente asignado de forma randomizada.

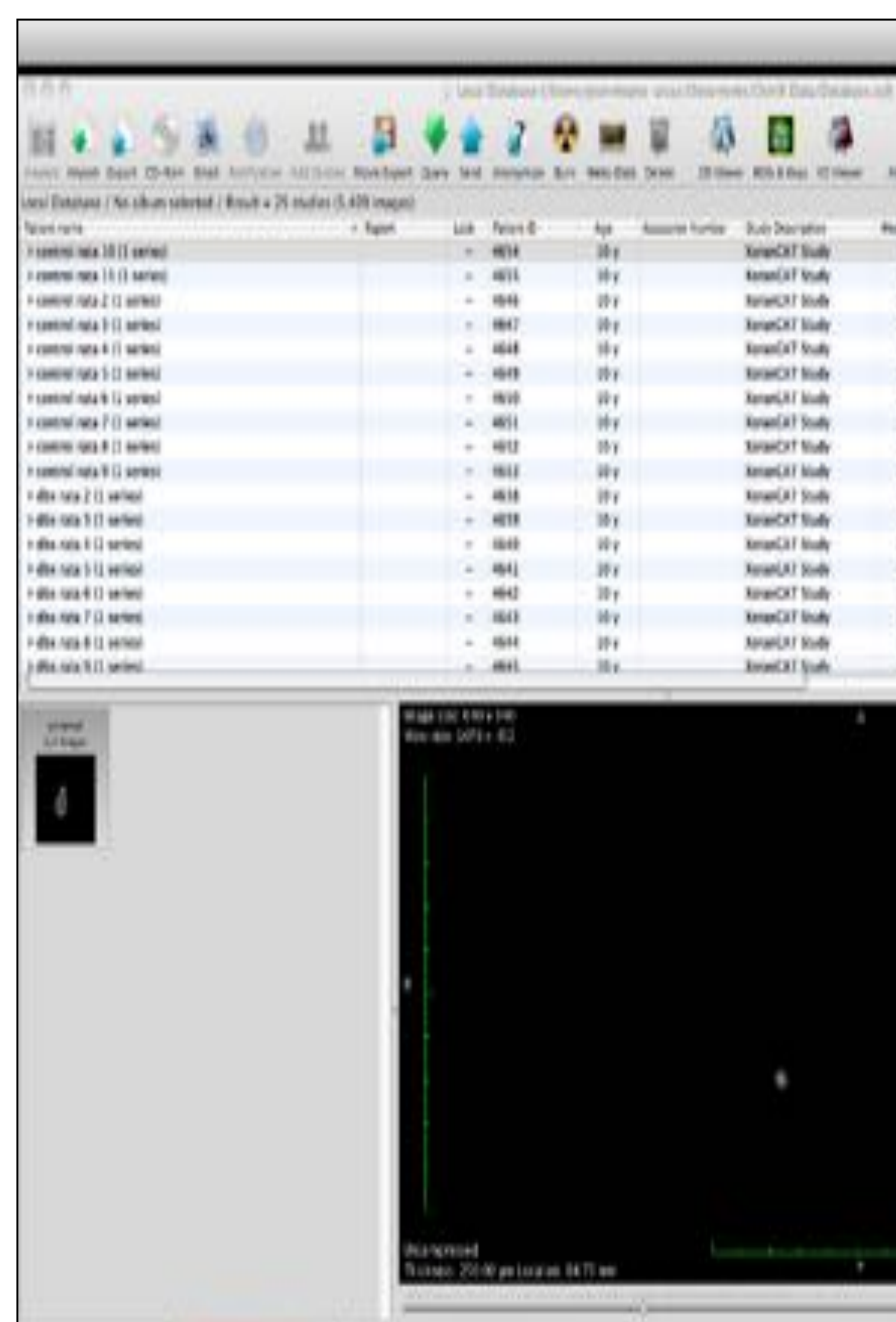


- Los animales posteriormente a la intervención permanecían estabulados en racks ventilados, sacrificándose de forma programada a las 12 semanas de la intervención.
- A partir de ese momento se procedía al análisis radiológico, histológico y estereológico de las muestras.

3.MATERIAL Y MÉTODO

ANÁLISIS RADIÓLOGICO

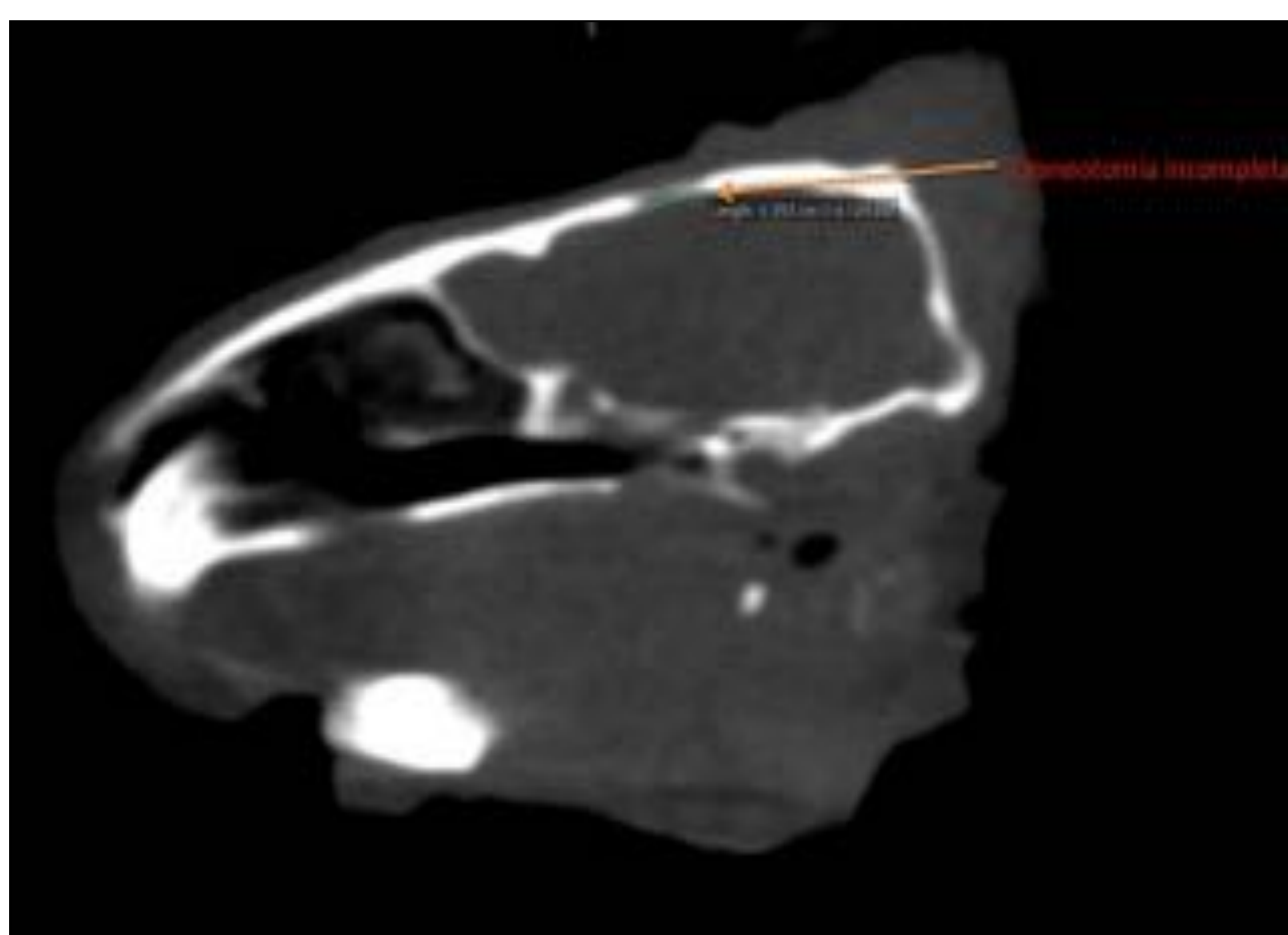
- El análisis radiológico se realizó en el Centro ICAT de Madrid.
- Las piezas anatómicas se transportaban preservadas en hielo seco y se escaneaban de forma simultánea 4 piezas al mismo tiempo.
- **Se utilizó un Tomógrafo de Haz Cónico ICAT v 2013**
- Escaneado de las piezas anatómicas simulando escaneado de férulas quirúrgicas de cirugía ortognática.
- Simultáneamente varias piezas anatómicas
- Protocolos de máxima resolución (0,2 mm por Voxel) y máximo tiempo de escaneado (40seg)
- FOV ajustado lo máximo posible a la muestra



