

# **REVISTA**

# **BIOCIENCIAS**

Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud

**Vol. 17, Núm. 1 (2022)**

## **PRINCIPIOS DE LA REGENERACIÓN TISULAR GUIADA**

**Odobez, A; Riobos González, MF.; Gómez Esteban, J.;**

**Universidad Alfonso X el Sabio**

Facultad de Ciencias de la Salud

Villanueva de la Cañada

# PRINCIPIOS DE LA REGENERACIÓN TISULAR GUIADA

**Odobez, A**

Estudiante Grado de Odontología. UAX

**Riolobos González, MF**

Doctora Profesora Grado en Odontología. Profesora Master de Odontopediatría UAX.

**Gómez Esteban, J**

Profesor Master de Implanto-Prótesis y Periodoncia Dr. Vadillo UAX.

Dirección de correspondencia : M<sup>a</sup> Fe Riolobos González. [mrlogon@uax.es](mailto:mrlogon@uax.es)

## RESUMEN

**Introducción:** La periodontitis es una enfermedad crónica bacteriana que provoca la desinserción de la mucosa adherida de los dientes y conlleva a la formación de defectos óseos. La Regeneración Tisular Guiada (RTG) trata de regenerar el tejido perdido alrededor del diente gracias a la interposición de una membrana en el defecto para fomentar el reclutamiento de las células responsables de la regeneración periodontal.

**Objetivo:** Describir los principios y técnicas actuales de la RTG para poder lograr una regeneración satisfactoria ad integrum del periodonto.

**Material y método:** Se ha realizado una búsqueda con las palabras claves: periodontal guide tissue regeneration, periodontal diseases, oral surgical procedures, periodontal bone loss. Después de haber aplicado los filtros adecuados se han seleccionado 32 artículos.

**Resultados y Discusión:** La RTG convencional puede aplicarse sola, o bien combinarse con otras técnicas como los injertos óseos y/o biomateriales. El objetivo principal de estas técnicas consiste en un aumento del nivel de inserción, disminución de la profundidad de sondaje y estabilización de la zona intervenida a largo plazo. Estos procedimientos han demostrado una eficacia clínica que permite conseguir una mejora en el pronóstico de los dientes a largo plazo, aumentando su supervivencia.

**Conclusión:** No se ha encontrado una técnica que supere a las otras de forma estadísticamente significativa. La variabilidad de estos resultados puede deberse a la falta de seguimiento a largo plazo o a las diferencias intrínsecas del individuo y del defecto.

**PALABRAS CLAVE:** *periodontal guide tissue regeneration, periodontal diseases, oral surgical procedures, periodontal bone loss.*

## ABSTRACT

**Introduction:** Periodontitis is a chronic bacterial disease that causes the detachment of the adherent mucosa of the teeth and leads to the formation of bone defects. Guided Tissue Regeneration (GTR) tries to regenerate the lost tissue around the tooth thanks to the interposition of a membrane in the defect to promote the recruitment of cells responsible for periodontal regeneration.

**Objective:** to describe the principles of GTR in order to achieve a satisfactory ad integrum regeneration of the periodontium.

**Material and method:** A search was carried out with the keywords: periodontal guide tissue regeneration, periodontal diseases, oral surgical procedures, periodontal bone loss. After applying the appropriate filters, 32 items have been selected.

**Results and Discussion:** Conventional GTR can be applied alone, or it can be combined with other techniques such as bone grafts and / or biomaterials. The main objective of these techniques is to increase the level of insertion, decrease the depth of probing and stabilize the intervened area in the long term. These procedures have demonstrated clinical efficacy that allows for an improvement in the long-term prognosis of the teeth, increasing their survival.

**Conclusion:** We have not found a technique that surpasses the others in a statistically significant way. The variability of these results may be due to the lack of long-term follow-up or to the intrinsic differences of the individual and the defect..

**KEY – WORDS:** *periodontal guide tissue regeneration, periodontal diseases, oral surgical procedures, periodontal bone loss.*

## 1. INTRODUCCIÓN.

La periodontitis, enfermedad infecciosa que corresponde a la inflamación del periodonto, conlleva a la formación de defectos alrededor de los dientes. Es posible parar este proceso de destrucción tisular y ósea mediante diversas técnicas. Sin embargo, no permite la recuperación ad integrum de la anatomofisiología del periodonto original.

