



**EXOSOMAS COMO COMPLEMENTO EN REGENERACIÓN ÓSEA
CRANEOMAXILOFACIAL: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA EXPLORATORIA**

Trabajo de Investigación
requisito para optar al
Título de Cirujano Dentista

Alumnos : Pamela Albiña Álvarez
Nayza Monsálvez Fonseca
Natalia Palma Cornejo

Docente Guía: Prof. Dra. Karina Cordero Torres
Cátedra de Patología y
Diagnóstico Oral

Valparaíso – Chile
2021

DEDICATORIAS

A mi madre, Yeny Fonseca Suazo, por ser mi ejemplo, acompañarme, guiarme, darme ánimo en cada momento a lo largo de esta carrera y ser la mujer más importante en mi vida entera. Definitivamente no fue un camino fácil y sin darnos cuenta todos los procesos personales y familiares nos ayudaron a crecer mutuamente.

Agradecer a la vida y a Dios por la gran cantidad de historias en un lugar lejano a mi origen, que me permitieron en soledad y lejos de mi grupo familiar y amigos de infancia, desarrollar una personalidad fuerte, enfrentar mis problemas y crecer como persona y mujer.

A Marcelo Faundez, el hombre que en el instante menos pensado llegó a compartir todos mis momentos, a llenar con su preocupación y cuidado cada rincón de mi corazón. Mi compañero, con quien mutuamente nos hemos regalado lo más lindo, nuestra Magdalena Paz.

A mis compañeras de tesis, por su paciencia, por su entrega pese a las innumerables dificultades que pudieron surgir en este largo período de trabajo y por todos los esfuerzos de horas y horas de ardua labor que nos permitieron culminar esta investigación y poder llevar nuestro resultado un poco más allá con el congreso de España.

A mí, por la valentía de seguir adelante en la adversidad, por perseverar en mi vida personal y académica, logrando cumplir las metas tanto por mí como para orgullo de mi mamita.

Culmina esta etapa y se abre un mundo de proyectos y nuevos desafíos, como Odontóloga, madre y formadora de familia. Porque como me dijeron por ahí "las cosas buenas nunca vienen solas, vienen todas juntas".

Nayza Monsalvez Fonseca.

Es difícil comenzar a dedicar este proceso a alguien, hay muchos involucrados, pero no puedo dejar de nombrar algunos.

A mi triángulo (mi madre y hermano), ellos confiaron en mí desde el inicio hasta ahora, cuando no estaban las fuerzas ellos me escuchaban a la distancia y me llenaban de su sabiduría, mi amor hacia ellos es incondicional e infinito. Ellos han sido una luz en muchos aspectos de mi vida, nada puede superar a la familia. Mis amigos y amigas, que increíble red de apoyo he formado durante esta vida llena de escalones que superar, me dieron su mano para seguir avanzando o su hombro para llorar. Tantas anécdotas compartidas hacen que la vida se me haya llenado de risas.

A mis compañeras de tesis Natalia y Nayza, fue arduo trabajo y noches largas de labor, gracias por su paciencia y compañerismo para enfrentar este desafío, no podría expresar la gratitud que tengo hacia ustedes, estoy orgullosa del futuro prometedor que les espera, que hermoso rodearse de estas colegas. A mí, me la dedicó a mí, porque fui terca... me hundí y flote, perseveraré cuando había flaqueado la confianza y estoy acá, escribiendo esto para la posterioridad. Pensé que era un pez intentando escalar un árbol, al parecer los milagros existen y este pez aprendió a adaptarse a los árboles.

Pamela Albiña Álvarez

Nuestro trabajo lo dedico a mi madre, quien me ha acompañado y brindado su amor incondicional y desinteresado.

A mi padre, por enseñarme el amor a la Medicina y porque mis logros siempre han sido un orgullo para él.

Mis hermanas, Andrea y Cecilia, por ser un equipo, compartiendo la vida, las risas, la complicidad y los desencuentros.

Mis queridas amigas de la Universidad, Daniela y Pamela con quienes vivimos momentos perfectos, de mucha felicidad, confianza plena, compañerismo y amor.

A mi amiga, Catalina, con quien he aprendido que la amistad es hermosa, duradera, incondicional, divertida y necesaria.

A la Profesora y guía Dra. Karina Cordero, agradezco su cariño, dedicación y que me haya escuchado cuando necesité contención.

A mi grupo de tesis, colegas y amigas, con quienes formamos un excelente grupo de trabajo, compartiendo risas, cariño y empatía. A pesar de nuestras dificultades personales que nos aquejaron en última instancia, logramos el compromiso con nuestro trabajo. Niñas, somos fuertes y valientes.

Dedico parte de esta investigación a mí, por el esfuerzo, constancia y entrega a mis pacientes. Llega el fin de esta etapa en mi vida, en Valparaíso, la ciudad porteña que me vio llegar sola y acogió, regalándome amistades, amores y años hermosos de juventud.

Natalia Palma Cornejo

AGRADECIMIENTOS

A la Prof. Dra. Karina Cordero Torres, por acogernos, guiarnos y apoyarnos en todo momento en este extenso proceso de tesis. Por tener la disposición, brindarnos su tiempo, experiencia profesional y gran calidad docente.

A nosotras, en reconocimiento de nuestro arduo trabajo en equipo, compañerismo, compromiso y entrega.

Y finalmente a nuestras familias y amigos que en todo momento nos dieron el apoyo, la motivación y la contención para seguir adelante no solo en esta última etapa, sino que, en el largo proceso de pregrado, eternamente agradecidas de su cariño y amor.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	4
1. Células madre y exosomas:	4
1.1) Células madre:	4
1.1.1) Propiedades de una célula madre:	4
1.1.2) Tipos de células madre:	5
1.1.3) Uso de las células madre:	8
1.2) Exosomas:	9
1.2.1) Biogénesis:	10
1.2.2) Función intercelular:	10
1.2.3) Métodos de aislamiento de los EVs:	12
1.2.4) Funciones y usos de las EVs:	13
2. Metabolismo y regeneración ósea:	15
2.1) Definición y descripción del tejido óseo:	15
2.2) Metabolismo y regeneración ósea:	16
2.2.1) Metabolismo:	16
2.2.2) Regeneración ósea:	17
2.3) Rol de células madre en regeneración ósea:	18
2.3.1) Tratamiento con células madre a nivel médico quirúrgico general:	18
2.3.2) Tratamiento con células madre a nivel maxilofacial:	18
2.4) Rol de exosomas en regeneración ósea:	20
2.4.1) Tratamiento con exosomas a nivel quirúrgico general y en regeneración ósea:	20
2.4.2) Tratamiento con exosomas a nivel del territorio maxilofacial:	20
3. Materiales favorecedores del crecimiento óseo, el estado del arte:	23
3.1) Clasificación:	23
3.1.1) Influencia sobre el crecimiento óseo:	23
3.1.2) Sustitutos óseos según su origen:	23
3.1.3) Sustitutos óseos según su estructura:	25
3.2) Uso de injertos en el área maxilofacial:	25
3.3) Complementos usados en regeneración:	25

3.3.1) Membranas:.....	25
3.3.2) Plasma rico en plaquetas (PRP):.....	26
3.3.3) Células madre mesenquimales y exosomas:	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	28
OBJETIVOS.....	29
Objetivo general:	29
Objetivos específicos:	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
1) Diseño: “Revisión sistemática exploratoria”	30
2) Criterios de inclusión y exclusión	30
3) Fuentes de información y fecha de la última búsqueda	30
4) Estrategia de búsqueda (incluir límites aplicados)	31
5) Selección y clasificación de los estudios.....	34
6) Análisis de calidad.....	36
7) Sesgos	36
8) Definición de las variables de estudio	37
RESULTADOS.....	39
1. Recolección de datos y selección de estudios	39
1.1. Descripción de los estudios incluidos.....	39
1.2. Características de los artículos incluidos.....	41
2. Descripción de la intervención	41
2.1. Fuentes de origen de los exosomas.....	41
2.2 Materiales de uso complementario en la regeneración ósea:.....	43
2.3 Aplicación de los exosomas.....	44
2.4 Efecto de exosomas sobre la regeneración ósea	44
3. Riesgo de sesgos:.....	54
DISCUSIÓN	55
RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS	61
CONCLUSIONES	62
REFERENCIAS.....	63

RESUMEN

La pérdida de hueso en los maxilares se debe a factores como exodoncias, trauma facial, trastornos malignos o terapias médicas. Los exosomas son vesículas extracelulares secretadas al espacio extracelular por todos los tipos celulares del organismo. Se ha demostrado que facilitan la reparación en piel, corazón, hueso y otros. El objetivo es analizar el uso de los exosomas como complemento en la regeneración ósea en territorio craneomaxilofacial. Se realizó una revisión sistemática exploratoria en Pubmed, Embase, Scielo y Sciencie Direct. El análisis de calidad se efectuó mediante la declaración ARRIVE y evaluación de riesgo de sesgo mediante Cochrane. De 269 artículos, 7 cumplían con los criterios para su análisis. La fuente de exosomas fueron células madre humanas (42%), animales (42%) o ambas (14%). La aplicación de los exosomas fue en ratas para defectos óseos, como terapéutica en osteoartritis de ATM y osteonecrosis asociada a bifosfonatos. En todos los estudios, la aplicación de exosomas mostró regeneración ósea significativa y temprana en comparación con el grupo control. Se concluye que los exosomas obtenidos de células madre, tienen diferentes fuentes celulares, pueden o no estar asociados a materiales complementarios y en las distintas terapéuticas ha tenido un efecto favorable al promover mineralización temprana, mejorando el ambiente osteogénico, facilitando migración celular endógena, angiogénesis y disminuyendo la reabsorción ósea. Se requieren estudios que permitan estandarizar protocolos optimizados para realizar ensayos clínicos aleatorizados comparables, comprobando su seguridad y eficacia en animales, para desarrollar investigación y evaluar un potencial uso en tratamiento de seres humanos.

INTRODUCCIÓN

La pérdida de hueso alveolar se puede atribuir a una variedad de factores tales como endodoncia, periodontitis, trauma facial, maniobras agresivas durante las extracciones dentales o trastornos malignos. Independiente de la causa que genere pérdida de tejido óseo, comúnmente el resultado será una deformación y pérdida de dimensiones en la estructura.^{1,2}

Las enfermedades bucodentales tienen una alta prevalencia en el mundo, afectando en el año 2015 al 48% de la población mundial. Dentro de éstas, la caries dental sigue siendo la afección más prevalente perjudicando a más de 2.500 millones de personas. Según las estadísticas, la incidencia de caries en dientes permanentes y deciduos, la periodontitis crónica severa (PCS) y la pérdida total de dientes (PTD) fue de 616 millones en todo el mundo sin diferencias determinantes entre sexo, siendo ésta última la principal causa de AVAD (años de vida ajustados por discapacidad) debido a afecciones orales en 7,6 millones de personas.³

Indistintamente de la edad en que se produzca la pérdida dentaria, se generan cambios inevitables en las regiones vecinas tanto a nivel maxilar como mandibular, éstas adquieren formas y relaciones nuevas entre sí, afectando estética, anatomía y función. Así también, todos los cambios dimensionales producto de pérdida y remodelado óseo, se exacerban en presencia de enfermedad periodontal, problemas endodónticos, trauma o fractura de tabla durante la extracción.⁴

Junto a lo anterior, la insuficiencia de tejido óseo por reabsorción alveolar debido a la pérdida dental se presenta como un problema y un desafío para la rehabilitación oral. Frente a este conflicto, han surgido diferentes alternativas terapéuticas como la regeneración ósea guiada, acompañada de avances en biomateriales y técnicas quirúrgicas⁵. Se considera entonces, que la regeneración del tejido óseo es fundamental para restaurar la estética, fonética y función perdida del paciente².

Del mismo modo, se ha dedicado un esfuerzo incansable al desarrollo de materiales de regeneración para restaurar los defectos en los huesos maxilofaciales, debido a su alta tasa de incidencia clínica⁶. La investigación en torno al aumento del volumen óseo se ha focalizado en encontrar injertos que respondan a cada una de las necesidades de reconstrucción, este hecho ha llevado a estudiar y comparar los beneficios y riesgos de los distintos tipos de injertos, lo que incrementa de manera notoria las probabilidades de éxito del tratamiento, disminuyendo así los riesgos y complicaciones^{6,7}.

Entre las técnicas actuales que se utilizan para el aumento del tejido se encuentran: distracción osteogénica, bloques óseos (autológico, alogénico o xenogénico) y regeneración ósea guiada (ROG)². El autoinjerto de hueso autólogo actualmente es la terapia *Gold standard* para la regeneración ósea por poseer características fundamentales. No obstante, esta terapia presenta alto riesgo de morbilidad postoperatoria del sitio donante y una rápida reabsorción^{8,9}.

Por otra parte, se han desarrollado técnicas con el uso de membranas y concentrados plaquetarios para complementar injertos. Si bien, las células madre son ampliamente estudiadas, de acuerdo con Sandoval et. al., el uso de células madre no contribuye de manera significativa a la eficacia de la regeneración ósea después de los procedimientos¹⁰. Es por esto que los avances y tecnología han llevado a la búsqueda de elementos aún menores, que presenten una mejor biodisponibilidad de moléculas, como es el caso de los exosomas derivados de células madre¹¹.

Es necesario indagar en la bibliografía científica respecto al uso de nuevos dispositivos médicos para mejorar la osteointegración, una alternativa parece ser los exosomas. Estas vesículas extracelulares (EVs) han causado un gran interés en la terapia regenerativa, tanto en el campo de la oftalmología, neurología como en el de la regeneración musculoesquelética. Es en esta última donde la osteoinducción es de gran importancia y los exosomas cumplen un rol relevante, como indica Cooper¹².

Con lo que se ha presentado, queda de manifiesto que este proyecto de investigación tiene como propósito analizar el uso de los exosomas como complemento en la regeneración ósea craneomaxilofacial.

MARCO TEÓRICO

1. Células madre y exosomas:

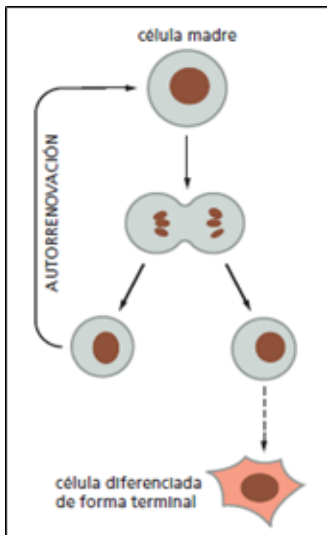
1.1) Células madre:

En el cuerpo humano se han caracterizado más de 200 tipos celulares, siendo las células madre (SCs) solo una clase de ellas.

Estas SCs tienen potencial para autorrenovarse y capacidad para diferenciarse, sus características especiales permiten la participación en múltiples etapas del desarrollo, adquiriendo rasgos que satisfacen el conjunto de necesidades del organismo^{13,14}.

Las SCs se encuentran presentes en todos los seres humanos, como el origen de todas las células que circulan en la sangre y como un componente del sistema de regeneración que tienen los diferentes órganos y tejidos. Tienen la habilidad de dividirse y diferenciarse en células especializadas, pueden residir en diferentes tejidos y órganos y tener diferentes fases de diferenciación^{14,15}.

1.1.1) Propiedades de una célula madre:



- No se diferencia de forma terminal (no se encuentra al final de una vía de diferenciación).
- Puede dividirse sin límite (o por lo menos durante toda la vida del animal).
- Cuando se divide, cada célula hija tiene una opción: puede permanecer como célula madre o puede emprender un trayecto que determina su diferenciación terminal (Fig.1)¹⁴.

Figura 1. La definición de una célula madre. Cada célula hija producida por la división de una célula madre puede seguir siendo una célula madre o puede llegar a diferenciarse de forma terminal. En muchos casos, la célula hija que opta por la

*diferenciación terminal sufre divisiones celulares adicionales antes de que termine la diferenciación terminal*¹⁴.

Estas células son la materia prima del cuerpo, a partir de ellas se generan todas las demás células con funciones especializadas. Bajo las condiciones adecuadas en el cuerpo o en un laboratorio, las células madre se dividen para formar las llamadas células hijas. Estas células hijas se convierten en nuevas células madre por medio de autorrenovación o en células especializadas a través de la diferenciación, estas últimas con una función más específica, como es el caso de las células sanguíneas, cerebrales, del músculo cardíaco o células óseas. Ninguna otra célula del cuerpo tiene la capacidad natural de generar nuevos tipos celulares¹⁶.

Al encontrarse en diferentes lugares y debido a sus propiedades, es que las células madre pueden ser útiles en muchas áreas de la biomédica, medicina regenerativa ¹⁷ y aplicables también en el territorio maxilofacial y la odontología.

1.1.2) Tipos de células madre:

En la literatura actual encontramos una amplia gama de tipos de células madre, tales como: mesenquimales, del periostio, adiposas humanas y células madre gingivales⁵.

Las células madre mesenquimales de la médula ósea, son consideradas la mayor fuente celular aplicada en ingeniería ósea tisular y medicina regenerativa¹⁸, debido a su alto potencial osteogénico⁵.

1.1.2.1) Según su obtención, podemos encontrar:

- a. Células madre embrionarias: Se obtienen de los embriones sobrantes de la fertilización in vitro y existen grandes impedimentos éticos para su uso¹⁵.
- b. Células madre adultas: Se pueden encontrar en diferentes tejidos como la médula ósea, sangre periférica, grasa, piel, entre otros. Pueden ser obtenidas de manera relativamente fácil y en buena cantidad con un riesgo mínimo, permitiendo la formación de bancos de donantes¹⁵.

c. Células madre de cordón umbilical: Es un mecanismo intermedio, de fácil obtención y riesgo mínimo. Sus cantidades son escasas por lo que generalmente se requiere más de un donador para tratar a un paciente adulto. Además, el tiempo de preservación de las mismas es desconocido y los bancos de sangre de cordón públicos no son para uso de sus donadores, sino para pacientes que las necesiten en el tratamiento de enfermedades sanguíneas¹⁵.

1.1.2.2) *Independiente de su obtención*, las células madre ya sea adultas o embrionarias, pueden ser ¹⁵:

- a. Hematopoyéticas: Están presentes en la médula ósea roja y son también conocidas como células formadoras de sangre (Fig. 2). Son pluripotenciales, ya que dan lugar a todo tipo de células sanguíneas diferenciadas tanto rojas como blancas, plaquetas, y otros tipos celulares como los osteoclastos del hueso¹⁴.
- b. Neuronales: Las células madre neurales (NSC) están presentes en el sistema nervioso central (SNC) y poseen potencial de autorrenovación, junto a la capacidad de generar todos los principales fenotipos celulares presentes en este sistema, incluyendo neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. Actúan liberando factores solubles antiinflamatorios y diferenciando los componentes celulares del SNC¹⁷.
- c. Epidérmicas: Éstas se encuentran formando parte de la capa basal, unidas a la lámina basal de la epidermis, con una diferenciación de desplazamiento ascendente que permite la mantención de la barrera impermeable en capas que protege al organismo del medio externo¹⁴.
- d. Retinianas: El ojo contiene diferentes tipos de células madre que constantemente sustituyen a las células especializadas desgastadas o dañadas^{14,19}.

- e. Intestinales: Las SCs intestinales se encuentran en criptas hacia la base de las vellosidades intestinales, varias criptas conforman una vellosidad intestinal. La proliferación de estas SCs está determinada por la acción de la señal Wnt y la señal Notch que controlan la diferenciación, permitiendo el rápido recambio de células del intestino delgado y sus funciones absorbiva y secretora¹⁴.