3. MATERIAL Y MÉTODO

ANÁLISIS RADIOLÓGICO

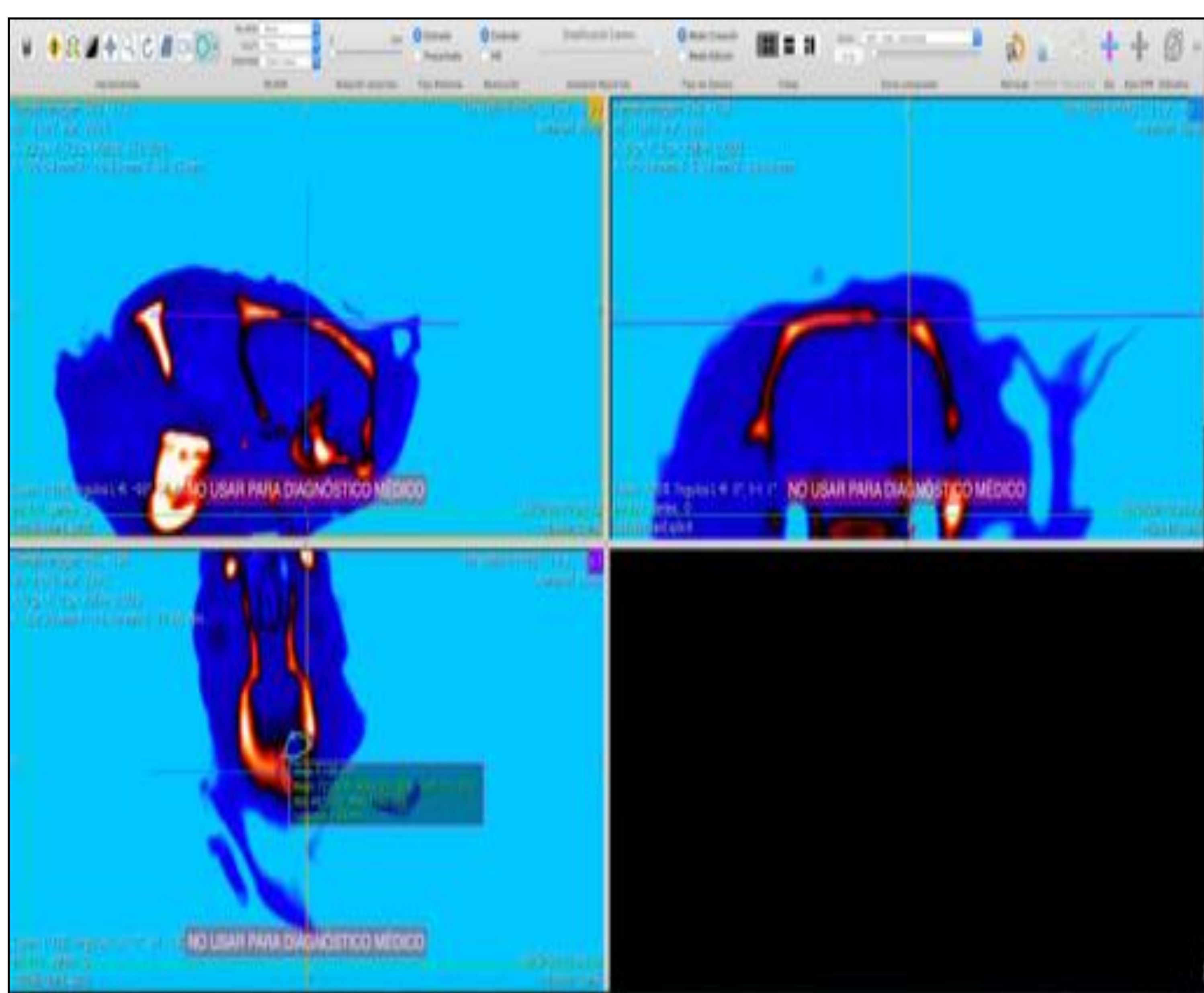
- Los datos obtenidos fueron registrados en soportes de disco duro portátiles por duplicado en formato DICOM y posteriormente fueron analizados mediante Software OsiriX® v 8.0.2 en versión freeware de 32 bits para análisis de imágenes en formato DICOM.
- Se realizó un primer análisis morfológico descriptivo con reconstrucciones 3D volumétricas y MPR para valorar el grado de regeneración ósea alcanzado en cada uno de los animales de cada grupo experimental.
- Para ello se valoraba si el defecto de tamaño de crítico parietal de 5 mm (que por definición no puede regenerarse espontáneamente) había sido regenerado, como consecuencia de la influencia de los diferentes biomateriales utilizados (DBX, Colloss y Bio-Oss) en comparación con el grupo Control en el que no se había administrado ningún biomaterial.



3.MATERIAL Y MÉTODO

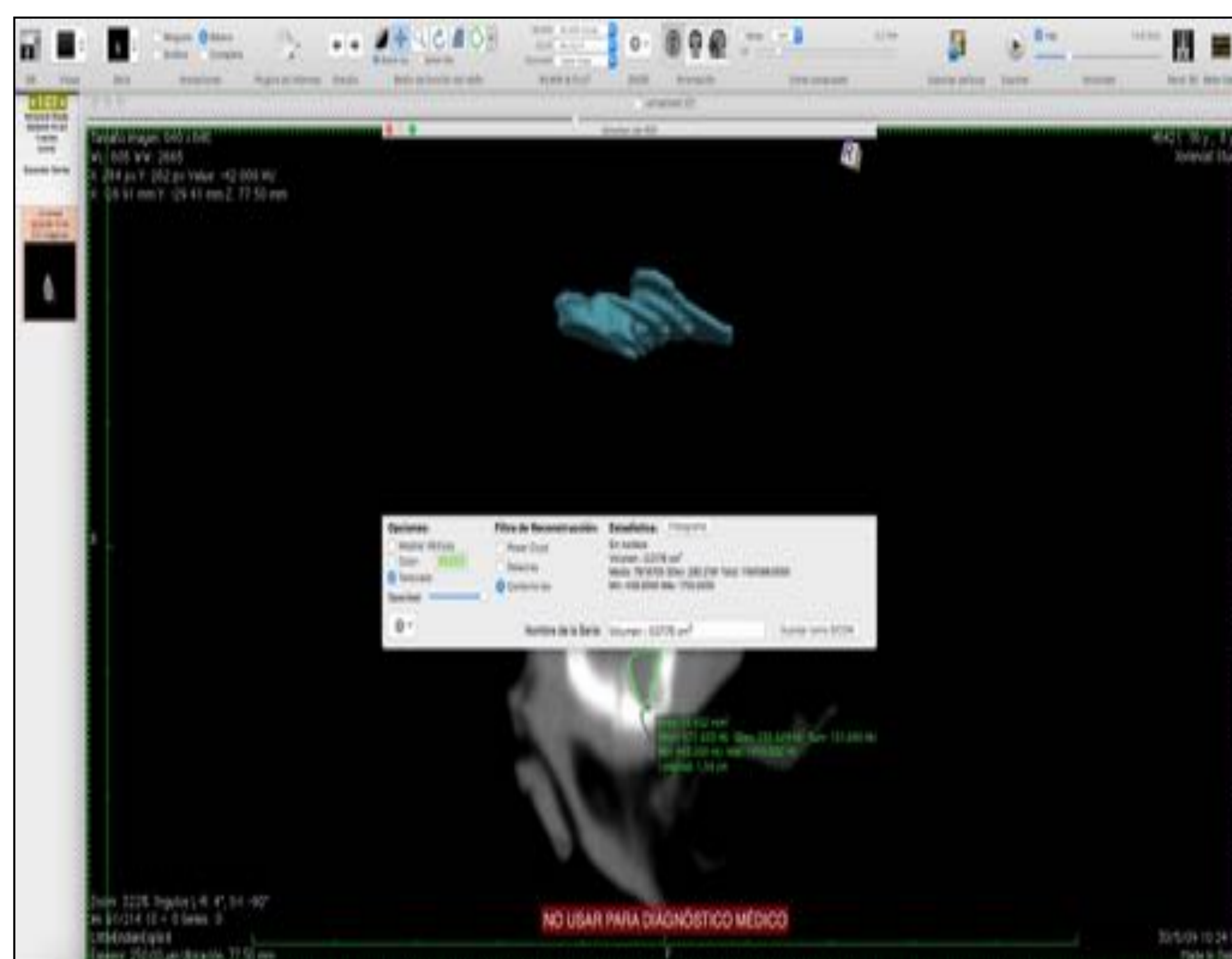
ANÁLISIS RADIOLÓGICO

- A continuación se utilizó la herramienta CLUT-Flow para sustituir la escala de grises habitual por una escala de color, pudiendo así señalar de una forma más ilustrativa los cambios en la densidad radiológica en las distintas áreas. En cada uno de los planos de las secuencias 3D-MPR, se determinó una ROI (*Region of Interest*) que correspondía con los límites de la craneotomía realizada.
- Sobre ella se delimitaron, utilizando la herramienta de polígono cerrado, diferentes ROIs sobre las zonas sin regenerar. Posteriormente se procedió a calcular el Volumen de dichos ROIs, integrados en una sola estructura, pudiendo calcular igualmente la Densidad media radiológica (medida en unidades Hounsfield, aunque con la salvedad de la validez de dichos datos, dado que las UH del CBCT no se consideran 100% equivalentes a las del TC convencional) de dicho objeto.
- Calculado el volumen del ROI no regenerado se extrapolaba posteriormente el volumen óseo verdaderamente regenerado



Filtro CLUT-Flow que permite delimitar con mayor precisión el límite del margen de regeneración ósea en la craneotomía

Delimitando diferentes ROI en cada sección se pudo obtener un VOI (*volume of interest*) a partir del cual se calculaba el volumen de la craneotomía que no se había rellenado de hueso. Conociendo el volumen inicial de la craneotomía, era posteriormente sencillo calcular el volumen real de hueso regenerado.