El objetivo actual de la terapia periodontal es el establecimiento de protocolos que permitan reducir o eliminar la inflamación producida por la microbiota subgingival y la corrección de los defectos anatómicos producidos, y restaurar la estructura y las funciones de los tejidos periodontales perdidos. El concepto de regeneración periodontal pone a nuestra disposición varias técnicas y materiales que buscan lograr la regeneración de los tejidos periodontales y óseos.

### 1.1. La regeneración

En 1986, según Van der Velden U. et al., la reparación periodontal se define como un «proceso biológico a lo largo del cual la continuidad tisular se restablece por neoformaciones tisulares, que no restaura de forma completa la arquitectura y/o la función de los tejidos lesionados». Este proceso de reparación corresponde a la formación de un epitelio de unión largo que permite mantener la continuidad tisular alrededor del diente. Se trata de un tipo de cicatrización natural para conseguir un anclaje tisular, pero no restaura por completo la función, ni la arquitectura del periodonto. La meta será conseguir reproducir un anclaje periodontal sano, y limitar la formación de este epitelio de unión largo. (1-3)

La regeneración se define como «el proceso natural de reemplazar o reparar células, tejidos, órganos o, incluso, partes completas del cuerpo dañados o faltantes para que funcionen completamente en las plantas y los animales», según el National Institute of General Medical Sciences. Asistimos a la recuperación del hueso alveolar y del ligamento periodontal (LPD), con fibras colágenas periodontales del ligamento funcionales que permiten un nuevo anclaje epitelial. Este potencial de regeneración es dependiente de varios factores, como la disponibilidad de células necesarias o los factores de comunicaciones. (3,4) (Figura 1)

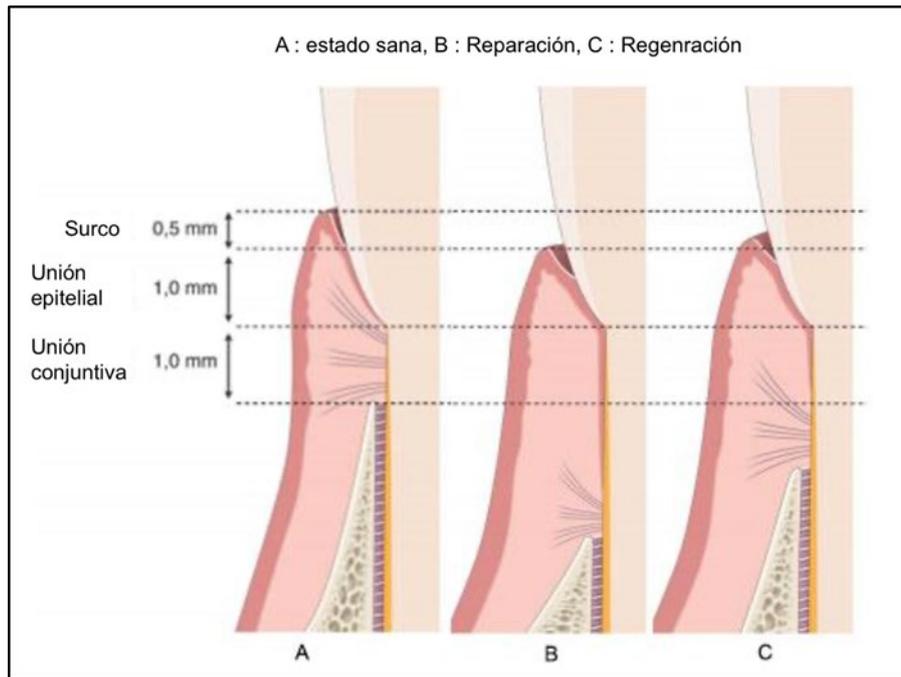


Figura 1. Esquema de los diferentes sistemas de unión cicatricial. (4)

## 1.2.El proceso cicatricial del periodonto y sus principios biológicos

Existen varios factores locales a tener en cuenta para aumentar el éxito del tratamiento como son la anatomía de la lesión, movilidad dentaria, superficie radicular, espesor de la encía; y los factores de conducta como el tabaco, mantenimiento o características del individuo (edad, estrés, carga genética). (5)