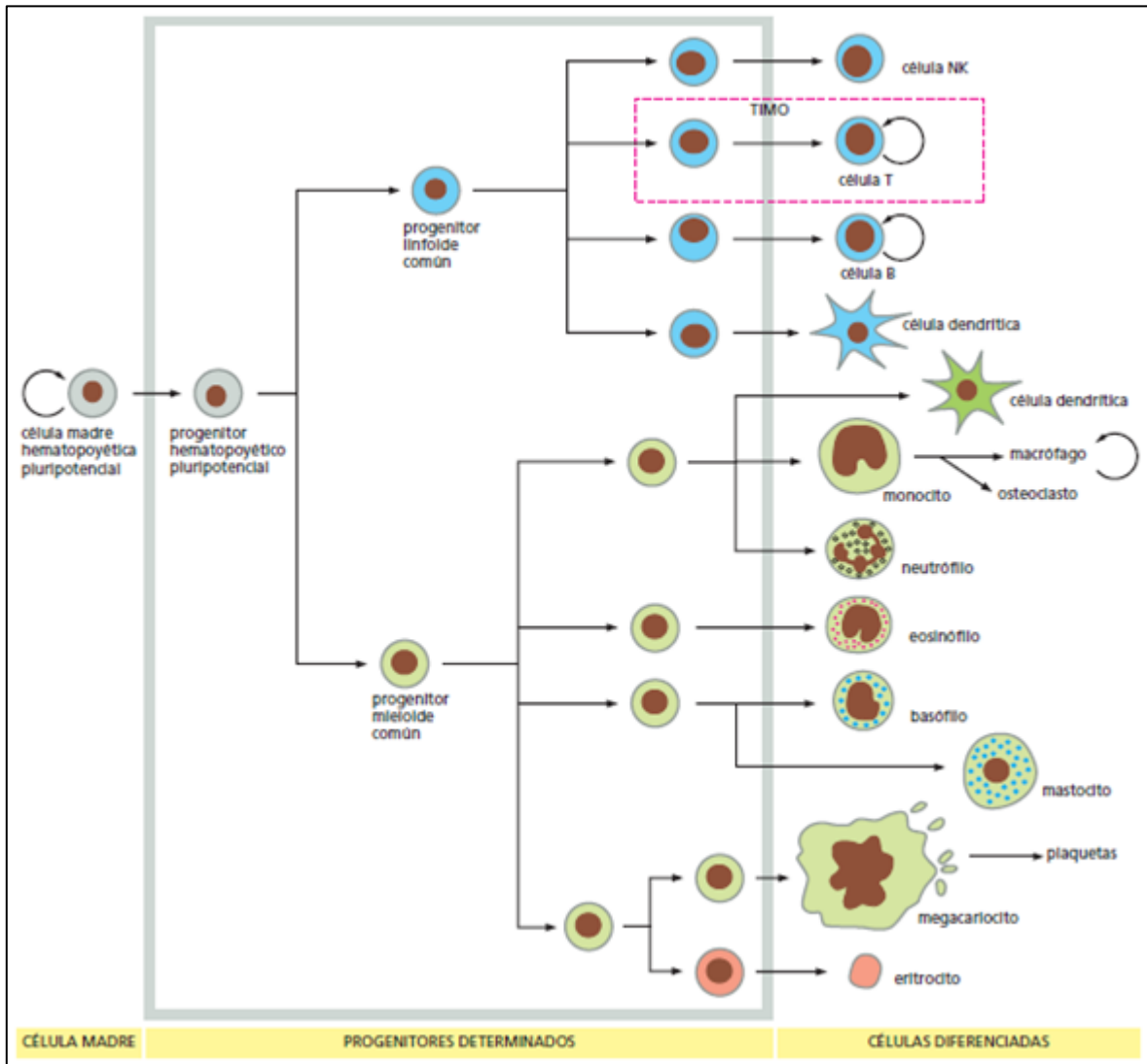


Figura 2. Esquema provisional de hematopoyesis. La célula madre pluripotente se divide pocas veces y genera más células madre pluripotenciales que se auto renuevan o células progenitoras determinadas que antes de diferenciarse se podrán dividir un número limitado de veces. Las células progenitoras se vuelven de forma progresiva

más especializadas, obteniendo así células maduras, como indican las ramificaciones de la descendencia celular en la zona encerrada en el rectángulo gris del esquema¹⁴.

- f. **Mesenquimatosas:** Las células madre mesenquimales (MSC) se pueden aislar desde la placenta, sangre del cordón umbilical, tejido adiposo y dental (dientes deciduos, ligamento periodontal y pulpa obtenidos de dientes permanentes y folículo dental, papila apical obtenido del desarrollo de los terceros molares)²⁰. Estas células responden al daño local en órganos y tejidos mediante la división y diferenciación en células del hueso, cartílago, músculo y grasa¹⁵.

Es de gran importancia conocer que recientemente se ha demostrado que es posible también reprogramar células diferenciadas y obtener células madre pluripotenciales inducidas, estas son las llamadas células madre adultas reprogramadas¹⁵.

En la literatura actual encontramos una amplia gama de tipos de células madre, tales como: mesenquimales, del periostio, adiposas humanas y células madre gingivales⁵.

Las células madre mesenquimales de la médula ósea, son consideradas la mayor fuente celular aplicada en ingeniería ósea tisular y medicina regenerativa¹⁸, debido a su alto potencial osteogénico⁵.

1.1.3) Uso de las células madre:

Las SCs se especializan en proporcionar a los tejidos un suministro indefinido de nuevas células diferenciadas en el lugar en el que se han perdido, eliminado o se necesitan en grandes cantidades¹⁷. Como vimos anteriormente, podemos encontrarlas en diferentes lugares, es por esto y sus propiedades que las células madre pueden ser muy útiles en muchas áreas de la biomédica, medicina regenerativa¹⁶ y aplicables también en el territorio maxilofacial y la odontología.

1.2) Exosomas:

Los exosomas están dentro de la clasificación de vesículas extracelulares (EVs), estas son secretadas al espacio extracelular por todos los tipos celulares del organismo²¹. La clasificación varía según tamaño, morfología y carga de las EVs (lípidos, proteínas, subtipos de ARN y ADN), se dividen en 3 subpoblaciones, las cuales incluyen cuerpos apoptóticos, microvesículas (MV) y exosomas²² que se detallan en la tabla I.

Características	Microvesículas	Exosomas	Cuerpos apoptóticos
Tamaño (nm)	50 a 1.000	30 a 150	50 a 5.000
Morfología	Heterogéneas	Homogéneas (forma de copa por MET)	Heterogéneos
Condición célula parental	Condiciones fisiológicas o en respuesta a estímulos	Condiciones fisiológicas y patológicas	Apoptosis
Mecanismos de formación	Membrana plasmática	Vía endocítica	Membrana plasmática
Patrón de liberación	Desprendimiento o gemación	Fusión de la membrana de cuerpos multivesiculares con la membrana plasmática.	Ampollas externas
Contenido	Varios lípidos y fosfatidilserina contienen componentes de membrana similares a los de la membrana celular parental	Proteínas, DNAs, RNAs y lípidos similares a los de las células parentales.	Organelos celulares, fragmentos de DNA y RNA
Marcadores	Integrinas, MMPs, CD40	CD63, CD83, Alix.	Caspasa 3, histonas.

Tabla I. Características de los diferentes tipos de vesículas extracelulares (adaptado de Liu et al., 2018).

El primer hallazgo de los exosomas se remonta a 1981 donde se obtuvieron y se definieron como unas vesículas exfoliadas con actividad de ectoenzima²³. Actualmente, se denomina exosomas al repertorio de factores solubles o unidos a vesículas que son secretados por las células madres mesenquimales²⁴. La morfología de los exosomas se caracteriza por presentar una bicapa lipídica¹² redonda con concavidad en forma de taza cuyo tamaño fluctúa entre 30 y 150 nm de diámetro²².

Se han realizado distintos esfuerzos en el mundo científico para definir la carga de los exosomas, esta corresponde a ARN codificante y no codificante, proteínas, moléculas presentadoras de antígenos y ADN transportado entre células²⁵. Tal vez, el componente más abundante de la carga del exosoma son los miARN y ARN no codificante, los cuales se encargan de regular la expresión de los genes, el miARN es representativo de cada célula parental, lo que indica que el contenido de los exosomas es selectivo y específico del tipo de fuente de la célula madre que proviene¹².

A parte de la célula parental de origen, habrán otros factores que influyen en el contenido de las EVs, como es, la condición del microambiente local que presenta la MSC (edad y fuente tisular)²⁴ y los cambios fisiológicos con estímulos químicos, ya que estos podrían influir en el ritmo de liberación y el contenido de las EVs de remodelación ósea.

1.2.1) Biogénesis:

Los exosomas constituyen uno de los sistemas de transporte intracelular más complejos. La formación de los exosomas radica en la invaginación de la membrana plasmática para formar endosomas, formando así múltiples vesículas intraluminales. Su maduración se produce en el proceso de transporte intracelular desde la membrana plasmática hasta el centro de la célula, durante el cual cambia el contenido generalizado de los lípidos y las proteínas contenidas en las vesículas. La fusión de la membrana plasmática con el endosoma multivesicular (MVE) es el último paso, que da como resultado la formación de un solo exosoma¹² (figura 3).

1.2.2) Función intercelular:

Los exosomas tienen efectos en el mecanismo de comunicación intercelular paracrino y autocrino⁵. Sinclair apoya esta idea al observar material citoplasmático donado por

las células madres mesenquimales a otras células objetivo, utilizando tanto nanotúbulos como EVs²⁴.

Los factores tróficos transportados por los exosomas pueden afectar al microambiente local de las células objetivo, a través de sus mediadores de señalización celular específicos durante la comunicación intercelular, y por lo tanto, influir en la apoptosis, proliferación, migración y diferenciación específica del linaje²². Una evidencia de esta función es la expuesta por Raposo et. al.²⁶, quienes demostraron que los exosomas de los linfocitos transportaban antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (CMH-II) de las células al líquido extracelular e inducen una respuesta de las células T del CMH-II, lo que ratifica que los exosomas sirven para transportar señales de una célula a otra¹². Es importante señalar que los exosomas median la transferencia horizontal de ARNm de la célula parental a la célula blanco e implican un importante mecanismo de señalización paracrina que no se había comprendido anteriormente²⁷.

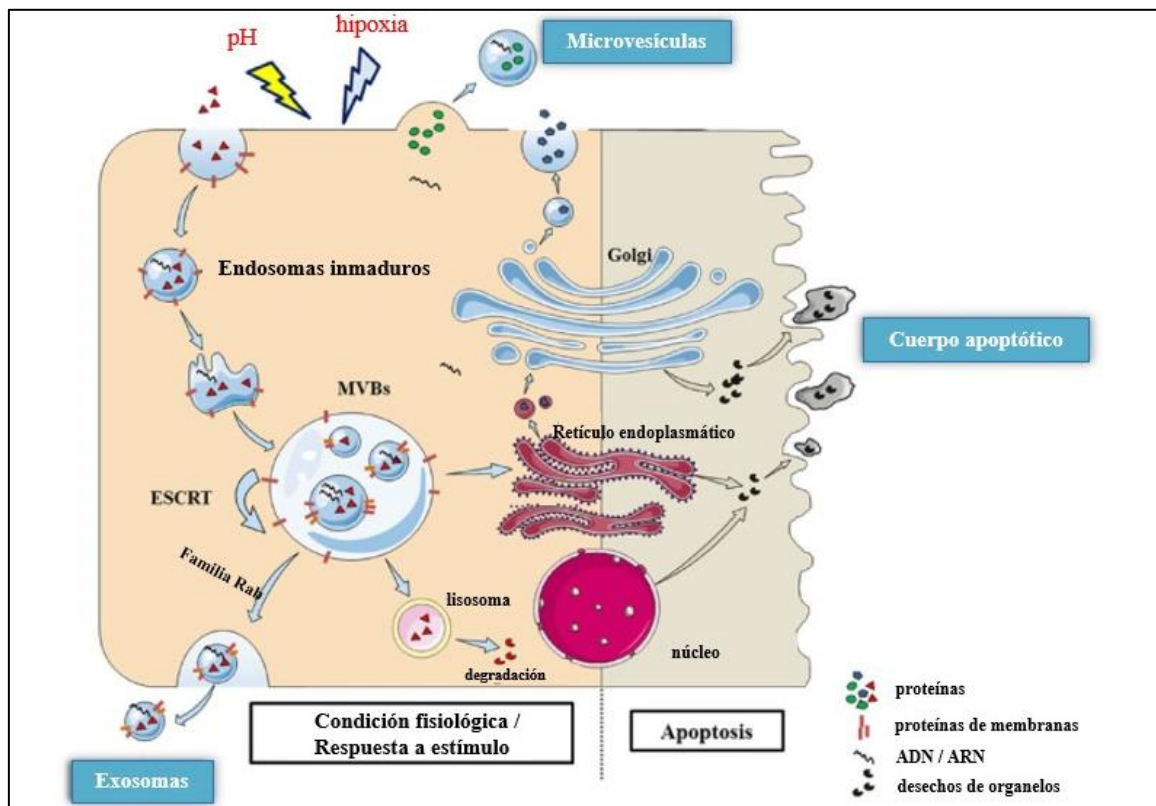


Figura 3. Biogénesis y secreción de diferentes tipos de vesículas extracelulares.

Las microvesículas se forman cuando los contenidos germinan directamente a través

de la membrana plasmática. Los exosomas se derivan de cuerpos multivesiculares (MVBs) y se secretan por fusión de MVBs con la membrana plasmática. Los cuerpos apoptóticos que contienen orgánulos aparecen solo cuando las células experimentan la etapa tardía de la apoptosis. Los cambios del microambiente como el pH y la hipoxia pueden afectar el ritmo de secreción de las vesículas extracelulares. ESCRT, complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte²² (adaptado de Liu et al., 2018).

1.2.3) Métodos de aislamiento de los EVs:

Hay un interés creciente en el mundo científico en las distintas alternativas terapéuticas que presentan las EVs. Sin embargo, este se ha visto desacelerado por la heterogeneidad inherente y la complejidad biológica o tecnológica, que dificulta el hallazgo del principio activo terapéutico y su modo de interacción definitivo²⁸.

La funcionalidad de las fracciones de EVs cultivadas podrían depender en gran medida del método utilizado para enriquecer las vesículas. Tanto el material de origen, volumen inicial como el uso previsto del producto final influyen en la elección de la metodología de aislamiento/purificación y los resultados de los análisis posteriores²⁸.

El material de origen es un importante tópico para la elección de la técnica de aislamiento. Según la investigación de Gardiner et al., lo más utilizado ha sido el medio celular condicionado (83%), y de este porcentaje se desprende de forma descendente, que el 29% de los investigadores utilizaron tanto las enriquecidas con suero como libres de suero, el 33% utilizan sólo medios con adición de suero y el 37% condiciones de cultivo exclusivamente libres de suero. El lugar de biofluido más frecuente para la obtención de las EVs fue el plasma (47%), el suero (22%), la orina (14%), el líquido cefalorraquídeo (8%) y la leche (5%)²¹.

En estos momentos, no hay consenso sobre el método “Gold Standard” para el aislamiento y purificación de las EVs. Aun así, según la encuesta de las prácticas mundiales actuales, la gran mayoría utiliza dos o más métodos de aislamiento, siendo el método de centrifugación, por mucho, la técnica de aislamiento primario más popular para las EVs independiente del material de partida utilizado²⁸.

A pesar de las ventajas de utilizar EVs en lugar de células para la aplicación terapéutica, hay que tener en cuenta que las fracciones de EVs purificadas pueden ser menos activas desde el punto de vista terapéutico que los productos celulares correspondientes; ciertos efectores paracrinos podrían perderse o alterarse durante la purificación de las EVs, o como consecuencia de su corta vida media, las EVs podrían no permanecer continua y suficientemente presentes en los pacientes tratados con estas nanopartículas, en comparación a los pacientes que siguen un tratamiento celular²⁹.

1.2.4) Funciones y usos de las EVs:

Actualmente los exosomas debido a sus efectos biológicos paracrino y autocrino son objetivo de intensas investigaciones debido a su valor diagnóstico o terapéutico previsto²⁸.

El hecho de que se pueda utilizar como una terapia sin células, genera beneficios debido al menor riesgo que hay en comparación a utilizar trasplante de células vivas^{5,25}, este menor riesgo se refiere a la baja toxicidad general y una considerable estabilidad de los EV en la circulación³⁰.

1.2.4.1) Terapias celulares antitumorales:

A finales de 1990 surge el concepto de EVs secretadas como alternativa a las terapias celulares antitumorales, respaldado por datos que indicaban que los tumores establecidos en ratas inmunocompetentes podrían ser erradicados por exosomas derivados de células dendríticas (DC)²³. Posteriormente, en Francia y Estados Unidos se utilizaron las EVs para el melanoma³¹ y cáncer de pulmón³² respectivamente, en ambos ensayos se obtuvo un resultado beneficioso, lo que demuestra la viabilidad y seguridad de la administración de EVs. Si se combinan las EVs tumorales con los adyuvantes inmunoestimuladores adecuados, el efecto inhibitorio inmune hacia EVs tumorales, podría suprimirse con éxito, permitiéndoles así promover una respuesta antitumoral³³. A pesar de estos resultados prometedores, el efecto terapéutico de las preparaciones de exosomas de origen DC en pacientes con cáncer sigue sin estar clara, estos estudios pioneros son importantes, ya que provocaron un gran interés

científico²⁹. Por lo tanto, según el origen y contexto de las EVs, estas pueden estimular respuestas inmunitarias y/o promover respuestas antitumorales, proporcionando importantes herramientas para las nuevas terapias antineoplásicas. Aun así, se debe tener precaución en caso de que las EVs sean derivadas de tumores, ya que podría existir una transferencia de actividad oncogénica hacia las células sanas³⁴.

1.2.4.2) Terapias como agentes contra enfermedades infecciosas:

Muchos patógenos como helmintos, hongos, bacterias y protozoos también secretan EVs³⁵.

Principalmente, se están investigando dos estrategias diferentes: a) EVs de origen de DC, in vitro; b) EVs liberadas por el patógeno o las células infectadas. En ambas terapias se han encontrado cierta respuesta inmunitaria que confiere protección contra infecciones posteriores^{36,37}, como en patologías de origen inmune. Esta abundancia de estudios destaca el potencial de las EVs como vacunas contra enfermedades infecciosas tanto en humanos como en salud de otros animales²⁹.

La vacunación presenta ciertas ventajas y desventajas. Dentro de las ventajas, es que las EVs son más estables al congelarse y descongelarse que las células, que siempre sufren cierto grado de mortalidad. La desventaja de este enfoque es que el repertorio de complejos de péptidos del CMH que se presenta está limitado y, por lo tanto, puede no ser suficiente para generar una respuesta inmunitaria neutralizadora contra un tumor o un patógeno complejo. Esta salvedad puede superarse utilizando EVs producidos por células de origen de tumores o células infectadas con antígenos³⁸.

1.2.4.3) Terapias farmacológicas:

La utilidad de los nanomateriales exógenos ha cobrado vital relevancia en terapias farmacológicas, no obstante, han presentado reacciones adversas que involucran respuestas inmunes no deseadas e interacciones nanoproteicas que entregan como resultado el fracaso de la terapia médica. En los exosomas encontramos una nueva generación de biomateriales endógenos a escala nanométrica y natural, por lo que se

les ha atribuido un gran potencial para la administración en terapias farmacológicas dirigidas³⁹.

1.2.4.4) Terapia regenerativa:

Cada vez hay más pruebas que sugieren que las EVs son actores importantes en la mediación de los efectos terapéuticos de las células utilizadas en diversos tratamientos con células madre. Muchos de estos estudios tuvieron éxito en los resultados de la terapéutica, pero rara vez se encontraron MSCs injertadas en los sitios objetivos, esto supone que hay un factor intermediario que regula los efectos proregenerativas y/o inmunomoduladoras⁴⁰ de las MSCs en los distintos tipos de tejidos.