3.MATERIAL Y MÉTODO

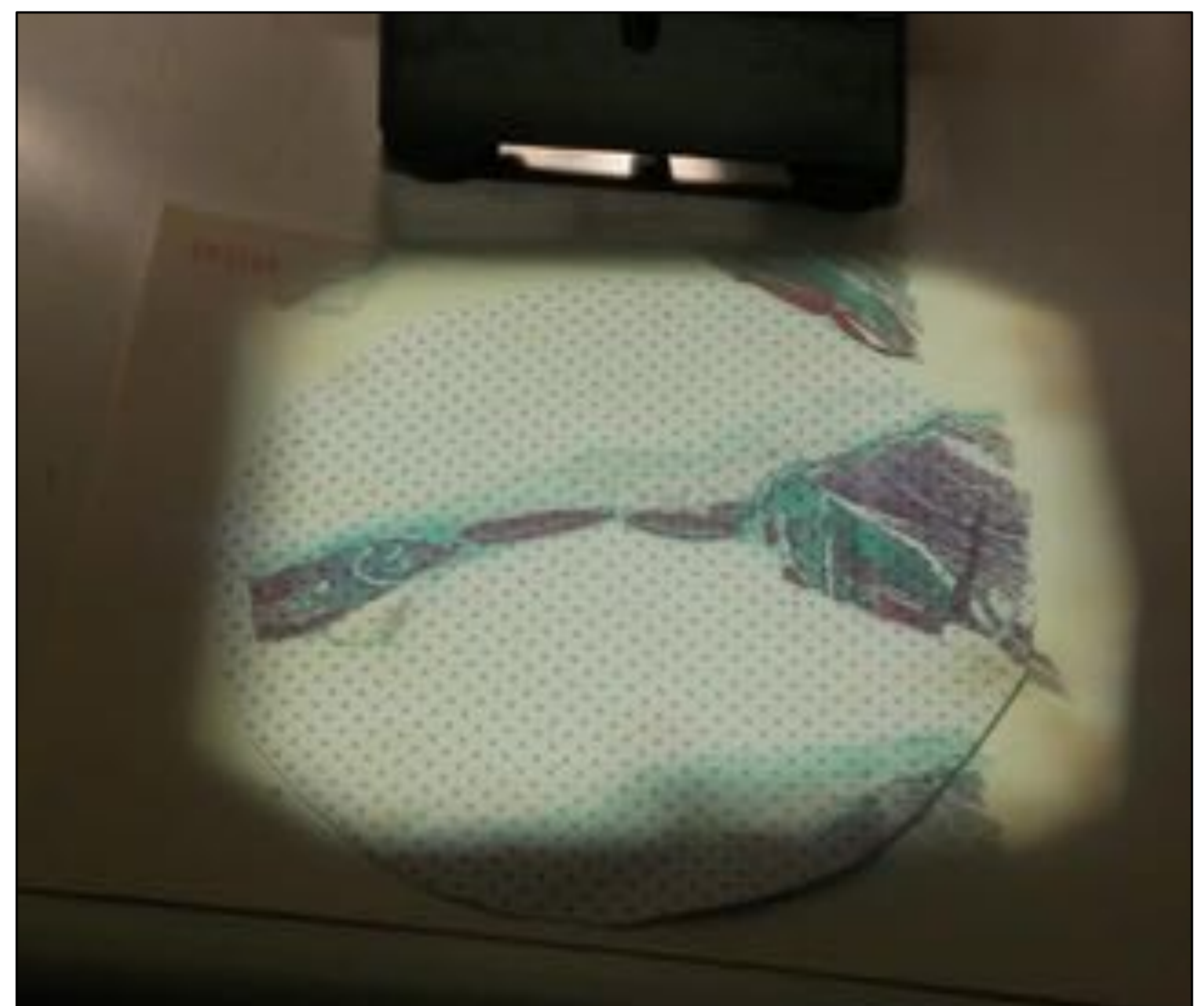
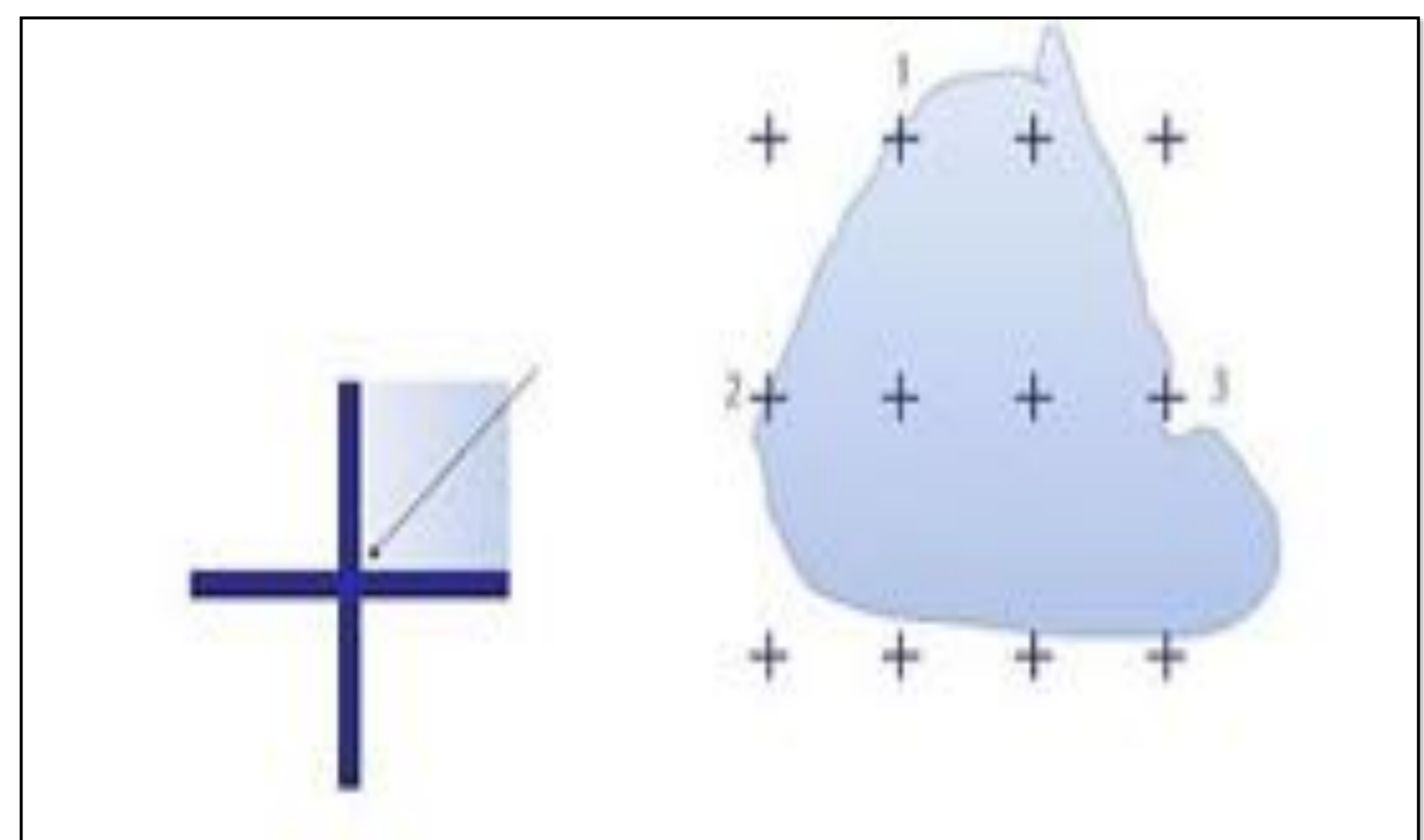
ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Completado el análisis radiológico de cada pieza experimental se procedía a continuación a procesarlas para su análisis histológico.

Preparación de muestras histológicas

- Fijación y Descalcificación
- Múltiples secciones en planos coronales y sagitales con Microtomo semi-automático
- Selección de cortes histológicos por muestreo sistemático
- Colocación en paramoles y tinción de Hematoxilina –Eosina y Tricrómico de Masson

Una vez preparadas las muestras, se procedía a realizar un análisis cualitativo de las mismas (calidad del tejido regenerado, presencia de fenómenos inflamatorios, etc.) y posteriormente se calculaba el volumen de tejido óseo regenerado mediante un análisis estereológico con Técnica de Cavalieri.



4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONSIDERACIONES GENERALES

- Como primera consideración cabe considerar el modelo experimental de defecto de tamaño crítico de 5 mm en cráneo de rata como un modelo sencillo de utilizar, con una pequeña pendiente de aprendizaje que se basaba fundamentalmente en la realización de la craneotomía sin lesionar la duramadre o el seno dural.
- Salvo en el grupo inicial de puesta a punto de la técnica, en ninguno de los grupos experimentales se produjo el fallecimiento de ningún animal.
- No se detectaron fenómenos inflamatorios o de rechazo de los biomateriales empleados en ninguno de los grupos experimentales.
- Se comprobó en los grupos control que los defectos óseos en las craneotomías parietales se comportaban como defectos óseos de tamaño crítico con regeneraciones óseas incompletas.

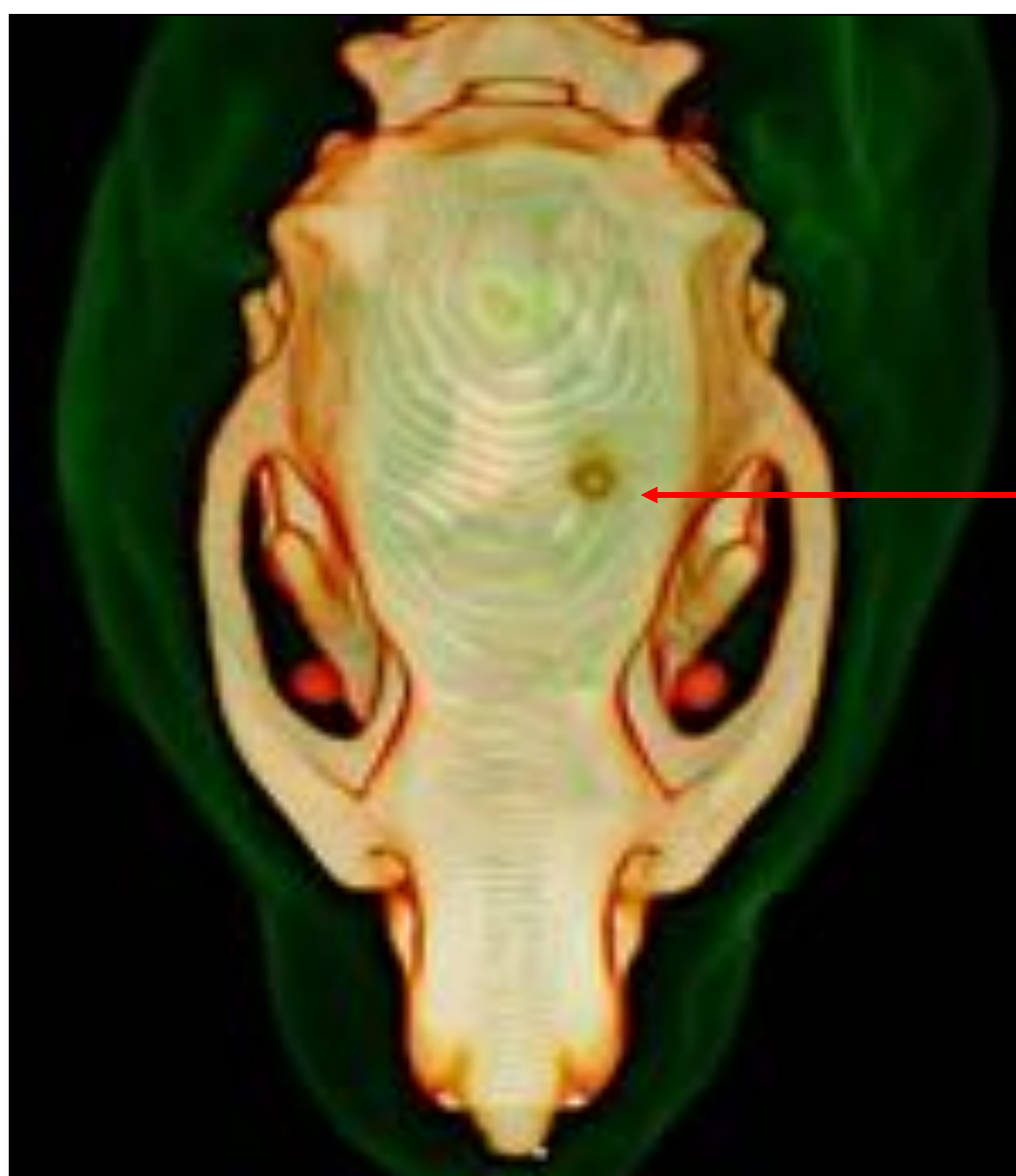


Imagen volumétrica 3D de un cráneo de rata del grupo experimental control donde se aprecia la regeneración ósea incompleta en la craneotomía parietal izquierda