Son varios los tipos de células que colonizan una lesión periodontal: queratinocitos, fibroblastos, osteoblastos. Melcher AH. (1976) puso en evidencia que el tipo de anclaje estaba definido por el tipo celular que primero llegaba al sitio de cicatrización. Cada tipo celular tiene su propia cinética de estimulación y migración. En este caso, las células epiteliales son las más rápidas, por esto se forma un epitelio largo de unión. Además, una vez que la superficie radicular ha sido colonizada por las células epiteliales, las fibras de colágeno neoformadas no pueden anclarse sobre el cemento. (6). El LPD y la encía son los únicos tejidos que permiten una regeneración conjuntiva y ósea completa. Sin embargo, su reclutamiento y migración son más lentos. Resulta una competición migratoria entre las células no maduras y las epiteliales. Esta competición es la llave de la técnica de RTG usada el día de hoy para conseguir un nuevo anclaje. (2). El éxito de la regeneración periodontal se basa en seis principios biológicos:

- Histocompatibilidad de las superficies: saneamiento de la superficie dentaria y del colgajo, requisito imprescindible para la cicatrización.
- Exclusión celular: para evitar la invasión del tejido epitelial es necesario colocar una membrana entre los compartimentos celulares.
- Estabilidad del coágulo: muy importante para el buen transcurso de las primeras fases de la cicatrización.
- Mantenimiento del espacio cicatricial: el espacio debe ser suficientemente amplio para la expresión de las células, preservado gracias a una membrana rígida.

- Adhesión del coágulo: modelo de cicatrización por primera intención, basado en el contacto entre la superficie radicular y la superficie epitelio-conjuntival del colgajo.
- Inducción celular: aumentar la selección celular, promoviendo las células con un buen potencial de regeneración gracias a los biomateriales inductores. (7-9)

### **1.3. Los biomateriales**

Según el diccionario de la Real Academia Española, un biomaterial es «un material que el organismo está en condiciones de tolerar».

La membrana como barrera física, previene la pérdida de sustancia e impide a los fibroblastos de penetrar en el defecto óseo, así las células óseas tienen tiempo suficiente para regenerarse. Su papel es mantener el espacio, incrementar la seguridad terapéutica y optimizar la regeneración ósea y tisular. Hoy en día, la membrana ideal no existe. Pero tendemos a tener biomateriales específicos para situaciones clínicas definidas, lo que permite conseguir una regeneración efectiva, estable, idéntica y reproducible, independientemente del operador clínico, y así conseguir resultados predecibles. Sin embargo, en algunas situaciones su empleo puede retrasar la cicatrización, alterar las líneas de sutura o comprometer la zona operatoria. (10)

Gracias a la ingeniería tisular se ha desarrollado un concepto de membranas de 3ª generación. Se trata de membranas con potencial bioactivo. Su clave es la combinación de las funciones de las membranas actuales (efecto barrera) con unos agentes específicos (antibióticos, factores de crecimiento, factores de adhesión) con el fin de mejorar la cicatrización del sitio en el cual intervenimos. (Tabla 1) (11-13)

<b>Membranas de 3<sup>a</sup> generación</b>	<b>Beneficio</b>	<b>Modo de acción</b>
Membranas con actividad antimicrobiana	Evita contaminación de la herida: factor más importante que compromete el éxito del tratamiento. Evita prescripción de antibióticos sistémicos: resultados no predecibles.	Liberación del antibiótico a nivel local con el fin de reducir la carga bacteriana, prevenir la infección y aumentar la unión clínica.
Membranas con fosfato de calcio bioactivo	Mejoría de la bioactividad de la membrana. Diferenciación celular favorecida.	Constituidas de 3 capas: hidroxiapatita nano-carbonatada, colágeno, ácido poli (láctico-co-glicólico). Un lado poroso: permite el crecimiento celular. El otro lado no es poroso: desalienta la adhesión celular.
Membranas con liberación de factores de crecimiento	Regulan la actividad celular Generan estímulos para que las células se diferencien y produzcan una matriz hacia el tejido en desarrollo	Lo ideal sería liberar los factores de crecimiento localmente, siguiendo una cinética específica, con el fin de responder a las necesidades del tejido lesionado.

**Tabla 1.** Membranas de 3<sup>a</sup> generación

La contaminación de la herida representa el factor más importante que compromete el éxito del tratamiento. El operador suele prescribir un antibiótico sistémico antes de la intervención para reducir la contaminación bacteriana y así prevenir la infección. No obstante, los resultados no suelen ser previsibles. Por lo tanto, el desarrollo de membranas con antimicrobianos locales permite reducir la contaminación bacteriana de forma más localizada y segura. Los antibióticos más usados son la amoxicilina o la tetraciclina. Aunque no existe evidencia científica que no justifique el uso de antibióticos en procedimientos de regeneración ósea.