Además, hay estudios prometedores en cuanto a la utilización de EVs, las cuales ejercen una actividad terapéutica de forma paracrina en regeneración hepática⁴¹, regeneración pulmonar⁴² y pacientes con accidentes cerebrovasculares⁴³.

Sin embargo, todos estos tipos de células que secretan EVs representan poblaciones heterogéneas en lugar de tipos de células bien definidas. Al mismo tiempo, hay que tener en cuenta que incluso los tipos de células aparentemente homogéneas liberan diferentes subtipos de EVs. Además, la variabilidad relacionada con el donante puede ser responsable de las diferencias terapéuticas entre fracciones de vesículas comparables²⁹.

En resumen, los exosomas derivados de diferentes células madre, han demostrado que facilitan la reparación en piel, extremidades, corazón, articulaciones y otros tejidos¹¹.

2. Metabolismo y regeneración ósea:

2.1) Definición y descripción del tejido óseo:

El tejido óseo es una organización celular altamente especializada de tejido conectivo. Se presenta compuesto por una matriz orgánica fortalecida con depósitos de sales de calcio. El colágeno tipo I constituye el 95% de la matriz orgánica y el 5% restante lo componen proteoglicanos y numerosas proteínas no colágenas. Además,

encontramos cristales de hidroxiapatita compuestos por calcio y fosfato depositados en esta matriz orgánica bajo control celular⁴⁴. Estos componentes extracelulares mineralizados proporcionan al tejido óseo fuerza y rigidez, por lo tanto, permiten que los huesos funcionen en los soportes mecánicos del organismo y en el proceso de locomoción¹³.

Morfológicamente hay dos tipos de tejido óseo, el hueso cortical (compacto) y el hueso esponjoso. El hueso compacto está constituido estructuralmente por fibrillas de colágeno densamente empaquetadas, en contraste, el hueso esponjoso se compone de una matriz porosa. Las diferencias de composición entre ambos tejidos óseos permite que cumplan con distintas funciones en el organismo⁴⁴.

Por su parte, el hueso se compone de cuatro tipos celulares: osteoblastos, osteoclastos, células de revestimiento óseo y osteocitos. Las células de revestimiento óseo, osteoblastos y osteocitos provienen de células osteoprogenitoras locales y los osteoclastos tienen su origen en la fusión de precursores mononucleares derivados de distintos tejidos hematopoyéticos⁴⁴.

2.2) Metabolismo y regeneración ósea:

2.2.1) Metabolismo:

El remodelado óseo corresponde al mecanismo fisiológico por el que el tejido óseo adulto se renueva constantemente a partir de la activación de las unidades básicas multicelulares (UBMs), con el fin de reparar las micro fisuras causadas por la fatiga y mantener intacta su estructura y funcionalidad⁴⁵. Las unidades básicas multicelulares contienen todos los elementos necesarios para el remodelado óseo, actuando de forma integrada y secuencial con la participación de osteoclastos y osteoblastos. Por otra parte, los osteocitos son las principales células mecano sensoriales, se encuentran incrustadas dentro de la red lacunar - canalicular y se exponen a elevados niveles de fuerzas de cizallamiento, generadas por el movimiento del fluido en respuesta a la compresión del tejido óseo ⁴⁶. Estas células activan osteoclastos u osteoblastos a causa de estímulos antagónicos en función de la carga local activando

vías de señalización trascendentales que regulan el proceso de remodelación ósea⁴⁶, como lo indica la teoría de Parfitt⁴⁷.

Las unidades básicas multicelulares comienzan su función dirigiéndose a la zona de tejido óseo que necesita ser reemplazada. Los componentes de las unidades básicas celulares, como osteoclastos y osteoblastos desarrollan sus funciones de manera coordinada⁴⁸. El remodelado se inicia con la activación de la superficie del hueso en reposo, desde el torrente sanguíneo se atraen pre-osteoclastos. La reabsorción comienza con la formación de las lagunas de Howship y culmina con la apoptosis de los osteoclastos. El proceso de destrucción es más rápido que el de regeneración, por lo que cualquier aumento en el ritmo de remodelado resultará en una pérdida de masa ósea. Asimismo, un exceso de resorción puede producir la pérdida de estructuras trabeculares, dejando al hueso sin patrón para una nueva formación de este⁴⁹.

El metabolismo óseo es un proceso complejo, que se encuentra regulado por múltiples factores locales y sistémicos tales como, el estado normal de las células implicadas, factores neurovasculares loco-regionales, genético-familiares, entorno endocrino-metabólico del organismo y el ambiente local del hueso^{45,50}.

Según Rusoow, et al.⁵¹ el tejido óseo no solo es remodelado continuamente por la actividad combinada y estrictamente regulada de las células óseas, sino que también tiene la notable capacidad de reparación sin cicatrices después de una fractura. Los procesos que modulan el recambio óseo también son muy efectivos en la regeneración ósea, ya que la recuperación de la fractura representa una yuxtaposición de formación y reabsorción de tejido óseo.

2.2.2) Regeneración ósea:

Este proceso se subdivide en tres fases: inflamatoria, de reparación (callo blando y callo duro) y de remodelación⁵².

Inicia con infiltración de leucocitos, provocando la quimiotaxis de MSCs y osteoprogenitoras^{5,53}, acompañado de una respuesta inflamatoria y la formación de hematomas debido al daño de la médula ósea, tejidos blandos y vasculares. El proceso

continúa con la formación de una matriz fibrocartilaginosa blanda, que consta principalmente de fibroblastos y condrocitos, proporcionando un cierto grado de estabilidad mecánica en el lugar de la fractura y actúa como patrón para la siguiente fase. Debido a la actividad combinada de los osteoclastos y los osteoblastos, el callo blando es reemplazado gradualmente por callo duro durante la fase osteogénica, lo que da como resultado un tejido óseo irregular con alta vascularización. Finalmente, el tejido calloso se reemplaza por hueso laminar que se asemeja a la forma cortical y trabecular original del hueso maduro⁵¹.

2.3) Rol de células madre en regeneración ósea:

2.3.1) Tratamiento con células madre a nivel médico quirúrgico general:

La exploración de células madre y progenitoras es prometedora para mejorar nuestra comprensión de los mecanismos de reparación y regeneración de tejidos después de una lesión. Esto ayudará en el uso futuro de la terapia con células madre para el desarrollo de la medicina regenerativa, con fin terapéutico ante defectos en los tejidos, como en huesos, cartílagos y trastornos dentales¹³.

En el contexto médico se presenta la pseudoartrosis como una complicación muy común a nivel de cirugía ortopédica, que involucra defectos óseos posterior a un traumatismo en huesos largos. Las células madre son usadas como medida terapéutica en la pseudoartrosis atrófica⁵³, influyendo en las fases inflamatoria y de reparación⁵⁴. Sin embargo, la baja celularidad de este material hace que el método sea cuestionable⁵⁵. Para que esta terapia tenga éxito, se necesita una alta celularidad en el material recolectado, con un cultivo adecuado para formar células de linaje óseo y factores tróficos⁵⁶.

2.3.2) Tratamiento con células madre a nivel maxilofacial:

En la última década se han usado andamios, factores de crecimiento y células madre para mejorar la regeneración ósea imitando el proceso biológico de formación y remodelado óseo⁵⁷.

En cultivos, las MSCs han demostrado una alta tasa de proliferación. Además, una característica adicional de las MSC es su aptitud de diferenciarse en osteoblastos, condrocitos, adipocitos, miocitos y fibroblastos, esta capacidad depende de las condiciones del cultivo²⁰.

En la regeneración, las MSCs participan activamente en la formación ósea. Sin embargo, su uso en el tratamiento regenerativo presenta desventajas, tales como: la obtención implica procedimientos invasivos y morbilidades para el paciente⁵⁸, existe una relación declive entre la edad del paciente y el potencial de proliferación y diferenciación osteogénico⁵⁹, una inadecuada vascularización del injerto que contiene MSCs y del andamio generan un mal funcionamiento y apoptosis de las células trasplantadas⁶⁰.

El mecanismo por el cual las MSCs promueven la regeneración ósea puede ser por injerto de las células trasplantadas en el tejido recién regenerado, diferenciándose en células osteoblásticas que generan tejido osteoide e inician la mineralización. Las MSCs mejoran la regeneración indirectamente por tener efectos paracrinos ya que pueden secretar citocinas y factores de crecimiento (TNF- α , PDGF, IL-1 e IL-6), estos pueden atraer más MSCs al sitio de regeneración tisular^{61,62}.

En investigaciones pioneras en regeneración ósea utilizando células madre mesenquimales de la médula ósea (bmMSC), varios estudios informaron resultados alentadores, como Kho-jasteh et al⁶³ y Bruder et al⁶⁴ quienes demostraron un aumento del relleno óseo y regeneración completa en comparación al grupo control. En contraste, los estudios de Zigdon-Giladi et al⁶⁵ y Steinhardt et al⁶⁶ comprobaron que no existían mejoras en la regeneración ósea posterior a la utilización de MSCs.

Los resultados contradictorios pueden explicarse por diferentes factores como: diferencias en los modelos de investigación (tipo de animal, ubicación y tamaño del defecto óseo, andamios, tiempo de recuperación), pueden existir diferencias en la función de las células trasplantadas afectadas por la edad y sexo del donante, condiciones del cultivo, diferentes contribuyentes y la falta de diferenciación de las MSCs en osteoblastos en el sitio transplantado⁵⁹.

2.4) Rol de exosomas en regeneración ósea:

2.4.1) Tratamiento con exosomas a nivel quirúrgico general y en regeneración ósea:

En situaciones clínicas específicas es necesario la regeneración de un tejido, ya sea huesos, cartílagos, glándulas salivales, piel / mucosas, músculos o nervios, se comparten los mismos principios y desafíos fundamentales de la regeneración. La reconstrucción tisular involucra tres elementos básicos: andamios (scaffolds), los factores de crecimiento y las células. Se administran por separado o en conjunto, para recuperar la funcionalidad del tejido perdido¹².

En el ámbito médico quirúrgico se ha demostrado que los exosomas pueden aportar en diferentes áreas de la medicina regenerativa, es así como Lai et al.⁶⁷ demostraron que los medios acondicionados con exosomas de las MSCs influyen positivamente en la regeneración/repación del tejido cardíaco.

Como se ha mencionado, los exosomas de las MSCs contienen mayoritariamente miARN, que codifica la regulación de las vías de señalización involucradas en la reparación y regeneración tisular⁶⁸. Existe evidencia que sugiere que los miARN de los exosomas regulan la diferenciación osteoblástica⁶⁹. Además, Ge et al⁷⁰ expresan que las vías de señalización de Integrina y mTOR, son importantes en la diferenciación de osteoblastos y la formación de hueso.

Los exosomas de MSCs son un componente en la señalización paracrina, demostrado a través de un modelo de cicatrización de fracturas en ratones, en donde la administración de los exosomas evidenció un acelerado proceso de rehabilitación en comparación con los medios libres de estos^{71,72}.

Se ha demostrado que los exosomas influyen en la osteoinducción de las MSCs, debido a que pueden potenciar la diferenciación osteoblástica de las MSCs en cultivo celular⁷³⁻⁷⁵.

2.4.2) Tratamiento con exosomas a nivel del territorio maxilofacial:

Debido al incremento en los requisitos de regeneración tisular en la región oral y maxilofacial, existe una progresión exponencial en el desarrollo del proceso de

regeneración tisular mediada por exosomas, con el fin de satisfacer los requisitos de reparación o reconstrucción del hueso alveolar en áreas de grandes defectos para implantología y cirugías periodontales, de este modo posterior a un tratamiento rehabilitador se restablece la eufunción del paciente. Las estrategias actuales de tratamiento, como autoinjertos, aloinjertos y factores de crecimiento óseo regenerativo tienen sus propias limitaciones, como morbilidad en el sitio donante, menor capacidad osteogénica y problemas de bioseguridad⁷⁶.

Los exosomas derivados de las MSCs con origen en los tejidos orales pueden aislarse y usarse para la ingeniería de tejidos craneofaciales. Estas nanopartículas de diversos tejidos también pueden utilizarse para promover la reparación y regeneración craneofacial¹², como se sintetiza en la tabla II.

Sun et al. demostraron que los exosomas a través de su estimulación paracrina sobre las células de la mucosa sinusal y periostio influyeron en la regeneración ósea, comparándolo con grupos controles. Develaron que el medio condicionado (CM) de las células derivadas de la mucosa sinusal (SMC), las células derivadas del periostio (PC) y los exosomas aislados, mejoraron la proliferación, migración y diferenciación osteogénica de las bmMSC in vitro. Conjuntamente, usaron un modelo de rata con defectos óseos femorales para demostrar que los exosomas derivados de SMC (SMC Exos) y PC (PC Exos) pueden acelerar la formación de hueso in vivo. En consecuencia, se comprobó que el periostio y la mucosa sinusal frente a estimulación paracrina mediada por exosomas pueden acelerar la osteogénesis⁵.

Se ha demostrado que las EVs regulan positivamente los genes y la diferenciación osteogénica y no inhiben la proliferación in vitro. Esto se llevó a cabo por medio del aislamiento de MSCs derivadas de la médula ósea obteniendo, EVs por procedimientos de filtración y centrifugación específicos²⁵. Asimismo, las EVs derivadas de las células del estroma de la médula ósea serán prometedoras para promover la regeneración ósea⁷⁷.

La evidencia existente de que los exosomas de MSCs median en la regeneración de hueso, indica que estas nanopartículas naturales tienen una posible aplicación en la

Fuente	Origen del exosoma	Referencias	Tipo de estudio	Observación
Hueso	MSC de médula ósea	Cui et al., 2016	In vitro	Los exosomas de osteoblastos mineralizantes inducen diferenciación osteogénica de precursores.
		Narayanan et al., 2016	In vitro	La diferenciación de exosomas de MSC induce la diferenciación osteogénica de MSC sin tratamiento previo.
	Células dendríticas	Wang Z. et al., 2014	In vitro	Los exosomas de células dendríticas desencadenan la diferenciación osteogénica de MSC.
	MSC adiposo	Li W. et al., 2018	In vivo, modelo de defecto de calvaria de ratón.	Ingeniería tisular, injerto óseo tratado con exosomas inducen la regeneración ósea.
		Lu et al., 2017	In vitro	Los exosomas derivados de MSC preconicionados con TNF alfa, inducen diferenciación osteogénica de CMM sin tratamiento previo.
	Monocitos	Ekstrom et al., 2013	In vitro	Los exosomas derivados de monocitos promueven la expresión de genes osteogénicos en las CMM.
Cartílago	MSC de médula ósea	Zhang S. et al., 2018	In vivo, modelo de defecto osteocondral de rata	Los exosomas de MSC promueven la reparación atenuando la apoptosis, mejorando la proliferación y reduciendo la reactividad inmunológica.
	MSC embrionario	Zhang S. et al., 2016	In vivo, modelo de defecto osteocondral de rata	Los exosomas de MSC promueven la curación del defecto osteocondral del surco troclear de la rata.
	Condrocitos	Chen et al., 2018	In vivo, progenitores de conejo + pliegues de alginato en ratones desnudos	Los exosomas de condrocitos promueven la administración subcutánea condrogénesis ectópica estable.
Dentina / pulpa dental	DPSC	Huang et al., 2016	In vivo, modelo de corte de raíz subcutáneo	Los exosomas de diferenciar DPSC promueven Regeneración de dentina / pulpa en un modelo de regeneración de corte de raíz de diente subcutáneo.
Ligamento periodontal	MSC de médula ósea	Chew et al., 2019	In vivo, modelo de defecto periodontal de rata	Los exosomas de MSC mejoran el ligamento periodontal funcionar y promover la regeneración
	MSC adiposo	Mohammed et al., 2018	In vivo, modelo de ligadura de rata	Los exosomas adiposos de MSC se pueden utilizar como tratamiento complementario no quirúrgico para mejorar reparación y regeneración periodontal.

Tabla II. Exosomas de MSC en reparación y regeneración craneofacial. (adaptado de Cooper et al., 2020).

regeneración oral/craneofacial. Las ventajas de su uso en comparación con otras terapéuticas de enfoques celulares y moleculares para la regeneración, pueden actualmente ser de importancia para promover el éxito de la terapia regenerativa oral/craneofacial¹².

3. Materiales favorecedores del crecimiento óseo, el estado del arte:

3.1) Clasificación:

La reparación ósea es un proceso que involucra modelado, remodelado y maduración ósea, estos procesos son lentos y para efecto de disminuir los tiempos en que esto ocurre de manera natural, es que se han utilizado gran variedad de materiales favorecedores del crecimiento óseo. Estos pueden clasificarse de distintas maneras, según:

3.1.1) Influencia sobre el crecimiento óseo:

3.1.1.1) Osteogénicos (OG): Tejido osteogénico vivo con osteoblastos y células madre viables capaces de producir tejido óseo por sí mismo, su origen es el hueso autólogo^{8,9,78}.

3.1.1.2) Osteoinductivos (OI): Moléculas bioactivas con habilidad de inducir diferenciación de células mesenquimales en osteoblastos, provienen de sustancias residuales de hueso xenogénico o alogénico y sustancias aloplásticas^{8,9,78}.

3.1.1.3) Osteoconductivos (OC): Materiales que facilitan la angiogénesis y la subsecuente adhesión, reclutamiento y crecimiento de células precursoras osteogénicas^{8,9,78}.

3.1.2) Sustitutos óseos según su origen:

3.1.2.1) Autoinjerto de hueso: Es el *Gold-estándar*, debido a que es el único en combinar las características OC, OI y OG, pero presenta desventajas significativas como morbilidad postoperatoria del sitio donante, reabsorción rápida, disponibilidad limitada del injerto y riesgo de infección asociado con el procedimiento quirúrgico^{8,9,78}.

⁸⁰. El hueso autólogo puede ser obtenido intraoralmente de la tuberosidad, sínfisis mandibular o rama mandibular y cuando se requiere un gran volumen puede obtenerse extraoralmente de diversos lugares como tibia, ilion y calota^{8,9}.

3.1.2.2) Aloinjerto: Obtenido de un donante de la misma especie, generalmente de un banco de hueso. Tiene solo propiedades OC y OI, existiendo actualmente 2 tipos disponibles^{8,9,81,82}:

- a. FDBA - Freeze-DriedBoneAlograft: Son preparados por una serie de procesos en donde el congelamiento rápido daña las células e interfiere con los antígenos en su superficie, disminuyendo el riesgo de una respuesta inmunológica. Sin embargo, los procedimientos de congelamiento y secado tienen un impacto negativo en las propiedades osteoinductivas y mecánicas del injerto^{8,9}.
- b. DFDB – Demineralized Freeze-DriedBoneAlograft (DFDBA): Presenta excelentes propiedades OI y OC. Es preparado por desmineralización con agentes descalcificantes que exponen las proteínas y factores de crecimiento, acompañado de secado en frío. Sin embargo, el desempeño clínico puede verse afectado por distintos factores como la edad del donante, procesamiento y esterilización^{8,9}.

3.1.2.3) Xenoinjerto: Sustituto obtenido de otras especies (bovino es el más común) y utilizados sobre humanos. Corresponde a hueso desproteinizado (sin elementos orgánicos) y con esterilización vigorosa para eliminar factores inmunológicos, disminuyendo riesgos y favoreciendo el éxito. Este material presenta propiedades distintas según su origen, constitución y procesamiento, pero en general será osteoconductor, con reabsorción y el calcio necesario para la formación ósea^{8,9,78,83}.

3.1.2.4) Aloplástico: Corresponden a sustitutos sintéticos biocompatibles desarrollados para reemplazar injertos óseos naturales y biológicamente estos materiales carecen de propiedades osteoinductivas u osteogénicas^{8,9,78}. Por un lado, existen los polímeros usados en reparación ósea, que además de OC, son biocompatibles y biodegradables⁸; por otro lado, tenemos las cerámicas, que pueden ser usadas para relleno y soporte óseo (cerámicas bioinertes) o las utilizadas para inducir formación

ósea (cerámicas bioactivas). Vidrios bioactivos, sulfatos de calcio y fosfatos de calcio son matrices biocerámicas comúnmente usadas para la regeneración ósea^{8,78}.