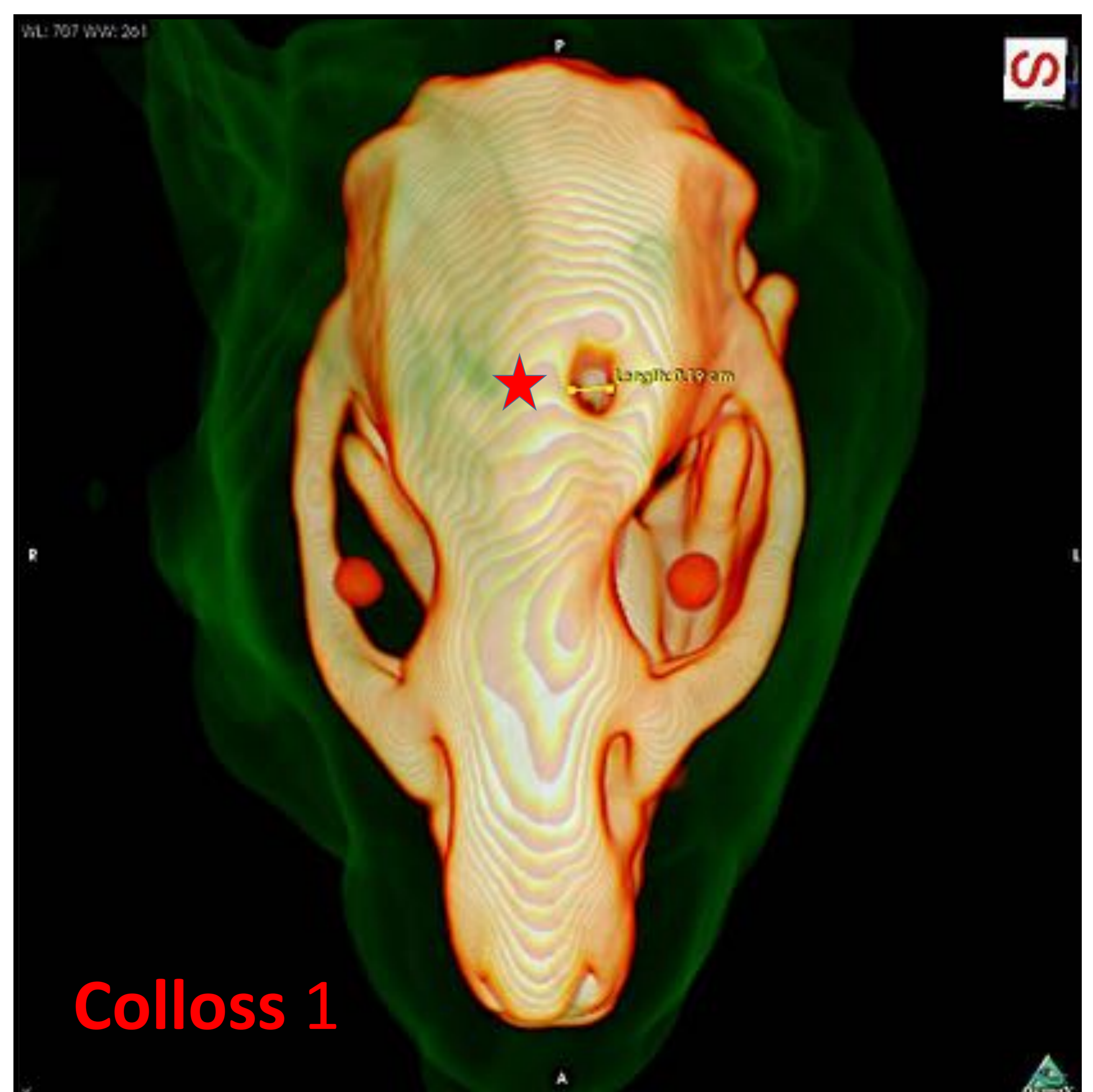
O'Loughlin PF, Morr S, Bgnovic et al. Selection and development of preclinical models in fracture healing research. J Bone Joint Surg Am.2010 90:79-84.

ASTM Standard F2721, 2008. Standard Guide for Preclinical In Vivo Evaluation in Critical Size Segmental Bone Defects. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2003.

4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS RADIOLÓGICOS

- Inicialmente se analizaban las reconstrucciones volumétricas 3D para realizar una valoración inicial cualitativa del fenómeno regenerativo.
- Se evidenció la facilidad de manejo del programa informático Osirix
- Se pudo obtener una adecuada identificación de los márgenes de las craneotomías en la práctica totalidad de los sujetos experimentales. No obstante en aquellos casos en los que se había producido una mayor regeneración, la demarcación de los ROI resultó más complejo.
- En los grupos experimentales Control y Colloss se evidenció una morfología similar con defectos óseos incompletos en la mayoría de animales.



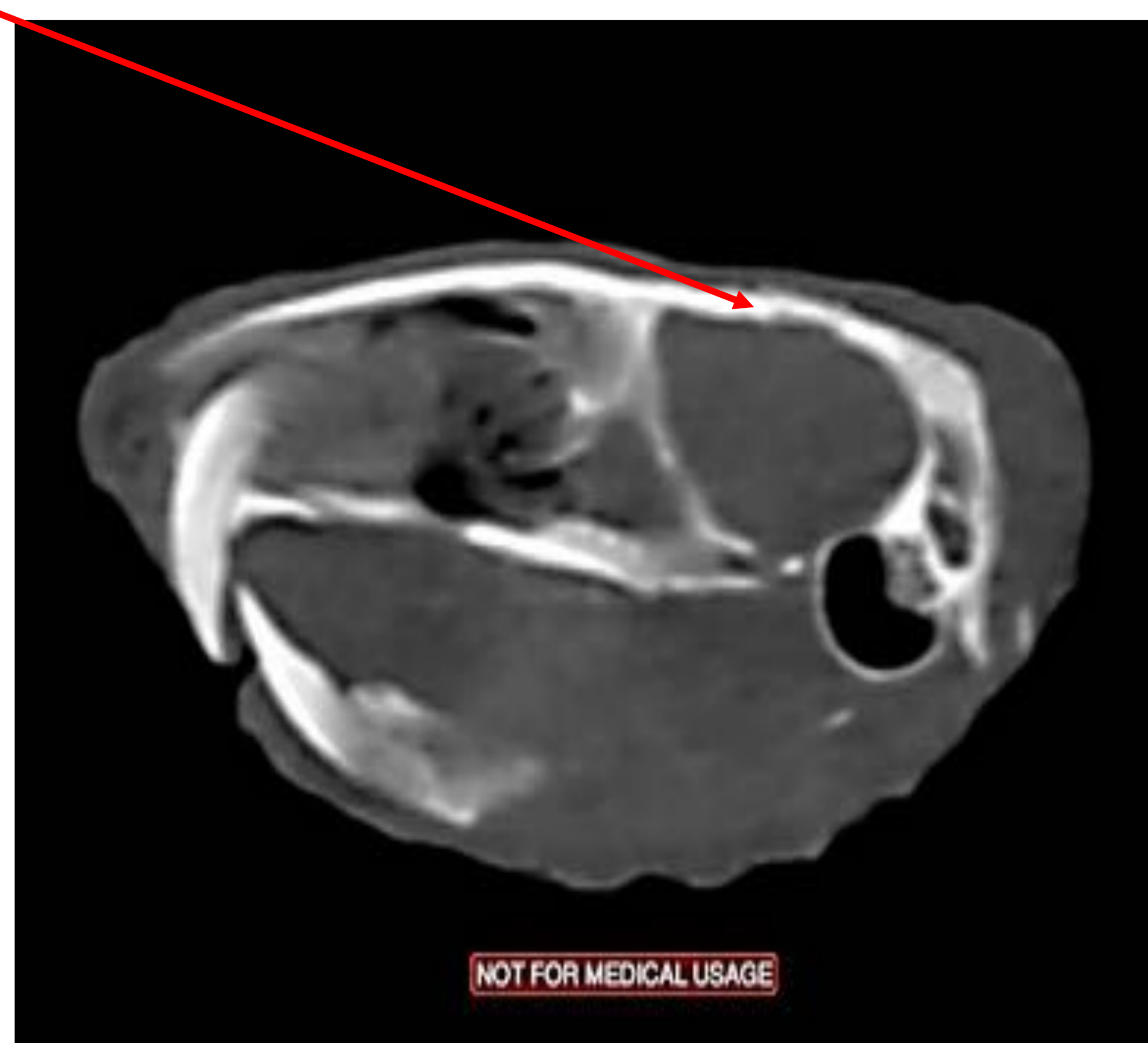
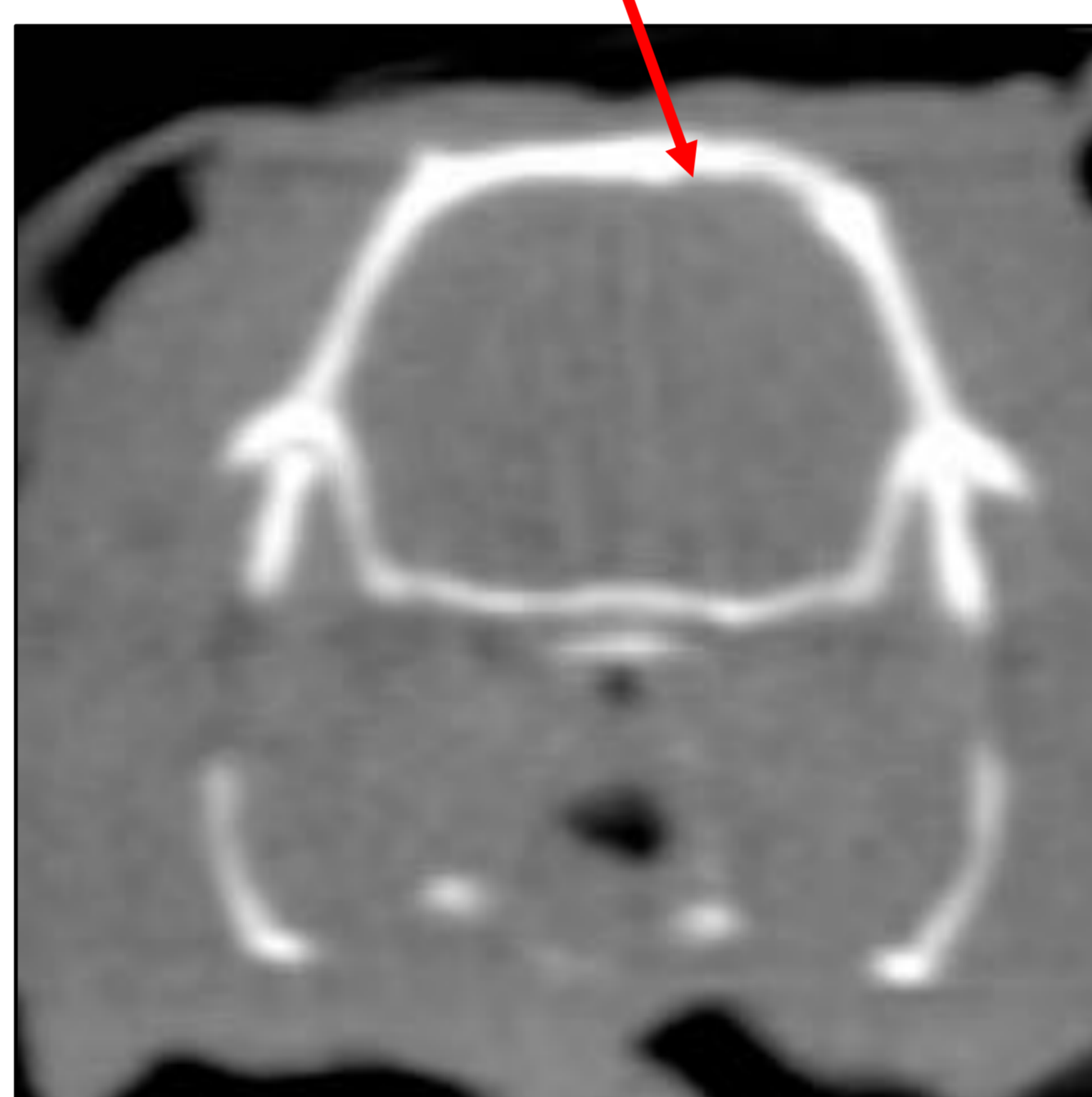
Regeneración ósea incompleta en las craneotomías de dos especímenes diferentes de los grupos experimentales Control y Colloss.