Las membranas con incorporación de fosfato de calcio bioactivo están constituidas de tres capas y contienen: hidroxiapatita nano-carbonatada, colágeno, ácido poliláctico-co-glicólico). Un lado de la membrana es poroso: permite el crecimiento celular; el otro lado no es poroso por lo que no permite la adhesión celular. Se demostró que gracias a la incorporación de estas partículas nanométricas observamos una mejoría de la bioactividad de la membrana y la diferenciación celular se encuentra facilitada. (14,15)

Respecto a las membranas con factores de crecimiento, estos regulan la actividad celular, generando estímulos para que las células se diferencien y produzcan una matriz hacia el tejido en desarrollo; tienen un papel esencial en el proceso de curación y formación de los tejidos. Sin embargo, el uso sistemático de los factores de crecimiento para contribuir a la regeneración periodontal no se puede aplicar siempre. El modo de liberación de los factores y los requisitos para manejar la regeneración dificultan el uso práctico de estos factores de crecimiento. Es muy improbable que un solo factor exógeno sea capaz de asegurar de forma eficaz la mediación de todos los aspectos necesarios a la reparación y regeneración tisular. Además, la forma en la cual los factores son liberados es esencial. Deben ser liberados localmente siguiendo una cinética específica con el fin de responder a las necesidades del tejido lesionado. (11)

En lo relativo al **biomaterial ideal**, en 1993, Scantlebury TV estableció cinco criterios esenciales para la elaboración de una membrana ideal: biocompatibilidad, función oclusiva celular, manejabilidad, mantenimiento del espacio tridimensional para el espacio cicatrizal e integración tisular. Respecto a los injertos óseos, nos permiten rellenar un espacio donde falta hueso. Su papel es soportar la membrana para evitar su colapso, estimular el crecimiento óseo, actuar como andamio y proporcionar protección mecánica frente a la presión ejercida por los tejidos blandos. (12,16)

#### **1.4. Condiciones de éxito de la RTG y técnicas operatorias**

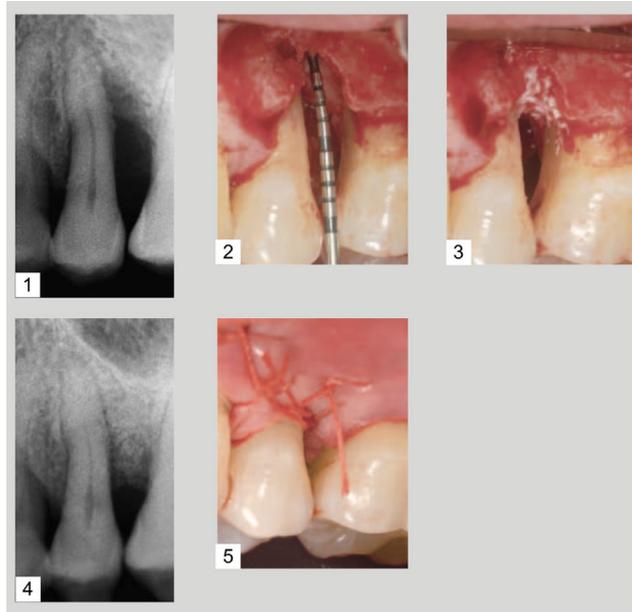
Para realizar una RTG exitosa es imprescindible tener la enfermedad periodontal controlada. (17)

La cirugía convencional periodontal ha sido muy utilizada para tratar las bolsas periodontales con el fin de reducir su profundidad y conseguir una ganancia del nivel de inserción clínica (CAL). El abordaje convencional de los defectos intraóseos consiste en realizar un colgajo de acceso con desbridamiento (Kirkland, 1931), o bien el colgajo de Widman modificado (Ramfjord y Nissle, 1974). Lo que diferencia estos colgajos de los utilizados en cirugía regenerativa del periodonto es que su objetivo primario no es la preservación de los tejidos interproximales. La conservación de los tejidos blandos interproximales es esencial para lograr una buena regeneración periodontal con un cierre primario de la herida. Hablamos de “cirugía conservadora” cuando la meta del procedimiento es facilitar un acceso a la superficie radicular del diente para conseguir la eliminación de la placa y tejido de granulación sin que sea necesario seccionar los tejidos blandos. (18,19)

En 1985, Takei et al. propusieron el primer diseño de colgajo que logra conservar los tejidos blandos interproximales y a la vez obtener el máximo recubrimiento de tejidos blandos al acabar la intervención: la “técnica de preservación de la papila” (PPT). (20)