3.1.3) Sustitutos óseos según su estructura:

3.1.3.1) Esponjoso: Injerto de hueso esponjoso. Por su estructura, no posee fuerza mecánica, pero puede mejorar el crecimiento y cicatrización ósea, permitiendo una revascularización más acelerada y aumentando su fuerza a través del tiempo^{8,84}.

3.1.3.2) Cortical: Usados en gran medida para brindar soporte estructural y fuerza. Su tasa de reabsorción es mayor debido a que presenta una vascularización con consecuente remodelado óseo menor y por una mayor reabsorción osteoclástica en consecuencia a la exposición de fuerzas de los tejidos circundantes⁸⁴.

3.1.3.3) Mixto: Combina las características de los dos anteriormente mencionados, obteniendo soporte estructural y osteogénesis⁸⁴.

3.2) Uso de injertos en el área maxilofacial:

En el área maxilofacial, se utilizan injertos para diferentes situaciones clínicas, pudiendo encontrarlos en: aumento del reborde alveolar (AR)⁸, injerto onlay en bloque⁸, regeneración ósea guiada (ROG)^{8,9,78}, técnica de sándwich⁸, técnica de separación y expansión del reborde⁸, AR simultánea a la colocación de un implante^{78,85}, tratamiento del alveolo fisurado⁸, levantamiento del piso del seno maxilar (LPSM)^{8,86}, preservación del alveolo (PA) post-exodoncia^{83,84,87} y en los implantes dentales inmediatos (II) a la extracción dentaria⁸⁸.

3.3) Complementos usados en regeneración:

Debido a sus desventajas propias, los injertos no se utilizan de manera individual ni única, requiriendo la utilización de complementos para mejorar las probabilidades de éxito y disminuir así los riesgos asociados a ellos.

3.3.1) Membranas:

Como vimos anteriormente, la parte principal de las técnicas de preservación ósea propuestas incluyen el uso de injertos óseos o sustitutos de hueso con o sin

membranas⁸⁹. Las barreras de membrana cumplen la función de aislar el sitio del defecto óseo de las células epiteliales que lo rodean. Esto es fundamental en la regeneración del defecto óseo, al evitar la migración de células epiteliales al interior y permitiendo así la regeneración del hueso. A su vez, estas pueden ser reabsorbibles o no reabsorbibles⁹.

3.3.2) Plasma rico en plaquetas (PRP):

Fue el primer concentrado de plaquetas utilizado en Odontología. A partir del PRP original, cambiando el protocolo de centrifugación y preparación, se han propuesto tres tipos de concentrados: PRP, PRGF (plasma rico en factores de crecimiento) y PRF (fibrina rica en plaquetas)⁸⁹.

La aplicación de derivados plaquetarios se ha convertido en algo habitual en varios campos de la medicina regenerativa, como la Odontología, la Cirugía Maxilofacial y Ortopédica, así como la Oftalmología, aunque sus efectos terapéuticos aún deben confirmarse^{89,90}.

3.3.3) Células madre mesenquimales y exosomas:

Como se menciona en detalle anteriormente, también son complementos utilizados en el área de regeneración, siendo los exosomas los más recientemente estudiados.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La necesidad quirúrgica de una regeneración ósea eficaz es altamente demandada. Aunque los injertos óseos autólogos y alogénicos generalmente se consideran tratamientos “*Gold standard*” para los defectos óseos, estos enfoques pueden dar lugar a diversas complicaciones que incluyen restricción del sitio donante, posible morbilidad post quirúrgica del sitio dador, reabsorción ósea impredecible y disponibilidad de volumen óseo limitado para injertos óseos intraorales^{80,91}. En consecuencia, el desarrollo de nuevos biomateriales terapéuticos que puedan potenciar las propiedades regenerativas endógenas para acelerar la reparación y regeneración ósea son de gran importancia⁹¹.

Los complementos utilizados en regeneración ósea como plasma rico en plaquetas y SC, no aportan los componentes directamente involucrados en el estímulo de señales y diferenciación importantes en el proceso, tal como se menciona en revisiones sistemáticas y metaanálisis¹⁰. En el tratamiento con MSCs infrecuentemente se encontraron estas células injertadas en los sitios objetivos, se infiere entonces que existe un factor intermediario que regula los efectos pro regenerativos y/o inmunomoduladores⁴⁰ motivo por el cual los exosomas derivados de MSCs están siendo ampliamente estudiados^{11,12}.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál ha sido el uso de los exosomas como complemento en regeneración ósea craneomaxilofacial?

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Analizar el uso de los exosomas como complemento en la regeneración ósea en territorio craneomaxilofacial.

Objetivos específicos:

- Reconocer los distintos orígenes celulares mediante los cuales se obtienen los exosomas en regeneración ósea craneomaxilofacial.
- Describir los diferentes materiales que se utilizan en conjunto con exosomas para la regeneración ósea craneomaxilofacial.
- Explicar el uso terapéutico de exosomas en regeneración ósea del territorio craneomaxilofacial.

MATERIALES Y MÉTODOS

1) Diseño: “Revisión sistemática exploratoria”

Se llevó a cabo una revisión sistemática exploratoria de la información científica disponible, adaptando parcialmente las sugerencias de la declaración PRISMA⁹² y el manual Cochrane para revisiones sistemáticas⁹³.

2) Criterios de inclusión y exclusión

Se estableció una serie de criterios de inclusión y exclusión, que fueron aplicados posterior a la búsqueda de la literatura, estos se encuentran expuestos en la tabla III. No se considerarán los resultados in vitro, debido a su falta de aplicabilidad clínica.

Criterios de inclusión	Criterios exclusión
Incorporar estudios que involucren regeneración ósea en el territorio maxilofacial o craneofacial.	Que base su investigación en la regeneración ósea en otros huesos del cuerpo humano.
Investigaciones que se hayan realizado en humanos o animales.	Fecha de publicación mayor a 6 años.
Incluir investigaciones que incorporen los términos exosomas, exosoma, vesículas extracelulares o EVs	Que establezca su investigación en la regeneración de tejido epitelial u otros de origen mesenquimático.
	Capítulos de libros y enciclopedias. Artículos como: conferencias, cartas al editor, comunicaciones cortas, revisiones sistemáticas y/o metaanálisis.

Tabla III. Resumen de criterios de inclusión y exclusión.

3) Fuentes de información y fecha de la última búsqueda

Las búsquedas se realizaron en bases de datos biomédicas, que incluyen MEDLINE (motor de búsqueda PubMed), Embase, Scielo y ScieceDirect Search. Entre las diferentes fuentes de información biomédica, sin duda, la base de datos MEDLINE de la National Library of Medicine de Estados Unidos es la que ofrece un mayor potencial de información de calidad⁹⁴.

La búsqueda sistematizada se realizó de forma simultánea en MEDLINE (motor de búsqueda Pubmed), Embase, Scielo y ScieDirect Search el **día 19 de abril del 2021**, utilizando los siguientes términos: Exosomes, Secretome, Extracellular Vesicles, EVs, Bone Regeneration y Maxillofacial.

4) **Estrategia de búsqueda (incluir límites aplicados)**

Se incorporaron todos aquellos estudios que contenían los términos derivados de la pregunta de investigación, incluyendo diseños de estudios observacionales (descriptivos y analíticos), experimentales, y con fecha de publicación entre los años 2015 – 2021. La selección de los términos para la pregunta de investigación se realizó considerando aquellas palabras más nombradas en diferentes artículos que formaron parte del marco teórico.

De manera general, se incluyeron en Pubmed, Embase y ScieDirect Search los operadores booleanos AND y OR, mientras que en Scielo sólo se utilizó OR como se indica en la tabla IV.

Operadores booleanos	Descripción	Aplicación
OR	Con el objetivo de ampliar la búsqueda, ya que estos diferentes términos pueden ser considerados como sinónimos.	Exosomes
		Secretome
		Extracellular vesicles
		EVs
AND	Con el propósito de relacionar los términos y responder a la pregunta de investigación.	Bone Regeneration
		Maxillofacial
		Exosomes/Secretome/Extracellular vesicles/EVs

Tabla IV. Descripción y aplicación de operadores booleanos utilizados.

La llave final de búsqueda se modificó, según los requisitos solicitados para cada base de datos.

Base de datos	Embase	Pubmed	Scielo	SciencieDirect Search
Términos de exosomas	#1 Exosomes [all] #2 Secretome [all] #3 Extracellular vesicles [all] #4 EVs [all] #5 #1 OR #2 OR #3 OR #4	#1 Exosomes [MeSH Terms] #2 Exosomes [all] #3 Secretome [all] #4 Extracellular vesicles [all] #5 EVs [all] #6 #2 OR #3 OR #4 OR #5	#1 Exosomes [all] #2 Secretome [all] #3 Extracellular vesicles [all] #4 EVs [all] #5 #1 OR #2 OR #3 OR #4	#1 Exosomes [all] #2 Secretome [all] #3 Extracellular vesicles [all] #4 EVs [all] #5 #1 OR #2 OR #3 OR #4
Términos de regeneración ósea	#6 Bone regeneration [all]	#7 Bone regeneration [MeSH Terms] #8 Bone regeneration [all]	Detallado en la sección correspondiente (*)	#6 Bone regeneration [all]
Términos craneofaciales	#7 maxillofacial [all]	#9 maxillofacial [all]	Detallado en la sección correspondiente (**)	#7 maxillofacial [all]
Filtros	✓ Años: 2021 - 2015. ✓ Idiomas: español, inglés y portugués	✓ Años: 2021 - 2015. ✓ Idiomas: español, inglés y portugués	✓ Años: 2021 - 2015. ✓ Todos los idiomas	✓ Años: 2021 - 2015. ✓ Idioma: inglés
Búsqueda final	(#5) AND (#6) AND (#7)	(#1) AND (#7) (#6) AND (#8) AND (#9)	(#5)	(#5) AND (#6) AND (#7)

Tabla V. Disposición de búsqueda en base de datos Embase, motor de búsqueda PubMed, Scielo y SciencieDirect Search.

A continuación, se explica de manera más detallada lo realizado en cada buscador para lograr encontrar la llave de búsqueda adecuada.

Pubmed:

En este caso, se utilizó la herramienta MeSH Terms, donde cada concepto de forma individual se buscó como términos registrados (MeSH) o libres (Palabras claves). Luego se eligieron los términos más concordantes a la pregunta de investigación y que

en conjunto generaban la búsqueda más atingente, obteniendo los resultados expresados en la tabla VI.

	Términos buscados	Términos MeSH	Palabras claves
Términos de exosomas	“Exosomes “	7277	16718
	“Secretome”	4463	4463
	“Extracellular vesicles”	13024	23520
	“EVs”	-	69
Términos de regeneración ósea	“Bone regeneration”	24996	50326
Término maxilofacial	“Maxillofacial”	-	97410

Tabla VI. Resumen de términos encontrados en base a cantidad de artículos.

En la búsqueda primaria de PubMed se utilizó términos MeSH debido a las ventajas inherentes que presentan estos⁹⁵, dando la siguiente ecuación: **““exosomes”[MeSH Terms] AND “bone regeneration”[MeSH Terms]”**. Con el fin de aumentar los posibles resultados se incluyeron las siguientes palabras claves: “Exosomes”, “Secretome”, “Extracellular Vesicles”, “EVs”, “Bone Regeneration” y “Maxillofacial”, utilizando “MeSH advanced search builder”. Sin embargo, se decidió aplicar la herramienta de “all fields advanced search builder” para abarcar una mayor cantidad de publicaciones. Empleando estos términos se logró realizar la siguiente llave de búsqueda: **“((((exosomes) OR (secretome)) OR (extracellular vesicles)) OR (EVs)) AND (bone regeneration)) AND (maxillofacial)”**, en donde la base de datos biomédicos arrojaba resultados concordantes con nuestra pregunta de investigación. A estas ecuaciones de búsqueda se le aplicaron los siguientes filtros: máximo de 5 años de antigüedad y filtro de idioma (español, inglés y portugués).

Embase:

Se realizó una búsqueda avanzada en la base de datos biomédicos Embase, utilizando las palabras claves “Exosomes”, “Secretome”, “Extracellular Vesicles”, “EVs”, “Bone Regeneration” y “Maxillofacial” aplicando la misma llave de búsqueda **“((((exosomes) OR (secretome)) OR (extracellular vesicles)) OR (EVs)) AND (bone regeneration))**

AND (maxillofacial)". Se aplicó los siguientes filtros: máximo 5 años de antigüedad e idioma (español, inglés y portugués). Esto nos permitió obtener un número satisfactorio de artículos incluyendo el máximo de publicaciones que intentan dar respuesta a la pregunta investigación.

ScieDirect Search:

Se filtró considerando el intervalo específico 2015-2021, no existe un campo para seleccionar el idioma, todos los artículos son en inglés. La búsqueda se realizó en Advanced Search, utilizando las mismas palabras claves y la llave de búsqueda de los motores de búsqueda PubMed y Embase.

Scielo:

Se realizó una búsqueda inicial utilizando como filtro los años 2015-2020 y "todos los idiomas", abarcando español, inglés y portugués. Se seleccionó como palabras claves las mismas que en los buscadores anteriores, realizando una búsqueda individual de estas, arrojando resultados satisfactorios. Posteriormente, al aplicar la llave común de Pubmed y Embase, no se encontraron resultados, incluso eliminando el filtro de años. Es por esto, que se procedió a eliminar los conectores booleanos "AND maxilofacial" (**) y "AND bone regeneration" (*), ya que al utilizarlos no arrojaban resultados satisfactorios.

Se realizó una búsqueda independiente para cada palabra clave "Exosomes", "Secretome", "Extracellular Vesicles", "EVs". Finalmente se modificó la llave de búsqueda final de este buscador, obteniendo lo siguiente: "**(((exosomes) OR (secretome)) OR (extracellular vesicles)) OR (EVs))**".

5) Selección y clasificación de los estudios

La estrategia de búsqueda se ejecutó de forma avanzada por 3 investigadores de manera simultánea e independiente (P.A., N.M. y N.P.). Se utilizó una llave de búsqueda común para los buscadores Pubmed, Embase y ScieDirect Search, empleando las palabras claves seleccionadas de manera conjunta. Esta llave se modificó sólo para Scielo y se agregó una nueva combinación utilizando términos MeSH en Pubmed, con el fin de ampliar los resultados.

En los buscadores que se utilizaron, se aplicó la llave de búsqueda y los filtros descritos, se realizó una base de datos sistematizada en Excel, recopilando el total de artículos encontrados de manera independiente en cada buscador cumpliendo con la fase de identificación.

En la fase de selección, se procedió a leer títulos y abstracts, eliminando los artículos que no cumplen en primera instancia con la temática de estudio. Las investigaciones restantes fueron reunidas en una plantilla común en la base de datos y se eliminaron duplicados.

Para continuar con la fase de elegibilidad se realizó lectura completa de los artículos, aplicando los criterios de inclusión y exclusión. Se determinaron los artículos incluidos para posterior evaluación y análisis, identificando las variables descritas en el subtítulo 8 del presente apartado. Lo anteriormente mencionado se resumen en la figura 4.

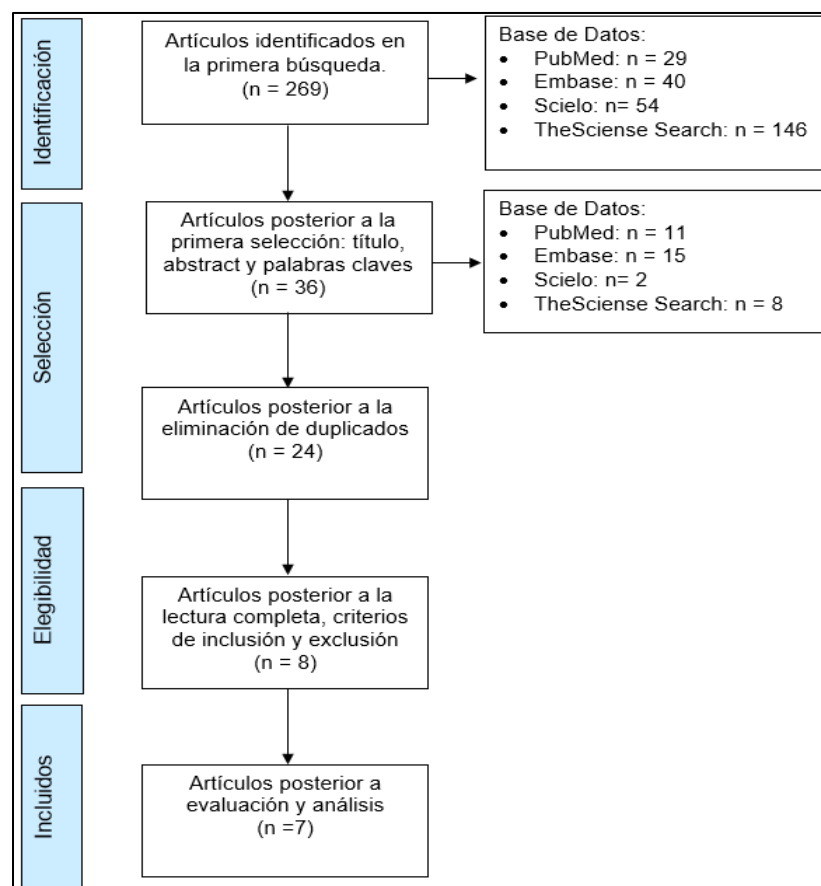


Figura 4. Diagrama de flujo de la selección de artículos para la revisión sistemática exploratoria, según criterios de inclusión, exclusión y análisis de calidad.

6) Análisis de calidad

Con el objetivo de realizar un trabajo investigativo de calidad, es muy importante develar las fortalezas y debilidades de los estudios seleccionados. Este proceso se desarrolló para determinar si los resultados de las publicaciones seleccionadas pueden ser incluidos en la elaboración de estudios secundarios.

El análisis de calidad se llevó a cabo a partir de la declaración CONSORT o STROBE o ARRIVE, empleadas frecuentemente por diversas revistas biomédicas. La elección de la pauta evaluativa idónea dependió del diseño de estudio de la publicación.

La declaración STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) es una lista de 22 puntos a tener en consideración en la comunicación de resultados utilizando los diseños más importantes de la epidemiología analítica observacional (estudios transversales, estudios de casos y controles, y estudios de cohortes)⁹⁶. Por otra parte, las recomendaciones de CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) fueron elaboradas para determinar la estandarización y reproducibilidad de los ensayos clínicos randomizados, se compone de una lista de verificación de 25 elementos que establecen estándares sobre el diseño, el análisis y la interpretación de los resultados del ensayo⁹⁷. La pauta The ARRIVE guidelines, animal research: reporting of In vivo experiments, esta pauta fue publicada el año 2010, por que al igual que en los humanos la investigación con animales requiere estandarización científica de calidad^{98,99}.

7) Sesgos

Se realizó una estrategia de búsqueda global y avanzada en cada base de dato, en donde cada investigador siguió los parámetros establecidos de manera conjunta en el punto 5 de este capítulo. Se evitó de esta forma el dejar fuera artículos que puedan aportar a la investigación. Asimismo, al ser un tema novedoso, no se discriminó entre los sujetos de estudio y se consideró todos los diseños exceptuando revisiones sistemáticas y/o metaanálisis. Esto último nos llevó a encontrar artículos con un menor nivel de evidencia, pero fue importante considerarlo ya que, se buscó encontrar la

totalidad de información respecto a la temática en cuestión para responder a los objetivos investigativos. Sin embargo, los artículos con posible elegibilidad fueron sometidos a un exhaustivo análisis de calidad y evaluación de riesgo de y ante cualquier desacuerdo en las diferentes etapas de la selección, se recurrió al árbitro ilustrado.

