



EFICACIA DE LA MEMBRANA TESTÁCEA DE HUEVO DE GALLINA COMO BIOMATERIAL DE BARRERA EN COMPARACIÓN DE LA MEMBRANA LUMINA - COAT EN RATAS WISTAR

Efficacy of the chicken egg testis membrane as a barrier biomaterial compared to the Lumina - Coat membrane in Wistar rats

Baldárrago Zevallos Stephany K.^{*1} - <https://orcid.org/0000-0002-5857-9217>

Portilla Miranda Serey Doris¹ - <https://orcid.org/0000-0002-1403-715X>

¹ Carrera de Odontología, Universidad Católica de Santa María de Arequipa, 04200 Arequipa, Perú

* crisalida262@hotmail.com

RESUMEN

Objetivo: fue comparar la membrana testácea de huevo de gallina cumple con los requisitos necesarios como biomaterial de barrera y compararla con la Membrana Lumina Coat (Criteria) que es una membrana comercial. Materiales y métodos: la membrana testácea se obtuvo utilizando 4 huevos de gallina de 21 gr. los cuales fueron lavados y sancochados por 5 minutos para desinfectarlos para poder desprender la membrana de la cáscara sin que tenga restos de clara, una vez obtenida la membrana, se procedió a cortarla en trozos de 1cm² y fueron colocadas en frascos estériles que contenían suero fisiológico. Se utilizaron ratas hembras Wistar (*Rattusnorvegicus* Albino) de 3 a 4 meses con 200 y 270 gr. de peso. Los animales fueron alojados en el bioterio de la Universidad Católica de Santa María en condiciones de clima y temperatura controlada, consumieron una misma dieta. **Resultados:** el porcentaje del área inflamada y osteolítica a la prueba de ANOVA unidireccional reporta una diferencia muy significativa entre los grupos con un valor $p < 0,0001$. La prueba de comparaciones múltiples de Tukey, reporta una gran diferencia significativa entre la muestra cruda y las membranas testácea ($p < 0,0001$) y Criteria ($p < 0,0001$), siendo que la muestra cruda presenta menor cantidad de zona inflamada y osteolítica. Así mismo, entre la membrana testácea y Criteria, reporta que hubo una gran zona inflamada y osteolítica en la membrana Criteria en comparación con la membrana testácea con un valor $p < 0,0001$.

Palabras clave: Membrana testácea; Respuesta Inflamatoria; Osteolítico; Biocompatibilidad.

ABSTRACT

Objective: to compare the chicken egg testaceous membrane with the requirements as a barrier biomaterial and to compare it with the Lumina Coat membrane, which is a commercial membrane. Materials and methods: the testaceous membrane was obtained using 4 hen eggs of 21 gr. which were washed and boiled for 5 minutes to disinfect them in order to detach the membrane from the shell without any remains of egg white. Once the membrane was obtained, it was cut into 1cm² pieces and placed in sterile bottles containing physiological saline solution. Female Wistar rats (*Rattusnorvegicus* Albino) from 3 to 4 months old weighing 200 and 270 g were used. The animals were housed in the biotherium of the Catholic University of Santa Maria in climate and temperature controlled conditions, and consumed the same diet. **Results:** the percentage of the inflamed and osteolytic area to the one-way ANOVA test reports a highly significant difference between groups with a p-value < 0.0001 . The Tukey's multiple comparisons test reports a significant difference between the raw sample and the testaceous ($p < 0.0001$) and Criteria ($p < 0.0001$) membranes, with the raw sample presenting a lower amount of inflamed and osteolytic area. Likewise, between the testaceous and Criteria membranes, it reports that there was a large inflamed and osteolytic zone in the Criteria membrane compared to the testaceous membrane with a p-value < 0.0001 .

Key words: Testacean membrane; Inflammatory Response; Osteolytic; Biocompatibility.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales consisten en una variedad de condiciones que dañan las estructuras de soporte dentario. Las enfermedades gingivales generan cambios patológicos en la encía, principalmente una respuesta inflamatoria en los tejidos ante la irritación de las bacterias que forman la placa bacteriana. Sin embargo, estos cambios son reversibles una vez que la etiología es eliminada. La enfermedad periodontal o periodontitis es la progresión de la gingivitis hasta el punto que existe una destrucción en los tejidos de soporte causando así que los dientes se aflojen o se lleguen a perder.