Estos últimos años los profesionales periodoncistas han intentado desarrollar técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas específicas para los tratamientos periodontales regenerativos con el fin de mejorar los resultados funcionales y estéticos. Dentro de estos colgajos destacamos: la “Técnica Modificada de Preservación de la Papila” (MPPT), la “Técnica Simplificada de Preservación de Papila” (SPPT), y la técnica “Single Flap Approach” (SFA). (19-25)

Pero para conseguir una regeneración ad integrum satisfactoria del periodonto es imprescindible seguir unos pasos secuenciales: un colgajo de espesor total con un diseño preciso, una correcta disposición del material de relleno, un cierre exitoso de la herida, y un excelente control postoperatorio del nivel de placa. (7) (Figura 2)



**Figura 2.** Aplicación de una membrana de colágeno (Bio-Gide®) soportada por hidroxiapatita bovina (Bio-Oss®) (1: Radiografía preoperatoria. 2: Defecto ancho principalmente de una pared de 7 mm de profundidad. 3: Aplicación de xenoinjerto bovino. 4: Aplicación de membrana reabsorbible de colágeno. 5: Sutura.).(26)de los diferentes sistemas de unión cicatricial. (4)

## 2. OBJETIVOS

1. Analizar las técnicas de regeneración tisular guiada existentes en la actualidad

Esta revisión bibliográfica se basa en el análisis de las técnicas de regeneración tisular guiada más exitosas, así como los materiales óptimos, con el fin de conseguir una disminución de la profundidad de sondaje y una ganancia del nivel de inserción para asegurar la supervivencia a largo plazo de los dientes con enfermedad periodontal. Se ha analizado si la regeneración ad integrum del periodonto se puede lograr con las técnicas actuales de regeneración tisular.

## 3. MATERIAL Y MÉTODO

En esta revisión bibliográfica se ha realizado la búsqueda de artículos publicados entre los años 2016-2021, incluyendo referencias más antiguas como base científica en relación con el tema estudiado, en PubMed, Dentistry & Oral Science Source y Scielo. Para argumentar esta revisión se ha formulado la estrategia “PICO”:

- P (pacientes): periodontitis moderada o severa con defectos infraóseos verticales.
- I (intervención): tratar los defectos periodontales con técnicas de regeneración tisular y ósea guiada.

- C (comparación): alternativas de tratamientos, terapia conocida o terapia innovadora.
- O (resultados): las variables consideradas fueron la disminución de la profundidad de sondaje (“PD reduction”), la ganancia del nivel de inserción (“CAL gain”), y la neoformación ósea (“Bone gain”).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1. RTG vs colgajo de acceso (access flap (AF))

Rakmanee et al. (2016) realizaron un estudio para comparar la eficacia del colgajo de acceso (AF) con o sin RTG. En ambos tratamientos se notó una mejora significativa de los defectos tratados. A los 6 meses no había diferencia significativa entre los dos grupos. Mientras que a los 12 meses, se realizó un control radiográfico, y se observó una mejora significativa en la zona donde se colocó una membrana después de haber realizado el desbridamiento. La importancia de este estudio reside en el hecho de que la evaluación de un defecto periodontal tratado con RTG debe realizarse a los 12 meses de la intervención quirúrgica para constatar los beneficios completos de esta técnica. (27)

Tortolini et al. (2017) realizaron un ensayo clínico para comparar los resultados a largo plazo (20 años) y los costes de tres técnicas periodontales con el fin de tratar defectos intraóseos. El grupo 1 recibió una intervención periodontal de técnica de preservación de la papila modificada con membranas de politetrafluoroetileno expandido reforzado con titanio. En el grupo 2 realizaron un AF y usaron membranas de politetrafluoroetileno expandido. Y en el grupo 3 solo se hizo un AF. Los tres grupos recibieron una atención periodontal de apoyo durante 20 años. A los 20 años, la zona tratada del grupo 3 mostró una mayor pérdida de inserción clínica CAL en comparación con los grupos 1 y 2 que habían recibido una terapia regenerativa. Se registraron episodios de recurrencias en los tres grupos pero con diferencias según el tipo de técnica empleada: 5 recurrencias en el grupo 1; 6 recurrencias en el grupo 2; y 15 recurrencias en el grupo 3. Se correlacionó el número de recurrencias con la profundidad de la bolsa residual al año. Concluyeron que las técnicas de RTG proporcionaban mejores resultados a largo plazo que el AF solo. Aunque la RTG supone un coste inicial mayor que un AF solo, el número de recidivas en caso de AF sólo implica unos gastos de re-intervención despreciables. Señalaron que es necesario extender estas observaciones a grupos más amplios para obtener conclusiones más relevantes en cuanto a las diferencias de coste de estos tipos de intervenciones. (28)