Los ensayos clínicos controlados aleatorizados (ECCAs) representan la mejor evidencia científica sobre el efecto de las intervenciones médicas, pero una metodología inapropiada puede resultar en estimaciones sesgadas de este efecto, con consecuencias negativas en la toma de decisiones clínicas¹⁰⁰. Por consiguiente, es relevante llevar a cabo una evaluación de la validez interna de cada artículo incluido en esta investigación haciendo énfasis en el ‘Riesgo de Sesgo’ de los ECCAs⁹³. La colaboración Cochrane entrega una herramienta específica para evaluar el riesgo de sesgo de este tipo de estudio⁹³.

8) Definición de las variables de estudio

Las variables se clasifican como independientes, ya que, ninguna de ellas influye en otra para cuantificar o medir su efecto. Estas se detallan en la tabla VIII.

Variable	Tipo de variable	Definición Conceptual	Categoría	Medida de resumen
Tipo de estudio	Cualitativa nominal	Experimentos científicos que determina qué protocolos utilizar para realizar la metodología y recolectar los datos	1. In vivo 2. In vitro	Proporción
Uso terapéutico del exosoma	Cualitativa nominal	Uso terapéutico del exosoma como complemento en la regeneración ósea cráneo/maxilofacial	Categorizado según cada artículo incluido.	Proporción

Sujetos de estudio	Cualitativa nominal	Especie que se utiliza para realizar la terapéutica de regeneración ósea cráneo/maxilofacial	<ol style="list-style-type: none"> 1. Humanos 2. Animales 	Proporción
Tejido de origen celular	Cualitativa nominal	Clasificación de las células portadoras de exosomas según su tejido de origen.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Hueso 2. Cartílago 3. Dentina / Pulpa 4. Ligamento periodontal 	Proporción
Origen celular del exosoma	Cualitativa nominal	Clasificación de los exosomas según su origen celular	<ol style="list-style-type: none"> 1. Células madre mesenquimales de médula ósea 2. Células dendríticas 3. Células madre mesenquimales adiposas 4. Monocitos 5. células madre mesenquimales de tejido embrionario 6. Condrocitos 7. DPSC 	Proporción
Materiales complementarios RO	Cualitativa nominal	Andamiaje en el cual se cultivan los exosomas para su desarrollo, cuyo resultado se utiliza en la regeneración ósea cráneo/maxilofacial	<ol style="list-style-type: none"> 1) Células madre 2) Exosomas 3) Andamios 4) Otros 	Proporción

Tabla VII. Definición de variables

RESULTADOS

1. Recolección de datos y selección de estudios

De la búsqueda realizada a partir de las dos llaves definitivas, se obtuvo un total de 269 artículos, 54 provenientes de Scielo, 29 de Pubmed, 40 de EMBASE y 146 de ScienceDirect Search. Luego de leer el título, abstract y palabras claves quedaron 36 investigaciones elegidas. Se procedió a la eliminación de duplicados obteniendo un total de 24 estudios, de esta forma se cumplió con la etapa de selección.

Para llevar a cabo la etapa de elegibilidad, los tres revisores realizaron la lectura completa de las publicaciones que se obtuvieron en la etapa de selección. Aplicando los criterios de inclusión y exclusión, visualizados en la tabla III, se decidió descartar 17 publicaciones (Rodríguez-Sáenz et al., 2018; Orozco-Romero et al., 2016; Shi W et al., 2020; Katagiri W et al., 2016; Katagiri W et al., 2017; Katagiri W, Watanabe J et al., 2017; Kawai T et al., 2015; DomenVozel et al., 2020; Nakao Y et al., 2020; Ogata K et al., 2018; Tzur E et al., 2020; Katagiri W et al., 2021; Ogata K et al., 2015; Bari E et al., 2021; Xian D et al., 2021; Emami A et al., 2020; Xie L et al., 2020), recabando 7 artículos en total, los que describen estudios in vitro/in vivo en animales.

Debido a lo anterior, se continuó aplicando una evaluación y análisis de calidad de la pauta ARRIVE a los artículos seleccionados, superando todos el mínimo aceptable del 60% (tabla VIII), por lo que todos fueron incluidos en la presente investigación.

El protocolo de este proceso se llevó a cabo por los tres revisores (P.A, N.M y N.P) y el árbitro moderador (K.C) dirimió las diferencias en los resultados entre los investigadores.

1.1. Descripción de los estudios incluidos

De los 7 estudios experimentales, sólo se encontraron modelos de animales, en los que los exosomas derivados de diferentes fuentes de células madre y utilizando distintos andamios, se aplicaron a la regeneración del tejido óseo. Las características de estos estudios se detallan en la tabla IX.

<i>Estudio</i>	<i>Puntuación</i>	<i>Porcentaje</i>
Takeuchi R, et. al. 2019	28,5 / 34	83,8%
Liu L, et. al. 2020	27/34	79,4%
Liu A, et. al. 2021	26,5 / 34	77,9%
Watanabe J, et. al. 2020	24 / 35	68,6%
Jin Q, et. al. 2020	25/34	73,5%
Ogasawara N, et. al. 2020	26/34	76,4%
Xu J, et. al. 2019	28,5 / 34	83,8%

Tabla VIII. Resultados de evaluación y análisis de calidad según pauta ARRIVE.

Autores y año	Buscador	País		Diseño de estudio	Especie y características sujetos	Total (n)
Takeuchi R, et. al. 2019	Pubmed / Embase	Japón		ECCA	Ratas Wistar macho de 10 semanas	30
Liu L, et. al. 2020	Pubmed	China		ECCA	Ratas macho de 11 semanas (300±50 g)	32
Liu A, et. al. 2021	Pubmed / The Science / Embase	China		ECCA	Ratas macho de ocho semanas (peso 150 - 180 g)	8
Watanabe J, et. al. 2020	Pubmed / Embase	Japón		ECCA	Ratas hembra de 9 años (180 - 200 g)	45
Jin Q, et. al. 2020	Pubmed / Embase	China		ECCA	Ratas	NE
Ogasawara N, et. al. 2020	Pubmed	Japón		ECCA	Ratas macho de 11 semanas	20
Xu J, et. al. 2019	Embase / Pubmed	Estados Unidos		ECCA	Ratones informadores transgénicos eGFP machos de 10 semanas	12

Tabla IX. Características de los estudios incluidos.

1.2. Características de los artículos incluidos

Todos los artículos cuentan con aprobación de un comité ético de investigación (CEI). Las características se resumen en la tabla IX.

2. Descripción de la intervención

2.1. Fuentes de origen de los exosomas

Al observar la tabla X, podemos ver que los exosomas utilizados en las investigaciones incluidas se obtuvieron de diferentes especies y fuentes celulares. En el 42% (tres publicaciones) se utilizaron células madre de origen humano, 42% (tres publicaciones) emplearon células provenientes de animales y en el 14% (una publicación) utilizó tanto fuentes celulares de origen humano como animal. Las células provenientes de animales eran específicamente de ratas (Liu L, et. al. 2020; Liu A, et. al. 2021; Watanabe J, et. al. 2020; Xu J et. al. 2019). En las investigaciones que se aplicaron exosomas de origen humano, uno informó que los exosomas se derivan de las células madre de la pulpa dental (DPSC) (Jin Q et. al. 2020), una de las células madre de la pulpa remanente de los dientes deciduos exfoliados (SHED) (Ogasawara N. et. al. 2020), una de las células madre de la médula ósea (BMSC) (Takeuchi R, et. al. 2019) y uno tanto de BMSC como de células madre perivasculares estromales (PSC) (Xu J et. al. 2019). De los cuatro estudios que utilizaron exosomas de animales, todos tienen su origen en BMSC (Liu L, et. al. 2020; Liu A, et. al. 2021; Xu J et. al. 2019; Watanabe J, et. al. 2020), a la vez en dos de ellos también provienen de células madre adiposas (ASC) (Liu A, et. al. 2021; Xu J et. al. 2019).

Liu A, et. al. es el único estudio que ocupa dos fuentes celulares diferentes, pero de la misma especie y Xu J et. al. tiene la particularidad de ser la única investigación en ocupar dos fuentes celulares diferentes y de dos especies distintas.

Estudios	Origen de los exosomas	Materiales complementarios	Aplicación experimental de los exosomas
Takeuchi R, et. al. 2019	BMSC humanas sin especificar hueso de origen. (MSC-Exo)	Esponjas de atelocolágeno (andamio), PBS, MSC-CM y Exo-AntiVEGF.	Regeneración ósea de defectos circulares de 5 mm de diámetro bilaterales en huesos parietales de ratas. (*)
Liu L, et. al. 2020	BMSC provenientes de fémur y tibia de ratas. (BMSC-EV)	Hidrogel de gelatina al 5% (andamio) y PBS.	Se promueve la regeneración de hueso alveolar en ratas con periodontitis. (*)
Liu A, et. al. 2021	BMSCs extraídas de la médula ósea del fémur de ratas y ASCs obtenidas de tejido adiposo subcutáneo de la zona inguinal de ratas. (MSC-Exo)	MBG microporoso (andamio).	Regeneración ósea de defectos circulares de 5mm de diámetro bilaterales en huesos parietales de ratas. (*)
Watanabe J, et. al. 2020	BMSC de fémur de rata. (MSC-EV)	PBS.	Regeneración ósea del defecto post-exodoncia en alveolo expuesto mandibular unilateral izquierdo en ratas en modelo de BRONJ. (*)
Jin Q, et. al. 2020	hDPSC de terceros molares impactados. (hDPSC-EV)	PuraMatrix™ 1% (hidrogel peptídico autoensamblado como andamiaje).	Regeneración ósea de defectos circulares de 2 mm de diámetro en el ángulo mandibular (NE uni o bilateral) en ratas. (*)
Ogasawara N, et. al. 2020	hSHED. (SHED-EV)	SHED-CM.	Regeneración del cartílago articular y de hueso del cóndilo de la ATM bilateralmente en ratas con TMJOA. (*)
Xu J, et. al. 2019	PSC de Tejido adiposo subcutáneo humano / BMSC de fémur y la tibia humanos/ de tejido adiposo de ratas / BMSC de calota y estroma de ratas. (PSC-EV)	No utiliza materiales complementarios distintos de exosomas.	Regeneración ósea de defectos circulares de 1,8 mm de diámetro de espesor total en huesos frontales de rata. (*)

Tabla X. Resumen de los estudios respecto a origen de exosomas, materiales complementarios utilizados en las investigaciones y su aplicación. MSC-Exo: exosoma de células madre mesenquimal; PBS: solución salina tamponada con fosfato; MSC-CM: medio acondicionado de células madre mesenquimales; Exo-Anti-VEGF: exosomas con inhibidor del Factor de crecimiento endotelial vascular;

BMSC: células madre de la médula ósea; BMSC-EV: vesículas extracelulares derivadas de células madre de la médula ósea; rBMSC-EV: vesículas extracelulares de células madre de la médula ósea de ratas; ASC: células madre de tejido adiposo; MBG: vidrio mesoporoso bioactivo; MSC-EV: vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales; BRONJ: osteonecrosis de la mandíbula relacionada con bifosfonatos; hDPSC: células madre derivada de la pulpa dental humana; hSHED: células madre derivadas de dientes deciduos en humanos; SHED-EV: vesículas extracelulares derivados de células madre de dientes deciduos exfoliados; SHED - CM: Medio condicionado libre de suero para células madres de dientes deciduos exfoliados; ATM: articulación temporomandibular; TMJOA: osteoartritis de la articulación temporomandibular; PSC: células madre perivasculares/estromales; PSC-EV: vesículas extracelulares de células madre perivasculares/estromales. ()*
Complementar con tabla XI.

2.2 Materiales de uso complementario en la regeneración ósea:

Los diferentes materiales complementarios utilizados en los artículos para la regeneración ósea se detallan en la tabla X, comparando así las aplicaciones de exosomas con estos. En tres estudios, se utilizó PBS (Takeuchi R, et. al. 2019; Liu L, et. al. 2020; Watanabe J, et. al. 2020). En dos estudios se comparó con la aplicación de medios acondicionados, uno de MSC-MC (Takeuchi R, et. al. 2019) y otro utilizando SHED-MC (Ogasawara N. et. al. 2020). En tres, se permitió que los defectos provocados en el grupo control se curaran por segunda intención, dejando los defectos óseos sin tratamiento (Takeuchi R, et. al. 2019; Xu J et. al. 2019; Watanabe J, et. al. 2020).

En cuatro publicaciones se emplearon diferentes andamiajes como esponja de atelocolágeno (Takeuchi R, et. al. 2019), hidrogel de gelatina al 5% (Liu L, et. al. 2020), MBG (Liu A, et. al. 2021) y PuraMatrix al 1% (Jin Q et. al. 2020). Tres publicaciones no utilizaron medios de andamiaje, de las cuales una empleó exosomas juntamente con ácido zoledrónico (ZOL) (Watanabe J, et. al. 2020), otra utilizó los exosomas libres de materiales complementarios (Xu J et. al. 2019) y Ogasawara N. et. al. mencionado anteriormente.

La mayoría de los estudios compararon la aplicación de exosomas con diferentes tratamientos, describiendo más de un grupo de comparación y/o control, como se observa en la tabla XI.

2.3 Aplicación de los exosomas

Para los estudios in vivo, los 7 estudios seleccionados utilizan modelos animales, específicamente de ratas. En cuatro estudios se aplicó MSC-EV a defectos óseos circulares, dos de los cuales aplicaron MSC-EV en defectos óseos calvariales de 5 mm de diámetro (Takeuchi R, et. al. 2019; Liu A, et. al. 2021), uno en defecto de hueso calvarial de 1,8 mm de diámetro (Xu J et. al. 2019) y otro en defectos óseos de 2 mm de diámetro en los ángulos mandibulares (Jin Q et. al. 2020). Un estudio evaluó la TMJOA (Ogasawara N. et. al. 2020). En un estudio, se aplicó MSC-EV en defectos óseos periodontales (Liu L, et. al. 2020). En otro estudio se evaluó la terapéutica con MSC-EV en un modelo de BRONJ (Watanabe J, et. al. 2020). (Ver tabla X).

2.4 Efecto de exosomas sobre la regeneración ósea

Se sugiere complementar con las tablas XI y XII las observaciones que se describirán a continuación:

La aplicación de exosomas/secretomas/EVs a los defectos óseos generados, aumentó significativamente la regeneración de tejido óseo en comparación con otros grupos de intervención o control.

Las imágenes con micro TC mostraron en 6 estudios (Liu A, et. al. 2021; Watanabe J, et. al. 2020; Xu J et. al. 2019; Jin Q et. al. 2020; Takeuchi R, et. al. 2019; Ogasawara N. et. al. 2020) un aumento de formación ósea reciente en los modelos reconstruidos con 3D, mientras que en el estudio de Liu L et. al. y Ogasawara N et. al. existió una disminución de reabsorción ósea.

El análisis de histología de las muestras evidenció una mayor formación de tejido óseo nuevo mineralizado (Liu A, et. al. 2021; Watanabe J, et. al. 2020; Xu J et. al. 2019; Jin Q et. al. 2020; Takeuchi R, et. al. 2019; Ogasawara N. et. al. 2020). Además, se encontró una menor reabsorción ósea congruente con menor TRAP (+) y disminución

del número células pro-inflamatorias observadas (Liu L et. al. 2020), mayor regeneración continúa de tejido blando (Watanabe J, et. al. 2020), mayores estructuras relacionadas a vascularización (Takeuchi R, et. al. 2019) y disminución de la inflamación con menor cantidad de osteoclastos en las capas óseas subcondrales mineralizadas (Ogasawara N. et. al. 2020).

Es importante destacar que donde se utilizaron distintas concentraciones de exosomas el efecto terapéutico fue dosis-dependiente.

Las estrategias para la promoción de la regeneración ósea fueron variadas, los estudios que llevaron a cabo la evaluación de la regeneración ósea en defectos de tejido duro informaron una mineralización temprana en el área en que se aplicaron exosomas (Xu J et. al. 2019; Takeuchi R, et. al. 2019, Liu A, et. al. 2021). En la investigación que se evaluó la inhibición de la reabsorción ósea en defectos periodontales, se informó que la pérdida de hueso alveolar fue significativamente menor al utilizar BMSC-EVs, debido a que inhiben la activación de osteoclastos mediante la vía de señalización RANKL/OPG (Liu L et. al. 2020). En el estudio que promueve la diferenciación de las células madre al linaje osteoblástico se observó un ambiente osteogénico mejorado al utilizar exosomas por lo que se evidenció una mayor formación de hueso (Jin Q et. al. 2020). En el estudio que evaluó los efectos terapéuticos en ratas con BRONJ, el grupo que utilizó exosomas en los alvéolos abiertos, cicatrizó con una cobertura de tejido blando continúa en un menor tiempo (Watanabe J, et. al. 2020). En el estudio que evaluó los efectos terapéuticos en ratas con TMJOA, el grupo que utilizó exosomas evidenció una mayor regeneración ósea y de cartílago (Ogasawara N. et. al. 2020).

En cuatro estudios se observó la regeneración de tejido duro a través de cálculos de índices macroestructurales, en todos se demostró una mayor formación de volumen óseo (Watanabe J, et. al. 2020; Liu A, et. al. 2021; Ogasawara N. et. al. 2020; Jin Q et. al. 2020) con grosor (Liu A, et. al. 2021; Ogasawara N. et. al. 2020) y número (Liu A, et. al. 2021) trabecular abundante, pero con espacio intertrabecular reducido (Ogasawara N. et. al. 2020; Jin Q et. al. 2020).

De los siete artículos incluidos, dos no reportaron el volumen de dosis de exosomas utilizado, mientras los otros cinco reportaron la concentración de exosomas (Takeuchi R, et. al. 2019; Watanabe J, et. al. 2020; Liu A et.al. 2021; Jin Q et. al. 2020; Xu J et. al. 2019).