El hueso es uno de los pocos tejidos capaz de regenerarse de forma natural, esto a respuesta de las numerosas microfracturas; en algunos casos es necesario la intervención médica y utilización de biomateriales con el fin de lograr regenerar el defecto óseo causado.¹

Los biomateriales son materiales sintéticos o naturales creados para reemplazar o reparar un defecto óseo cumpliendo así la biocompatibilidad, biofuncionabilidad, respuesta corrosiva y propiedades fisicoquímicas para el tejido remplazado. Tenemos varios tipos de biomateriales como el aloinjerto, xenoinjerto, autoinjerto y los aloplásticos.^{2,3}

Se ha observado en diferentes investigaciones que el colágeno ha sido utilizado en este tipo de intervenciones debido a su biocompatibilidad y capacidad para promover la cicatrización. Su función es mecánica y de soporte, y constituye un componente importante de la matriz extracelular. En los tejidos humanos se conocen alrededor de 16 tipos de colágeno diferentes; aunque los más abundantes y los más estudiados son los de tipo I (presentes en el hueso), también se reconocen los de tipo II (presente en el cartílago hialino) y los de tipo III (presentes en la piel).⁴⁻⁶

Para regeneración periodontal, se suele usar el tipo I. La mayoría de las membranas de colágeno que están ahora en uso, son derivados de procesos bovinos, porcinos y dura madre humana.

El presente trabajo da a conocer la efectividad de la membrana testácea utilizada en ratas Wistar hembras dando a conocer la efectividad de esta membrana para de esta forma poder utilizarla en pacientes que no puedan acceder a pagar tratamientos de altos costos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue no observacional, in-vitro. El diseño experimental estuvo conformado por 10 animales de experimentación. Las unidades de estudio fueron separadas al azar, por sorteo, para conformar dos grupos, uno para la utilización de la membrana testácea y otro para la utilización de la membrana Lumina Coat.

Para obtener la membrana testácea se utilizaron 4 huevos de gallina de 21 gr. los cuales fueron lavados y sancochados por 5 minutos para desinfectarlos y poder desprender la membrana de la cáscara sin que tenga restos de clara de huevo, una vez obtenida la membrana se procedió a cortarla en trozos de 1cm² y fueron colocadas en frascos estériles que contenían suero fisiológico.

Se utilizaron ratas hembras Wistar (*Rattus norvegicus* Albino) de 3 a 4 meses y un peso de entre 200 a 270 gr. Los animales fueron alojados en el bioterio de la Universidad Católica de Santa María en condiciones de clima y temperatura controlada, fueron alimentados con una misma comida.

Para la aplicación de la membrana testácea, los animales fueron anestesiados por infiltración con pentotal. Las zonas correspondientes a la parte craneal de la rata fueron depiladas y desinfectadas con solución de yodopovidona. Se efectuó una incisión de 3 cm, con hoja de bisturí N° 15 hasta llegar a hueso, posteriormente se utilizó la fresa trefina para causar el defecto óseo y así poder colocar la membrana testácea y la membrana Lumina Coat. Luego se procedió a suturar y marcar las unidades de estudio con violeta genciana para identificarlas. El material utilizado para las suturas fue seda 4/0. Las ratas fueron sacrificadas por sobredosis de anestésico a los 60 días después de la implantación.

Estudio Histológico

Las biopsias fueron incluidas en formol al 10% luego fueron fijadas en parafina 1 y parafina 2. Se realizaron cortes con micrótopo de 6 µm de espesor. Los cortes fueron teñidos con Hematoxilina - Eosina, posteriormente, 3 secciones pertenecientes a las áreas centrales de cada muestra se analizaron en diferentes aumentos con un microscopio de luz (Ultraphot, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania) equipado con una cámara digital (Canon Powershot A510)

Se observó la presencia de alteraciones vasculares, infiltrado inflamatorio presencia macrófagos, linfocitos y plasmocitos, así como la presencia de eosinófilos y células multinucleadas, células gigantes, se evaluó en todos los periodos de evaluación. (Figura 1)

Estas fueron las respuestas inflamatorias de acuerdo con los siguientes criterios:

- 0 (sin reacción): ausencia de células inflamato-

rias.

- + (Reacción leve): presencia de inflamación crónica leve infiltrar, o pocos eosinófilos o células gigantes.
- ++ (Reacción moderada): presencia de moderada inflamatoria crónica infiltrar, o algunos eosinófilos o células gigantes.
- +++ (Reacción severa): presencia de un intenso infiltrado inflamatorio crónico, gran número de eosinófilos o células gigantes.