4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS RADIOLÓGICOS

- El grupo experimental Bio-Oss presentaba una morfología de regeneración completa (Biomaterial Radiodenso).

Defecto óseo relleno de biomaterial



- El grupo experimental DBX presentaba puenteados completos en la mayoría de los animales pero de menor grosor que el hueso nativo.



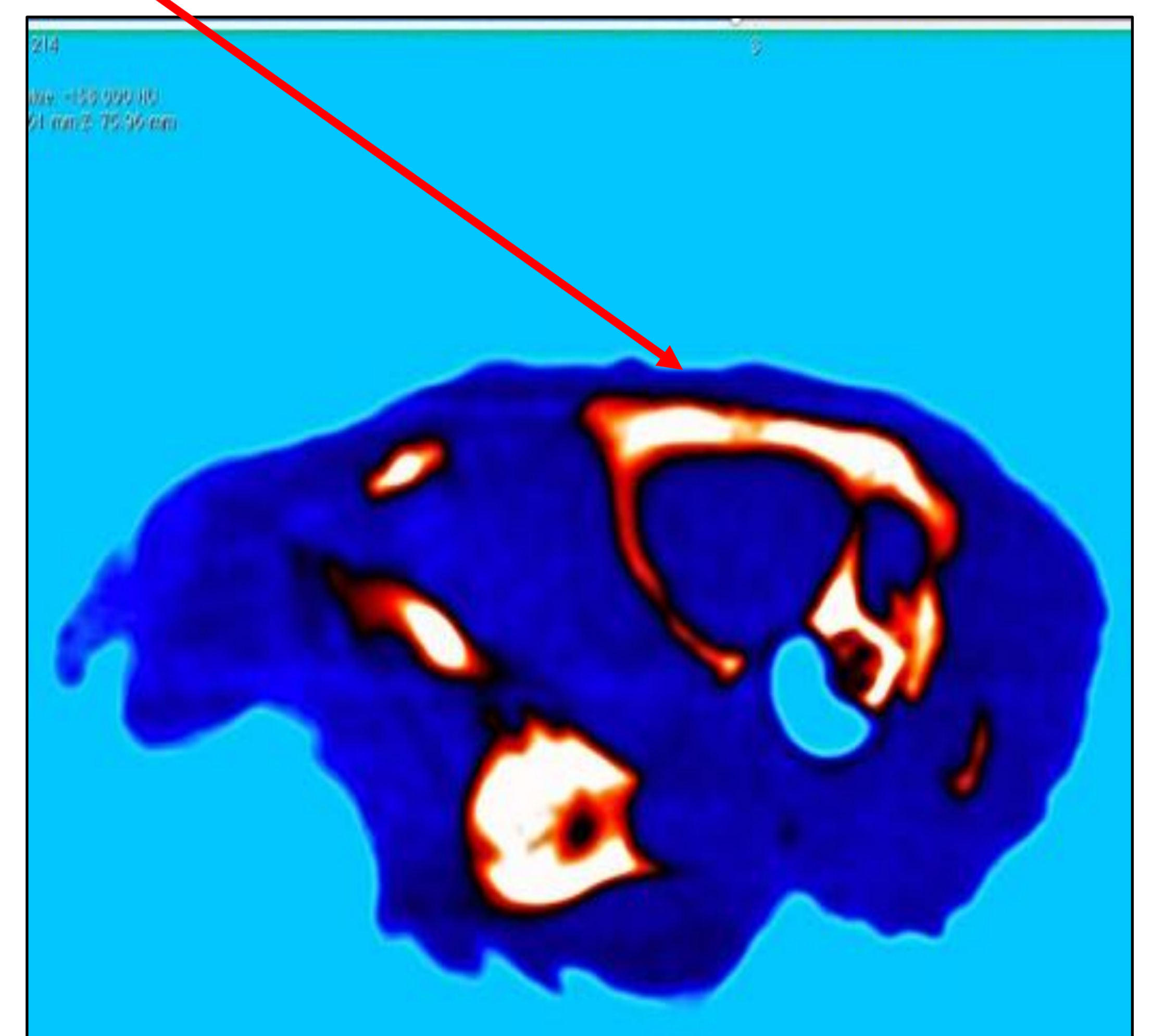
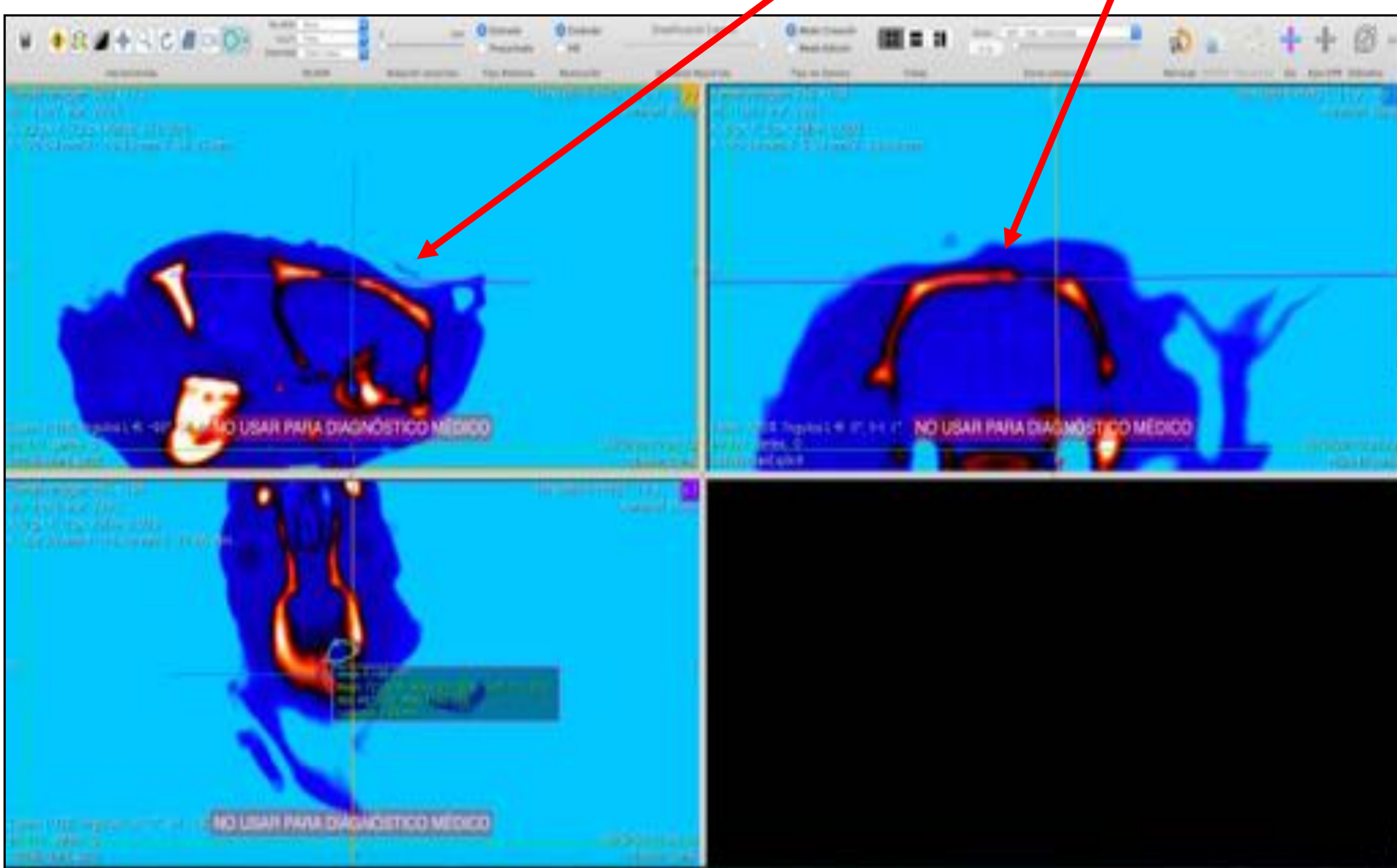
Defecto óseo de la craneotomía completamente puenteado en un espécimen del grupo experimental DBX pero de menor espesor que el hueso nativo adyacente.