Autor y año	Comparación (n)	Control (n)	Dosis de Exo/EV	Oportunidad y modo de aplicación	Tiempo observación post tratamiento	Resultados	Conclusiones
<i>Takeuchi R, et. al. 2019</i>	PBS (6) MSC-Exo (6) Exo-antiVEGF (6) MSC-CM (6)	Defecto sin rellenar (6)	MSC-Exo (30µg) MSC-Exo (30µg) + anti-VEGF (1µg)	Implantación de andamio empapado en solución experimental según grupo, el día que se realiza el defecto óseo.	1º, 2º, 3º y 4º semana	Promoción de la regeneración ósea durante las primeras etapas y también la angiogénesis. (*)	Se confirmó formación ósea temprana por MSC-Exo. A las 2s formación ósea aumentó en los grupos MSC-Exo, en comparación con los otros grupos. A la 4ta semana se ampliaron aún más las diferencias en el área en comparación a grupo PBS, Exo-AntiVEGF y control. Hubo acumulación notable de células endoteliales vasculares en el grupo MSC-Exo en comparación a grupo PBS, Exo-antiVEGF y control.
<i>Liu L, et. al. 2020</i>	Periodontitis con BMSC-EVs (grupo experimental) (8)	Periodontitis con PBS (8)	NE	Inyección en el saco periodontal de andamio con solución experimental según grupo,	4º y 8º semana	Reparación del hueso alveolar y del ligamento periodontal. (*)	A la 4ta semanas la pérdida de hueso alveolar en las raíces mesiolingual y distolingual del 2do molar inferior derecho

	Grupo sano sin tratamiento (8) Periodontitis sin tratamiento (8)			una vez a la semana.			en el grupo BMSC-EVs fue significativamente menor que el grupo con periodontitis y el control ($p < 0,001$). A la 8va semana los resultados no fueron estadísticamente significativos.
<i>Liu A, et. al. 2021</i>	exo-MBG (4)	MBG (4)	10 ¹⁰ partículas/MBG jerárquico cargado con BMSC-IO-exo	Implantación de andamio empapado en solución experimental según grupo, el día que se realiza el defecto óseo.	2 ^o , 5 ^o , 8 ^o y 12 ^o semana	Formación de hueso nuevo. (*)	Uso de exo-MBG tuvo una mayor tasa de deposición de minerales en todo momento del experimento. El peak de la formación ósea fue a las 12 semanas.
<i>Watanabe J, et. al. 2020</i>	ZOL + EVs (15) ZOL + PBS (15)	Exodoncia sin tratamiento (15)	30 µg MSC-EVs disueltos en 0,5 mL PBS	Inyección iV en cola de rata, al día siguiente de la exodoncia y por única vez.	3 ^o , 7 ^o y 10 ^o día. 2 ^o y 8 ^o semana	Formación de tejido gingival y tejido duro nuevo en el alveolo donde se realizó la exodoncia. La administración de ZOL aumenta el fenotipo celular senescente. (*)	Hubo mayor formación de cobertura de tejido gingival y de tejido duro nuevo en el defecto y un menor fenotipo celular senescente en el grupo ZOL-EV.
<i>Jin Q et. al. 2020</i>	PuraMatrix™ 1% + 40 µL/mL hDPSC-EV (NE) PuraMatrix™ 1% + 4000µL/mL	PuraMatrix™ 1% (NE)	40 µg/mL hDPSC-EV 4000 µg/mL hDPSC-EV	Inyección del andamio con solución experimental según grupo, en el sitio del defecto el día en que se realiza y	1 ^o , 3 ^o , 5 ^o y 6 ^o semana	Cantidad de mineralización y de hueso nuevo formado. (*)	hDPSC-EVs generan un ambiente propicio para la osteogénesis, lo que aumenta la mineralización y la cantidad de hueso nuevo formado. Es importante destacar que

	hDPSC-EV (NE)			posteriormente se sutura.			esta tendencia es dosis-dependiente.
<i>Ogasawara N. et. al. 2020</i>	Grupo EM por 5 días sin tratamiento (5). Grupo EM por 10d + SHED-CM (5) Grupo EM por 10d + DMEM (5)	Grupo sin EM y sin tratamiento (5).	NE	Inyección iV diaria 0,5 ml de solución experimental según grupo en la cola de rata desde el día 6 hasta el día 10.	6º y 10º día	Formación de tejido óseo y cartílago en el cóndilo de ATM con TMJOA. (*)	SHED-CM tuvo una mayor regeneración tanto en el tejido duro como del cartílago en el cóndilo sometido a TMJOA.
<i>Xu J et. al. 2019</i>	PSC-EV 1µg (4) PSC-EV 2,5µg (4)	Defecto sin rellenar (4)	PSC-EV 1µg PSC-EV 2,5µg	Inyección percutánea en tejido que recubre el defecto óseo. Cada 3 días hasta el momento de observación final.	4º semana	Efectos mitogénicos, pro-migratorios y pro-osteogénicos sobre las células progenitoras esqueléticas para incitar la reparación ósea intramembranosa. (*)	Se confirmó que los PSC-EVs producen efectos celulares que convergen in vivo para acelerar la curación del defecto óseo, observando efecto más marcado al utilizar PSC-EV a concentración 2,5µg en comparación al grupo de 1µg

Tabla XI. Detalle de la aplicación experimental de exosomas, informando los grupos de estudio, dosis utilizadas, forma de aplicación y tiempos de medición de cada una de las investigaciones seleccionadas, sumado a los resultados observados en general y conclusiones descritas en ellas. Anti-VEGF: inhibidor del Factor de crecimiento endotelial vascular; exo-MBG: exosomas con vidrio mesoporoso bioactivo; BMSC-IO-exo: exosoma osteoinductivo derivado de BMSC; ZOL-EVs: Vesículas extracelulares con ácido zoledrónico; hDPSC EV: Vesículas extracelulares de células madre derivada de la pulpa humana; EM: estrés mecánico; DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium; NE: no específica. (*) **Complementar con tabla XII.**

Estudios	Micro TC	Histología	Inmunohistoquímica.
Takeuchi R, et. al. 2019	BFA 1 sem post implantación: Defecto ($1,7 \pm 0,4\%$); Exo-antiVEGF ($4,3 \pm 0,6\%$); PBS ($5,9 \pm 3,3\%$); MSC-Exo ($13,5 \pm 1,3\%$); MSC-CM ($16,3 \pm 2,8\%$).	BFA 1 sem post implantación: <i>No hay datos</i>	<i>No hay datos</i>
	BFA 2 sem post implantación: Defecto ($3,6 \pm 0,6\%$); Exo-antiVEGF ($8,7 \pm 1,1\%$); PBS ($15,4 \pm 4,5\%$); MSC-Exo ($31,5 \pm 6,5\%$); MSC-CM ($27,2 \pm 4,9\%$).	BFA 2 sem post implantación: Defecto ($0,16 \pm 0,03 \text{ mm}^2$); Exo-antiVEGF ($0,26 \pm 0,08 \text{ mm}^2$); PBS ($0,51 \pm 0,14 \text{ mm}^2$); MSC-Exo ($1,96 \pm 0,1 \text{ mm}^2$); MSC-CM ($1,39 \pm 0,34 \text{ mm}^2$). BFA H&E: <ul style="list-style-type: none"> MSC-Exo: células similares a osteoblastos e infiltración de neutrófilos en margen del defecto óseo + hueso trabecular inmaduro y tejido osteoide. 	MSC endógenas (Fluorescencia CD44): <ul style="list-style-type: none"> MSC-Exo y MSC-CM: células positivas alrededor del hueso recién formado Vasos sanguíneos (Fluorescencia CD31) <ul style="list-style-type: none"> MSC-Exo y MSC-CM: células endoteliales positivas alrededor del área ósea recién formada <p>* MSC-Exo y MSC-CM: mejoraron la migración de células madre endógenas y la angiogénesis en el defecto óseo calvarial.</p>
	BFA 3 sem post implantación: defecto ($5,5 \pm 0,9\%$); Exo-antiVEGF ($10,9 \pm 1,0\%$); PBS ($23,6 \pm 6,5\%$); MSC-Exo ($38,8 \pm 6,2\%$); MSC-CM ($44,3 \pm 6,9\%$).	BFA 3 sem post implantación: <i>No hay datos</i>	<i>No hay datos</i>
	BFA 4 sem post implantación: defecto ($7,0 \pm 0,9\%$); Exo-antiVEGF ($13,4 \pm 1,5\%$); PBS ($27,3 \pm 7,7\%$); MSC-Exo ($48,9 \pm 6,2\%$); MSC-CM ($56,6 \pm 6,0\%$).	BFA H&E: <ul style="list-style-type: none"> MSC-Exo > defecto, Exo-antiVEGF y PBS. 	Osteogénesis (OCN): <ul style="list-style-type: none"> MSC-Exo: tinción marrón (+) evidente.

		<ul style="list-style-type: none"> • MSC-Exo se observó claramente puente óseo con osteocitos, acumulación de células y estructuras vasculares alrededor del hueso recién formado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Grupos defecto, Exo-antiVEGF y PBS: no tinción (+) <p>Angiogénesis (VEGF):</p> <ul style="list-style-type: none"> • MSC-Exo y MSC-CM: tinción marrón (+) evidente de células endoteliales en el área central del defecto • Grupos defecto, Exo-antiVEGF y PBS: sin hallazgos marcados
Liu L, et. al. 2020	<p>ABL a la 4ta semana (valores expresados en mm ± SD)</p> <p>Grupo sano</p> <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 0.645 ± 0.036 • mesiolingual: 0.781 ± 0.073 <p>Grupo experimental (p<0,01)</p> <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 0.763 ± 0.090 • mesiolingual: 0.898 ± 0.112 <p>Grupo control (p<0,01)</p> <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 1.057 ± 0.006 • mesiolingual: 1.217 ± 0.032 <p>Grupo periodontitis sin tratamiento (p<0,01)</p> <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 1.007 ± 0.082 • mesiolingual: 1.202 ± 0.177 	<p>H&E 4ta y 8va semana:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ABL experimental < ABL control y ABL periodontitis sin tratamiento (p<0,05) <p>Abundantes células inflamatorias se observan en los grupos con periodontitis:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Grupo experimental < Grupo control y periodontitis sin tratamiento (p<0,05) <p>Células TRAP (+):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Grupo experimental < Grupo control y grupo periodontitis sin tratamiento. 	<p>Relación de la expresión de RANKL y OPG 4ta y 8va semana:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Grupo experimental < Grupo con periodontitis sin tratamiento y control (p<0.001)
	<p>ABL a la 8va semana</p> <p>Grupo sano</p> <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 0.684 ± 0.097 • mesiolingual: 0.765 ± 0.087 <p>Grupo experimental (p<0,01)</p> <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 0.974 ± 0.104 		

	<ul style="list-style-type: none"> • mesiolingual: 1.135 ± 0.019 Grupo control ($p < 0,01$) <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 1.069 ± 0.249 • mesiolingual: 1.147 ± 0.115 Grupo periodontitis sin tratamiento ($p < 0,01$) <ul style="list-style-type: none"> • distolingual: 1.036 ± 0.139 • mesiolingual: 1.15 ± 0.065 		
<i>Liu A, et. al. 2021</i>	BV/TV (%) 12 semanas: <ul style="list-style-type: none"> • exo-MBG > MBG ($p < 0,005$) Tb.Th (μm) 12 semanas: <ul style="list-style-type: none"> • exo-MBG > MBG ($p < 0,01$) 	Tinción con VG, Masson's y H&E 12 semanas: <ul style="list-style-type: none"> • exo-MBG: masiva formación de hueso nuevo. • MBG: capa delgada de hueso nuevo. 	AFSB con (%) con DAB 2 semanas: <ul style="list-style-type: none"> • exo-MBG > MBG ($p < 0,005$) AFSB con (%) con DAB 5 semanas <ul style="list-style-type: none"> • exo-MBG > MBG ($p < 0,05$) AFSB con (%) con DAB 8 semanas <ul style="list-style-type: none"> • exo-MBG > MBG ($p < 0,005$)
<i>Watanabe J, et. al. 2020</i>	BV/TV (%) día 7: <ul style="list-style-type: none"> • control > ZOL PBS ($p < 0,001$) • ZOL+EVs > ZOL + PBS ($p = 0,002$) BV/TV (%) día 14: <ul style="list-style-type: none"> • control > ZOL PBS ($p < 0,001$) • ZOL+EVs > ZOL + PBS ($p = 0,002$) 	Tinción de H&E 2 y 8 semanas: <ul style="list-style-type: none"> • Se confirma continuidad del epitelio tanto en el grupo control como en el de inyección de EVs. • Hay una mayor velocidad de regeneración en el grupo de inyección de EVs. 	<i>No hay datos</i>
<i>Jin Q et. al. 2020</i>	6 semanas BV/TV (%) <ul style="list-style-type: none"> • 40mg/mL hDPSC-EV > control ($p < 0,01$) 	6 semanas Tinción con VG: <ul style="list-style-type: none"> • Grupo 4000mg/mL hDPSC-EV > grupo control. 	Usando rojo de alozarina, clorhidrato de tetraciclina y calceína se determinó:

	<ul style="list-style-type: none"> 4000 mg/mL hDPSC-EV > control (p < 0,01) <p>Tb.N (1/mm)</p> <ul style="list-style-type: none"> 40mg/mL hDPSC-EV > control (p < 0,05) 4000 mg/mL hDPSC-EV > control (p < 0,01) <p>Tb.Sp (mm)</p> <ul style="list-style-type: none"> control > 40mg/mL hDPSC-EV (p < 0,05) control > 4000 mg/mL hDPSC-EV (p < 0,05) <p>Tb.Th</p> <ul style="list-style-type: none"> Resultados no son estadísticamente significativos 	<ul style="list-style-type: none"> Grupo 40mg/mL hDPSC-EV aposición de hueso nuevo > grupo control. <p>* Más marcado a mayor concentración</p> <p>Análisis histomórfico cuantitativo NBA (%):</p> <ul style="list-style-type: none"> 40mg/mL hDPSC-EV > control (p<0,05) 4000 mg/mL hDPSC-EV > control (p<0,05) 	<ul style="list-style-type: none"> Grupo 4000mg/mL hDPSC-EV: 1º semana formación de hueso y mineralización. Grupo 40mg/mL hDPSC-EV: 3º semana formación de hueso y mineralización. <p>* No hay diferencia significativa en la cantidad de hueso nuevo en la 3º y 5º semana entre ambos grupos experimentales.</p>
<p>Ogasawara N. et. al. 2020</p>	<p>12 días</p> <p>BV/TV (%)</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo SHED-CM (0,42 ± 0,05) > Grupo DMEM (0,27 ± 0,06) y Grupo pretratamiento sin inoculación (0,25 ± 0,07) (p<0,01) <p>Tb.Th (mm)</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo SHED-CM (0,16 ± 0,08) > Grupo DMEM (0,11 ± 0,03%) y Grupo pretratamiento sin inoculación (0,09 ± 0,02) (p<0,01) <p>Tb.Sp (mm)</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo SHED-CM (0,21 ± 0,11) < Grupo DMEM (0,32 ± 0,17) y Grupo pretratamiento sin inoculación (0,39 ± 0,25) 	<p>12 días</p> <p>H&E</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo SHED-CM infiltración reducida de células inmunes mononucleares Grupo DMEM infiltración de células inmunes mononucleares en músculo temporal. <p>TRAP</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo DMEM (13,20 ± 4,36) > Grupo SHED-CM (3,40 ± 2,06) (p < 0,01) 	<p>12 días</p> <p>IL-1b (%)</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo DMEM (95,56 ± 2,02) > Grupo SHED-CM (80,60 ± 4,95) (p < 0,05) <p>MMP13 (%)</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo DMEM (44,43 ± 7,90) > Grupo SHED-CM (32,15 ± 5,78) (p < 0,05) <p>iNOS (%)</p> <ul style="list-style-type: none"> Grupo DMEM (48,8 ± 3,96) > grupo SHED-CM (38,72 ± 2,52) (p < 0,05) <p>PCNA (%)</p>

	(p<0,05)		<ul style="list-style-type: none"> grupo SHED-CM (45,13 ± 4,56) > Grupo sin tratamiento (11,92 ± 3,40) (p < 0,05) Grupo SHED-CM (45,13 ± 4,56) > Grupo DMEM (5,95 ± 2,70) (p < 0,05)
Xu J et. al. 2019	BV 4 sem postoperatorio: <ul style="list-style-type: none"> PSC-EV 2,5µg > control (p< 0,01) PSC-EV 1µg > control (p< 0,05) BFA (%) 4 sem postoperatorio: <ul style="list-style-type: none"> PSC-EV 1µg y PSC-EV 2,5µg > control (p< 0,05) Score 4 sem postoperatorio: <ul style="list-style-type: none"> PSC-EV 1µg y PSC-EV 2,5µg > control (p< 0,05) 	H&E 4 sem postoperatorio: <i>Distancia entre bordes del defecto óseo</i> Control > PSC-EV 1µg > PSC-EV 2,5µg	Intensidad inmunofluorescencia OCN en borde del defecto óseo: <ul style="list-style-type: none"> PSC-EV 2,5µg > control (p< 0,001) PSC-EV 1µg > control (p< 0,01) PSC-EV 2,5µg > PSC-EV 1µg (p< 0,05)

Tabla XII. Resultados obtenidos de los exámenes complementarios utilizados para el análisis de cada estudio en la obtención de resultados. BFA: área formación ósea; H&E: hematoxilina y eosina; ABL: pérdida de hueso alveolar; TRAP: fosfatasa ácida resistente al tártaro; BV/TV: volumen óseo/volumen total; Tb.Th: Grosor trabecular medio; VG: Tinción de Van Gieson; AFSB: Área de hueso teñido con fluorescencia; DAB: Revelado con diaminobenzidina; ZOL-PBS: ácido zoledrónico con solución salina tamponada con fosfato; Tb.N: Número trabecular medio; Tb.Sp: Separación trabecular media; NBA: área de hueso nuevo; BV: volumen óseo. (Para identificar los grupos utilizados en cada estudio se puede revisar la tabla XI).

3. Riesgo de sesgos:

La herramienta de sesgo recomendada por la colaboración Cochrane se basa en dominios, donde las evaluaciones críticas se realizan de forma separada para diferentes dominios, los resultados de observan en la figura 5.

Takeuchi R. 2019	Liu L. 2020	Liu A. 2021	Watanabe J. 2020	Jin Q. 2020	Ogasawara N. 2020	Xu J. 2019	
+	+	+	+	+	+	+	Generación de la secuencia aleatoria
?	?	?	?	?	?	?	Ocultación de la asignación
+	+	+	+	+	+	+	Cegamiento de los participantes y personal
-	-	-	-	-	-	-	Cegamiento de los evaluadores
+	+	+	+	+	+	+	Manejo de datos de resultados incompletos
+	+	+	+	+	+	+	Notificación selectiva

Figura 5: Resultado de aplicación de la evaluación del riesgo de sesgo en los ensayos clínicos incluidos de la colaboración Cochrane. (+) hace referencia a bajo riesgo de sesgo; (-) hace referencia a alto riesgo de sesgo; (?) hace referencia a un riesgo dudoso.

Se realizó aleatorización simple para conformar los grupos de estudio y también para la asignación de intervenciones, si bien no es una aleatorización elaborada, debido a que los individuos utilizados en cada investigación eran sujetos con características específicas similares (raza, edad, fenotipo) y no se buscaba una representatividad poblacional, la validez interna de los estudios no se vio afectada. El método de ocultación no se describe detalladamente por lo que podría introducir algún sesgo de selección a causa de una ocultación inadecuada de las asignaciones. El cegamiento de los evaluadores no se realizó, por lo que la interpretación realizada a los resultados no objetivos podría estar influenciada. Sin embargo, la mayoría de los dominios presentan un bajo riesgo de sesgo, más aún si consideramos que los resultados presentan mediciones objetivas evidentes, por lo que, al hacer una evaluación completa, se determinó un bajo riesgo de sesgo en los estudios incluidos en esta investigación.

DISCUSIÓN

En la regeneración ósea se han propuesto varios métodos terapéuticos, entre ellos autoinjertos, aloinjertos, xenoinjertos y sustitutos óseos¹⁰¹. El autoinjerto de hueso autólogo es la terapia más usada, sin embargo, en la literatura se expresan varias desventajas asociadas⁸⁰, por lo que la medicina regenerativa busca superar estas limitaciones utilizando distintas herramientas, entre ellas la terapia biológica acelular basada en factores de crecimiento¹⁰². Recientemente ha aumentado la evidencia científica y clínica respecto a que los efectos tisulares críticos para la regeneración del tejido, como migración, angiogénesis o reinervación, que han sido descritos incluso en ausencia de terapias biológicas celulares¹⁰³.

Otras investigaciones demuestran que los exosomas actúan como mediadores en la comunicación intercelular¹⁰⁴, afectando la reparación del tejido en base a su efecto paracrino y estimulación de la célula huésped¹⁰⁵ y son capaces de activar una variedad de vías de señalización celular¹⁰⁶.

Hallazgos principales

Con relación al origen, los exosomas informados en los estudios seleccionados provienen de dos especies, en igual proporción humanos y animales, específicamente ratas. Respecto al origen celular de obtención se mencionan principalmente médula ósea y pulpa dental, seguido del tejido adiposo y estroma perivascular.