### 4.2. RTG

Aslan et al. (2017) analizaron los resultados clínicos de una nueva técnica quirúrgica en forma de túnel en el tratamiento de defectos intraóseos interproximales profundos aislados. Se realizó un tratamiento periodontal regenerativo con técnica de preservación de la papila (EPP). Después de un año, hubo una ganancia de inserción significativa de  $6,83 \pm 2,51$  mm. La reducción de la PS también fue significativa ( $p < 0,001$ ), reducción de  $7 \pm 2,8$  mm. Concluyeron que la técnica EPP tipo túnel permite limitar el riesgo de fallo de la herida, sobre todo en la fase de cicatrización temprana, se evita la exposición de biomateriales regenerativos, y posiblemente se mejora la estabilización del coágulo sanguíneo, lo que nos conduce a conseguir resultados clínicos óptimos. (29)

Nibali et al. (2018) evaluaron la estabilidad a lo largo del tiempo de defectos intraóseos periodontales tratados con terapia no quirúrgica mínimamente invasiva (MINST) y terapia periodontal de apoyo. Se realizó un análisis clínico y radiográfico de 21 defectos. Los pacientes han sido tratados con MINST seguido de una terapia periodontal de apoyo durante 5 años. Se observaron mejoras clínicas y radiográficas en los defectos intraóseos después de la técnica MINST, que se mantuvieron estables hasta los 5 años, lo que nos indica que la terapia periodontal de apoyo resulta eficaz para conseguir buenos resultados a largo plazo. (30)

Rattanasuwan et al. (2017) realizaron un estudio en 89 pacientes, con el objetivo de estudiar los resultados a largo plazo de la RTG, analizando la supervivencia de los dientes en boca y su nivel de inserción clínica (CAL). Concluyeron que la pérdida de dientes se asociaba significativamente a algunos factores, como el consumo de tabaco, el no-cumplimiento por parte del paciente de las recomendaciones de mantenimiento periodontal, y la profundidad del defecto después de haber recibido la cirugía. A pesar de ello no se encontró una relación estadísticamente significativa entre estos factores y la pérdida del nivel de inserción clínica. (31)

#### **4.3. RTG vs RTG + injerto óseo**

Saini et al. (2020) realizaron un estudio basado en el fundamento biológico de la regeneración, es decir, la regeneración no solo se basa en la incorporación del material regenerativo, sino que también toma en cuenta la capacidad de reparación inherente del defecto. El estudio se llevó a cabo para evaluar la eficacia de la penetración intramural realizada con aloinjerto óseo liofilizado desmineralizado (DFDBA) en el tratamiento de los defectos intraóseos. La ganancia del CAL y la disminución de la PS resultó ser estadísticamente significativa mayor en el grupo experimental que recibió el DFDBA. Por ello pudieron concluir que, durante una terapia regenerativa, la penetración intramural con DFDBA mejoró el potencial de reparación de los defectos intraóseos periodontales, tanto a nivel clínico como radiográfico. (32) (Figura 3)