4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS RADIOLÓGICOS

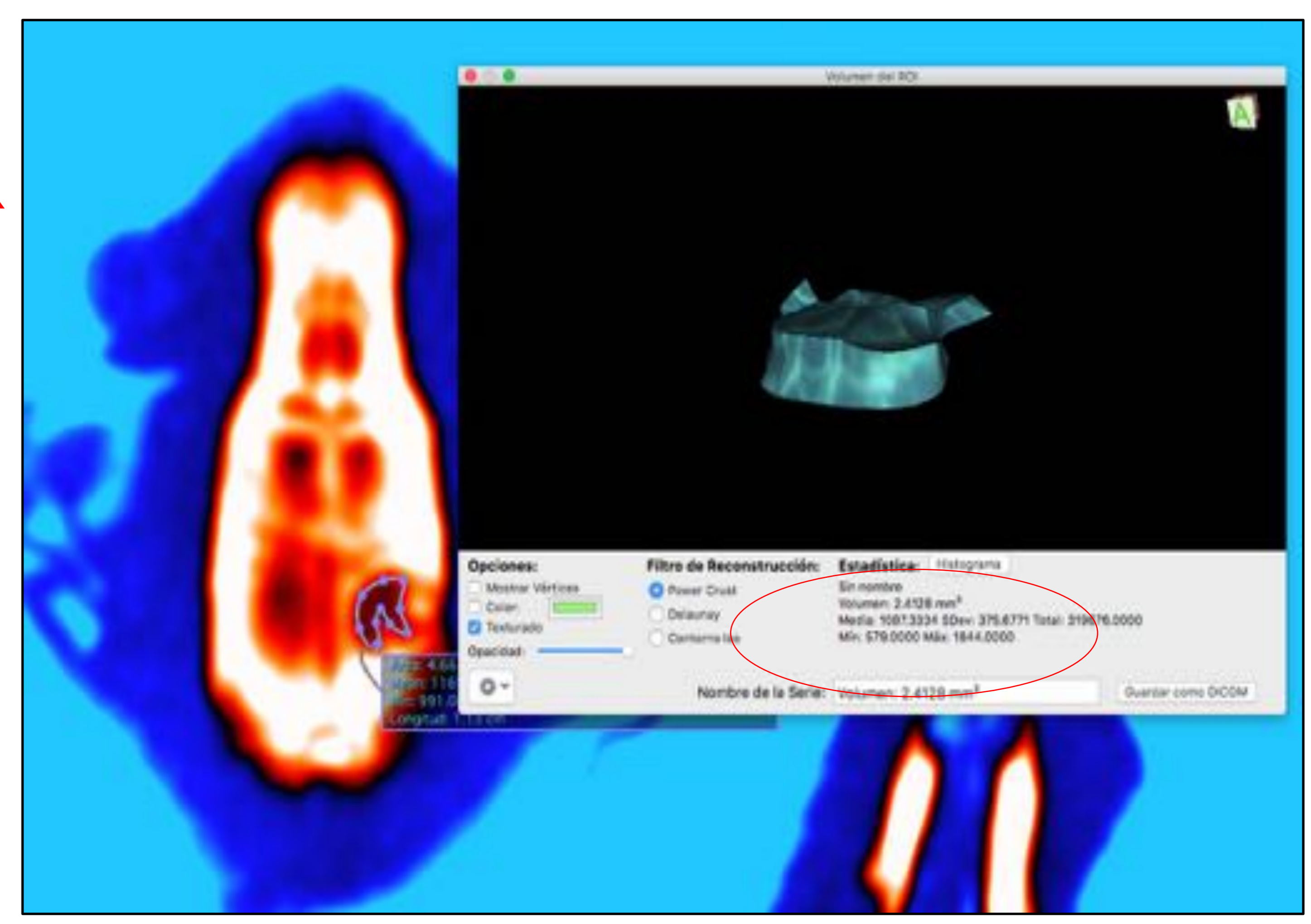
- Con la herramienta 3D-MPR y el filtro CLUT-FLOW de 16 bits se podía delimitar con mayor precisión el margen del hueso regenerado frente al hueso nativo en el margen de la craneotomía con el fin de delimitar el verdadero volumen de tejido óseo regenerado en los diferentes grupos experimentales.

Reconstrucción MPR con filtro CLUT-Flow que permite identificar el margen de la craneotomía



- Posteriormente se determinaba el volumen de hueso no regenerado y a partir del volumen del defecto inicial se infería el volumen real de tejido óseo regenerado.

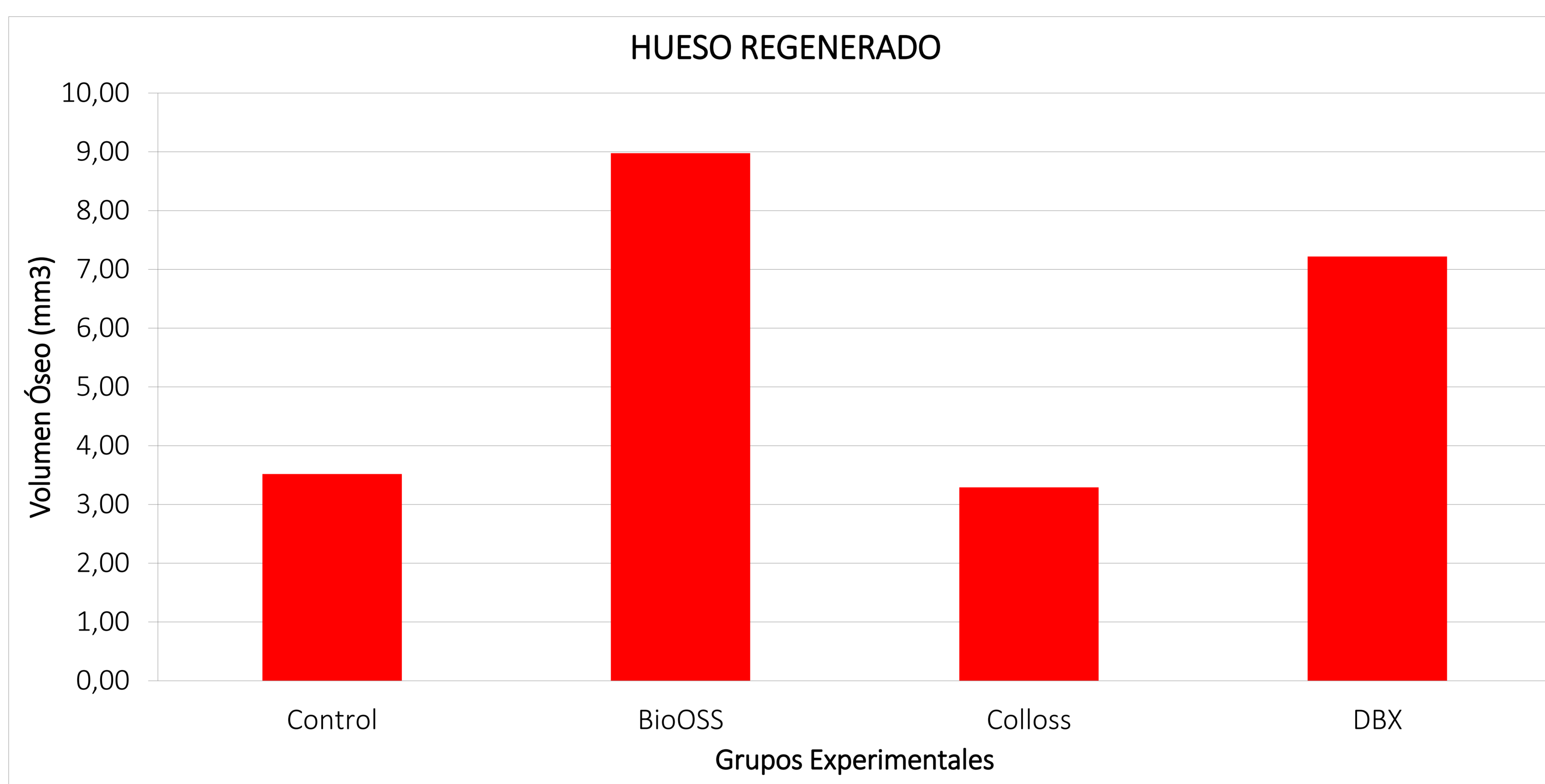
Grupos	Defecto	Volumen del defecto (mm³)	Volumen del hueso regenerado (mm³)
CONTROL 1	CONTROL	4200	3600
CONTROL 2	CONTROL	4200	3600
CONTROL 3	CONTROL	4200	3600
CONTROL 4	CONTROL	4200	3600
CONTROL 5	CONTROL	4200	3600
CONTROL 6	CONTROL	4200	3600
CONTROL 7	CONTROL	4200	3600
CONTROL 8	CONTROL	4200	3600
CONTROL 9	CONTROL	4200	3600
CONTROL 10	CONTROL	4200	3600
CONTROL 11	CONTROL	4200	3600
CONTROL 12	CONTROL	4200	3600
CONTROL 13	CONTROL	4200	3600
CONTROL 14	CONTROL	4200	3600
CONTROL 15	CONTROL	4200	3600
CONTROL 16	CONTROL	4200	3600
CONTROL 17	CONTROL	4200	3600
CONTROL 18	CONTROL	4200	3600
CONTROL 19	CONTROL	4200	3600
CONTROL 20	CONTROL	4200	3600
CONTROL 21	CONTROL	4200	3600
CONTROL 22	CONTROL	4200	3600
CONTROL 23	CONTROL	4200	3600
CONTROL 24	CONTROL	4200	3600
CONTROL 25	CONTROL	4200	3600
CONTROL 26	CONTROL	4200	3600
CONTROL 27	CONTROL	4200	3600
CONTROL 28	CONTROL	4200	3600
CONTROL 29	CONTROL	4200	3600
CONTROL 30	CONTROL	4200	3600
CONTROL 31	CONTROL	4200	3600
CONTROL 32	CONTROL	4200	3600
CONTROL 33	CONTROL	4200	3600
CONTROL 34	CONTROL	4200	3600
CONTROL 35	CONTROL	4200	3600
CONTROL 36	CONTROL	4200	3600
CONTROL 37	CONTROL	4200	3600
CONTROL 38	CONTROL	4200	3600
CONTROL 39	CONTROL	4200	3600
CONTROL 40	CONTROL	4200	3600
CONTROL 41	CONTROL	4200	3600
CONTROL 42	CONTROL	4200	3600
CONTROL 43	CONTROL	4200	3600
CONTROL 44	CONTROL	4200	3600
CONTROL 45	CONTROL	4200	3600
CONTROL 46	CONTROL	4200	3600
CONTROL 47	CONTROL	4200	3600
CONTROL 48	CONTROL	4200	3600
CONTROL 49	CONTROL	4200	3600
CONTROL 50	CONTROL	4200	3600
CONTROL 51	CONTROL	4200	3600
CONTROL 52	CONTROL	4200	3600
CONTROL 53	CONTROL	4200	3600
CONTROL 54	CONTROL	4200	3600
CONTROL 55	CONTROL	4200	3600
CONTROL 56	CONTROL	4200	3600
CONTROL 57	CONTROL	4200	3600
CONTROL 58	CONTROL	4200	3600
CONTROL 59	CONTROL	4200	3600
CONTROL 60	CONTROL	4200	3600
CONTROL 61	CONTROL	4200	3600
CONTROL 62	CONTROL	4200	3600
CONTROL 63	CONTROL	4200	3600
CONTROL 64	CONTROL	4200	3600
CONTROL 65	CONTROL	4200	3600
CONTROL 66	CONTROL	4200	3600
CONTROL 67	CONTROL	4200	3600
CONTROL 68	CONTROL	4200	3600
CONTROL 69	CONTROL	4200	3600
CONTROL 70	CONTROL	4200	3600
CONTROL 71	CONTROL	4200	3600
CONTROL 72	CONTROL	4200	3600
CONTROL 73	CONTROL	4200	3600
CONTROL 74	CONTROL	4200	3600
CONTROL 75	CONTROL	4200	3600
CONTROL 76	CONTROL	4200	3600
CONTROL 77	CONTROL	4200	3600
CONTROL 78	CONTROL	4200	3600
CONTROL 79	CONTROL	4200	3600
CONTROL 80	CONTROL	4200	3600
CONTROL 81	CONTROL	4200	3600
CONTROL 82	CONTROL	4200	3600
CONTROL 83	CONTROL	4200	3600
CONTROL 84	CONTROL	4200	3600
CONTROL 85	CONTROL	4200	3600
CONTROL 86	CONTROL	4200	3600
CONTROL 87	CONTROL	4200	3600
CONTROL 88	CONTROL	4200	3600
CONTROL 89	CONTROL	4200	3600
CONTROL 90	CONTROL	4200	3600
CONTROL 91	CONTROL	4200	3600
CONTROL 92	CONTROL	4200	3600
CONTROL 93	CONTROL	4200	3600
CONTROL 94	CONTROL	4200	3600
CONTROL 95	CONTROL	4200	3600
CONTROL 96	CONTROL	4200	3600
CONTROL 97	CONTROL	4200	3600
CONTROL 98	CONTROL	4200	3600
CONTROL 99	CONTROL	4200	3600
CONTROL 100	CONTROL	4200	3600