Respecto a los materiales complementarios utilizados en conjunto con los exosomas para la terapia regenerativa cabe destacar que más de la mitad utiliza andamiaje, siendo este la esponja de atelocolágeno, hidrogel de gelatina al 5%, vidrio mesoporoso bioactivo y PuraMatrix al 1%, empleados en igual proporción. El resto de las investigaciones no utilizan andamiajes, pero hay que destacar que estos exosomas se aplican libres o en conjunto con ácido zoledrónico.

Para lograr explicar su uso, todas las publicaciones aplican la terapia regenerativa de los exosomas (independiente de su origen) en modelos de ratas, mayormente en defectos

óseos calvariales, y en igual proporción en defecto óseo mandibular y periodontal, osteoartritis de ATM y BRONJ.

La forma de aplicación principal es por medio de inyección en el sitio del defecto o intravenosa y en menor medida se realiza implantación de andamios empapados en solución experimental. Con tiempos de observación variables entre una a doce semanas.

Varias investigaciones muestran efectos beneficiosos de los exosomas en regeneración ósea de defectos, al favorecer la mineralización temprana y mejorar el ambiente osteogénico. En enfermedades como BRONJ reduce el tiempo de cicatrización, en osteoartritis de ATM aumenta la regeneración ósea de cartílago y en enfermedad periodontal disminuye la reabsorción ósea.

Para estudiar los efectos del uso de exosomas, se utilizan distintos mecanismos: La micro TC muestra principalmente un aumento en la formación ósea reciente, mejorando parámetros de calidad ósea (aumentando la proporción volumen óseo/volumen total, grosor trabecular medio y número trabecular medio / reduciendo la separación trabecular media); histológicamente se evidencia una mayor formación de tejido óseo mineralizado, con mayor velocidad y una disminución de osteoclastos en las zonas con el uso de exosomas; la IHQ demuestra una mejora en la migración celular endógena y angiogénesis, aumento de marcadores osteogénicos en borde de defectos, una disminución de la expresión RANKL/OPG y destrucción de cartílago.

Además, los estudios demuestran que existe una mayor densidad ósea cuando los exosomas son aplicados directamente en el sitio del defecto y sus efectos se ven favorecidos al aumentar la concentración empleada. Finalmente, el aislar los exosomas para luego aplicarlos, muestra beneficios en la regeneración ósea temprana que se presentan desde su implementación, en contraste con la terapia de MSC donde los resultados positivos se demuestran principalmente al finalizar el proceso regenerativo.

Validez interna

En la presente investigación, se recolectaron sistemáticamente los datos disponibles en la literatura, evaluando críticamente el uso de los exosomas aplicados a la regeneración ósea en el territorio craneomaxilofacial, respetando criterios de inclusión y exclusión

establecidos conjuntamente y realizando una evaluación objetiva y clara de la evidencia científica publicada. Cabe destacar que cada uno de los estudios incluidos, fueron sometidos a análisis de calidad y evaluación de riesgo de sesgo.

Interpretación en el contexto de la literatura

El origen de obtención de exosomas es muy relevante de considerar para que sea un proceso de fácil ejecución y que implique un menor riesgo asociado¹⁵. De los orígenes más utilizados en los artículos incluidos en la presente investigación, cabe destacar que si bien no hay estudios clínicos en humanos donde se utilicen exosomas con los fines aquí descritos, existe evidencia de la obtención de estas vesículas según su origen, estableciendo una excelente calidad a los exosomas provenientes de BM-MSC¹⁰⁷. Por otra parte, las células madre derivadas de tejido de la pulpa dental humana (DP-MSC) son de especial interés por su origen embrionario de la cresta neural, lo que le confiere carácter neurotrópico mencionando un potencial terapéutico con aplicabilidad de estos componentes en la práctica odontológica¹⁰⁸.

En regeneración ósea es bien reconocido el protocolo actual respecto a los materiales utilizados^{8,9,109}. Específicamente en regeneración ósea craneofacial también hay un amplio conocimiento en terapias standard con biomateriales¹¹⁰, pero al revisar esta nueva terapéutica, podemos ver que si bien el uso experimental de los exosomas va asociado a un protocolo distinto al que se utiliza clínicamente en humanos, igual es de relevancia el uso conjunto de materiales complementarios. La mayor parte de los estudios hace uso de andamiaje, siendo este componente clave en la ingeniería tisular para la regeneración de tejido actuando como soporte y elemento osteoconductor¹¹¹, actuando como un vehículo de suministro y protegiendo los elementos utilizados de las condiciones severas en el lugar de aplicación¹¹⁰.

Al hablar de las aplicaciones terapéuticas de vesículas extracelulares estudiadas, resulta importante enfatizar el manejo de osteonecrosis de los maxilares relacionada al uso de bifosfonatos (BRONJ), ya que estos son fármacos ampliamente utilizados en manejo del cáncer óseo metastásico y enfermedades óseas metabólicas sistémicas como la osteoporosis¹¹². El mecanismo subyacente de BRONJ ha demostrado ser difícil de

desentrañar y no existen estrategias sólidas para el tratamiento, pero su enfoque se ha basado en mecanismos con efectos anti-reabsorción ósea¹¹³, es de esta manera que los exosomas demostraron ser aplicables con éxito en los modelos estudiados¹¹⁴.

Los defectos óseos a su vez, tienen una carga significativa de morbilidad asociada con el manejo, generando impacto clínico y económico¹¹⁵. Si bien actualmente hay materiales o tratamientos biológicos para su uso, la terapéutica y resultados siguen siendo controversiales¹¹⁵, es en este punto donde el estudio de exosomas cobra relevancia como una terapia que logra efectos beneficiosos al mejorar el ambiente osteogénico¹¹⁶⁻¹¹⁹.

El logro de la regeneración ósea se centra en el papel principal de la vascularización, con el fin de entregar suficientes nutrientes, factores de crecimiento, minerales y oxígeno para la restauración de tejidos¹²⁰, por lo que un ambiente osteogénico mejorado por la terapia acelular propuesta, resulta importante para una regeneración ósea rápida, eficiente y de calidad.

Los resultados del examen imagenológico e histológico se explican porque los exosomas pueden regular y guiar la diferenciación de las MSC, por lo tanto, promover directamente la regeneración ósea. Se ha verificado que la función osteodiferenciadora de estas vesículas extracelulares se efectúa a través de la regulación de la expresión del miARN¹²¹. Específicamente, se demuestra que let-7 (precursor de miARN) regula positivamente la osteogénesis y formación de hueso nuevo¹²² y el miR-199b (miARN) controla la diferenciación de MSC en osteoblastos y osteocitos¹²¹.

Los resultados obtenidos en la inmunohistoquímica se fundamentan en que los exosomas pueden estimular las actividades de las células endoteliales, incluida la proliferación, migración y formación de vasos sanguíneos¹²⁰.

En varios estudios se evidencia que hay una asociación entre las técnicas y dosis de materiales favorecedores de la regeneración ósea, los resultados muestran que la administración de exosomas derivados de células madre mesenquimales promueve la curación ósea y la neovascularización observando una relación dosis-efecto^{118,119,123}.

La utilización directa de exosomas aislados presenta una mejor biodisponibilidad de moléculas actuando desde el comienzo¹¹, mientras que las técnicas con MSC logran

efectos en un momento más avanzado de la regeneración ósea ya que, existen factores intermediarios que regulan los efectos pro regenerativos y/o inmunomoduladores⁴⁰.

Comparación de los resultados por semejanza o diferencia

En una revisión sistemática comparable a nuestro estudio, se observa con exosomas el mismo efecto de aumento en los parámetros macroestructurales óseos como la BV/TV, Tb.Th y Tb.N y una disminución de la Tb.Sp¹²⁴.

Otro estudio sistemático que evalúa el impacto de la administración de exosomas en defectos óseos y periodontales experimentales, al igual que esta investigación, demuestra curación ósea después de la administración de exosomas como el resultado primario¹²³.

Nuestra investigación busca analizar el uso de los exosomas en la regeneración ósea de manera aislada y directa a diferencia de otros, en donde se realizan inferencias respecto a la acción de estas vesículas pero utilizando células madre o medios condicionados de estas^{18,125}.

Implicancias

El obtener una mejor comprensión del mecanismo de acción de estas nanopartículas sobre la regeneración ósea en el territorio craneomaxilofacial, permite a los investigadores acceder a una planificación de nuevos estudios con el objetivo final de aplicar en humanos esta propuesta de terapia ósea regenerativa.

Los exosomas obtenidos de células madre, tienen un potencial de aplicación práctica en humanos y/o animales de mayor tamaño en el territorio craneomaxilofacial para la reparación de defectos óseos, disminución de la reabsorción del hueso alveolar ante la enfermedad periodontal, terapia de osteoartritis en ATM y osteonecrosis asociada a bifosfonatos.

Limitaciones

Una de las limitaciones de esta revisión sistemática es la existencia de sesgos relacionados con el escaso número de estudios publicados.

La metodología indica que las investigaciones se han centrado mayoritariamente en animales. Si bien, los procesos fisiológicos son similares en humanos no es extrapolable a estos ni permiten representatividad de la población.

La metodología utilizada en los diferentes estudios, si bien permite replicar cada estudio en sí, impide un análisis comparativo exhaustivo entre ellos. Sin embargo, se puede establecer una relación en cuanto a los resultados favorables con respecto al uso de exosomas y la eficacia terapéutica en cada estudio por separado.

RECOMENDACIONES O SUGERENCIAS

Resulta fundamental establecer una línea metodológica clara para la investigación con exosomas, unificando criterios para realizar estudios comparables entre sí, replicando la metodología en modelos animales más grandes para facilitar la traslacionalidad clínica y posteriormente proyectar las investigaciones al estudio clínico en humanos.

Se proponen tres líneas investigativas que son fundamentales:

- Determinar la dosis mínima efectiva para estudios in vivo.
- Realizar estudios comparativos entre el uso de exosomas y MSC siguiendo protocolos optimizados.
- Evaluar la real necesidad de utilizar andamiaje para obtener los resultados esperados, considerando así el costo-beneficio del tratamiento.

Si bien, esta búsqueda podría ampliarse hacia medios condicionados con exosomas, debido a que en la literatura científica actual se pueden encontrar resultados en humanos que abarquen estos términos, aun así, en esos casos resulta complejo conocer los factores individuales importantes e indispensables que confirmen que son los exosomas y no otros los que pueden actuar de manera beneficiosa como complemento en la regeneración ósea maxilofacial¹⁸.

CONCLUSIONES

- Se pudo observar distintos orígenes de los exosomas, siendo más estudiados los de células madre mesenquimales de médula ósea y de pulpa dental.
- Respecto a la utilización de materiales complementarios, no está clara la preferencia de uso o no uso, debido a que un número levemente superior de los estudios utilizaba andamiaje (4) mientras que el resto no (3).
- En cuanto a la aplicación de las vesículas extracelulares, esta fue en diferentes zonas del territorio craneomaxilofacial de ratas, para reparación de defectos óseos calvariales, mandibular y periodontal, terapia de osteoartritis de ATM y BRONJ.

Se concluye que el uso de exosomas aislados para la regeneración ósea ha tenido un efecto positivo y favorable en las distintas terapéuticas empleadas al utilizarse directamente en el sitio de estudio, al promocionar la mineralización temprana, mejorando el ambiente osteogénico, facilitando la migración celular endógena y angiogénesis y disminuyendo la reabsorción de hueso.

La administración de exosomas parece promover significativamente la regeneración ósea. Sin embargo, hasta ahora solo se ha realizado un número limitado de estudios, siendo necesario evaluar los protocolos optimizados en este contexto para poder realizar estudios clínicos aleatorizados en humanos, comprobando su seguridad y eficacia para determinar realmente el potencial de uso en a nivel craneomaxilofacial en personas.

REFERENCIAS

1. Irinakis T. Rationale for socket preservation after extraction of a single-rooted tooth when planning for future implant placement. *J Can Dent Assoc (Tor)*. 2007;72(10):917–22.
2. Zigdon-Giladi H, Khoury N, Evron A. Adult stem cells in the use of jaw bone regeneration: current and prospective research. *Quintessence Int (Berlin, Ger 1985)* [Internet]. 2015;46(2):125–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25396217>
3. Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, et al. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *J Dent Res*. 2017;96(4):380–7.
4. Stumbras A, Kuliesius P, Januzis G, Juodzbaly G. Alveolar Ridge Preservation after Tooth Extraction Using Different Bone Graft Materials and Autologous Platelet Concentrates: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res* [Internet]. 2019 Nov 7;10(1). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6498816/>
5. Sun R, Xu S, Wang Z. Rat sinus mucosa- and periosteum-derived exosomes accelerate osteogenesis. *J Cell Physiol*. 2019;234(12):21947–61.
6. Liu G, Guo Y, Zhang L, Wang X, Liu R, Huang P, et al. A standardized rat burr hole defect model to study maxillofacial bone regeneration. *Acta Biomater* [Internet]. 2019;86:450–64. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706118307748>
7. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical Evaluation of a Modified Coronally Advanced Flap Alone or in Combination With a Platelet-Rich Fibrin Membrane for the Treatment of Adjacent Multiple Gingival Recessions: A 6-Month Study. *J Periodontol* [Internet]. 2009 Nov 7;80(2):244–52. Available from: <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.2009.080253>
8. Mansour A, Al-Hamed FS, Torres J, Marino FT. Alveolar bone grafting: Rationale and clinical applications. In: *Dental Implants and Bone Grafts* [Internet]. Elsevier;

2020. p. 43–87. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081024782000039>
9. Raymond J. fonseca. Oral and Maxillofacial Surgery. elsevier. Powers MP, editor. North Carolina; 2018. 747 p.
 10. Niño-Sandoval TC, Vasconcelos BC, D. Moraes SL, A. Lemos CA, Pellizzer EP. Efficacy of stem cells in maxillary sinus floor augmentation: systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2019;48(10):1355–66.
 11. Yuan Q ling, Zhang Y gang, Chen Q. Mesenchymal Stem Cell (MSC)-Derived Extracellular Vesicles: Potential Therapeutics as MSC Trophic Mediators in Regenerative Medicine. *Anat Rec.* 2020;303(6):1735–42.
 12. Cooper LF, Ravindran S, Huang CC, Kang M. A Role for Exosomes in Craniofacial Tissue Engineering and Regeneration. *Front Physiol.* 2020;10.
 13. Daley GQ. Stem cells and the evolving notion of cellular identity. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2015;370(1680).
 14. Bruce Alberts, Dennis Bray, Karen Hopkin, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff KR and PW. Introduction to Cell Biology. 2nd ed. Editorial Médica Panamericana S.A., editor. Garland Science. a member of the Taylor & Francis; 2004. 734 p.
 15. Arrea B C, Porrás O, León Bratti MP. Stem cells and their use in humans. *Acta Med Costarric.* 2010;52(4):195–6.
 16. Written by Mayo Clinic staff. Stem cells: what they are and what they do. 2019.
 17. Carelli S, Giallongo T, Rey F, Latorre E, Bordoni M, Mazzucchelli S, et al. HuR interacts with lincBRN1a and lincBRN1b during neuronal stem cells differentiation. *RNA Biol* [Internet]. 2019;16(10):1471–85. Available from: <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1637698>
 18. Katagiri W, Watanabe J, Toyama N, Osugi M, Sakaguchi K, Hibi H. Clinical Study of Bone Regeneration by Conditioned Medium from Mesenchymal Stem Cells after Maxillary Sinus Floor Elevation. *Implant Dent.* 2017;26(4):607–12.
 19. EuroStemCell. The eye and stem cells: the way to treat blindness [Internet]. 2016. Available from: www.eurostemcell.org/es/ojo
 20. Deschaseaux F, Pontikoglou C, Sensébé L. Bone regeneration: The

- stem/progenitor cells point of view. *J Cell Mol Med*. 2010;14(1–2):103–15.
21. Gardiner C, Vizio D Di, Sahoo S, Théry C, Witwer KW, Wauben M, et al. Techniques used for the isolation and characterization of extracellular vesicles: Results of a worldwide survey. *J Extracell Vesicles*. 2016;5(1).
 22. Liu M, Sun Y, Zhang Q. Emerging Role of Extracellular Vesicles in Bone Remodeling. Vol. 97, *Journal of Dental Research*. SAGE Publications Inc.; 2018. p. 859–68.
 23. Laurence Zitvogel, Armelle Regnault, Anne Lozier, Joseph Wolfers, Caroline Flament, Danielle tenza, Paola Ricciardi-Castagnoli GR& SA. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. 1998;
 24. Kusuma GD, Carthew J, Lim R, Frith JE. Effect of the Microenvironment on Mesenchymal Stem Cell Paracrine Signaling: Opportunities to Engineer the Therapeutic Effect. *Stem Cells Dev*. 2017;26(9):617–31.
 25. Qin Y, Sun R, Wu C, Wang L, Zhang C. Exosome: A novel approach to stimulate bone regeneration through regulation of osteogenesis and angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5).
 26. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol*. 2013;200(4):373–83.
 27. Tomasoni S, Longaretti L, Rota C, Morigi M, Conti S, Gotti E, et al. Transfer of growth factor receptor mRNA via exosomes unravels the regenerative effect of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*. 2013;22(5):772–80.
 28. Gimona M, Pachler K, Laner-Plamberger S, Schallmoser K, Rohde E. Manufacturing of human extracellular vesicle-based therapeutics for clinical use. *Int J Mol Sci*. 2017;18(6).
 29. Lamnabhi-Lagarrigue F, Laghrouche S, Loria A, Panteley E. Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials - an ISEV position paper. *Taming Heterog Complex Embed Control*. 2013;1:1–738.
 30. Besse B, Charrier M, Lapierre V, Dansin E, Lantz O, Planchard D, et al. Dendritic cell-derived exosomes as maintenance immunotherapy after first line chemotherapy in NSCLC. *Oncoimmunology*. 2016;5(4).

31. Escudier B, Dorval T, Chaput N, André F, Caby MP, Novault S, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: Results of the first phase 1 clinical trial. *J Transl Med.* 2005;3:1–13.
32. Morse MA, Garst J, Osada T, Khan S, Hobeika A, Clay TM, et al. A phase I study of dexosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Transl Med.* 2005;3:1–8.
33. Adams M, Navabi H, Croston D, Coleman S, Tabi Z, Clayton A, et al. The rationale for combined chemo/immunotherapy using a Toll-like receptor 3 (TLR3) agonist and tumour-derived exosomes in advanced ovarian cancer. *Vaccine.* 2005;23(17–18):2374–8.
34. Shi J, Zhang Y, Yao B, Sun P, Hao Y, Piao H, et al. Role of Exosomes in the Progression, Diagnosis, and Treatment of Gliomas. *Med Sci Monit.* 2020;26:1–16.
35. Kulp A, Kuehn MJ. Functions and Biogenesis of OMVs. *Annu Rev Microbiol.* 2010;64:163–84.
36. Cheng Y, Schorey JS. Exosomes carrying mycobacterial antigens can protect mice against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur J Immunol.* 2013;43(12):3279–90.
37. Kruh-Garcia NA, Wolfe LM, Chaisson LH, Worodria WO, Nahid P, Schorey JS, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* peptides in the exosomes of patients with active and latent *M. tuberculosis* infection using MRM-MS. *PLoS One.* 2014;9(7):1–11.
38. Näslund TI, Gehrmann U, Qazi KR, Karlsson MCI, Gabrielsson S. Dendritic Cell-Derived Exosomes Need To Activate Both T and B Cells To Induce Antitumor Immunity. *J Immunol.* 2013;190(6):2712–9.
39. Liao W, Du Y, Zhang C, Pan F, Yao Y, Zhang T, et al. Exosomes: The next generation of endogenous nanomaterials for advanced drug delivery and therapy. Vol. 86, *Acta Biomaterialia*. Acta Materialia Inc; 2019. p. 1–14.
40. Kordelas L, Rebmann V, Ludwig AK, Radtke S, Ruesing J, Doeppner TR, et al. MSC-derived exosomes: A novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease. *Leukemia.* 2014;28(4):970–3.
41. Herrera MB, Fonsato V, Gatti S, Deregibus MC, Sordi A, Cantarella D, et al. Human

- liver stem cell-derived microvesicles accelerate hepatic regeneration in hepatectomized rats. *J Cell Mol Med*. 2010;14(6 B):1605–18.
42. Nakamura Y, Miyaki S, Ishitobi H, Matsuyama S, Nakasa T, Kamei N, et al. Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration. *FEBS Lett* [Internet]. 2015;589(11):1257–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2015.03.031>
 43. Cheng Q, Zhang Z, Zhang S, Yang H, Zhang X, Pan J, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against ischemic brain injury in mouse by regulating peripheral immunoinflammation. *Brain Res* [Internet]. 2015;1594:293–304. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2014.10.065>
 44. Sandy C. Marks, Jr. and PRO. *Structure and Development of the Skeleton*. *Princ Bone Biol*. 2002;3–15.
 45. Stavros C. Manolagas. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev*. 2000;21(2):115–137.
 46. Onaizah O, Xu L, Middleton K, You L, Diller E. Local stimulation of osteocytes using a magnetically actuated oscillating beam. *PLoS One* [Internet]. 2020;15(6):1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0235366>
 47. Cano-Sánchez J, Campo-Trapero J, Sánchez-Gutiérrez JJ, Bascones-Martínez A. Mechanobiology of the maxillary bones. II. Bone remodeling. *Av Odontoestomatol*. 2008;24(2):177–86.
 48. Henning W. Woitge, MD, and Markus J. Seibel M. Risk assessment for osteoporosis II. *Biochemical Markers of Bone Turnover: Bone Resorption Indices*. *Clin Lab Med*. 2000;20(3):503–25.
 49. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: Concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest*. 2005;115(12):3318–25.
 50. Cointy GR, Capozza RF, Negri AL, Roldán EJA, Ferretti JL. Biomechanical background for a noninvasive assessment of bone strength and muscle-bone interactions. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2004;4(1):1–11.
 51. Russow G, Jahn D, Appelt J, Märdian S, Tsitsilonis S, Keller J. Anabolic therapies in osteoporosis and bone regeneration. *Int J Mol Sci*. 2019;20(1).