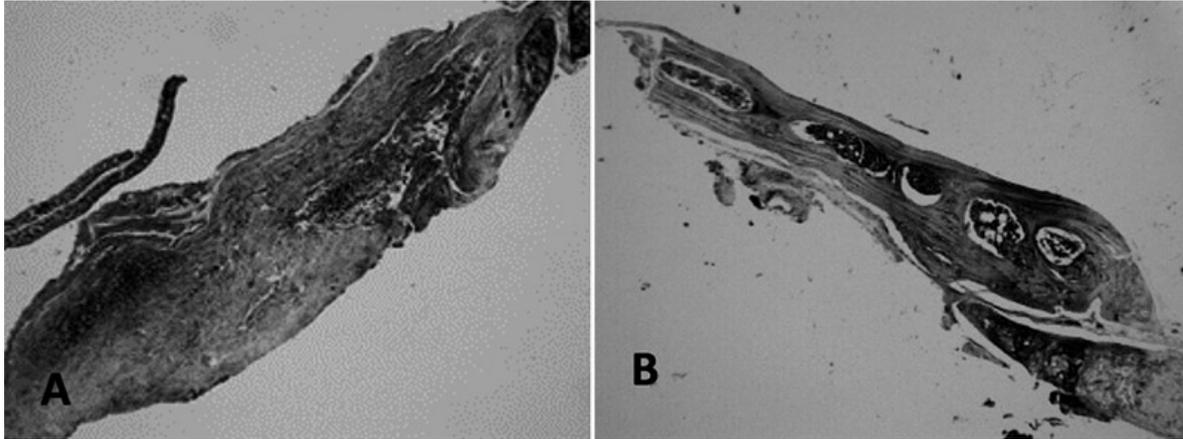


Tabla 1. Corte histológico. A. Membrana testácea; B. Membrana Lumina Coat.

Análisis estadístico

Para establecer la relación del área inflamada y osteolítica se usó la prueba ANOVA unidireccional y para las comparaciones múltiples se usó la prueba de Tukey. La decisión de la relación fue tomada con una consideración del 1% ($p < 0,001$). El procesamiento de la información, así como los gráficos se ejecutó en el programa SPSS (en inglés Statistical Package for the Social Sciences) versión 23.0 y la edición de tablas fue en Microsoft Excel.

RESULTADOS

En la determinación del porcentaje del área inflamada y osteolítica se reportó una diferencia significativa entre los grupos ($p < 0,0001$). (Figura 2) La prueba de comparaciones múltiples post hoc de Tukey, reportó una gran diferencia significativa entre la membrana testácea ($p < 0,0001$) y Criterias ($p < 0,0001$), siendo que la muestra de la membrana testácea presenta menor cantidad de zona inflamada y osteolítica. Así mismo, en la membrana Criterias, reporta que hubo una gran zona inflamada y osteolítica en comparación con la membrana testácea con un valor $p < 0,0001$. (Tabla 1)

Área inflamada y osteolítica

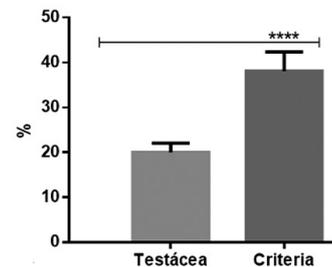


Figura 2. Comparación del área inflamada y osteolítica de la membrana testácea y la membrana Lumina Coat.

En la figura 2, muestra que la membrana Criterias posee la mayor cantidad de área inflamada y osteolítica en comparación con la membrana testácea ($p < 0,0001$).

Tabla 1. Diferencias de la membrana testácea con la membrana Lumina Coat.

	Testácea	Criterias
n	20	20
Media	20	38,1
Desviación E	2,055	4.306
Error E	0,6498	1,362
Anova		
P		
F		
Tukey	p	Simbología
Testácea-Criterias	<0,0001	****

**** $p < 0,0001$

DISCUSIÓN

En la práctica diaria se ha visto que es necesario dar diversas alternativas a los pacientes, es por eso que se han desarrollado numerosos e innovadores productos biocompatibles para favorecer la regeneración ósea en diversas patologías y esta sea accesible para con el paciente.⁷⁻¹⁰

Es así como la membrana de cáscara de huevo se convierte en un interesante y prometedor biomaterial para ser usada con estos fines, ya que posee muchas ventajas, entre ellas, ser muy disponible, biocompatible y obteniéndose a bajo costo. Además, se ha evidenciado que el colágeno tipo X presente en la membrana de cáscara de huevo, es capaz de inhibir la mineralización, formando áreas protegidas del depósito mineral y por lo tanto actuaría favoreciendo la regeneración ósea.¹¹⁻¹³

Diversos autores han investigado y comparado la regeneración ósea con membrana de colágeno, así como han demostrado que las células de diversos orígenes son capaces de rellenar las superficies con diferente tipo de membrana de barrera y dando como resultado positivo una regeneración ósea.¹²⁻¹⁵

Por lo tanto, la membrana testácea como biomaterial de barrera nos demuestra una menor cantidad inflamatoria y osteolítica que la membrana Critería favoreciendo de esta manera la regeneración y la membrana Lumina Coat como biomaterial de barrera nos demuestra que cumple con los requisitos que necesita tener la membrana para ser utilizado como biomaterial de barrera.