4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

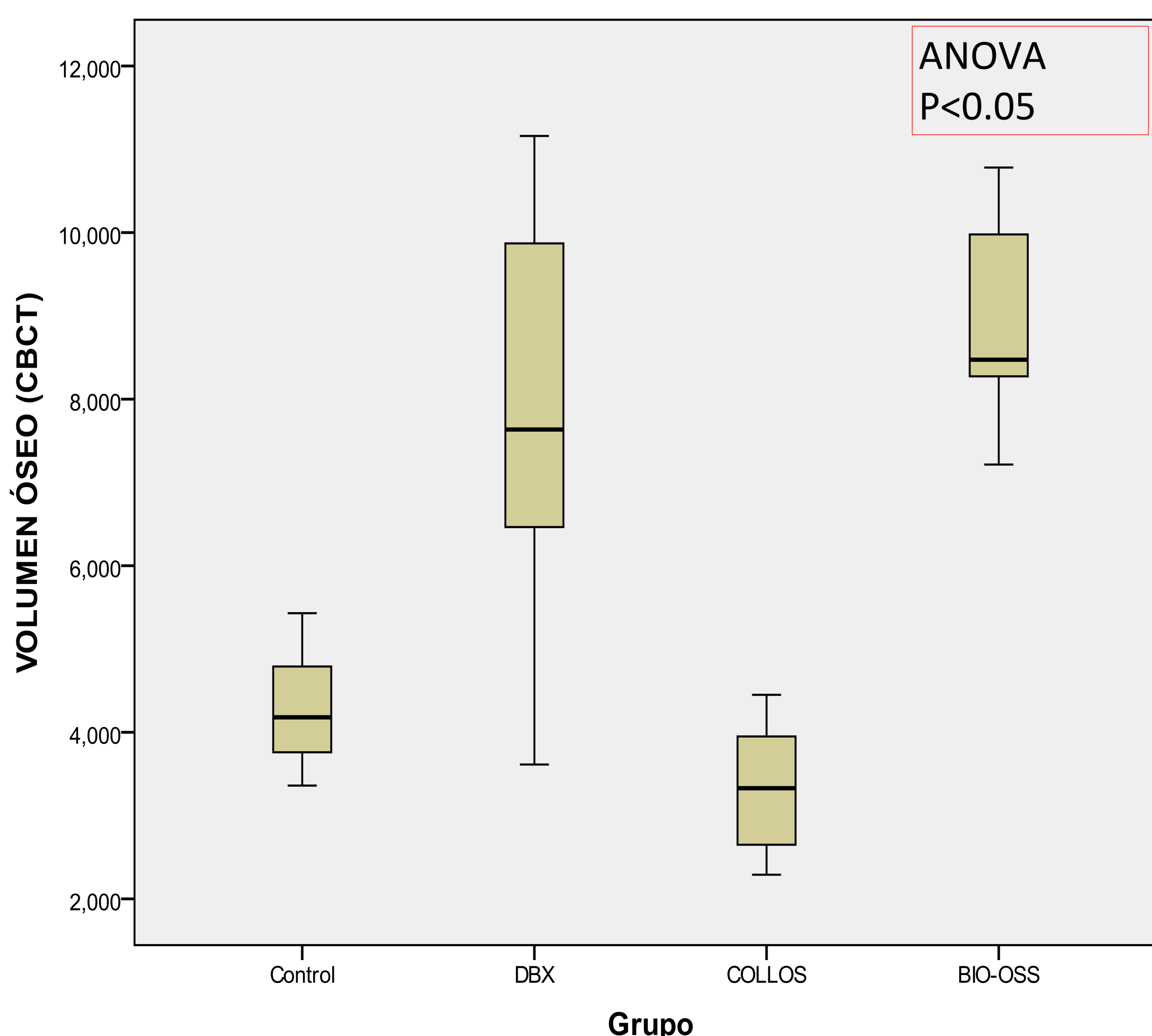
RESULTADOS RADIOLÓGICOS

- Se evidenció que el volumen óseo regenerado en los grupos DBX y Bio-Oss era superior a los grupos Control y Colloss, siendo aparentemente superior en el grupo Bio-Oss que si recordamos de la introducción era el grupo experimental en el que introducía una apatita carbonato con propiedades osteoconductoras.



• En el análisis de las varianzas de los volúmenes de hueso regenerados se objetivó que:

- DBX y Bio-Oss presentaban diferencias significativas respecto a Colloss y Control ($p < 0,05$)
- No se observaron diferencias significativas entre DBX y Bio-Oss ($p < 0,05$) .
- No se evidenciaron diferencias significativas entre Colloss y Control ($p < 0,05$) .