52. Schmidt-Bleek K, Kwee BJ, Mooney DJ, Duda GN. Boon and Bane of Inflammation in Bone Tissue Regeneration and Its Link with Angiogenesis. *Tissue Eng - Part B Rev.* 2015;21(4):1–29.
53. Cristante AF, Narazaki DK. Advances in the Use of Stem Cells in Orthopedics. *Rev Bras Ortop (English Ed.* 2011;46(4):359–67.
54. Rahaman MN, Mao JJ. Stem cell-based composite tissue constructs for regenerative medicine. *Biotechnol Bioeng.* 2005;91(3):261–84.
55. Hernigou P BF. Bone marrow in patients with pseudarthrosis A study of progenitor cells by in vitro cloning. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot.* 1997;83(1):33–40.
56. Fukumoto T, Sperling JW, Sanyal A, Fitzsimmons JS, Reinholz GG, Conover CA, et al. Combined effects of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor- β 1 on periosteal mesenchymal cells during chondrogenesis in vitro. *Osteoarthr Res Soc Int.* 2003;11(1):55–64.
57. Ward B, Brown S, Krebsbach PH. Bioengineering strategies for regeneration of craniofacial bone: A review of emerging technologies. *Oral Dis.* 2010;16(8):709–16.
58. Banfi A, Muraglia A, Dozin B, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Quarto R. Proliferation kinetics and differentiation potential of ex vivo expanded human bone marrow stromal cells: Implications for their use in cell therapy. *Exp Hematol.* 2000;28(6):707–15.
59. Zhou S, Greenberger JS, Epperly MW, Goff JP, Adler C, Leboff MS, et al. Age-related intrinsic changes in human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells and their differentiation to osteoblasts. *Aging Cell.* 2008;7(3):335–43.
60. Lin RZ, Moreno-Luna R, Li D, Jaminet SC, Greene AK, Melero-Martin JM. Human endothelial colony-forming cells serve as trophic mediators for mesenchymal stem cell engraftment via paracrine signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(28):10137–42.
61. Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA. Fracture healing as a post-natal developmental process: Molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem.* 2003;88(5):873–84.

62. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, et al. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF- κ B ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2001;16(6):1004–14.
63. Khojasteh A, Eslaminejad MB, Nazarian H. Mesenchymal stem cells enhance bone regeneration in rat calvarial critical size defects more than platelet-rich plasma. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2008;106(3):356–62.
64. Bruder SP, Kraus KH, Goldberg VM, Kadiyala S. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segmental bone defects. *J Bone Jt Surg - Ser A.* 1998;80(7):985–96.
65. Zigdon-Giladi H, Lewinson D, Bick T, Machtei EE. Mesenchymal stem cells combined with barrier domes enhance vertical bone formation. *J Clin Periodontol.* 2013;40(2):196–202.
66. Steinhardt Y, Aslan H, Regev E, Zilberman Y, Kallai I, Gazit D, et al. Maxillofacial-derived stem cells regenerate critical mandibular bone defect. *Tissue Eng - Part A.* 2008;14(11):1763–73.
67. Lai RC, Arslan F, Lee MM, Sze NSK, Choo A, Chen TS, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res [Internet].* 2010;4(3):214–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scr.2009.12.003>
68. Lai RC, Yeo RWY, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosomes. *Semin Cell Dev Biol [Internet].* 2015;40:82–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.03.001>
69. Hao ZC, Lu J, Wang SZ, Wu H, Zhang YT, Xu SG. Stem cell-derived exosomes: A promising strategy for fracture healing. *Cell Prolif.* 2017;50(5).
70. Ge M, Ke R, Cai T, Yang J, Mu X. Identification and proteomic analysis of osteoblast-derived exosomes. *Biochem Biophys Res Commun [Internet].* 2015;467(1):27–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.09.135>
71. Taisuke Furuta, Shigeru Miyaki, Hiroyuki Ishitobi, Toshihiko Ogura, Yoshio Kato, Naosuke Kamei, Kenji Miyado, Yukihito Higashi MO. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Promote Fracture Healing in a Mouse Model. 2016;1620–30.

72. Li W, Liu Y, Zhang P, Tang Y, Zhou M, Jiang W, et al. Tissue-Engineered Bone Immobilized with Human Adipose Stem Cells-Derived Exosomes Promotes Bone Regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2018;10(6):5240–54.
73. Cui Y, Luan J, Li H, Zhou X, Han J. Exosomes derived from mineralizing osteoblasts promote ST2 cell osteogenic differentiation by alteration of microRNA expression. *FEBS Lett*. 2016;590(1):185–92.
74. Ekström K, Omar O, Granéli C, Wang X, Vazirisani F, Thomsen P. Monocyte Exosomes Stimulate the Osteogenic Gene Expression of Mesenchymal Stem Cells. *PLoS One*. 2013;8(9):2–8.
75. Zi Wang , Li Ding , Xiao-Li Zheng , Heng-Xiang Wang H-MY. DC-derived exosomes induce osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. 2014;22(3):600.
76. Wang S, Hu H, Sun G, Jin J, He X. The Roles of Exosomes Related to Some Oral Diseases. 2018;(Icmsb):169–77.
77. Qin Y, Wang L, Gao Z, Chen G, Zhang C. Bone marrow stromal/stem cell-derived extracellular vesicles regulate osteoblast activity and differentiation in vitro and promote bone regeneration in vivo. *Sci Rep [Internet]*. 2016;6(September 2015):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep21961>
78. Rodella LF, Favero G, Labanca M. Biomaterials in Maxillofacial Surgery: Membranes and Grafts. *Int J Biomed Sci [Internet]*. 2011 Nov 7;7(2):81–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614823/>
79. Iolascon G, Napolano R, Gioia M, Moretti A, Riccio I, Gimigliano F. The contribution of cortical and trabecular tissues to bone strength: Insights from denosumab studies. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2013;10(1):47–51.
80. Sakkas A, Wilde F, Heufelder M, Winter K, Schramm A. Autogenous bone grafts in oral implantology—is it still a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *Int J Implant Dent*. 2017;3(1):2–17.
81. Kumar P, Vinitha B, Fathima G. Bone grafts in dentistry. *J Pharm Bioallied Sci*. 2013;5(SUPPL.1):125–8.
82. Fernández RF, Bucchi C, Navarro P, Beltrán V, Borie E. Bone grafts utilized in dentistry: an analysis of patients’ preferences. *BMC Med Ethics [Internet]*. 2015;16(1):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12910-015-0044-6>

83. Romanos GE, Romanos EB, Alqahtani F, Alqahtani M, Javed F. "Religious Belief": An Undervalued Ethical Inclusion Criterion for Clinical Trials on Bone Grafting Procedures. *J Relig Health* [Internet]. 2019;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s10943-019-00851-5>
84. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *Journal of orthopaedic surgery and research. J Orthop Surg Res* [Internet]. 2014;9(1):1–27. Available from: <https://jorsonline.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1749-799X-9-18>
85. Aloy-Prósper A, Maestre-Ferrin L, Peñarrocha-Oltra D, Peñarrocha-Diago M. Bone regeneration using particulate grafts: An update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(2).
86. Kim HJ, Yu SK, Lee MH, Lee HJ, Kim HJ, Chung CH. Cortical and cancellous bone thickness on the anterior region of alveolar bone in Korean: A study of dentate human cadavers. *J Adv Prosthodont*. 2012;4(3):146–52.
87. Guarnieri R, Di Nardo D, Di Giorgio G, Miccoli G, Testarelli L. Effectiveness of Xenograft and Porcine-Derived Resorbable Membrane in Augmentation of Posterior Extraction Sockets with a Severe Wall Defect. A Radiographic/Tomographic Evaluation. *J Oral Maxillofac Res*. 2019;10(1):1–11.
88. Salgado J, Latorre F. Immediate post-extraction implant and immediate restoration: Surgical and prosthodontic planning. *Rev Clínica Periodoncia, Implantol y Rehabil Oral* [Internet]. 2015;8(3):249–55. Available from: www.elsevier.es/piro
89. Annunziata M, Guida L, Nastri L, Piccirillo A, Sommese L, Napoli C. The Role of Autologous Platelet Concentrates in Alveolar Socket Preservation: A Systematic Review. *Transfus Med Hemotherapy*. 2018;45(3):195–203.
90. Sequeria JP JS. Platelet rich plasma: clinical applications in dentistry. *Sch J Dent Sci*. 2015;2:355–362.
91. Zhou Y XY. The Development of Extracellular Vesicle-Integrated Biomaterials for Bone Regeneration. In: Chun H., Reis R., Motta A., Khang G. (eds) *Biomimicked Biomaterials. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 1250, *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Singapore; 2020. 141–155 p.
92. 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 health care interventions: explanation and elaboration. Vol. 62, *Journal of clinical epidemiology*. 2009. 1–34 p.
93. Higgins JPT GS (editors). *Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones*. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;2020(2):1–639.
 94. Marín-Martínez M, Romero-Cuevas M. Búsqueda de información biomédica. Recursos en la nueva interfaz de PubMed. *Cardiocre*. 2010;45(2):72–8.
 95. Pinillo León AL, Cañedo Andalia R. El MeSH: Una herramienta clave para la búsqueda de información en la base de datos Medline. *Acimed*. 2005;13(2):1–15.
 96. Manterola C, Otzen T. Estudios observacionales. Los diseños utilizados con mayor frecuencia en investigación clínica. *Int J Morphol*. 2014;32(2):634–45.
 97. Cuschieri S. The CONSORT statement. *Saudi J Anaesth*. 2019;13(5):S27–30.
 98. Kilkeny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: The arrive guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010;8(6).
 99. Cartes-Velasquez R, Moraga J. Pautas de chequeo, parte III: STROBE y ARRIVE. *Rev Chil Cir* [Internet]. 2016;68(5):394–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rchic.2015.12.003>
 100. Cobos-Carbó A, Augustovski F. Declaración CONSORT 2010: actualización de la lista de comprobación para informar ensayos clínicos aleatorizados de grupos paralelos. *Med Clin (Barc)*. 2011;137(5):213–5.
 101. Pilipchuk SP, Plonka AB, Monje A, Taut AD, Lanis A, Kang B, et al. Tissue engineering for bone regeneration and osseointegration in the oral cavity. *Dent Mater* [Internet]. 2015;31(4):317–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2015.01.006>
 102. Mason C, Dunnill P. A brief definition of regenerative medicine. *Regen Med*. 2008;3(1):1–5.
 103. Rahmati M, Pennisi CP, Mobasheri A, Mozafari M. Bioengineered scaffolds for stem cell applications in tissue engineering and regenerative medicine. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1107:73–89.
 104. Pitt JM, Kroemer G, Zitvogel L. Extracellular vesicles: Masters of intercellular

- communication and potential clinical interventions. *J Clin Invest.* 2016;126(4):1139–43.
105. M.F. PDG and P. Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy DONALD. *Stem Cells Express.* 2013;8–11.
 106. Heldring N, Mäger I, Wood MJA, Le Blanc K, Andaloussi SEL. Therapeutic Potential of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells and Their Extracellular Vesicles. *Hum Gene Ther.* 2015;26(8):506–17.
 107. Wang Z gang, He Z yi, Liang S, Yang Q, Cheng P, Chen A min. Comprehensive proteomic analysis of exosomes derived from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):1–11.
 108. Stanko P, Altanerova U, Jakubechova J, Repiska V, Altaner C. Dental Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Their Exosomes. *Stem Cells Int.* 2018;2018.
 109. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci.* 2017;125(5):315–37.
 110. Greeshma Thrivikraman, Avathamsa Athirasala, Chelsea Twohig, Sunil Kumar Boda LEB. Biomaterials For Craniofacial Bone Regeneration. *Physiol Behav.* 2016;176(1):139–48.
 111. Enrique Gallegos Nieto, Hugo I. Medellín Castillo DF de L. Análisis del desempeño estructural de andamios de hidroxapatita utilizados en ingeniería tisular. *Ing mecánica, Tecnol y Desarro.* 2013;4(5):185–94.
 112. Polymeri AA, Kodovazenitis GJ, Polymeris AD, Komboli M. Bisphosphonates: Clinical applications and adverse events in dentistry. *Oral Heal Prev Dent.* 2015;13(4):289–99.
 113. Endo Y, Kumamoto H, Nakamura M, Sugawara S, Takano-Yamamoto T, Sasaki K, et al. Underlying mechanisms and therapeutic strategies for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Biol Pharm Bull.* 2017;40(6):739–50.
 114. Watanabe J, Sakai K, Urata Y, Toyama N, Nakamichi E, Hibi H. Extracellular Vesicles of Stem Cells to Prevent BRONJ. *J Dent Res.* 2020;99(5):552–60.
 115. Nauth A, Schemitsch E, Norris B, Nollin Z, Watson JT. Critical-Size Bone Defects: Is There a Consensus for Diagnosis and Treatment? *J Orthop Trauma.* 2018;32(3):S7–11.

116. Takeuchi R, Katagiri W, Endo S, Kobayashi T. Exosomes from conditioned media of bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote bone regeneration by enhancing angiogenesis. *PLoS One*. 2019;14(11):1–19.
117. Liu A, Lin D, Zhao H, Chen L, Cai B, Lin K, et al. Optimized BMSC-derived osteoinductive exosomes immobilized in hierarchical scaffold via lyophilization for bone repair through Bmpr2/Acvr2b competitive receptor-activated Smad pathway. *Biomaterials* [Internet]. 2021;272(March):120718. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120718>
118. Jin Q, Li P, Yuan K, Zhao F, Zhu X, Zhang P, et al. Extracellular vesicles derived from human dental pulp stem cells promote osteogenesis of adipose-derived stem cells via the MAPK pathway. *J Tissue Eng*. 2020;11.
119. Xu J, Wang Y, Hsu CY, Gao Y, Meyers CA, Chang L, et al. Human perivascular stem cell-derived extracellular vesicles mediate bone repair. *Elife*. 2019;8:1–23.
120. Diomedede F, Marconi GD, Fonticoli L, Pizzicanella J, Merciaro I, Bramanti P, et al. Functional relationship between osteogenesis and angiogenesis in tissue regeneration. *Int J Mol Sci*. 2020;21(9).
121. Xu JF, Yang GH, Pan XH, Zhang SJ, Zhao C, Qiu BS, et al. Altered microRNA expression profile in exosomes during osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *PLoS One*. 2014;9(12):1–19.
122. Wei J, Li H, Wang S, Li T, Fan J, Liang X, et al. Let-7 enhances osteogenesis and bone formation while repressing adipogenesis of human stromal/mesenchymal stem cells by regulating HMGA2. *Stem Cells Dev*. 2014;23(13):1452–63.
123. Gegout P-Y, Stutz C, Olson J, Batool F, Petit C, Tenenbaum H, et al. Interests of Exosomes in Bone and Periodontal Regeneration: A Systematic Review. 2020;
124. Tan SHS, Wong JRY, Sim SJY, Tjio CKE, Wong KL, Chew JRJ, et al. Mesenchymal stem cell exosomes in bone regenerative strategies—a systematic review of preclinical studies. *Mater Today Bio* [Internet]. 2020;7:100067. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2020.100067>
125. Ogata K, Osugi M, Kawai T, Wakayama Y, Sakaguchi K, Nakamura S, et al. Secretomes of mesenchymal stem cells induce early bone regeneration by accelerating migration of stem cells. *J Oral Maxillofac Surg, Med Pathol*

[Internet]. 2018;30(5):445–51.
<https://doi.org/10.1016/j.ajoms.2018.04.002>

Available from:

ANEXOS

ANEXO 1: Detalle del registro realizado con pauta ARRIVE para obtener los cálculos porcentuales al evaluar calidad de cada uno de los estudios incluidos.

PAUTA ARRIVE	Takeuchi R, et. al. 2019	Liu L, et. al. 2020	Liu A, et. al. 2021	Watanabe J, et. al. 2020	Jin Q, et. al. 2020	Ogasawara N, et. al. 2020	Xu J, et. al. 2019
1	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1
2	1	1	0,5	0	0	0	0
3a	1	1	1	1	1	1	1
3b	1	0	1	0	0	0	1
4	1	0,5	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1
6a	1	1	1	1	1	1	1
6b	0,5	0,5	0	0	0	0	0,5
6c	1	1	1	1	1	1	1
7a	1	1	1	1	1	1	1
7b	1	1	1	1	1	1	1
7c	1	1	1	1	1	1	1
7d	1	1	1	0,5	1	1	1
8a	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	0,5
8b	1	1	0,5	1	1	1	1
9a	1	0	0	0	0	0	1
9b	1	0	0	0	1	1	1
9c	1	1	0	0	1	1	1
10a	1	1	1	1	1	1	1
10b	0	0	0	0	0	0	0
10c	NA	NA	NA	0	NA	0	NA
11a	0,5	0,5	1	1	1	1	0,5
11b	1	1	0,5	1	0,5	1	1
12	1	1	1	1	0,5	1	1
13a	1	1	1	1	0,5	1	1
13b	1	0	1	1	0,5	NA	1
13c	0	1	1	1	0	0	1

14	0	1	1	0	0,5	0,5	0
15a	1	0	1	1	0,5	1	1
15b	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
16	1	1	0,5	0,5	1	1	1
17a	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA
17b	NA	0,5	NA	NA	NA	NA	NA
18a	1	1	1	1	1	1	1
18b	1	1	1	1	1	1	1
18c	0	1	1	1	1	1	0
19	1	1	1	1	1	1	1
20	1	1	1	1	1	1	1
Puntuación	28,5 de 34	27 de 34	26,5 de 34	24 de 35	25 de 34	26 de 34	28,5 de 34
Porcentaje	83,80%	79,40%	77,90%	68,60%	73,50%	76,40%	83,80%