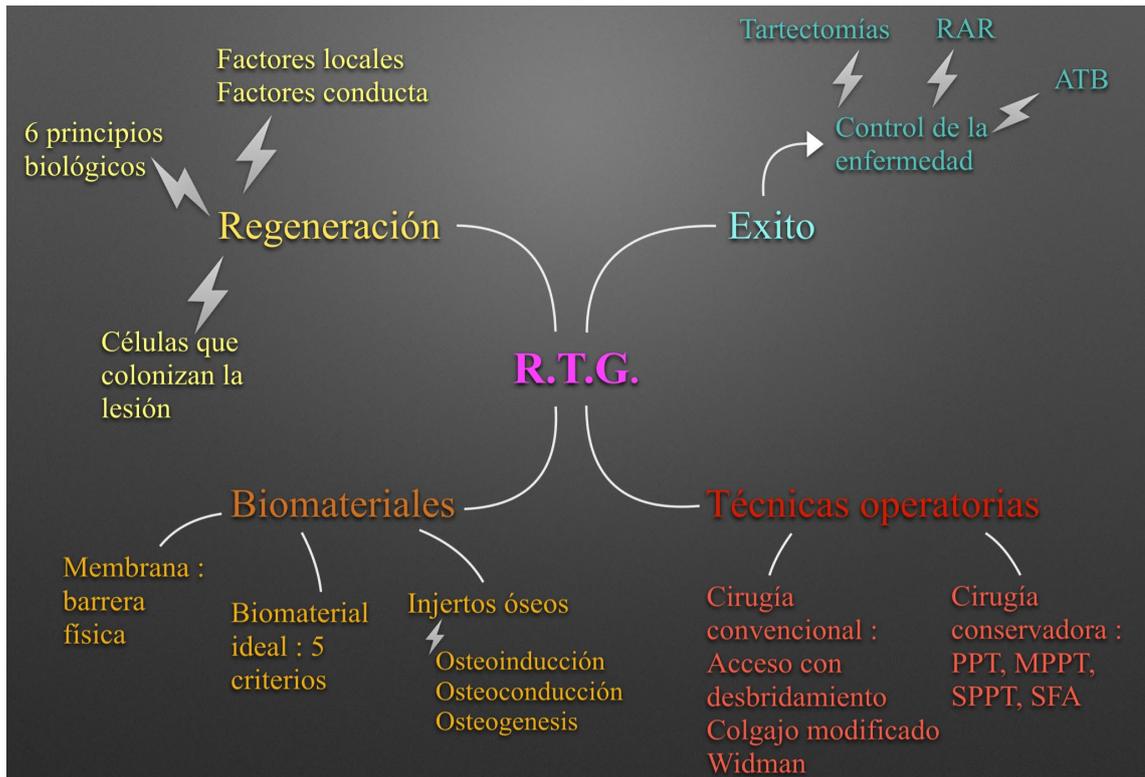


Figura 3. Esquema de protocolos en Regeneración Tisular Guiada

## 5. CONCLUSIONES

1. Los resultados analizados en este trabajo nos permiten concluir que la regeneración del periodonto se puede lograr de manera satisfactoria con el uso de terapias regenerativas. Aunque los resultados obtenidos con las terapias periodontales son bastante predecibles, su éxito está relacionado con determinados factores asociados como el tipo de defecto, técnica empleada, aplicación de suturas pasivas adecuadas y mantenimiento de la higiene bucal por parte del paciente, entre otros.

Existe una amplia variedad de técnicas regenerativas que permiten el mantenimiento de los dientes en boca pero no se puede señalar claramente una técnica que supere a las demás, aunque se observan diferencias significativas entre algunas técnicas. Se encontraron resultados prometedores con la adición de biomateriales en las terapias regenerativas. Sin embargo, las investigaciones sobre este tema requieren de seguimiento para observar los resultados a largo plazo. ha evolucionado de una forma exponencial, desde las primeras imágenes analógicas del siglo pasado, hasta nuestros días, con técnicas profesionales con resultados en 3D, que se aproximan a la realidad virtual.

## 6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Van der Velden U, Abbas F, Winkel EG. Probing considerations in relation to susceptibility to periodontal breakdown. *J Clin Periodontol* 1986;13:894-9.
2. Zeng W, Ning Y, Huang X. Advanced technologies in periodontal tissue regeneration based on stem cells: Current status and future perspectives. *J Dent Sci* 2021;16(1):501-7.
3. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjö UME. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol* 2006;41:30-47.
4. Bartold PM, Shi S, Gronthos S. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontol* 2006;40:164-72.
5. Patel RA, Wilson RF, Palmer RM. The effect of smoking on periodontal bone regeneration: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2012;83(2):143-55.
6. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol*. 1976;47(5):256-60.
7. Laurell L, Bose M, Graziani F, Tonetti M, Berglundh T. The structure of periodontal tissues formed following guided tissue regeneration therapy of intra-bony defects in the monkey. *J Clin Periodontol* 2006;33(8):596-603.
8. Cortellini, P., Stalpers, G., Mollo, A. and Tonetti, M.S. Periodontal regeneration versus extraction and prosthetic replacement of teeth severely compromised by attachment loss to the apex: 5-year results of an ongoing randomized clinical trial. *J of Clin Periodontol* 2011, 38: 915-24.
9. Cortellini, P. and Tonetti, M.S. Clinical concepts for regenerative therapy in intrabony defects. *Periodontol* 2000. 2015;68:282-307.
10. Zhang Y, Zhang X, Shi B, Miron RJ. Membranes of guided tissue and bone regeneration. *Oral Surgery & Medicine* 2013;1(1):1-10.
11. Sam G, Baiju RM. Evolution of Barrier Membranes in Periodontal Regeneration-“Are the third Generation Membranes really here?”. *JCDR* 2014;8:14-7.
12. Scantlebury TV. 1982-1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1993 -11;64(11 Suppl):1129-37.
13. Ausenda F, Rasperini G, Acunzo R, Gorbunkova A, Pagni G. New Perspectives in the Use of Biomaterials for Periodontal Regeneration. *Materials*. 2019;12(13):2197.
14. Zucchelli G, Mazzotti C, Tirone F, Mele M, Bellone P, Mounssif I. The connective tissue graft wall technique and enamel matrix derivative to improve root coverage and clinical attachment levels in Miller Class IV gingival recession. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2014 Sep-Oct;34(5):601-9.
15. Venkatesan N, Lavu V, Balaji SK. Venkatesan N, et al. Eficacia clínica de la membrana amniótica con fosfato cálcico bifásico en la regeneración tisular guiada de defectos intraóseos: ensayo clínico controlado aleatorizado. *Biomater Res* 2021;25(1):15. doi: 10.1186 / s40824-021-00217-7.
16. Tortolini P, Rubio S. Diferentes alternativas de rellenos óseos. *Avances en periodoncia e implantología oral* 2012; Dec:24(3):133-38.
17. Antoun H, Karouni M, Sojod B. La régénération osseuse guidée: résultats, limites et perspectives. *AOS*. 2013;261:11-21.
18. Trombelli L. Which reconstructive procedures are effective for treating the periodontal intraosseous defect? *Periodontology* 2000. 2005;37:8-105.