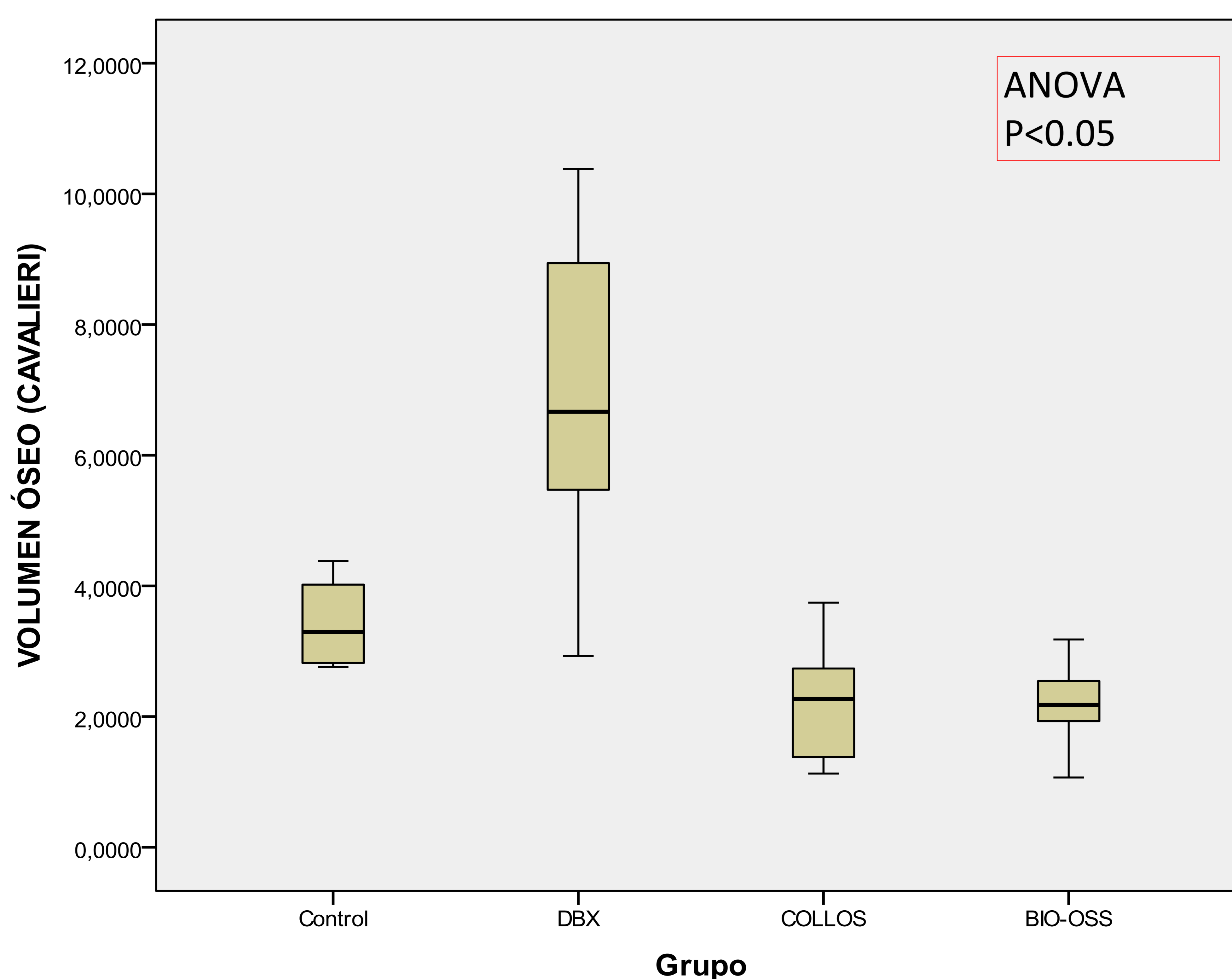
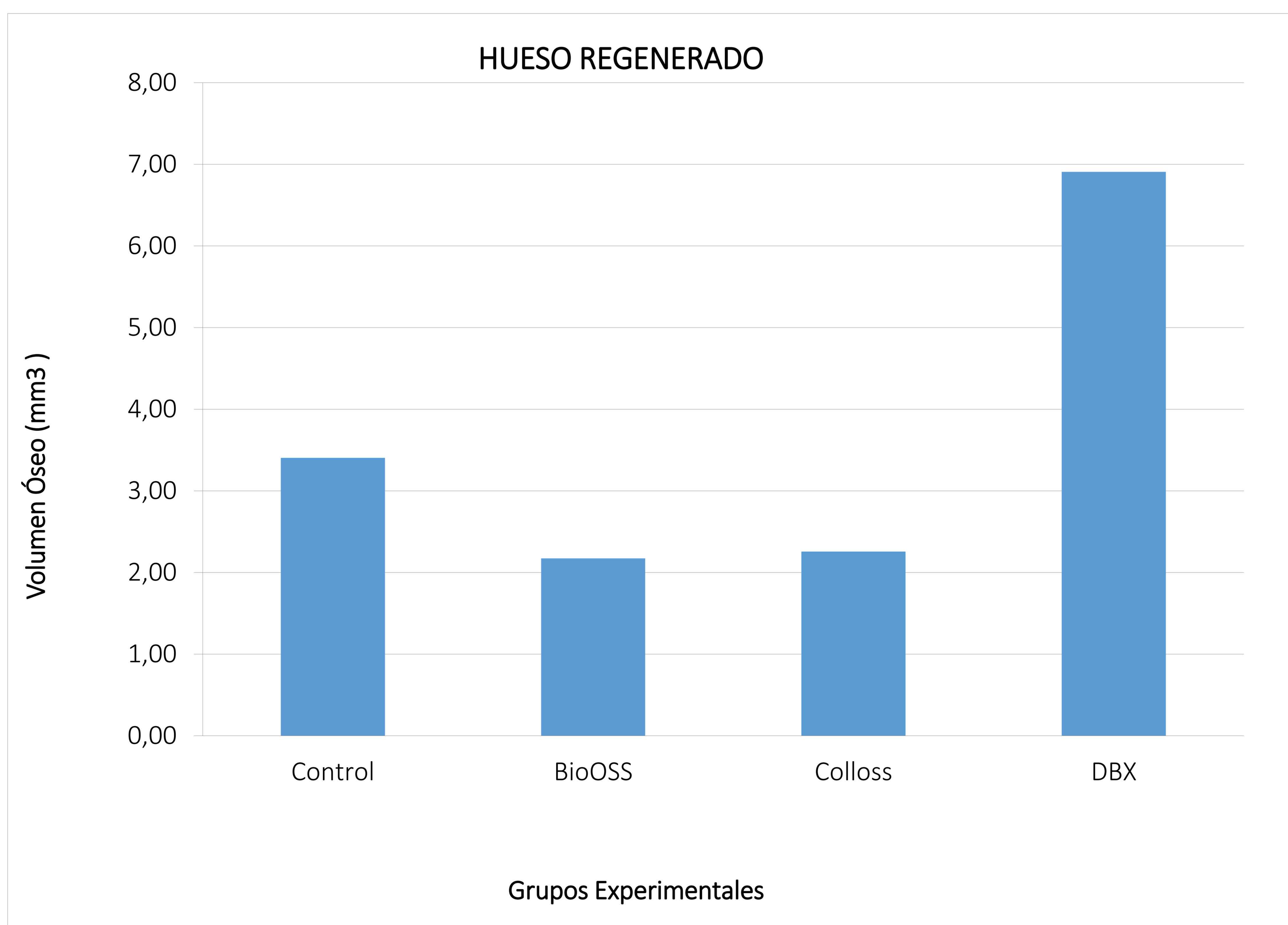
RESULTADOS HISTOLÓGICOS

•Se evidenció que:

•DBX presenta diferencias significativas respecto a Bio-Oss, Colloss y Control.

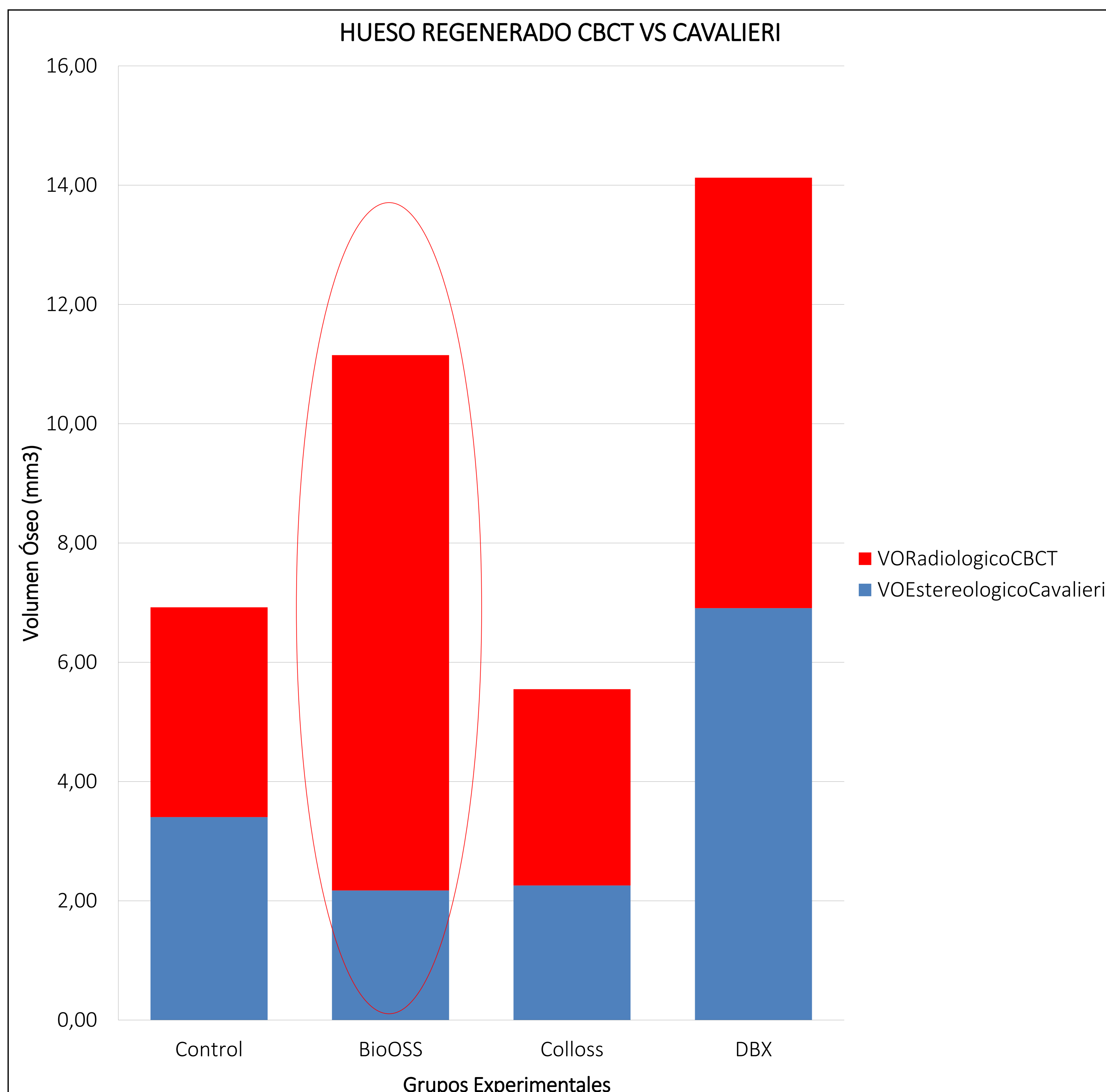
•DBX es el grupo que presenta un potencial regenerativo significativamente más alto

•No hay diferencias significativas entre Bio-Oss, Colloss y Control



RESULTADOS HISTOLÓGICOS vs RESULTADOS RADIOLÓGICOS

- Al comparar los resultados obtenidos al evaluar el volumen óseo regenerado mediante las técnicas radiológicas (CBCT o Tomografía de haz cónico) frente a las técnicas histológicas (análisis estereológico de Cavalieri) se objetivó una adecuada correlación en todos los grupos experimentales a excepción del grupo Bio-Oss.
- Así, el CBCT tiende a sobreestimar el volumen óseo regenerado un 14% respecto al volumen cuantificado mediante Estereología.
- Esto es debido a que el Bio-Oss al ser una apatita carbonatada presentaba ya de base una elevada densidad radiológica que no permite discriminar con el CBCT (a diferencia del micro-CT) si se ha producido una adecuada remodelación/regeneración ósea en el interior de su estructura cristalina radiodensa.



5. CONCLUSIONES

1.El modelo experimental de craniectomía circular de 5 mm de diámetro en la rata, se ha mostrado eficaz para el estudio de la regeneración ósea y su potenciación con factores de crecimiento.

2.DBX®, matriz ósea desmineralizada de origen humano, ha demostrado inducir un aumento de la regeneración ósea de defectos craneales en su formulación Putty con carrier de Ácido Hialurónico al 93%

3.Colloss-E®, matriz ósea desmineralizada de origen equino no ha demostrado aumento alguno en la regeneración ósea.

4.DBX® y Colloss-E®, no han mostrado diferencias en su comportamiento osteogénico por el hecho de utilizar diferentes lotes de producto.

5.El hueso bovino desorganificado (Bio-Oss®) no ha mostrado efecto osteoconductor en los defectos craneales.

5.El análisis radiológico de la regeneración ósea con Tomografía de Haz Cónico, ha obtenido resultados prometedores, si bien todavía no equiparables a los obtenidos con el método estereológico.

6.La estereología ha demostrado ser un método efectivo y fiable para el estudio de la regeneración ósea de defectos craneales