CONCLUSIONES

Se demuestra que la membrana testácea de huevo de gallina es competente como la membrana Lumina Coat ya que cumplen los requisitos que debe tener una membrana, pero se necesita más investigaciones para determinar su uso en humanos.

Conflicto de interés: Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

1. González A. Efecto de la implantación de membrana de cáscara de huevo en la regeneración de huesos largos [Tesis de grado]. Repositorio Universidad de Chile. [Internet]. 2007: [aprox. 76 p.]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/132153>
2. Peral Cagigal B., Redondo González L.M., Verrier Hernández A., Serrat Soto A., Torres Nieto M.Á., Vaquero Puerta C.. Estudio experimental sobre la regeneración ósea mandibular de la rata con diferentes biomateriales. Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac [Internet]. 2008; 30(5): 313-323.- Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-05582008000500001&lng=es.
3. Bernaldes D, Caride, Lewis A, Martin L. Membranas de colágeno polimerizado: consideraciones sobre su uso en técnicas de regeneración tisular y ósea guiadas. Rev Cubana Invest. Biomed. [Internet]. 2004;23(2):65-74. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000200001&lng=es.
4. Ríos F. Fundamentos de los procedimientos de regeneración: regeneración tisular guiada, regeneración ósea guiada [Tesis de posgrado]. Repositorio Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018:[aprox. 53 p.] Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2980>
5. Barroeta A, Sastre R, Tortuero F, Suárez G, Vergara G, López C. Formación del huevo. 1a ed..Madrid: Instituto de Estudios del Huevo;2002.
6. Arias J, Fernández M. La cáscara del huevo: un compartimiento acelular compuesto de matriz extracelular mineralizada. [Tesis de grado]. Repositorio de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile; 1989, 11(2). [aprox. 40 p.] Disponible en: <https://revistas.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/4946/4830>
7. Wong M, Hendrix M, von der Mark K, Little C, Sterns R. Collagen in the egg shell membranes of the hen. Dev Biol. [Internet]; 1984,104(1):28-36. Doi: 10.1016/0012-1606(84)90033-2.
8. Bartee B. The use of high-density polytetrafluoroethylene membrane to treat osseous defects: clinical reports. Implant Dent. Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model

1995; 4(1):21-26.
10.1097/00008505-199504000-00004.

Doi: **Recibido:** 12 enero 2022
Aceptado: 13 diciembre 2022

9. Miller N, Penaud J, Foliguet B, Membre H, Amhrosini P, Plombas M. Resorption rates of 2 commercially available bioresorbable membranes. A histomorphometric study in a rabbit model. *J Clin Periodontol.* [Internet]; 1996; 23 (12): 1051-1059. Disponible en: 10.1111/j.1600-051x.1996.tb01803.x.
10. Simion M, Trisi P, Maglione M, Piattelli A. A preliminary report on a method for studying the permeability of expanded polytetrafluoroethylene membrane to bacteria in vitro: a scanning electron microscopic and histological study. *J Periodontol.* [Internet]; 1994; 65(8): 755-761. Doi: 10.1902/jop.1994.65.8.755.
11. Rothamel D, Schwarz F, Fienitz T, Smeets R, Dreiseidler T, Ritter L, Happe A, Zoller J. Biocompatibility and biodegradation of a native porcine pericardium membrane: results of in vitro and in vivo examinations. *Int J Oral Maxillofac Implants.* [Internet]; 2012; 27(1): 146-154. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22299091/>
12. Jung R, Kokovic V, Jurisic M, Yaman D, Subramani K, Weber F. Guided bone regeneration with a synthetic biodegradable membrane: a comparative study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* [Internet]; 2011; 22(8): 802-807. Doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.02068.x.
13. Portilla S. Eficacia de la membrana testácea como barrera física en la invasión de tejido epiteliocnectivo, regeneración ósea y reabsorción de ésta, en animales de experimentación, UCSM, Arequipa, 2008 [Tesis]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María. Facultad de Odontología Segunda Especialidad de Periodoncia e Implantes; 2008.
14. Sheikh Z, Qureshi J, Alshahrani A, Nassar H, Ikeda Y, Glogauer M, Ganss B. Collagen based barrier membranes for periodontal guided bone regeneration application. *Odontology.* [Internet]; 2017; 105 (1): 1-12. Doi: 10.1007/s10266-016-0267-0.
15. Bornstein M, Bosshardt D, Buser D. Effect of two different bioabsorbable collagen membranes on guided bone regeneration: a comparative histomorphometric study in the dog mandible. *J Periodontol.* [Internet]; 2007; 78 (10): 1943-53. Doi: 10.1902/jop.2007.070102.