19. Graziani F, Gennai S, Cei S, Cairo F, Baggiani A, Miccoli M, et al. Clinical performance of access flap surgery in the treatment of the intrabony defect. A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Clin Periodontol.* 2012;39:145-56.
20. Lindhe J, Karring P, Lang N. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica.* 5th ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2009.
21. Farina R, Simonelli A, Rizzi A, Pramstraller M, Cucchi A, Trombelli L. Early postoperative healing following buccal single flap approach to access intraosseous periodontal defects. *Clin Oral Invest.* 2013;17:1573-83.
22. Takei HH, Han TJ, Carranza FA Jr, Kenney EB, Lekovic V. Flap technique for periodontal bone implants. Papilla preservation technique. *J Periodontol.* 1985;56(4):204-10.
23. Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS. The modified papilla preservation technique. A new surgical approach for interproximal regenerative procedures. *J Periodontol.* 1995;66(4):261-6.
24. Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS. The simplified papilla preservation flap. A novel surgical approach for the management of soft tissues in regenerative procedures. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999 Dec;19(6):589-99.
25. Cortellini P, Tonetti MS. A minimally invasive surgical technique with an enamel matrix derivative in the regenerative treatment of intra-bony defects: a novel approach to limit morbidity. *J Clin Periodontol.* 2007;34(1):87-93.
26. Liñares A, Franch F, Guerrero A. Factores modificadores de la respuesta clínica en el tratamiento periodontal regenerativo de defectos intraóseos. *Periodoncia: Revista Oficial de la Sociedad Española de Periodoncia.* 2008;18(2):91-100.
27. Rakmanee T, Griffiths GS, Auplish G, Darbar U, Petrie A, Olsen I, et al. Radiographic outcomes following treatment of intrabony defect with guided tissue regeneration in aggressive periodontitis. *Clin Oral Investig* 2016;20(6):1227-35.
28. Tortolini P, Rubio S. Diferentes alternativas de rellenos óseos. *Avances en periodoncia e implantología oral* 2012; Dec;24(3):133-8.
29. Aslan S, Buduneli N, Cortellini P. Entire papilla preservation technique in the regenerative treatment of deep intrabony defects: 1-Year results. *J Clin Periodontol* 2017 -09;44(9):926-32.
30. Nibali L, Yeh Y, Pometti D, Tu Y. Long-term stability of intrabony defects treated with minimally invasive non-surgical therapy. *J Clin Periodontol* 2018;45(12):1458-1464.
31. Rattanasuwan K, Lertsukprasert K, Rassameemasmaung S, Komoltri C. Long-term outcome following regenerative periodontal treatment of intrabony defects. *Odontology* 2017;105(2):191-201.
32. Saini AK, Tewari S, Narula SC, Sharma RK, Tanwar N, Sangwan A. Comparative clinical and radiographic evaluation of demineralized freeze-dried bone allograft with and without decortication in the treatment of periodontal intrabony defects: a randomized controlled clinical study. *Quintessence Int* 2020;51(10):822-37.